

HỢP CHẤT BENZIMIDAZOL VÒNG LÀM CHẤT ỨC CHẾ GMP AMP VÒNG SYNTHAZA (CGAS), DƯỢC PHẨM VÀ TỔ HỢP CHỨA HỢP CHẤT NÀY

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, để điều trị bệnh chẳng hạn lupus ban đỏ hệ thống, xơ cứng bì hệ thống (SSc), bệnh do interferon, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh phổi kẽ (ILD) và xơ phổi vô căn (IPF). Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất trung gian của hợp chất theo sáng chế, dược phẩm và tổ hợp chứa các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các chất ức chế cGAS

Miễn dịch tự nhiên được xem là đáp ứng kích thích tế bào hàng đầu bảo vệ tế bào chủ chống lại các tác nhân gây bệnh xâm nhập và khởi phát truyền tín hiệu tới hệ miễn dịch thích ứng. Các quá trình này được khởi phát bởi các mô hình phân tử liên quan đến tác nhân gây bệnh bảo tồn (conserved pathogen-associated molecular patterns - PAMPs) thông qua việc cảm nhận bằng các thụ thể nhận dạng khuôn mẫu đa dạng (diverse pattern recognition receptors - PRRs) và sự kích hoạt sau đó của xytokin và sự biểu hiện gen interferon typ I. Các tế bào trình diện kháng nguyên, như bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, và tế bào đuôi gai tạo ra các interferon typ I và cực kỳ quan trọng để gây ra các đáp ứng của hệ miễn dịch tế bào T và B thích ứng. Các PRR chính phát hiện sự bất thường, tức là, các axit nucleic lạc vị trí, chưa trưởng thành hoặc chưa biến đổi trên bề mặt tế bào, bên trong các màng lysosom hoặc bên trong các khoang tế bào khác (Barbalat et al., Annu. Rev. Immunol. 29, 185-214 (2011)).

“GMP-AMP Synthaza vòng” (cGAS, UniProtKB – Q8N884)) là cảm biến chiếm ưu thế đối với ADN sợi kép (dsADN) bất thường có nguồn gốc từ các tác nhân gây bệnh hoặc sự định vị sai hoặc xử lý sai của các dsADN nhân hoặc ty thể (Sun et al., Science 339, 786-791 (2013); Wu et al., Science 339, 826-830 (2013); Ablasser et al., Nature 498, 380-384 (2013)). Liên kết của dsADN với cGAS hoạt hóa phản ứng của GTP và ATP để tạo ra dinucleotit vòng GMP-AMP (được gọi là cGAMP). Sau đó, cGAMP đi

vào và hoạt hóa protein thích ứng neo vào mạng lưới nội chất, "yếu tố kích thích gen interferon" (Stimulator of Interferon Genes - STING, UniProtKB – [Q86WV6](#)). STING đã hoạt hóa thu nhận và hoạt hóa kinaza liên kết TANK 1 (TBK1) mà về mặt nó phosphoryl hóa sự phiên mã họ yếu tố điều hòa interferon (IRF) cảm ứng xytokin và sự biểu hiện mRNA interferon typ I.

Vai trò quyết định của cGAS trong việc cảm biến dsADN đã được xác định trong các vi khuẩn gây bệnh khác nhau (Hansen et al., EMBOJ. 33, 1654 (2014)), các virus (Ma et al., PNAS 112, E4306 (2015)) và các retrovirus (Gao et al., Science 341, 903-906 (2013)). Ngoài ra, cGAS là thiết yếu trong các quá trình sinh học khác nhau khác như sự lão hóa tế bào (Yang et al., PNAS 114, E4612 (2017), Glück et al., Nat. Cell Biol. 19, 1061-1070 (2017)) và sự nhận biết các vi nhân bị phá vỡ trong sự giám sát các tế bào ung thư tiềm ẩn (Mackenzie et al., Nature 548, 461-465 (2017); Harding et al., Nature 548, 466-470 (2017)).

Trong khi con đường cGAS là quan trọng đối với sự phòng vệ của vật chủ chống lại các tác nhân gây bệnh xâm nhập, các kích thích tế bào và các yếu tố di truyền cũng có thể cảm ứng việc sản xuất ra dsADN tế bào bất thường, ví dụ, bởi sự rò rỉ ở nhân hoặc ty thể, và nhờ đó khởi phát các đáp ứng tự viêm. Hội chứng Aicardi-Goutieres (AGS; Crow et al., Nat. Genet. 38, 917-920 (2006)) – rối loạn qua trung gian miễn dịch tự viêm nặng giống lupus – xuất phát từ các đột biến mất chức năng trong TREX1, một men exonucleaza ADN chính chịu trách nhiệm phân hủy ADN bất thường trong xytosol. Theo cách khác, việc loại bỏ cGAS ở chuột thiếu hụt TREX1 ngăn chặn được các đáp ứng miễn dịch gây chết, hỗ trợ cGAS làm yếu tố dẫn động của các bệnh lý do interferon (Gray et al., J. Immunol. 195, 1939-1943 (2015); Gao et al., PNAS 112, E5699-E5705 (2015)). Tương tự, khả năng gây chết phôi gây ra bởi sự thiếu hụt ADNse2, men endonucleaza chịu trách nhiệm làm thoái biến ADN dư trong các tiêu thể (lysosom) trong quá trình nhập bào, được giải cứu hoàn toàn bằng cách loại bỏ thêm cGAS (Gao et al., PNAS 112, E5699-E5705 (2015)) hoặc STING (Ahn et al., PNAS 109, 19386-19391 (2012)). Những quan sát này hỗ trợ cGAS như là đích của thuốc và việc ức chế cGAS có thể cung cấp một chiến lược trị liệu để phòng ngừa tình trạng tự viêm và điều trị các bệnh như lupus ban đỏ hệ thống (SLE) có liên quan đến kháng thể kháng dsADN (Pisetsky et al., Nat. Rev. Rheumatol. 12, 102-110 (2016)).

Tình trạng kỹ thuật

Nhờ quan sát thấy rằng, việc ức chế con đường cGAS có thể cung cấp chiến lược trị liệu để phòng ngừa tình trạng tự viêm và để điều trị, ví dụ các bệnh tự miễn, nhiều nỗ lực nhằm phát triển các chất ức chế cGAS đã được tiến hành.

Ví dụ, trong tài liệu WO 2019/241787, methyl 4-amino-6-(phenylamino)-1,3,5-triazin-2-carboxylat như CU-32 và CU-76 đã được bộc lộ làm chất ức chế cGAS với "các giá trị hcGAS IC_{50} in vitro" hơi chút thấp hơn 1 μM ($IC_{50}(CU-32) = 0,66 \mu M$ và $IC_{50}(CU-76) = 0,27 \mu M$).

Trong tài liệu của tác giả Hall et al., PLoS ONE 12(9); e0184843 (2017), hợp chất PF-06928215 đã được công bố làm chất ức chế cGAS với "giá trị hcGAS IC_{50} in vitro" là 0,049 μM khi được đo bằng thử nghiệm phân cực huỳnh quang. Tuy nhiên, hợp chất PF-06928215 không thể hiện hoạt tính tế bào chấp nhận được nào ở dạng chất ức chế cGAS.

Trong tài liệu WO 2020/142729 và trong WO2022/174012, các dẫn xuất axit (benzofuro[3,2-d]pyrimidin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxylic đã được bộc lộ làm chất ức chế cGAS trong liệu pháp trị liệu đối với các rối loạn tự miễn như hội chứng Aicardi-Goutieres (AGS), bệnh lupus ban đỏ, bệnh cứng bì, bệnh ruột viêm và viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH). Tuy nhiên, các hợp chất theo sáng chế này khác với các dẫn xuất axit (benzofuro[3,2-d]pyrimidin-4-yl)pyrrolidin-2-carboxylic của tài liệu WO 2020/142729 về mô hình thay thế khác nhau hoàn toàn của chúng ở vị trí 4 của vòng pyrrolidin.

Các chất ức chế cGAS được đề cập gần đây, như các chất ức chế trong tài liệu WO 2020/142729 hoặc WO 2022/174012, thông thường thể hiện hiệu lực ức chế cGAS tế bào không đầy đủ (với các giá trị IC_{50} liên quan đến việc ức chế con đường cGAS/STING khi được đo trong các thử nghiệm tế bào thông thường lớn hơn 1 μM , thường lớn hơn 5 μM). Tuy nhiên, điều quan trọng là phải cung cấp các chất ức chế cGAS trị liệu mà không chỉ thể hiện hiệu lực ức chế (in vitro) sinh hóa thỏa mãn ("hcGAS IC_{50} "), mà còn thể hiện hiệu lực ức chế tế bào thỏa mãn (ví dụ, bằng cách thể hiện sự ức chế cảm ứng IFN trong các tế bào THP-1 bị kích thích bởi virus (THP1_(vir) IC_{50})) để bảo đảm rằng, hợp chất có khả năng thể hiện tác dụng trị liệu ở bệnh nhân. Các

đặc điểm quan trọng khác mà có thể dự đoán được để phát triển thành công chất ức chế cGAS làm tác nhân trị liệu là khả năng chọn lọc cGAS thỏa mãn (so với hoạt tính chệch đích) và hiệu lực ức chế chấp nhận được trong máu toàn phần của người.

Bất ngờ là hiện nay đã phát hiện ra rằng, các hợp chất có công thức I, II hoặc III) đồng thời thể hiện ba đặc tính sau:

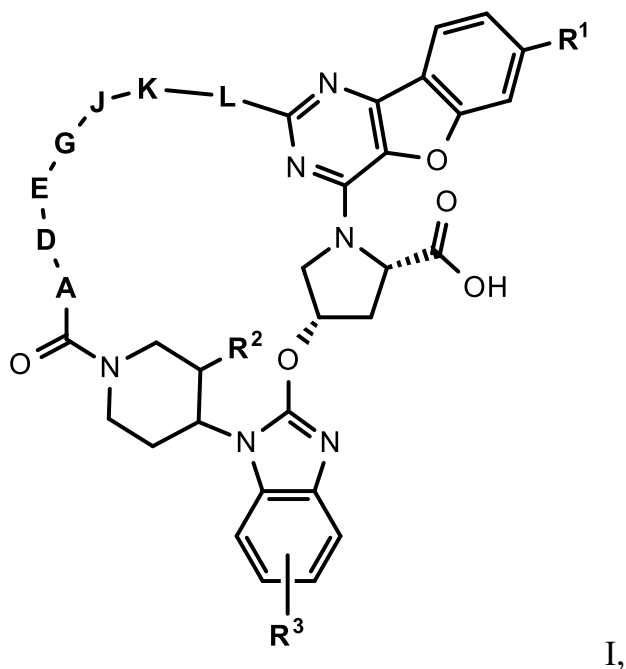
- "giá trị IC_{50} hóa (in vitro) thỏa mãn liên quan đến sự ức chế cGAS" (với hcGAS $IC_{50} \leq 100$ nM, tốt hơn là ≤ 50 nM, đặc biệt là ≤ 10 nM),
 - "sự ức chế cảm ứng IFN thỏa mãn trong các tế bào THP-1 bị kích thích bởi virus (với THP1 $IC_{50(vir)} \leq 1$ μ M, tốt hơn là ≤ 500 nM, tốt hơn nữa là ≤ 100 nM, đặc biệt là ≤ 50 nM)
- và
- khả năng chọn lọc thỏa mãn đối với sự ức chế cGAS (với tỷ lệ $THP1\ IC_{50(cGAMP)}/\ THP1\ IC_{50(vir)}$ là ≥ 10 , tốt hơn nữa ≥ 50 , tốt hơn nữa ≥ 500 , đặc biệt ≥ 1000).

Ngoài ra, các hợp chất có công thức I, II hoặc III) cũng thể hiện các giá trị IC_{50} chấp nhận được liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong các thử nghiệm máu toàn phần người kích thích bởi dsADN, tốt hơn với các giá trị IC_{50} máu toàn phần người liên quan đến sự ức chế cGAS (hWB IC_{50}) ≤ 5000 nM, tốt hơn nữa là ≤ 1000 nM, đặc biệt là ≤ 100 nM.

Các chất ức chế cGAS theo sáng chế với đặc tính dược lý cụ thể này kết hợp hiệu lực ức chế in vitro tuyệt vời và hiệu lực ức chế tế bào tuyệt vời với khả năng chọn lọc cao liên quan đến sự ức chế cGAS có khả năng cao cũng thể hiện tác dụng trị liệu tốt ở bệnh nhân. Nhờ hiệu lực ức chế tế bào cao của chúng, các hợp chất với đặc tính dược lý cụ thể này có khả năng vượt qua hàng rào màng tế bào và do đó, đạt tới được vị trí đích trong tế bào và do khả năng chọn lọc của chúng chỉ ức chế hoạt tính cGAS, các hợp chất này không thể hiện các tác dụng chệch đích không mong muốn, ví dụ, các tác dụng phụ đầu đó trong đường truyền tín hiệu ở xuôi dòng của cGAS hoặc các tác dụng gây độc tế bào.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I



trong đó

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, metyl, etyl, $-CF_3$, $-CHF_2$, CFH_2 và metoxy,

R^2 được chọn từ nhóm bao gồm hydro và metyl,

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl và halogen,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$, $-CF_2-$, $-CHF-$, $-N(CH_3)-$, $-NH-$ và $-CHCH_3-$;

D được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$, $-CF_2-$, $-CHF-$ và $-CHCH_3-$;

E được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$, $-C(CH_3)_2-$, $-CHF-$, CF_2- và $-CHCH_3-$;

G được chọn từ nhóm bao gồm $-NH-$, $-NCH_3-$, $-CH_2-$, $-O-$, $-CF_2-$, $-CHF-$, $-CHCH_3-$ và $-C(CH_3)_2$;

J được chọn từ nhóm bao gồm $-CO-$, $-CH_2-$, $-O-$, $-CHF-$, $-CF_2-$ và $-CHCH_3-$;

K được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-CF_2-$, $-O-$ hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$, $-CHCH_3-$, $-CHF-$, $-CF_2-$ hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo đó, các biến A, D, E, G, J, K và L được ưu tiên lựa chọn theo cách mà hai hoặc nhiều nguyên tử khác loại không thể theo liền kề nhau.

Theo một phương án được ưu tiên sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I nêu trên, trong đó

R¹ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, Cl và F,

R² được chọn từ nhóm bao gồm hydro và metyl,

R³ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, Cl và F,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CF₂-, -N(CH₃)-,

D được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O- và -CHCH₃-,

E được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O- và -C(CH₃)₂-,

G được chọn từ nhóm bao gồm -NH-, -CH₂-, -O-, -CHCH₃-,

J được chọn từ nhóm bao gồm -CO-, -CH₂-, -O-, và -CHCH₃-;

K được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -CF₂-, -O- hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -CF₂- hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo đó, các biến A, D, E, G, J, K và L được ưu tiên lựa chọn theo cách mà hai hoặc nhiều nguyên tử khác loại không thể theo liền kề nhau.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó L không có mặt, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó L không có mặt và trong đó A được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂- và -CF₂-, và tiền dược chất, muối dược dụng của chúng hoặc chất tương tự được đơteri hóa của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó L không có mặt và trong đó K là CF₂, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó R³ là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Ở đây, đặc biệt ưu tiên là R³ là nguyên tử halogen được chọn từ nhóm bao gồm Cl và F.

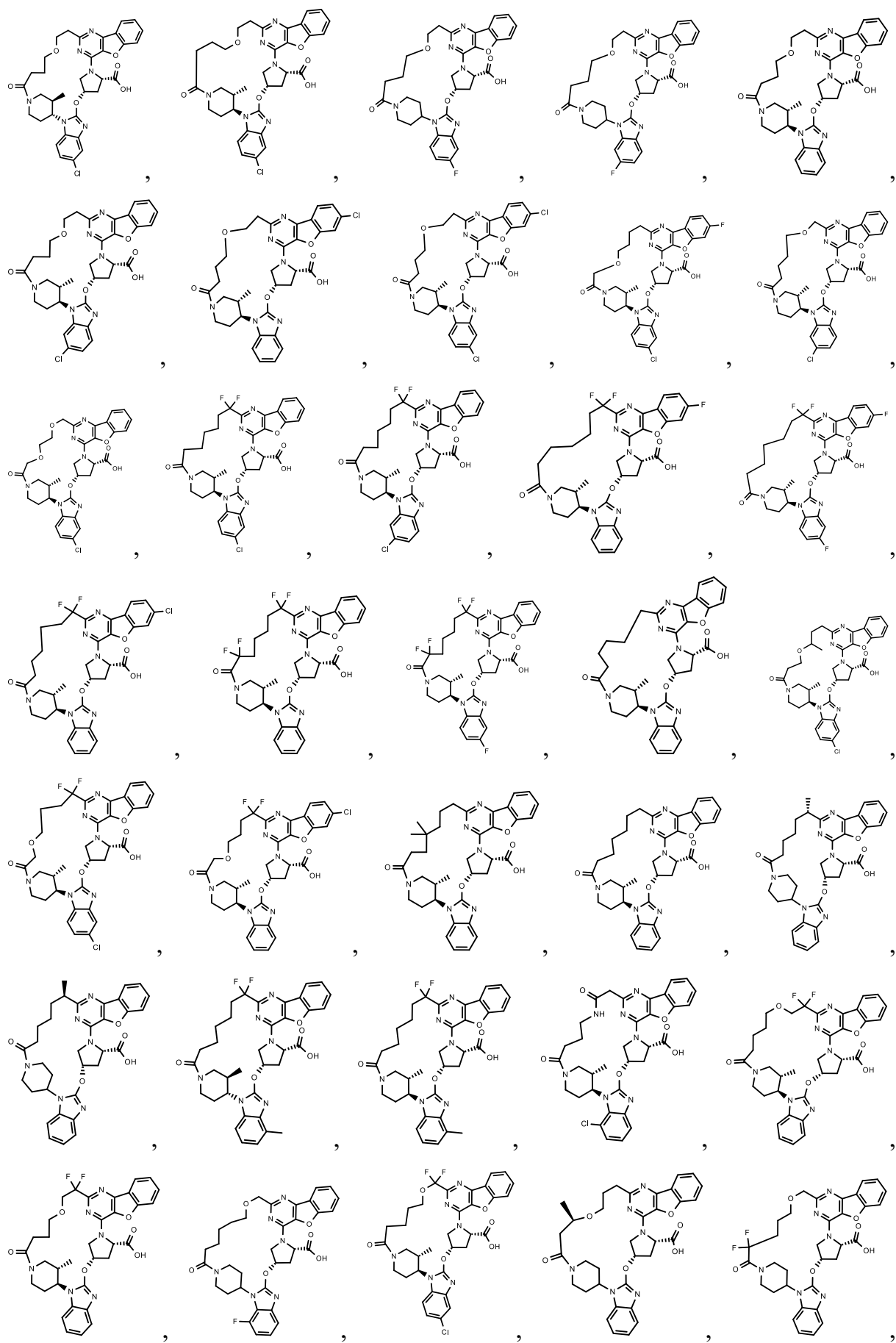
Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó R³ là Cl hoặc F và được nằm ở vị trí 5 của gốc benzimidazol, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

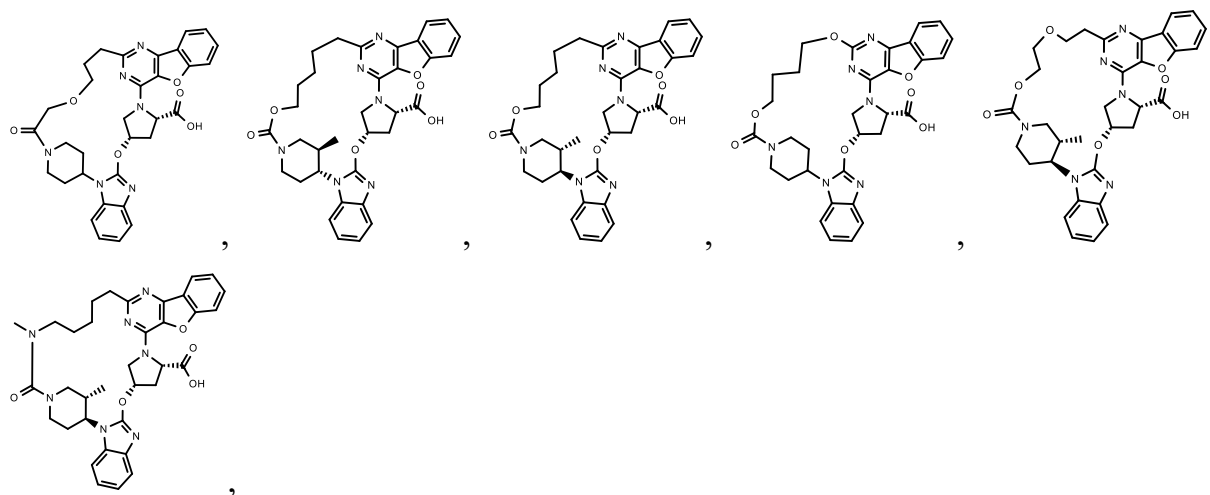
Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó R¹ là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó R¹ là Cl hoặc F, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó R¹ là hydro, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên được chọn từ nhóm bao gồm





và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{CF}_2-$,

mỗi D và E là $-\text{CH}_2-$,

G được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{O}-$,

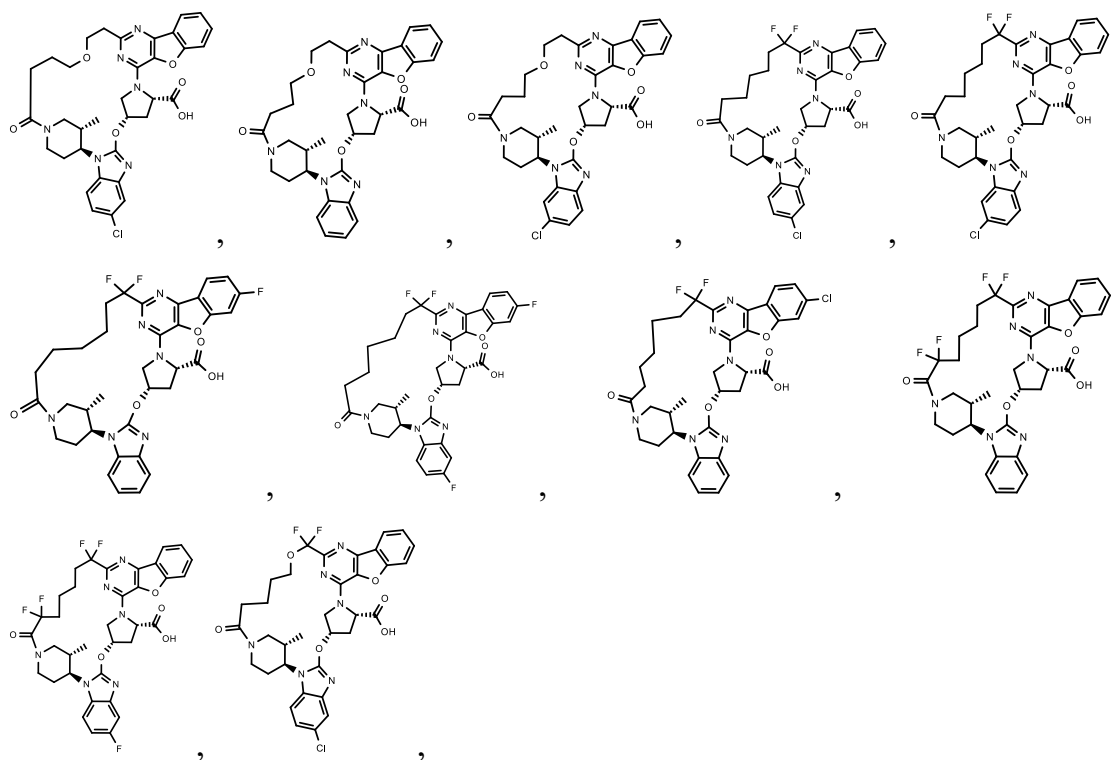
J được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{O}-$,

K được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CF}_2-$ và $-\text{CH}_2-$,

và L không có mặt,

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

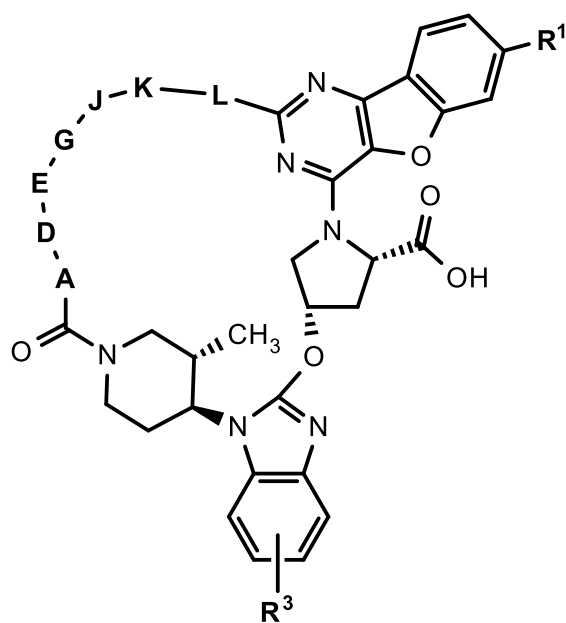
Theo một phương án đặc biệt ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên được chọn từ nhóm bao gồm



và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

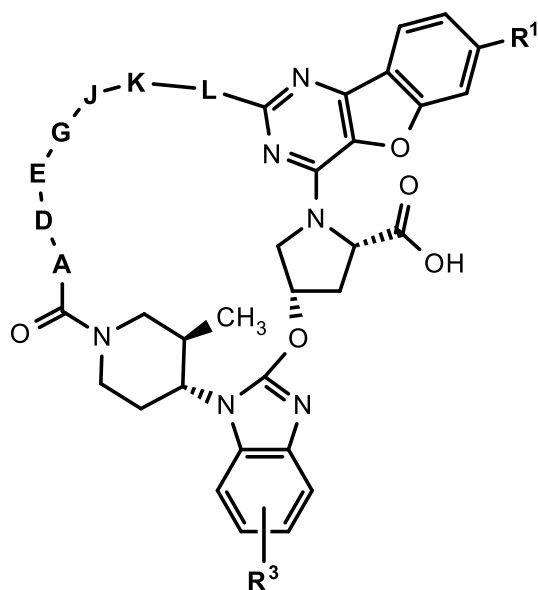
Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I được đề cập ở trên, trong đó R₂ là methyl, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II



II

hoặc hợp chất có công thức III



III,

trong đó

R¹ được chọn từ nhóm bao gồm hydro và halogen,

R³ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, methyl và halogen,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -N(CH₃)-, -NH- và -CHCH₃-;
;

D được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF- và -CHCH₃-;

E được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -C(CH₃)₂-, -CHF-, CF₂- và -CHCH₃-;

G được chọn từ nhóm bao gồm -NH-, -NCH₃-, -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -CHCH₃- và -C(CH₃)₂;

J được chọn từ nhóm bao gồm -CO-, -CH₂-, -O-, -CHF-, -CF₂- và -CHCH₃-;

K được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -CF₂-, -O- hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CHCH₃-, -CHF-, -CF₂- hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo đó, các biến A, D, E, G, J, K và L được ưu tiên lựa chọn theo cách mà hai hoặc nhiều nguyên tử khác loại không thể theo liền kề nhau.

Ưu tiên hơn là hợp chất có công thức II hoặc công thức III được đề cập ở trên, trong đó

R¹ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, Cl và F,

R³ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, Cl và F,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CF₂- và -N(CH₃)-,

D được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O- và -CHCH₃-,

E được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O- và -C(CH₃)₂-,

G được chọn từ nhóm bao gồm -NH-, -CH₂-, -O-, -CHCH₃-,

J được chọn từ nhóm bao gồm -CO-, -CH₂-, -O-, và -CHCH₃-;

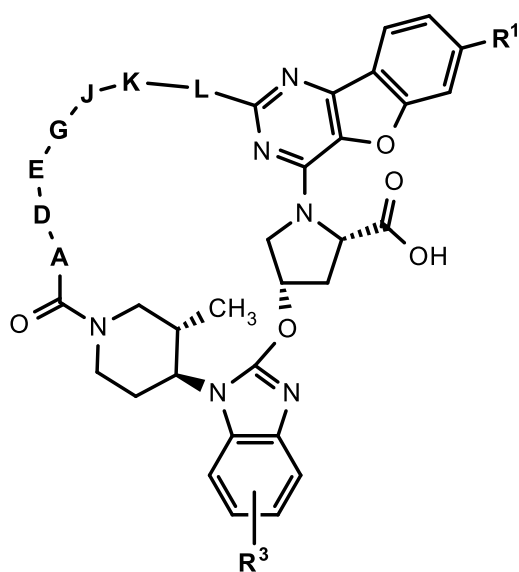
K được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -CF₂-, -O- hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -CF₂- hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

Theo đó, các biến A, D, E, G, J, K và L được ưu tiên lựa chọn theo cách mà hai hoặc nhiều nguyên tử khác loại không thể theo liền kề nhau.

Đặc biệt ưu tiên là hợp chất có công thức II được đề cập ở trên,



II

trong đó

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, Cl và F,

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, Cl và F,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$, $-CF_2-$ và $-N(CH_3)-$,

D được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$ và $-CHCH_3-$,

E được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$ và $-C(CH_3)_2-$,

G được chọn từ nhóm bao gồm $-NH-$, $-CH_2-$, $-O-$, $-CHCH_3-$,

J được chọn từ nhóm bao gồm $-CO-$, $-CH_2-$, $-O-$, và $-CHCH_3-$;

K được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-CF_2-$, $-O-$ hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-CF_2-$ hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo đó, các biến A, D, E, G, J, K và L được ưu tiên lựa chọn theo cách mà hai hoặc nhiều nguyên tử khác loại không thể theo liên kề nhau.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó L không có mặt, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó L không có mặt và trong đó K là CF_2 , và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^3 là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^3 là Cl hoặc F, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^3 là Cl hoặc F và được nằm ở vị trí 5 của gốc benzimidazol, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^3 là hydro, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^1 là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^1 được chọn từ nhóm bao gồm Cl hoặc F, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó R^1 là hydro, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-CF_2-$,

mỗi D và E là $-CH_2-$,

G được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-O-$,

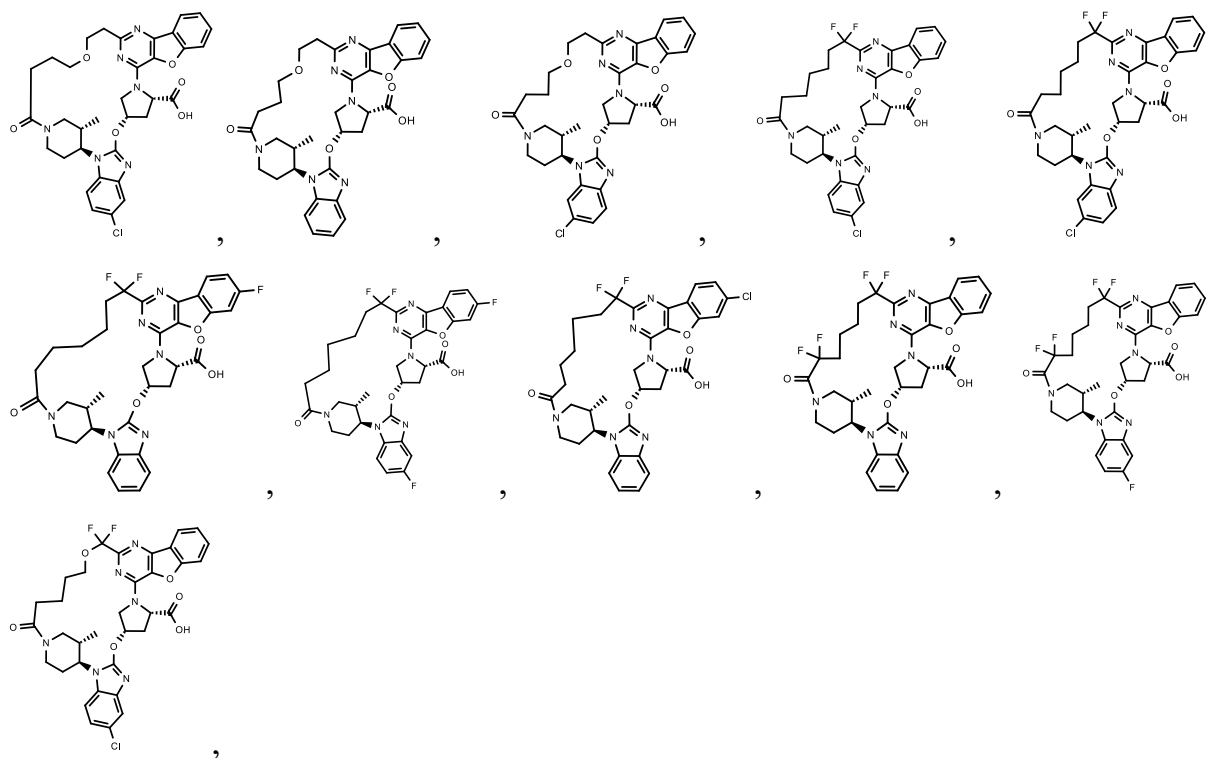
J được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-O-$,

K được chọn từ nhóm bao gồm $-CF_2-$ và $-CH_2-$,

và L không có mặt,

và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên, được chọn từ nhóm bao gồm



và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên hoặc hợp chất có công thức III được đề cập ở trên, trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{CF}_2-$,

mỗi D, E và G là $-\text{CH}_2-$,

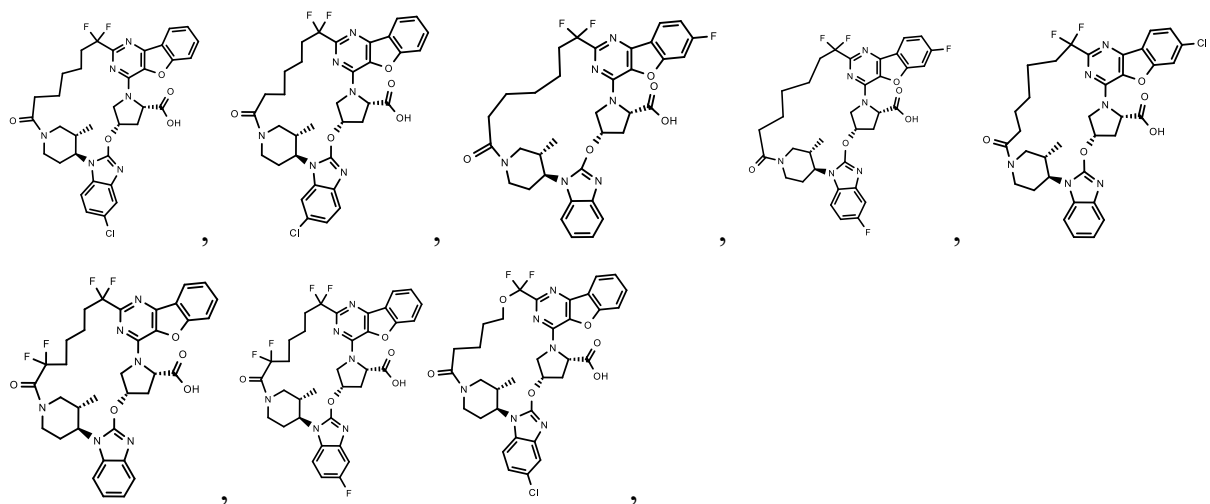
J được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{O}-$,

K là $-\text{CF}_2-$,

và L không có mặt,

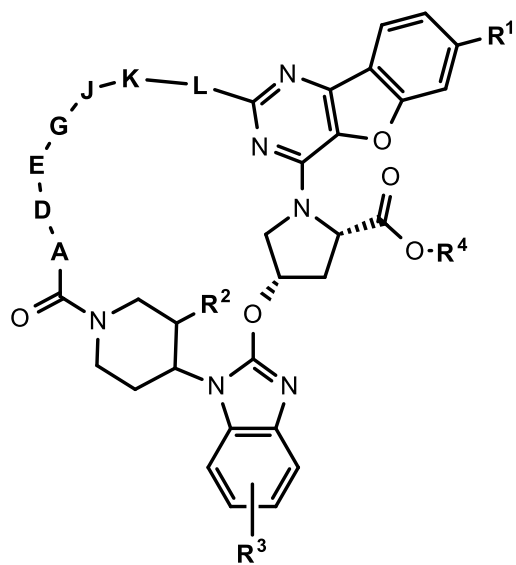
và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II được đề cập ở trên, được chọn từ nhóm bao gồm



và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

Tiền dược chất của hợp chất có công thức I tốt hơn là hợp chất có công thức Ia

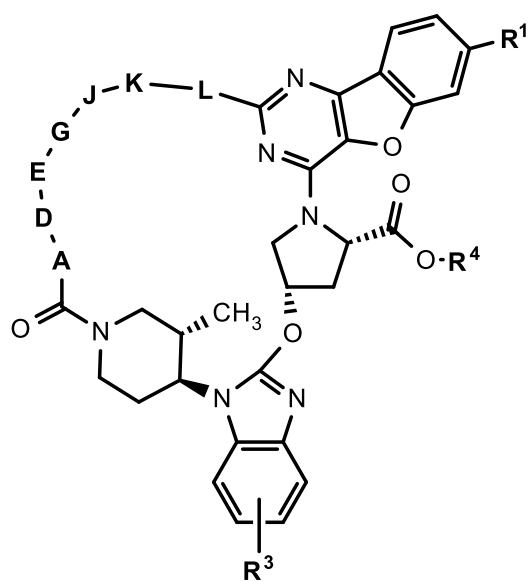


Ia,

trong đó các biến R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như trên và trong đó R^4 là C_{1-4} -alkyl, aryl, $-CH_2$ -aryl, $NH-SO_2-C_{1-3}$ -alkyl.

Đặc biệt ưu tiên là tiền dược chất có công thức Ia, trong đó các biến R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như trên và trong đó R^4 là metyl.

Tiền dược chất của hợp chất có công thức II tốt hơn là hợp chất có công thức IIa

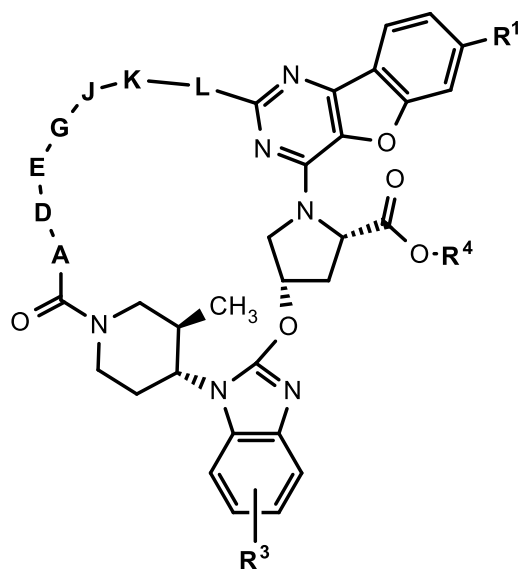


IIa,

trong đó các biến R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như trên và trong đó R^4 là C_{1-4} -alkyl, aryl, $-CH_2$ -aryl, $NH-SO_2-C_{1-3}$ -alkyl.

Đặc biệt ưu tiên là tiền dược chất có công thức IIa, trong đó các biến R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như trên và trong đó R^4 là metyl.

Tiền dược chất của hợp chất có công thức III tốt hơn là hợp chất có công thức IIIa



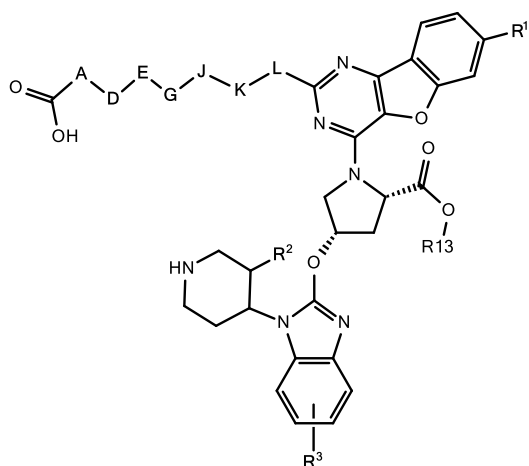
IIIa,

trong đó các biến R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như trên và trong đó R^4 là C_{1-4} -alkyl, aryl, $-CH_2$ -aryl, $NH-SO_2-C_{1-3}$ -alkyl.

Đặc biệt ưu tiên là tiền dược chất có công thức IIIa, trong đó các biến R^1, R^2, R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như trên và trong đó R^4 là metyl.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến

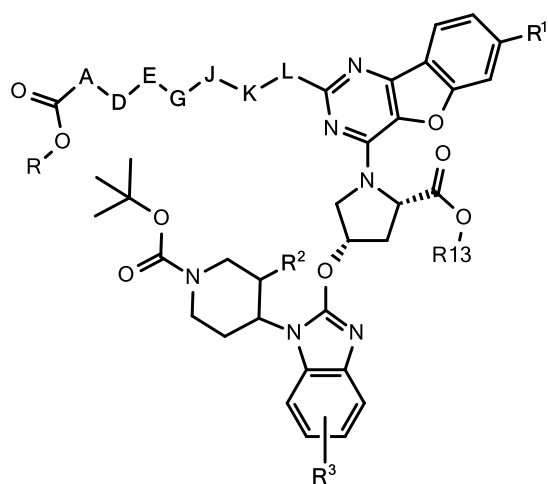
a) hợp chất trung gian có công thức (A-I)



(A-I),

trong đó R¹, R², R³, A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R¹³ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, etyl và tert-butyl,

b) hợp chất trung gian có công thức (A-II),

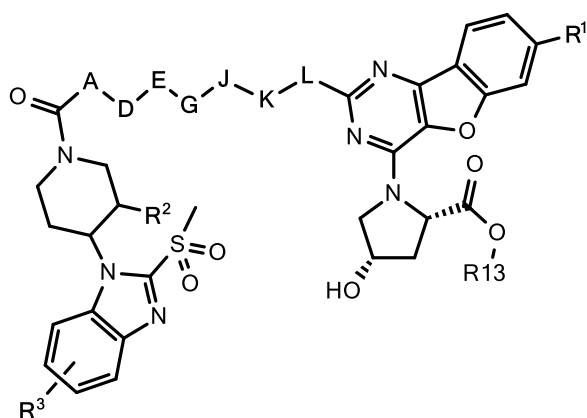


(A-II),

trong đó R¹, R², R³, A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R¹³ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, etyl và tert-butyl,

và trong đó R là hydro hoặc nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm tert-butyl, methyl, ethyl và benzyl,

c) hợp chất trung gian có công thức (B-I)

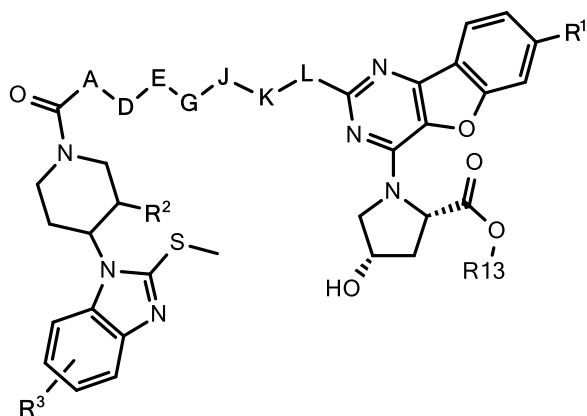


(B-I),

trong đó R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R13 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, methyl, ethyl và tert-butyl,

hoặc

d) hợp chất trung gian có công thức (B-II)



(B-II),

trong đó R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R13 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, methyl, ethyl và tert-butyl.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, để sử dụng trong điều trị bệnh mà có thể được điều trị bằng cách ức chế cGAS.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, để sử dụng trong điều trị điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm lupus ban đỏ hệ thống (SLE), bệnh do interferon,

hội chứng Aicardi- Goutières (AGS), hội chứng COPA, bệnh lupus ban đỏ chilblain gia đình, thoái hóa điểm vàng tuổi già (AMD), bệnh vồng mạc, bệnh tăng nhãn áp, xơ cứng teo cơ một bên (ALS), bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, bệnh viêm ruột (IBD), bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), hội chứng Bloom, hội chứng Sjogren, bệnh Parkinsons, suy tim, ung thư, xơ cứng bì hệ thống (SSc), viêm da cơ, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh phổi kẽ (ILD), tốt hơn là bệnh phổi kẽ xơ hóa tiến triển (PF-ILD), cụ thể là xơ phổi vô căn (IPF), lão hóa, rối loạn cơ, nhiễm trùng huyết, viêm khớp dạng thấp, viêm xương khớp và COVID-19.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng, để sử dụng trong điều trị điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm lupus ban đỏ hệ thống (SLE), bệnh do interferon, hội chứng Aicardi- Goutières (AGS), hội chứng COPA, bệnh lupus ban đỏ chilblain gia đình, viêm da cơ, thoái hóa điểm vàng tuổi già (AMD), xơ cứng teo cơ một bên (ALS), bệnh viêm ruột (IBD), bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), hội chứng Bloom, hội chứng Sjogren, viêm khớp dạng thấp và bệnh Parkinsons.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng, để sử dụng trong điều trị điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm xơ cứng bì hệ thống (SSc), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh do interferon, bệnh phổi kẽ (ILD), bệnh phổi kẽ xơ hóa tiến triển (PF-ILD), cụ thể xơ phổi vô căn (IPF).

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng, để sử dụng trong điều trị điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm thoái hóa điểm vàng tuổi già (AMD), bệnh vồng mạc, bệnh tăng nhãn áp, bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, thoái hóa, rối loạn cơ, nhiễm trùng huyết, viêm xương khớp, suy tim, nhiễm COVID-19/SARS-CoV-2, viêm thận, xơ thận, rối loạn chuyển hóa, bệnh mạch máu, bệnh tim mạch và ung thư.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm kháng chất chống viêm, chất chống xơ hóa, chất chống dị ứng/ kháng histamin, thuốc giãn phế quản, chất chủ vận beta 2 /chất hướng giao cảm betamimetic, chất chủ vận, chất kháng cholinergic, methotrexat, mycophenolat mofetil, chất điều biến leukotrien, chất ức chế JAK, kháng thể kháng interleukin, liệu pháp miễn dịch không đặc hiệu chẳng hạn interferon hoặc các xytokin/chemokin khác, chất điều biến thụ thể xytokin/chemokin, chất chủ vận thụ thể giống toll, chất điều hòa điểm kiểm soát miễn dịch, kháng thể kháng TNF chẳng hạn Humira™, kháng thể kháng BAFF chẳng hạn Belimumab và Etanercept, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, và một hoặc nhiều chất chống xơ hóa được chọn từ nhóm bao gồm Pirfenidon và Nintedanib và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, và một hoặc nhiều chất chống viêm được chọn từ nhóm bao gồm NSAID và corticosteroit và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng, một hoặc nhiều hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm thuốc giãn phế quản, chất chủ vận beta 2 /chất

hướng giao cảm betamimetic, chất chủ vận và chất kháng cholinergic và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án ưu tiên khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, II hoặc III được đề cập ở trên hoặc tiền dược chất có công thức Ia, IIa hoặc IIIa, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng, và một hoặc nhiều kháng thể kháng interleukin được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể kháng IL-23 chẳng hạn Risankizumab, kháng thể kháng IL-17, kháng thể kháng IL-1, kháng thể kháng IL-4, kháng thể kháng IL-13, kháng thể kháng IL-5, kháng thể kháng IL-6 chẳng hạn Actemra™, kháng thể kháng IL-12 và kháng thể kháng IL-15.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các thuật ngữ và các định nghĩa được sử dụng

Trừ khi được thông báo theo cách khác, tất cả các nhóm thể là độc lập với nhau. Ví dụ, nếu nhiều nhóm C₁₋₆-alkyl là các phần tử thể có thể tại một nhóm, trong trường hợp ba phần tử thể, ví dụ, C₁₋₆-alkyl có thể, độc lập với nhau, là metyl, n-propyl và tert-butyl.

Liên kết ngang giống như liên kết giữa trong phân tử butyl sau



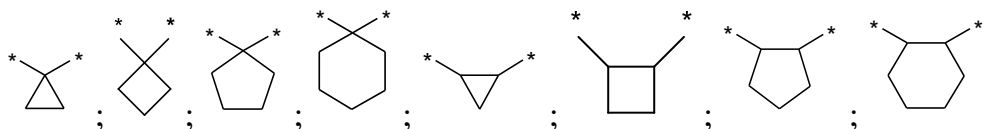
là liên kết đôi của cấu hình chưa biết (cis, trans hoặc hỗn hợp của chúng).

Thuật ngữ "C₁₋₆-alkyl" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và thuật ngữ "C₁₋₃-alkyl" có nghĩa là các nhóm alkyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Do đó, "C₁₋₄-alkyl" biểu thị các nhóm alkyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Nhóm alkyl có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon được ưu tiên. Ví dụ về các nhóm này bao gồm metyl, etyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl, sec-butyl, tert-butyl, n-pentyl, iso-pentyl, neo-pentyl và hexyl. Các chữ viết tắt Me, Et, n-Pr, i-Pr, n-Bu, i-Bu, t-Bu, v.v., có thể tùy ý cũng được sử dụng cho các nhóm nêu trên. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các định nghĩa propyl, butyl, pentyl và hexyl bao gồm tất cả các dạng đồng phân có thể có của nhóm

quan tâm. Do đó, ví dụ, propyl bao gồm n-propyl và iso-propyl, butyl bao gồm iso-butyl, sec-butyl và tert-butyl v.v.

Thuật ngữ " C_{1-6} -alkylen" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkylen phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và thuật ngữ " C_{1-4} -alkylen" có nghĩa là các nhóm alkylen phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Nhóm alkylen có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon được ưu tiên. Ví dụ về các nhóm này bao gồm metylen, etylen, propylen, 1-metyletylen, butylen, 1-metylpropylen, 1,1-dimetyletylen, 1,2-dimetyletylen, pentylen, 1,1-dimetylpropylen, 2,2-dimetylpropylen, 1,2-dimetylpropylen, 1,3-dimetylpropylen và hexylen. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các định nghĩa propylen, butylen, pentylen và hexylen bao gồm tất cả các dạng đồng phân có thể có của nhóm quan tâm có cùng số lượng cacbon. Do đó, ví dụ, propyl cũng bao gồm 1-metyletylen và butylen bao gồm 1-metylpropylen, 1,1-dimetyletylen, 1,2-dimetyletylen v.v.

Nếu mạch cacbon được thể bằng nhóm mà cùng với một hoặc hai nguyên tử cacbon của mạch alkylen tạo thành vòng cacbon vòng với 3, 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon, nhóm này bao gồm, không kể các vòng khác, ví dụ về các vòng sau:



Thuật ngữ " C_{2-6} -alkenyl" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkenyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon và thuật ngữ " C_{2-4} -alkenyl" có nghĩa là các nhóm alkenyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon, với điều kiện chúng có ít nhất một liên kết đôi. Nhóm alkenyl có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon được ưu tiên. Các ví dụ bao gồm: ethenyl hoặc vinyl, propenyl, butenyl, pentenyl hoặc hexenyl. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các định nghĩa propenyl, butenyl, pentenyl và hexenyl bao gồm tất cả các dạng đồng phân có thể có của nhóm quan tâm. Vì thế, ví dụ, propenyl bao gồm 1-propenyl và 2-propenyl, butenyl bao gồm 1-, 2- và 3-butenyl, 1-metyl-1-propenyl, 1-metyl-2-propenyl v.v.

Thuật ngữ " C_{2-5} -alkynyl" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkynyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 2 đến 5 nguyên tử

cacbon và thuật ngữ " C_{2-4} -alkynyl" có nghĩa là các nhóm alkynyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon, với điều kiện chúng có ít nhất một liên kết ba. Các nhóm alkynyl có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon là được ưu tiên.

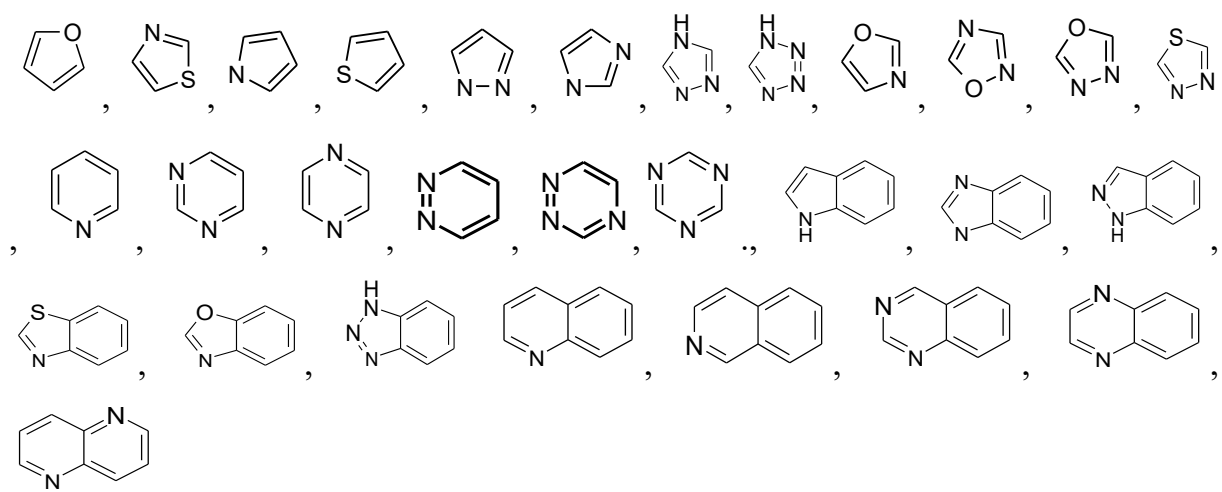
Thuật ngữ " C_{2-6} -alkenylen" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkenylen phân nhánh và không phân nhánh có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon và thuật ngữ " C_{2-4} -alkenylen" có nghĩa là các nhóm alkylen phân nhánh và không phân nhánh có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon. Nhóm alkenylen có từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon được ưu tiên. Ví dụ về các nhóm này bao gồm: etenylen, propenylen, 1-metyletenylen, butenylen, 1-metylpropenylen, 1,1-dimetyletenylen, 1,2-dimetyletenylen, pentenylen, 1,1-dimetylpropenylen, 2,2-dimetylpropenylen, 1,2-dimetylpropenylen, 1,3-dimetylpropenylen và hexenylen. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các định nghĩa propenylen, butenylen, pentenylen và hexenylen bao gồm tất cả các dạng đồng phân có thể của các nhóm mong muốn có cùng số lượng cacbon. Do đó, ví dụ, propenyl cũng bao gồm 1-metyletenylen và butenylen bao gồm 1-metylpropenylen, 1,1-dimetyletenylen, 1, 2-dimetyletenylen.

Thuật ngữ "aryl" (bao gồm cả những phần thuộc nhóm khác) có nghĩa là hệ vòng thơm có 6 hoặc 10 nguyên tử cacbon. Các ví dụ bao gồm phenyl hoặc naphtyl, nhóm aryl được ưu tiên là phenyl. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các nhóm thơm có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ trong số methyl, etyl, iso-propyl, tert-butyl, hydroxy, flo, clo, brom và iot.

Thuật ngữ "aryl- C_{1-6} -alkylen" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkylen phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, chúng được thế bằng hệ vòng thơm có 6 hoặc 10 nguyên tử cacbon. Các ví dụ bao gồm benzyl, 1- hoặc 2-phenyletyl và 1- hoặc 2-naphtyletyl. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các nhóm thơm có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ trong số methyl, etyl, iso-propyl, tert-butyl, hydroxy, flo, clo, brom và iot.

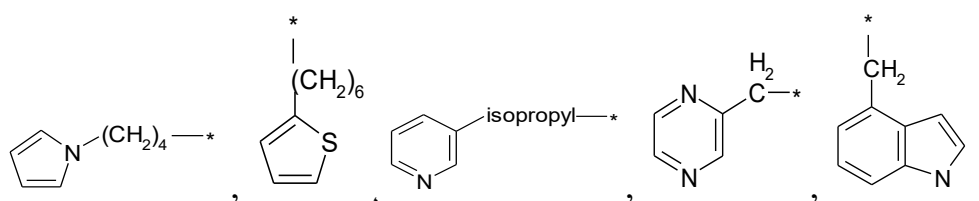
Thuật ngữ "heteroaryl- C_{1-6} -alkylen" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là - ngay cả chúng đã được bao gồm trong "aryl- C_{1-6} -alkylen" - các nhóm alkylen phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, chúng được thế bằng heteroaryl.

Nếu không được xác định cụ thể theo cách khác, heteroaryl thuộc loại này bao gồm các nhóm thơm dị vòng 5 hoặc 6 cạnh hoặc các vòng heteroaryl hai vòng 5 đến 10 cạnh mà có thể chứa một, hai, ba hoặc bốn nguyên tử khác loại được chọn từ trong số oxy, lưu huỳnh và nitơ, và chứa nhiều liên kết đôi liên hợp sao cho hệ thơm được tạo ra. Sau đây là các ví dụ về các nhóm thơm dị vòng 5 hoặc 6 cạnh và các vòng heteroaryl hai vòng:



Trừ khi được thông báo theo cách khác, các heteroaryl này có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ trong số methyl, ethyl, iso-propyl, tert-butyl, hydroxy, amino, nitro, alkoxy, flo, clo, brom và iot.

Sau đây là các ví dụ về các heteroaryl- C_{1-6} -alkylen:

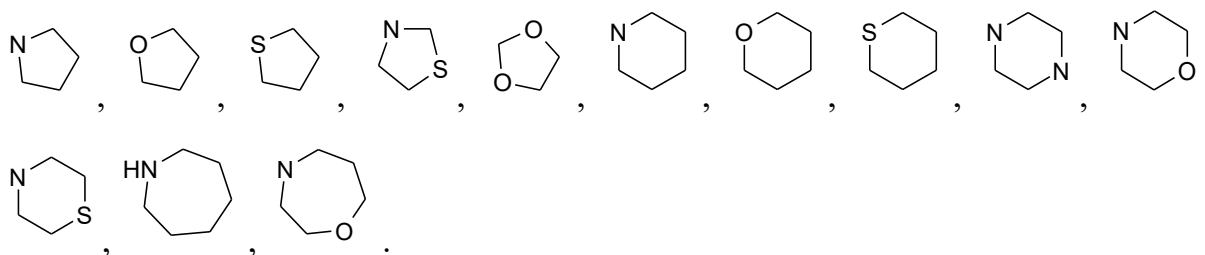


Thuật ngữ " C_{1-6} -haloalkyl" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, chúng được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen. Thuật ngữ " C_{1-4} -haloalkyl" có nghĩa là các nhóm alkyl phân nhánh và không phân nhánh có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon, chúng được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen. Nhóm alkyl có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon được ưu tiên. Các ví dụ bao gồm: CF_3 , CHF_2 , CH_2F , CH_2CF_3 .

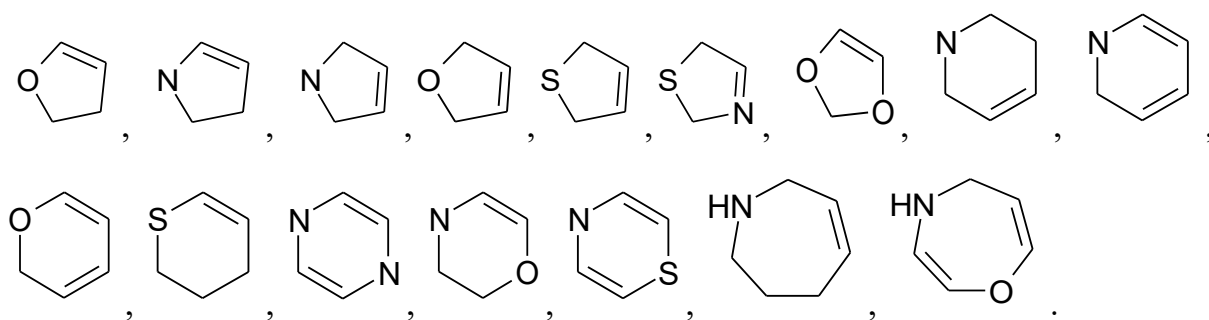
Thuật ngữ " C_{3-7} -xycloalkyl" (bao gồm các nhóm mà là một phần của các nhóm khác) có nghĩa là các nhóm alkyl vòng có từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon, nếu không được xác định cụ thể theo cách khác. Các ví dụ bao gồm: xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl và xycloheptyl. Trừ khi được thông báo theo cách khác, các nhóm alkyl vòng có thể được thể bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ trong số methyl, etyl, iso-propyl, tert-butyl, hydroxy, flo, clo, brom và iot.

Nếu không được định nghĩa cụ thể theo cách khác, thuật ngữ " C_{3-10} -xycloalkyl" cũng có nghĩa là nhóm alkyl một vòng có từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon và cả nhóm alkyl hai vòng có từ 7 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc các nhóm alkyl một vòng được bắc cầu bằng ít nhất một cầu C_{1-3} -cacbon.

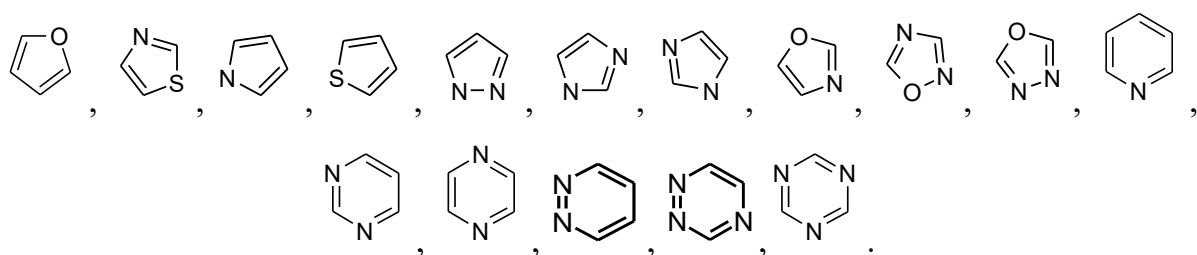
Thuật ngữ "vòng dị vòng" hoặc "dị vòng" có nghĩa là, trừ khi được thông báo theo cách khác, vòng dị vòng 5, 6 hoặc 7 cạnh, no, no một phần hoặc không no mà có thể chứa một, hai hoặc ba nguyên tử khác loại được chọn từ trong số oxy, lưu huỳnh và nitơ, trong khi vòng có thể được liên kết với phân tử thông qua nguyên tử cacbon hoặc thông qua nguyên tử nitơ, nếu có một nguyên tử này. Mặc dù được bao gồm bởi thuật ngữ "vòng dị vòng" hoặc "dị vòng", thuật ngữ "vòng dị vòng no" để chỉ các vòng no 5, 6 hoặc 7 cạnh. Các ví dụ bao gồm:



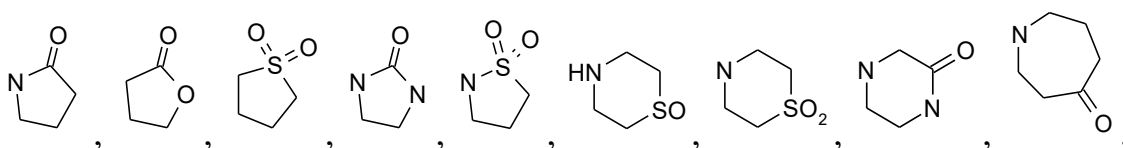
Mặc dù được bao gồm bởi thuật ngữ "vòng dị vòng" hoặc "nhóm dị vòng", thuật ngữ "nhóm dị vòng no một phần" để chỉ các vòng no một phần có 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa một hoặc hai liên kết đôi, không có nhiều liên kết đôi như vậy được tạo ra đến mức hệ thơm được tạo ra, trừ khi được xác định cụ thể theo cách khác. Các ví dụ bao gồm:



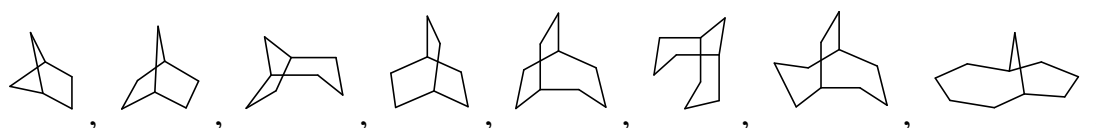
Mặc dù được bao gồm bởi thuật ngữ "vòng dị vòng" hoặc "dị vòng", thuật ngữ "vòng thơm dị vòng", "nhóm dị vòng không no" hoặc "heteroaryl" để chỉ các nhóm thơm dị vòng 5 hoặc 6 cạnh hoặc vòng heteroaryl hai vòng 5-10 cạnh mà có thể chứa một, hai, ba hoặc bốn nguyên tử khác loại được chọn từ trong số oxy, lưu huỳnh và nitơ, và chứa nhiều liên kết đôi liên hợp đến mức hệ thơm được tạo ra, trừ khi không được xác định cụ thể theo cách khác. Các ví dụ về nhóm thơm dị vòng có năm hoặc sáu cạnh bao gồm



Trừ khi được đề cập theo cách khác, vòng dị vòng (hoặc dị vòng) có thể được cung cấp với nhóm keto. Các ví dụ bao gồm:

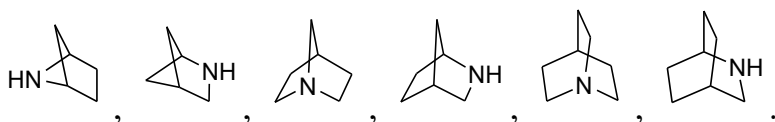


Mặc dù được bao hàm trong thuật ngữ "xycloalkyl", thuật ngữ "xycloalkyl hai vòng" thường để chỉ vòng cacbon hai vòng có tám, chín hoặc mười cạnh. Các ví dụ bao gồm:



Mặc dù đã được bao gồm bởi thuật ngữ "dị vòng", thuật ngữ "dị vòng hai vòng" thường để chỉ tám, chín hoặc mười cạnh các vòng hai vòng mà có thể chứa một hoặc

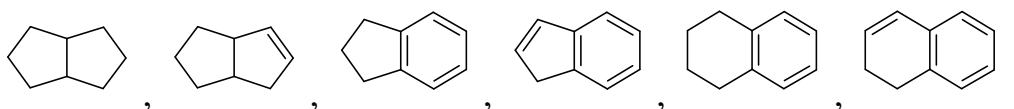
nhieu nguyên tử khác loại, tốt hơn 1 đến 4, tốt hơn nữa 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa 1 đến 2, tốt nhất là một nguyên tử khác loại, được chọn từ trong số oxy, lưu huỳnh và nitơ, trừ khi không được xác định cụ thể theo cách khác. Vòng có thể được liên kết với phân tử thông qua nguyên tử cacbon của vòng hoặc thông qua nguyên tử nitơ của vòng, nếu có một nguyên tử này. Các ví dụ bao gồm:



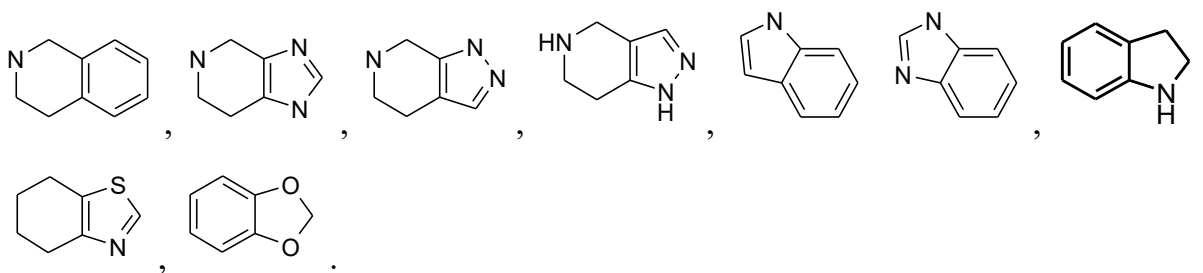
Mặc dù đã được bao gồm trong thuật ngữ "aryl", thuật ngữ "aryl hai vòng" để chỉ vòng aryl hai vòng, có 5-10 cạnh, chứa đủ liên kết đôi liên hợp để tạo thành hệ thơm. Một ví dụ về aryl hai vòng là naphthyl.

Mặc dù được bao gồm bởi thuật ngữ "heteroaryl", thuật ngữ "heteroaryl hai vòng" để chỉ vòng heteroaryl hai vòng 5-10 cạnh mà có thể chứa một, hai, ba hoặc bốn nguyên tử khác loại, được chọn từ trong số oxy, lưu huỳnh và nitơ, và chứa các liên kết đôi liên hợp đủ để tạo ra hệ thơm, trừ khi được xác định cụ thể theo cách khác.

Mặc dù được bao gồm bởi thuật ngữ "xycloalkyl hai vòng" hoặc "aryl hai vòng", thuật ngữ "xycloalkyl ngưng tụ" hoặc "aryl ngưng tụ" để chỉ vòng hai vòng trong đó cầu nối ngăn cách các vòng biểu thị liên kết đơn trực tiếp. Sau đây là các ví dụ về xycloalkyl hai vòng ngưng tụ:



Mặc dù được bao gồm bởi thuật ngữ "dị vòng hai vòng" hoặc "heteroaryl hai vòng", thuật ngữ "dị vòng hai vòng ngưng tụ" hoặc "heteroaryl hai vòng ngưng tụ" để chỉ các vòng dị vòng hai vòng 5-10 cạnh mà chứa một, hai, ba hoặc bốn nguyên tử khác loại, được chọn từ trong số oxy, lưu huỳnh và nitơ và trong đó các cầu phân tách các vòng để chỉ liên kết đơn trực tiếp. "Heteroaryl hai vòng ngưng tụ" hơn nữa còn chứa đủ các liên kết đôi liên hợp để tạo thành một hệ thơm. Các ví dụ bao gồm pyrolizin, indol, indolizin, isoindol, indazol, purin, quinolin, isoquinolin, benzimidazol, benzofuran, benzopyran, benzothiazol, benzothiazol, benzoisothiazol, pyridopyrimidin, pteridin, pyrimidopyrimidin,



"Halogen" trong phạm vi của sáng chế biểu thị flo, clo, brom hoặc iốt. Trừ khi có quy định ngược lại, flo, clo và brom được coi là các halogen ưu tiên.

Như đã nêu ở trên, các hợp chất có công thức I, II hoặc III có thể được chuyển hóa thành các muối của nó, nhất là để sử dụng ở dạng dược phẩm trong các muối chấp nhận được về mặt sinh lý và muối dược dụng của chúng. Thuật ngữ "dược dụng" được dùng ở đây để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, chế phẩm, và/hoặc dạng liều bào chế mà, trong phạm vi đánh giá xác đáng về mặt y học, thích hợp để sử dụng để tiếp xúc với mô của người và động vật mà không gây ra độc tính, sự kích ứng, đáp ứng dị ứng quá mức, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, và tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý. Các muối này một mặt có thể có mặt ở dạng muối cộng axit chấp nhận được về mặt sinh lý và muối cộng axit dược dụng của các hợp chất có công thức I, II hoặc III với các axit vô cơ hoặc hữu cơ. Mặt khác, hợp chất có công thức I, II hoặc III có thể được chuyển hóa bằng cách phản ứng với các bazơ vô cơ thành các muối sinh lý và dược dụng với các cation kim loại kiềm hoặc kiềm thổ làm ion đối. Các muối cộng axit có thể được điều chế, ví dụ sử dụng axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit phosphoric, axit metansulphonic, axit p-toluensulfonic, axit axetic, axit fumaric, axit succinic, axit lactic, axit citric, axit tartaric hoặc axit maleic. Cũng có thể sử dụng các hỗn hợp của các axit được đề cập ở trên. Để điều chế các muối kim loại kiềm và kiềm thổ của các hợp chất có công thức I, II hoặc III tốt hơn là sử dụng các hydroxit và hydrua kim loại kiềm và kiềm thổ, trong số đó, các hydroxit và hydrua của kim loại kiềm, đặc biệt là natri, kali, magie, canxi, kẽm và dietanolamin, là được ưu tiên, trong khi natri và kali hydroxit là đặc biệt được ưu tiên.

Sáng chế đề cập đến hợp chất mong muốn, tùy ý ở dạng các chất đồng phân quang học, chất đồng phân không đối quang riêng biệt, hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang, hỗn hợp của các chất đồng phân đối ảnh hoặc chất triệt quang riêng biệt, ở dạng chất hỗn biến cũng như ở dạng bazơ tự do hoặc các muối cộng axit tương ứng với

các axit được dùng - ví dụ như muối cộng axit với các axit hydrohalogenic - ví dụ, các axit clohydric hoặc axit bromhydric - hoặc các axit hữu cơ – ví dụ như axit oxalic, fumaric, diglycolic hoặc metansulfonic.

Các hợp chất có công thức I, II hoặc III phương theo sáng chế có thể tùy ý có mặt ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang nhưng có thể cũng thu được ở dạng các chất đồng phân không đối quang tinh khiết. Các hợp chất có hóa học lập thể cụ thể có công thức II và III, cụ thể là các hợp chất có hóa học lập thể có công thức II được ưu tiên.

Phương pháp tổng hợp

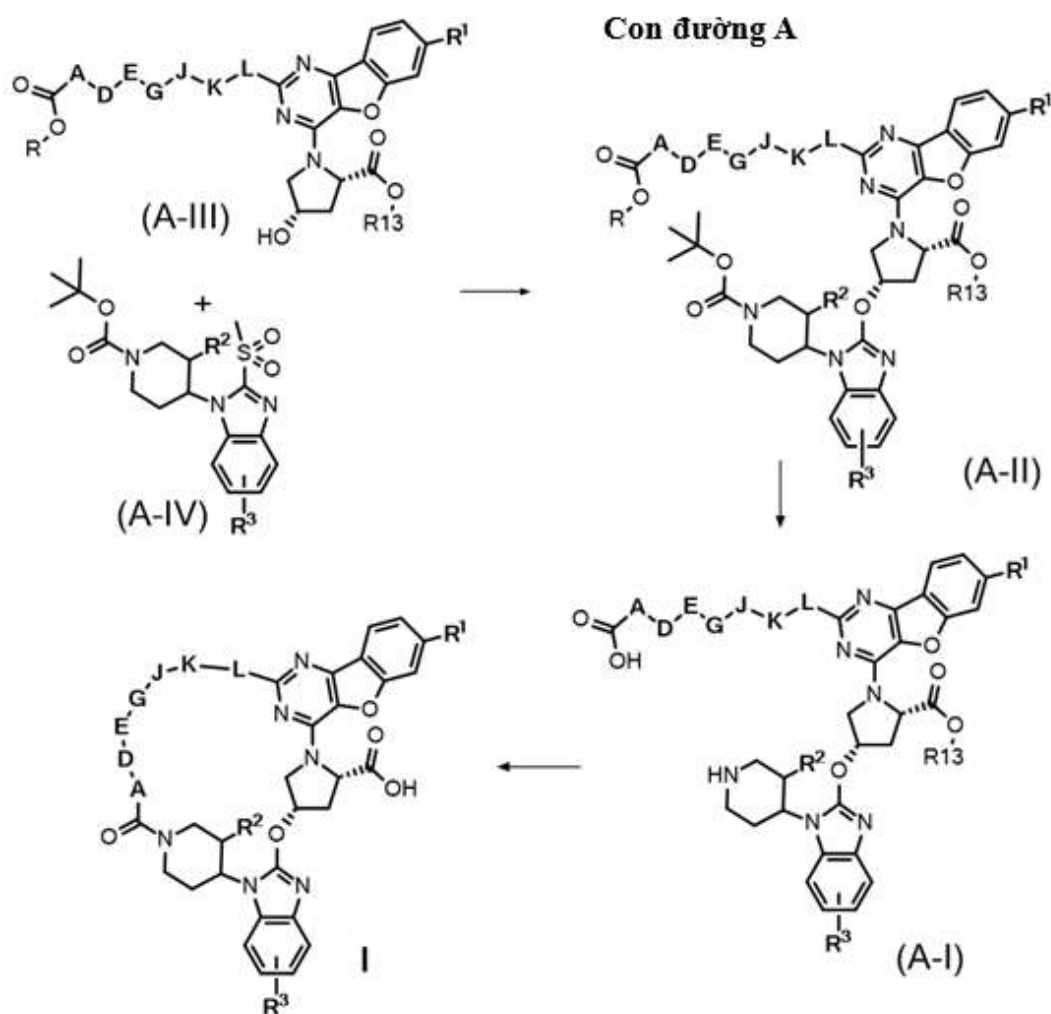
Quy trình chung

Các phương pháp sau đây thích hợp để điều chế các hợp chất có công thức chung I, II hoặc III. Các hợp chất theo sáng chế có thể thu được bằng các phương pháp tổng hợp được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến và được mô tả trong tài liệu về tổng hợp hữu cơ. Các phương pháp chung đối với các bước bảo vệ và khử nhóm bảo vệ nhóm chức được mô tả ví dụ, trong: Greene, T.W. and Wuts, P.G.M. (eds.): Protective Groups in Organic Synthesis, third edition 1999; John Wiley và Sons, Inc. Tốt hơn nếu, hợp chất thu được theo cách tương tự với phương pháp điều chế được giải thích cụ thể hơn dưới đây, cụ thể như được mô tả trong phần thử nghiệm. Các hợp chất có công thức chung (I) có thể được điều chế bằng cách sử dụng một số con đường tổng hợp thay thế, trong đó các con đường sau đây sẽ được dùng làm ví dụ.

Con đường A:

Các hợp chất có các công thức chung I, II và III, đặc biệt là khi A là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-\text{CH}_2-$ được thế, có thể được tiếp cận từ hợp chất có công thức (A-I) thông qua quy trình amit hóa tiêu chuẩn. Do đó, R13 có thể biểu thị hydro hoặc nhóm bảo vệ như ví dụ tert-butyl có thể bị loại bỏ bằng các phương pháp loại bỏ bảo vệ tiêu chuẩn. Các hợp chất có công thức (A-I) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (A-II) áp dụng phương pháp khử bảo vệ tiêu chuẩn. Các hợp chất có công thức (A-II) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (A-III) phản ứng với hợp chất có công thức (A-IV) sử dụng bazơ mạnh như ví dụ natri hydrua. Các phương pháp áp dụng để điều chế hợp chất (A-III) trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này khi tham

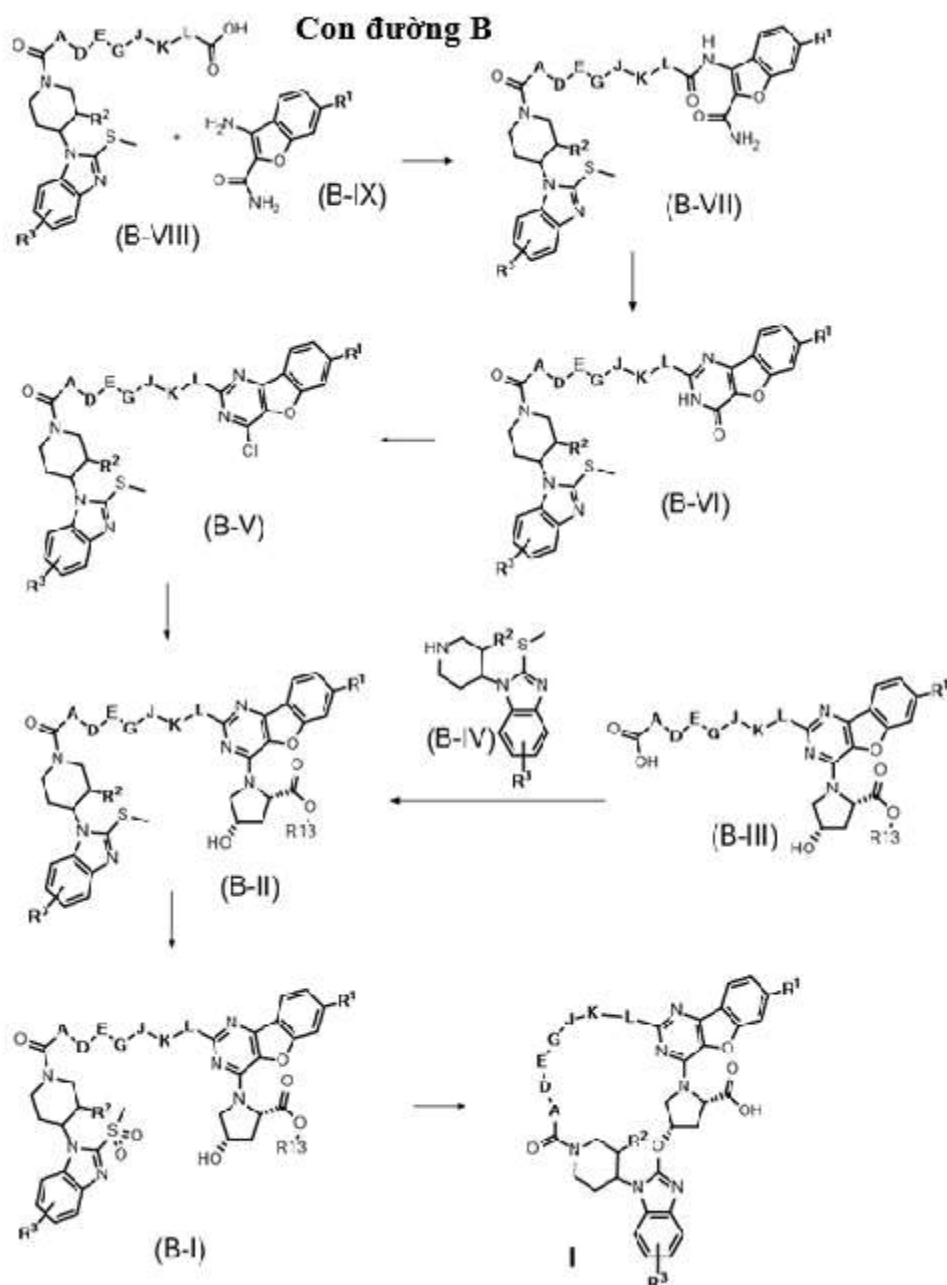
khảo các phương pháp B và C được mô tả bên dưới và các ví dụ được mô tả trong phần thực nghiệm. Các hợp chất có công thức (A-IV) có thể được điều chế thông qua các phương pháp được mô tả ở đây để tổng hợp các chất trung gian B. R theo công thức (A-II) và (A-III) có thể là hydro hoặc nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm tert-butyl, methyl, ethyl và benzyl.



Con đường B:

Các hợp chất có các công thức chung I, II và III có thể được điều chế bằng cách phản ứng với các hợp chất có công thức chung (B-I) với sự có mặt của bazơ mạnh like như natri hydrua. Do đó, R_{13} có thể biểu thị hydro hoặc nhóm bảo vệ như ví dụ tert-butyl có thể bị loại bỏ bằng các phương pháp loại bỏ bảo vệ tiêu chuẩn. Các hợp chất (B-I) có thể được điều chế bằng cách oxy hóa các hợp chất có công thức chung (B-II) sử dụng ví dụ axit 3-clo-perbenzoic. Các hợp chất (B-II) có thể được điều chế bằng cách

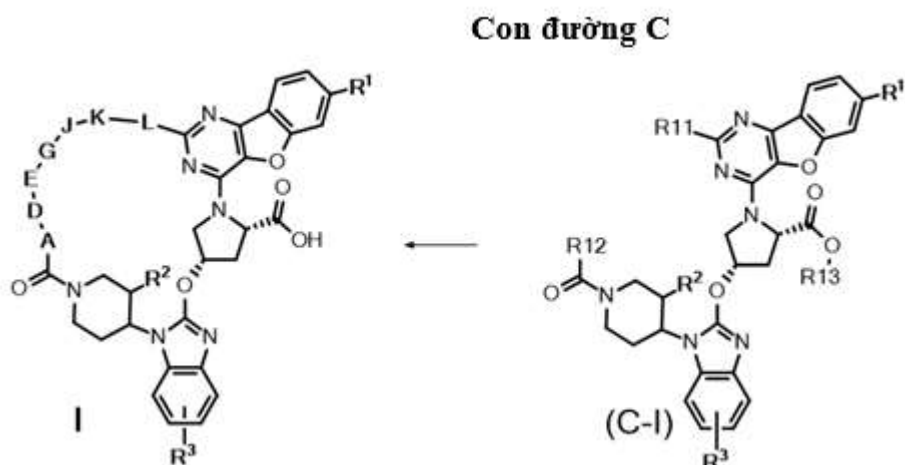
cho các hợp chất có công thức chung (B-III) phản ứng với các hợp chất có công thức chung (B-IV) áp dụng các điều kiện amit hóa tiêu chuẩn. Các phương pháp áp dụng để điều chế hợp chất (B-III) trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này khi tham khảo quá trình tổng hợp các hợp chất (B-VI) và con đường dùng C được mô tả bên dưới và các ví dụ được mô tả trong phần thực nghiệm. Các hợp chất có công thức (B-IV) có thể được điều chế thông qua các phương pháp được mô tả ở đây để tổng hợp các chất trung gian B. Theo cách khác, các hợp chất (B-II) có thể được điều chế bằng cách cho các hợp chất có công thức chung (B-V) phản ứng với hydroxyprolin tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh, tương ứng tùy ý với sự có mặt của bazơ. Các hợp chất (B-V) có thể thu được thông qua việc clo hóa các hợp chất có công thức chung (B-VI) sử dụng phosphoryl clorua. Các hợp chất (B-VI) có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức chung (B-VII) sử dụng điều kiện kiềm mạnh, ví dụ ở điều kiện nhiệt độ cao. Các hợp chất (B-VII) có thể được tạo ra bằng cách cho các hợp chất có công thức chung (B-VIII) truy cập được với các hợp chất có công thức chung (B-IX) áp dụng các quy trình amit hóa tiêu chuẩn. Các hợp chất có công thức chung (B-VIII) có thể được điều chế thông qua các phương pháp minh họa dưới đây hoặc các phương pháp tổng hợp tiêu chuẩn khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến.



Con đường C:

Các hợp chất có công thức chung có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức chung (C-I) bằng nhiều loại phản ứng đóng vòng khác nhau, như được minh họa nhưng không giới hạn ở: Phản ứng ghép nối kiểu Heck (với R¹¹ biểu thị một nguyên tử brom hoặc iốt và R¹² chứa một alken đầu cuối), phản ứng chuyển vị đóng vòng (với cả R¹¹ và R¹² chứa một alken đầu cuối) tiếp theo là quá trình hydro hóa alken thu được, amit hóa (với R¹¹ mang một axit cacboxylic và R¹² mang một nhóm amino bậc một hoặc bậc hai hoặc ngược lại). Do đó, R¹³ có thể biểu thị hydro hoặc nhóm bảo vệ như

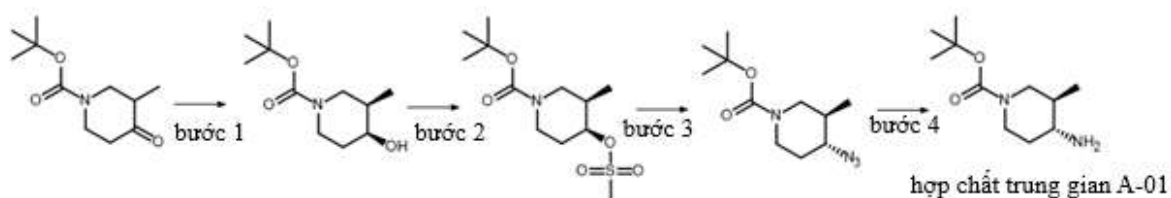
ví dụ tert-butyl có thể bị loại bỏ bằng các phương pháp loại bỏ bảo vệ tiêu chuẩn. Các phương pháp tổng hợp hợp chất (C-I) trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trình bình trong lĩnh vực này khi tham khảo các con đường A và B nêu trên và các ví dụ được mô tả trong phần thực nghiệm.



Tổng hợp các hợp chất trung gian

Các chất trung gian A

Chất trung gian A-01 (tert-butyl trans-4-amino-3-methylpiperidin-1-carboxylat triệt quang):



Bước 1:

Dung dịch tert - butyl 3 - methyl - 4 - oxopiperidin - 1 - carboxylat (175 g; 0,82 mol) trong THF (1,22 L), được làm lạnh xuống 0 °C, được bổ sung lithi-tri-sec-butyl(hydrido)borat (L-selectride; 1M trong THF; 984 mL; 0,98 mol). Hỗn hợp được khuấy trong 4 giờ trong khi giữ nhiệt độ từ 0 °C đến 10 °C. Dung dịch nước natri hypoclorit (10%; 525 mL) được bổ sung và hỗn hợp được chiết bằng EtOAc (700 mL). Lốp hữu cơ được tách ra, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat và

được bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 2% - > 50%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 3,84 - 3,82 (m, 1H), 3,52 (d, $J = 6,40$ Hz, 2H), 3,29 (d, $J = 5,40$ Hz, 2H), 3,06 - 3,02 (m, 1H), 1,76 - 1,74 (m, 3H), 1,65 (s, 9H), 1,24 - 0,89 (m, 3H)

Bước 2:

Dung dịch sản phẩm từ bước 1 (330 g; 1,53 mol) trong THF (1,65 L) được bổ sung triethylamin (341 g; 3,37 mol). Metansulfonic anhydrit (507 g; 2,91 mol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Nước (550 mL) được bổ sung và hỗn hợp được chiết bằng EtOAc (1,65 L). Lớp hữu cơ được tách ra, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat và được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm được đưa vào bước tiếp theo và không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 4,74 - 4,71 (m, 1H), 4,23 - 3,95 (m, 1H), 3,17 - 3,04 (m, 2H), 3,04 (s, 3H), 1,95 - 1,92 (m, 1H), 1,83 (s, 1H), 1,83 - 1,82 (m, 1H), 1,32 (s, 9H), 0,91 - 0,79 (m, 3H)

Bước 3:

Phản ứng trong môi trường nitơ. Dung dịch sản phẩm từ bước 2 (420 g; 1,43 mol) trong DMF (2,1 L) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng natri azit (186 g; 2,86 mol). Hỗn hợp được khuấy ở 100 °C trong 4 giờ, sau đó được làm lạnh xuống 0°C. Dung dịch natri cacbonat bão hòa (4,0 L) được bổ sung trong khi giữ nhiệt độ dưới 10 °C. Hỗn hợp được chiết bằng EtOAc, lớp hữu cơ được tách ra, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat và được bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm được đưa vào bước tiếp theo và không cần tinh chế thêm.

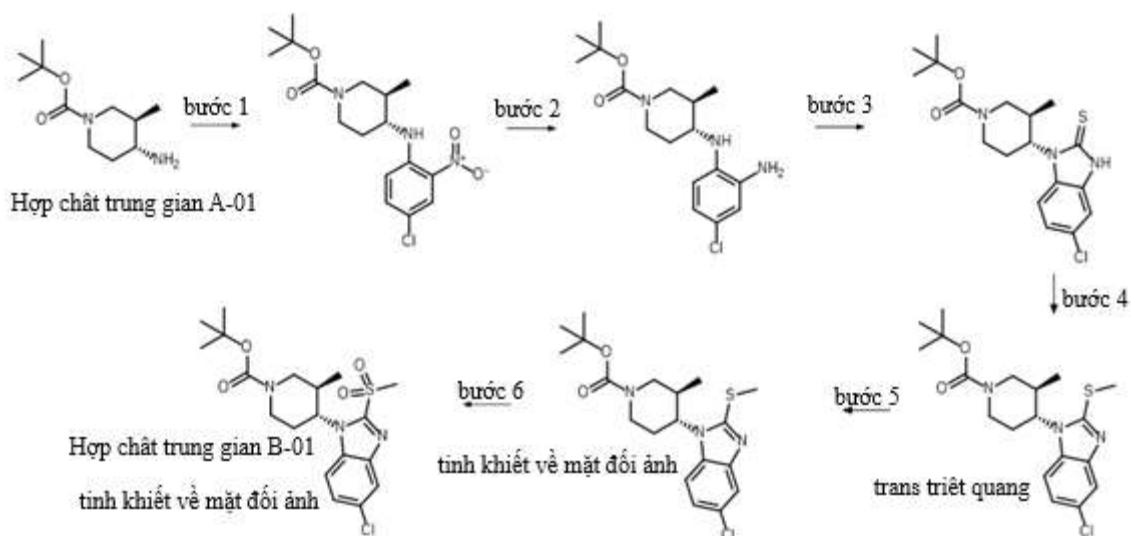
Bước 4:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 3 (200 g; 0,83 mol), paladi trên than (60 g) và EtOAc (1,0 L) được khuấy dưới áp suất hydro (50 psi) ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Chất xúc tác được lọc bằng cách hút và rửa bằng metanol (2 L). Dịch lọc kết hợp được cô đặc dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 0% -> 100%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,85 (s, 1 H) 3,99 - 3,74 (m, 2 H), 2,81 - 2,79 (m, 2H), 2,71 (s, 1 H), 2,72 - 2,70 (m, 1 H), 2,64 - 2,52 (m, 1 H), 2,25 - 2,16 (m, 2 H), 1,66 - 1,57 (m, 1 H), 1,35 - 1,30 (m, 2 H), 1,30 - 1,27 (m, 8 H), 1,17 - 1,06 (m, 2 H), 0,83 - 0,78 (m, 3 H), 0,75 - 0,71 (m, 1 H)

Hợp chất trung gian B

Hợp chất trung gian B-01



Bước 1:

Hỗn hợp của hợp chất trung gian A-01 (2. g; 9,97 mmol), 5-clo-2-flonitrobenzen (1,21 mL; 9,97 mmol), DIPEA (3,43 mL; 19,9 mmol) và DMF (17 mL) được khuấy ở 60 °C cho đến khi phản ứng kiểm soát bằng RP HPLC chỉ ra sự chuyển hóa chủ yếu của nguyên liệu khởi đầu (10 giờ). Hỗn hợp đã được đổ vào nước đá. Thêm nước được bổ sung và hỗn hợp được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước và sau đó bằng nước muối, tách ra, được làm khô bằng magie sulfat, được lọc và cô đặc. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; xyclohexan/EtOAc 20% -> 100%) để thu được tert - butyl (rac-trans) - 4 - [(4-clo - 2 - nitrophenyl)amino] - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

ESI-MS: 392 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

R_t (HPLC): 0,83 phút (phương pháp A)

Bước 2:

Sản phẩm từ bước 1 (3,25 g; 7,90 mmol), niken Raney (410 mg) và THF (60 mL) được lắc trong thiết bị Parr dưới áp suất hydro (50 psi) trong 5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Thêm niken Raney (160 mg) được bổ sung nhiều lần sau mỗi 10-15 giờ nữa, cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng RP HPLC cho thấy sự chuyển hóa cao của nguyên liệu khởi đầu (ở đây: thêm chất xúc tác 3 lần). Chất xúc tác được lọc và dịch lọc được cho bay hơi. Sản phẩm thô được đưa vào bước tiếp theo.

ESI-MS: 340 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,63 phút (phương pháp A)

Bước 3:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 2 (2,16 g; 6,37 mmol), 1-(1H-imidazol-1-carbothioyl)-1H-imidazol (1,47 g; 8,25 mmol) và DMF (34 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Nước đá (200 mL) được bổ sung từ từ vào hỗn hợp phản ứng trong khi khuấy và việc khuấy được tiếp tục trong 10 phút nữa. Chất kết tủa được lọc, được rửa bằng nước, được làm khô qua đêm ở 50 °C và được đưa vào bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

ESI-MS: 382 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,71 phút (phương pháp A)

Bước 4:

Phản ứng trong môi trường Argon. Dung dịch sản phẩm từ bước 3 (2,57 g; 6,26 mmol) trong DMF khan được bổ sung kali tert-butyilat (1,42 g; 12,7 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút, sau đó iodometan (597 µL; 9,49 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng RP HPLC chỉ ra sự chuyển hóa gần như hoàn toàn của nguyên liệu khởi đầu (2 giờ). Nước đá (100 mL) được bổ sung và hỗn hợp được giữ ở 6 °C qua đêm. Chất kết tủa hình thành được lọc bỏ, đưa vào EtOAc, cô đặc dưới áp suất giảm và sấy khô bằng cách đồng bay hơi với toluen để thu được tert - butyl (trans) - 4 - [5-clo - 2 - (metylsulfanyl) - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl] - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat triệt quang.

ESI-MS: 396 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,73 phút (phương pháp A)

Bước 5:

Hỗn hợp của các chất đồng phân đối ảnh từ bước 4 được tách ra bằng SFC điều chế (thiết bị: Sepiatec 2 Prep SFC 100; Cột: Lux Xenluloza-2 (21,2 mm * 250mm, 5µm); pha động: A đối với CO₂ và B đối với IPA; Gradient: B% = 20% chế độ rửa giải đẳng dòng; tốc độ dòng: 60 mL/phút; Chiều dài bước sóng: 220nm; nhiệt độ cột: 40 độ C; Áp suất ngược của hệ thống 150 bar).

Cấu hình tuyệt đối của hai chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ được chỉ định dựa trên cấu trúc đồng tinh thể của hợp chất ví dụ 1.01 với protein cGAS người theo phương pháp được mô tả bằng D. J. Patel et al, PNAS 2019, 11946-11955 (doi.org/10.1073/pnas.1905013116).

¹H NMR (của chất đồng phân rửa giải thứ nhất) (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,46 - 7,69 (m, 1 H), 7,10 - 7,26 (m, 1 H), 7,17 (br d, *J*=6,84 Hz, 1 H), 3,87 - 4,22 (m, 3 H), 2,87 - 3,06 (m, 1 H), 2,57 - 2,79 (m, 4 H), 2,31 - 2,45 (m, 1 H), 2,13 - 2,30 (m, 1 H), 1,80 (br d, *J*=11,79 Hz, 1 H), 1,45 (s, 9 H), 0,58 (d, *J*=6,46 Hz, 3 H)

Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được đưa vào bước tiếp theo. Từ chất đồng phân rửa giải thứ hai, hợp chất trung gian B-02 được điều chế.

Bước 6:

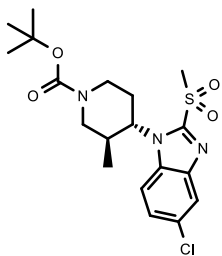
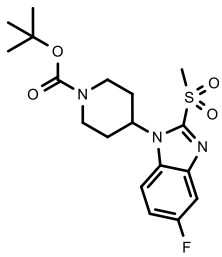
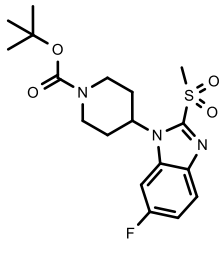
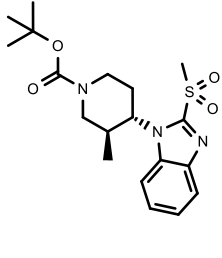
Dung dịch chất đồng phân rửa giải thứ nhất từ bước 5 (811 mg; 2,05 mmol) trong DCM (11,8 mL) được bổ sung axit 3-cloperoxybenzoic (77%; 0,987 g; 4,40 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ, sau đó được pha loãng bằng DCM tiếp theo và rửa bằng dung dịch kali cacbonat bão hòa (15%). Lớp nước được chiết lại bằng DCM và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, tách ra, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

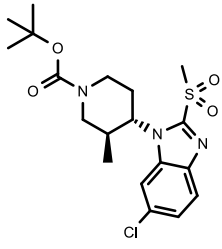
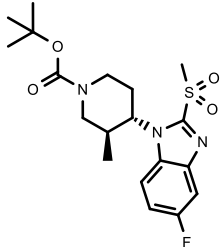
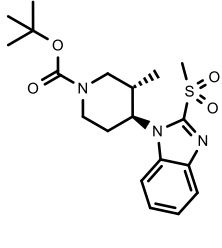
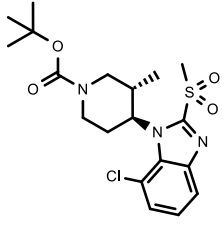
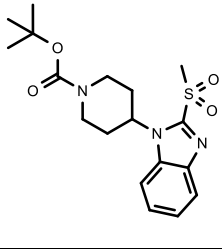
ESI-MS: 428 [M+H]⁺

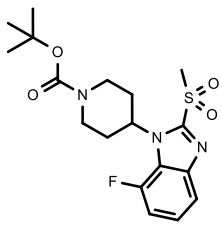
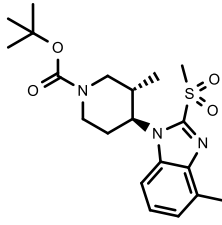
R_t (HPLC): 0,74 phút (phương pháp A)

Các chất trung gian sau đây được chuẩn bị tương tự như Chất trung gian 1.01 được mô tả ở trên từ các nguyên liệu ban đầu đã chỉ định. Nhờ đó, nhiệt độ phản ứng ở bước 1 được điều chỉnh theo khả năng phản ứng của từng nguyên liệu đầu vào

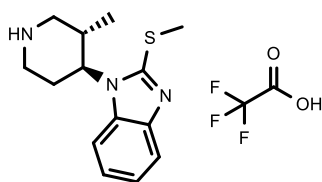
nitrobenzen. Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất trung gian được chọn được chỉ định từ cấu trúc đồng tinh thể của hợp chất ví dụ được điều chế từ hợp chất trung gian tương ứng với protein cGAS người theo phương pháp được mô tả bằng D. J. Patel et al, PNAS 2019, 11946-11955 (doi.org/10.1073/pnas.1905013116). Cấu hình tuyệt đối của các chất trung gian và ví dụ khác được xác định dựa trên giả định rằng các eutome có cùng cấu trúc lập thể tuyệt đối trong mọi trường hợp.

Int.	Nguyên liệu ban đầu	Cấu trúc	ESI-MS	R _t (HPLC) (phương pháp)	Bình luận về tính đối xứng
B-02	A-01 và 5-clo-2-flo-nitrobenzen		428 [M+H] ⁺	0,74 phút (A)	Chất đồng phân rửa giải thứ hai trong bước 5 được đưa vào bước 6.
			SFC không đối xứng: Điều kiện được mô tả trong Bước 5		
B-03	4-amino-1-BOC-piperidin và 2,5-diflo-nitrobenzen		398 [M+H] ⁺	0,66 phút (A)	bất đối
			bất đối		
B-04	4-amino-1-BOC-piperidin và 2,4-diflo-nitrobenzen		398 [M+H] ⁺	0,66 phút (A)	bất đối
			bất đối		
B-05	A-01 và 2-flo-nitrobenzen		394 [M+H] ⁺	0,65 phút (A)	Chất đồng phân rửa giải thứ nhất trong bước 5 được đưa vào bước 6.
			SFC không đối xứng: EtOH(20 mM NH ₃)/CO ₂ = 10/90; cột: CHIRAL ART Xenluloza-SZ 20 x 250 mm, 5µm; CT: 40°C; BPR: 150 bar, dòng: 60 mL/phút		
B-06			428	0,74 phút (A)	Chất đồng phân rửa giải thứ nhất trong

	A-01 và 4-clo-2-flo-nitrobenzen		[M+H] +		bước 5 được đưa vào bước 6.
			SFC không đối xứng: IPA/CO ₂ = 10/90; cột: CHIRAL ART Xenluloza-SZ 20 x 250 mm, 5µm; CT: 40°C; BPR: 150 bar, dòng: 60 mL/phút		
B-07	A-01 và 2,5-diflo-nitrobenzen		412 [M+H] +	0,69 phút (A)	Các chất đồng phân được tách ra sau bước cuối cùng thứ 6. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất là B-07.
			HPLC bất đối: EtOH/Heptan = 35/65; cột: DAICEL Chiralpak IG 50 x 250 mm, 10 µm		
B-08	A-01 và 2-flo-nitrobenzen		394 [M+H] +	0,65 phút (A)	Không có sự phân tách bất đối của các chất đồng phân đối ảnh. Chất triệt quang được đưa vào bước 6.
			Chất triệt quang, trans		
B-09	A-01 và 3-clo-2-flo-nitrobenzen		428 [M+H] +	1,09 phút (D)	Không có sự phân tách bất đối của các chất đồng phân đối ảnh. Chất triệt quang được đưa vào bước 6.
			Chất triệt quang, trans		
B-10	4-amino-1-BOC-piperidin và 2-flo-nitrobenzen		380 [M+H] +	0,62 phút (A)	bất đối
			bất đối		
B-11	4-amino-1-BOC-piperidin và		398 [M+H] +	0,65 phút (A)	bất đối

	2,3-diflo-nitrobenzen		bất đối		
B-13	A-01 và 2-flo-6-metyl-nitrobenzen		408 [M+H] +	0,72 phút (A)	Không có sự phân tách bất đối của các chất đồng phân đối ảnh. Chất triệt quang được đưa vào bước 6.
			Chất triệt quang, trans		

Hợp chất trung gian B-12



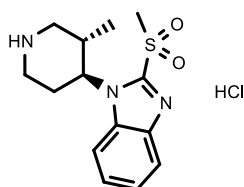
(Trans triệt quang)

Sản phẩm từ bước 4 của quá trình tổng hợp hợp chất trung gian B-08 được được khử bảo vệ BOC theo quy trình tổng hợp chung D.

ESI-MS: 262 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,47 phút (phương pháp E)

Hợp chất trung gian B-14



HCl

(Trans triệt quang)

Hỗn hợp của hợp chất trung gian B-08 (700 mg; 1,78 mmol) và axit clohydric trong dioxan (4 M; 1,33 mL; 5,45 mmol) được khuấy trong 2 giờ. tert-butyl methyl ete (20 mL) được bổ sung và hỗn hợp được để yên mà không khuấy trong 1 giờ. Chất kết tủa được

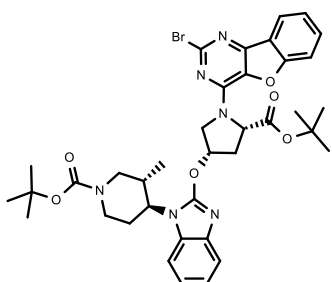
lọc và được cho vào metanol. Dung dịch thu được được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 294 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,60 phút (phương pháp E)

Các hợp chất trung gian I

Hợp chất trung gian I.01

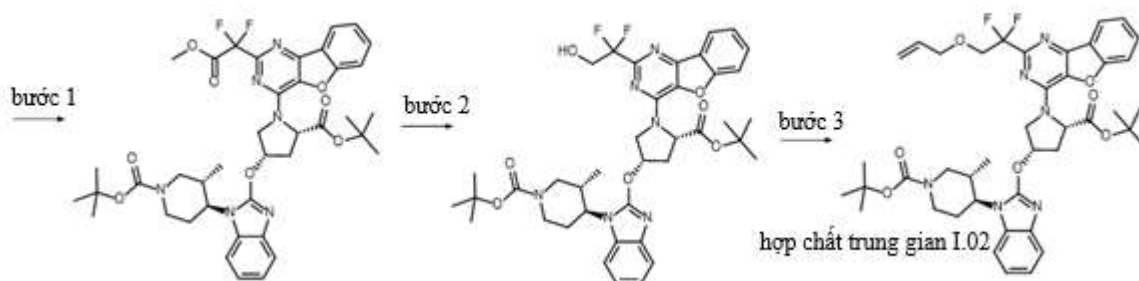


Hợp chất trung gian N-R được phản ứng với hợp chất trung gian B-5 theo quy trình tổng hợp chung A để thu được hợp chất nêu ở đề mục tert - butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[[(3S,5S) - 1 - {4 - bromo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl} - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl]pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

ESI-MS: 747 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,27 phút (phương pháp B)

Hợp chất trung gian I.02



Bước 1:

Phản ứng được thực hiện trong môi trường khí argon, dung môi được khử khí và sấy khô thông qua việc bổ sung rây phân tử. Hợp chất trung gian I.01 (721 mg; 0,916

mmol) trong bình đáy tròn được bổ sung DMSO (10 ml), methyl bromodifloaxetat (266 μ L; 2,42 mmol) và bột đồng (291 mg; 4,58 mmol). Hỗn hợp được khuấy qua đêm, sau đó thêm 1 đương lượng methyl bromodifloaxetat và thêm hai đương lượng đồng được bổ sung. Sau khi khuấy 72 giờ nữa, hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc, dung dịch kali dihydro phosphat (1,27 M; 20 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút nữa trước khi lọc. Lớp hữu cơ của chất lọc được rửa bằng nước, được cô đặc và sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; CH/EtOAc 10% $\rightarrow$ 100%) để thu được tert-butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - [4 - (1,1 - diflo - 2 - metoxy - 2 - oxoetyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl]pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - methylpiperidin - 1 - carboxylat.

Bước 2:

Sản phẩm từ bước 1 (585 mg; 0,647 mmol) trong ethanol tuyệt đối (được làm khô bằng rây phân tử 3 Å) được bổ sung trong các phần trong 1 giờ natri bohydrua (244 mg; 6,40 mmol). Phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung nước, hỗn hợp được chiết ba lần bằng EtOAc, và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước và sau đó nước muối, tách ra và được làm khô bằng magie sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; CH/EtOAc 20% $\rightarrow$ 100%) để thu được tert-butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - [4 - (1,1 - diflo - 2 - hydroxyetyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl]pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - methylpiperidin - 1 - carboxylat.

Bước 3:

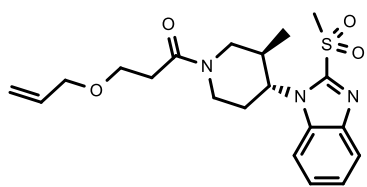
Dung dịch sản phẩm từ bước 2 (269 mg; 0,359 mmol) và allyl bromua (220 μ L; 2,52 mmol) trong DMA (1,67 mL) được bổ sung natri hydrua (55% trong dầu khoáng; 47 mg; 1,08 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 10 phút, sau đó được làm ngừng bằng bổ sung nước. Hỗn hợp được chiết ba lần bằng EtOAc, và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước và sau đó nước muối, tách ra và được làm khô bằng magie sulfat, được

lọc và được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; CH/EtOAc 20% -> 100%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục tert - butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - {4 - [1,1 - diflo - 2 - (prop - 2 - en - 1 - yloxy)ethyl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl}pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

ESI-MS: 789 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,29 phút (phương pháp B)

Hợp chất trung gian I.03



(hỗn hợp triệt quang của các chất đồng phân trans)

Dung dịch axit 3-allyloxypropionic (38 µL; 0,303 mmol) trong DMF (500 µL) được bổ sung EDC hydroclorua (70 mg; 0,364 mmol) và N,N-diisopropyletylamin (105 µL; 0,606 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 10 phút, sau hợp chất trung gian B-14 (100 mg; 0,303 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 90 phút, sau đó được pha loãng bằng metanol (2 mL) và tiến hành tinh chế bằng RP HPLC (Sunfire C18; ACN/nước, chất cải biến: TFA).

ESI-MS: 406 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,88 phút (phương pháp E)

Các hợp chất trung gian N

Các quá trình tổng hợp được mô tả dưới đây một phần được thực hiện theo các quy trình chung sau đây.

Quy trình chung Int-A: Hydro hóa bằng chất xúc tác Pd/C (xem: Hợp chất trung gian N-A, bước 4)

Quy trình chung Int-B: Đóng vòng trong điều kiện bazơ (xem: Hợp chất trung gian N-A, bước 5)

Quy trình chung Int-C: Áp dụng clo hóa phosphoryl trichlorua (xem: Hợp chất trung gian N-A, bước 7)

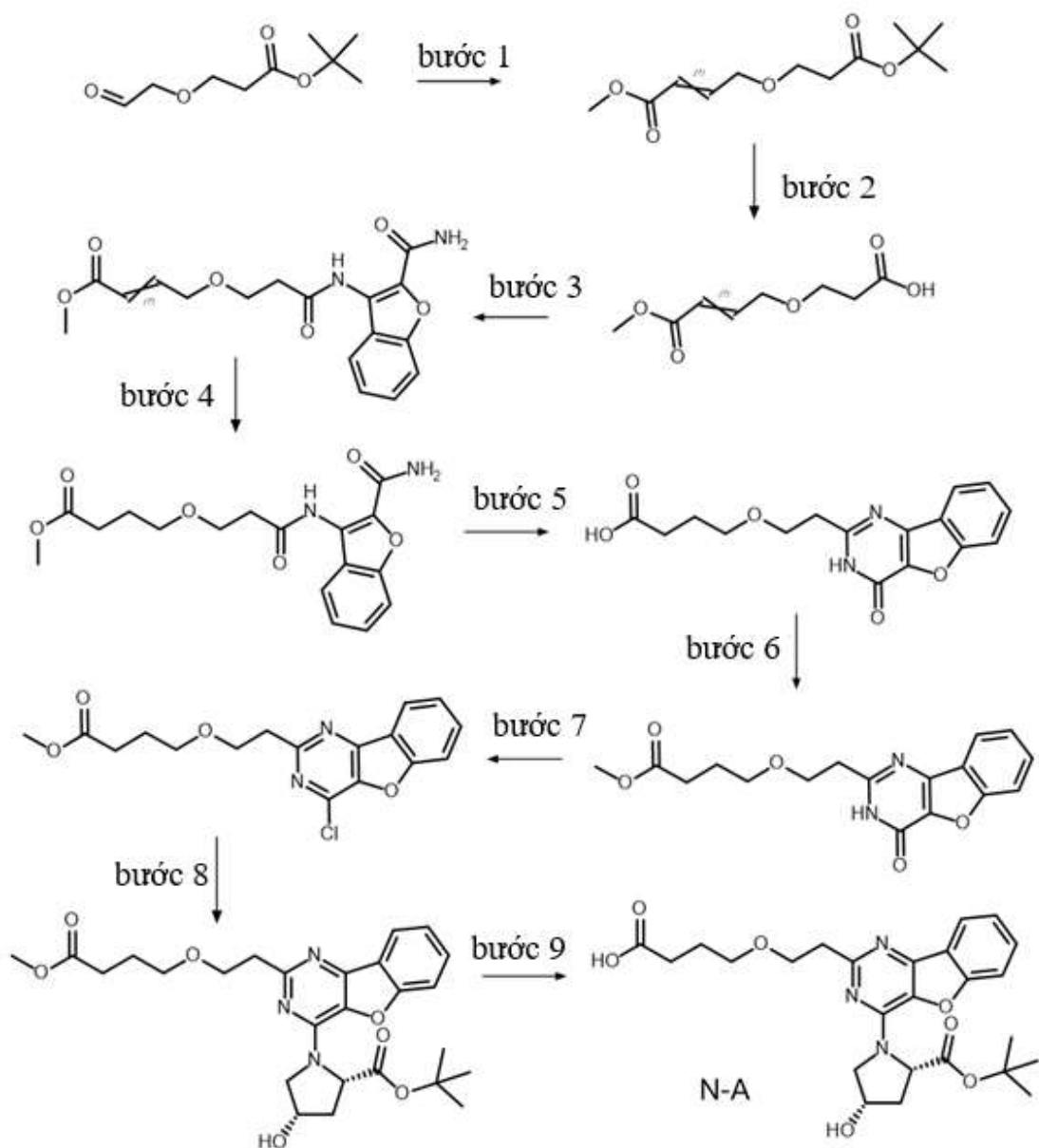
Quy trình chung Int-D: S_NAr với hydroxyprolin este (xem: Hợp chất trung gian N-A, bước 8)

Quy trình chung Int-E: Phân cắt este bằng lithi hydroxit (xem: Hợp chất trung gian N-F, bước 2)

Quy trình chung Int-F: Amit hóa sử dụng PFTU (xem: Hợp chất trung gian N-F, bước 3)

Quy trình chung Int-G: Ghép nối loại Heck (xem: Hợp chất trung gian N-J, bước 1)

Hợp chất trung gian N-A:



Bước 1:

Hỗn hợp của tert-butyl 3-(2-oxoethoxy)propanoat (7,25 g; 38,5 mmol) được điều chế như được mô tả trong EP2409977, và methyl (triphenylphosphoranylidene)acetat (13,1 g; 38,5 mmol) trong DCM (200 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp được bay hơi dưới điều kiện giảm và được cho vào trong CH/EtOAc (3:1). Các chất không hòa tan được loại bỏ bằng cách lọc và dịch lọc được cho bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; CH/EtOAc 10% → 45%) để thu được sản phẩm là hỗn hợp của các chất đồng phân cis- và trans-.

Bước 2:

Sản phẩm từ bước 1 (1,50 g; 6,14 mmol) được khuấy trong hỗn hợp của DCM (15 mL) và TFA (10 mL) qua đêm. Hỗn hợp được bay hơi và được cho vào trong metanol (10 mL). Tetraalkylamonicacbonat được liên kết polyme (2 đương lượng khối lượng) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 90 phút. Các chất không tan được lọc và dịch lọc được cho bay hơi.

Bước 3:

Dung dịch sản phẩm từ bước 2 (5,00 g; 21,3 mmol) trong ACN (140 mL) được bổ sung 1-clo-N,N,2-trimetylpropenylamin (4,45 mL; 33,6 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, sau đó pyridin (5,10 mL; 63,0 mmol) và 3-aminobenzofuran-2-carboxamit (3,70 g; 21,0 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, sau đó nước được bổ sung. Hỗn hợp được chiết bằng DCM và lớp hữu cơ được tách ra và được bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế lần thứ nhất bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 40% -> 80%) và lần thứ hai bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA).

ESI-MS: 347 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 phút (phương pháp E)

Bước 4: Quy trình chung Int-A:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 3 (3,40 g; 9,73 mmol), paladi trên than (10%; 350 mg) và etanol (500 mL) được lắc dưới áp suất hydro (50 psi) cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng RP HPLC chỉ ra sự chuyển hóa của nguyên liệu khởi đầu (ở đây: 90 phút). Chất xúc tác được lọc và dịch lọc được cho bay hơi đến khô.

ESI-MS: 349 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,81 phút (phương pháp E)

Bước 5:

Quy trình chung Int-B:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 4 (4,55 g; 13,1 mmol) và dung dịch natri hydroxit (4 M; 100 mL; 400 mmol) được khuấy ở 60 °C cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng RP HPLC chỉ ra sự chuyển hóa của nguyên liệu ban đầu (ở đây: 60 phút). Hỗn hợp được

làm lạnh xuống nhiệt độ phòng và sau đó được axit hóa bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric (4 M). Kết tủa được lọc và làm khô ở 60 °C.

ESI-MS: 317 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,73 phút (phương pháp E)

Bước 6:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 5 (3,53 g; 11,2 mmol), DCM (60 mL), và vài giọt DMF được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng oxalyl clorua (1,24 mL; 14,5 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, sau đó metanol được bổ sung và tiếp tục khuấy trong 60 phút nữa. Hỗn hợp được chiết bằng nước và lớp hữu cơ được tách ra và được bay hơi đến khô.

ESI-MS: 331 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,82 phút (phương pháp E)

Bước 7:

Quy trình chung Int-C:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 6 (3,70 g; 11,2 mmol) và phosphoryl trichlorua (70 mL) được khuấy ở 90 °C trong 4 giờ. Phosphoryl trichlorua dư thừa được loại bỏ bằng cách chưng cất và nước được bổ sung cẩn thận. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EtOAc, lớp hữu cơ được tách ra và được bay hơi. Sản phẩm thô được đưa vào bước tiếp theo.

ESI-MS: 349 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,02 phút (phương pháp E)

Bước 8:

Quy trình chung Int-D:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 7 (300 mg; 0,896 mmol), tert - butyl (2S,4S) - 4 - hydroxypyrolidin - 2 - carboxylat hydroclorua (253 mg; 1,08 mmol), kali cacbonat bão hòa (300 mg; 2,06 mmol) và DMF (7,0 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Nước được bổ sung và hỗn hợp được axit hóa bằng cách bổ sung dung dịch axit

clohydric (1 M). Hỗn hợp được chiết bằng EtOAc, lớp hữu cơ được bay hơi và sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 40% -> 75%)

ESI-MS: 500 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,75 phút (phương pháp E)

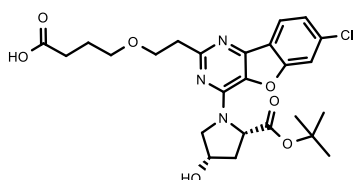
Bước 9:

Sản phẩm từ bước 8 được phản ứng theo quy trình chung Int-E để thu được hợp chất tiêu đề được phân cắt este.

ESI-MS: 486 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,70 phút (phương pháp E)

Hợp chất trung gian N-B:

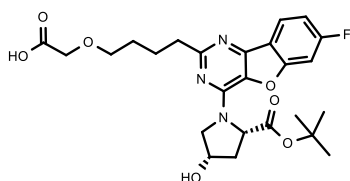


được điều chế tương tự như trình tự được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-A, sử dụng 3-amino-6-clo-1-benzofuran-2-carboxamit trong bước 3.

ESI-MS: 520 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,50 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-C:



Việc điều chế được thực hiện từ hợp chất trung gian N-V và axit 2 - (but - 3 - en - 1 - yloxy)axetic sử dụng trình tự hai bước:

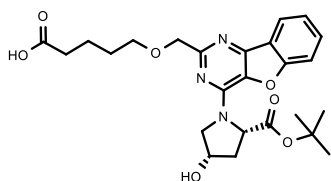
Bước 1: theo quy trình tổng hợp chung Int-G

Bước 2: theo quy trình tổng hợp chung Int-A để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 504 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,45 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-D:

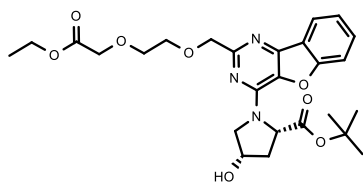


Được điều chế tương tự như trình tự được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-A, bắt đầu từ tert - butyl 2 - (3 - oxopropoxy)axetat được điều chế như được mô tả trong EP1939201.

ESI-MS: 486 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,71 phút (phương pháp E)

Hợp chất trung gian N-E:



Bước 1:

Hỗn hợp của 3-aminobenzofuran-2-carboxamid (2,00 g; 11,4 mmol), etyl 2 - [2 - (2 - etoxy - 2 - oxoetoxo)etoxo]axetat (5,32 g; 22,7 mmol) và 1H,2H,3H,4H,6H,7H,8H - [1,3]diazino[1,2 - a]pyrimidin (6,45 g; 45,4 mmol) được gia nhiệt đến 120 °C trong 150 phút. Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng, dung dịch axit clohydric (1M; 70 mL) được bổ sung. Chất kết tủa được lọc bằng cách hút, được rửa bằng nước và làm khô trong chân không ở 60 °C để thu được hỗn hợp của etyl 2 - [2 - ({6 - oxo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,10,12 - pentaen - 4 - yl}metoxo)etoxo]axetat và axit tự do tương ứng được đưa vào bước tiếp theo.

Bước 2:

Để tái este hóa axit, hỗn hợp từ bước 1 (2,8 g) được hòa tan trong DCM (200 mL). 2 giọt DMF được bổ sung, sau đó bổ sung oxalyl clorua (392 µL, 4,57 mmol). Hỗn

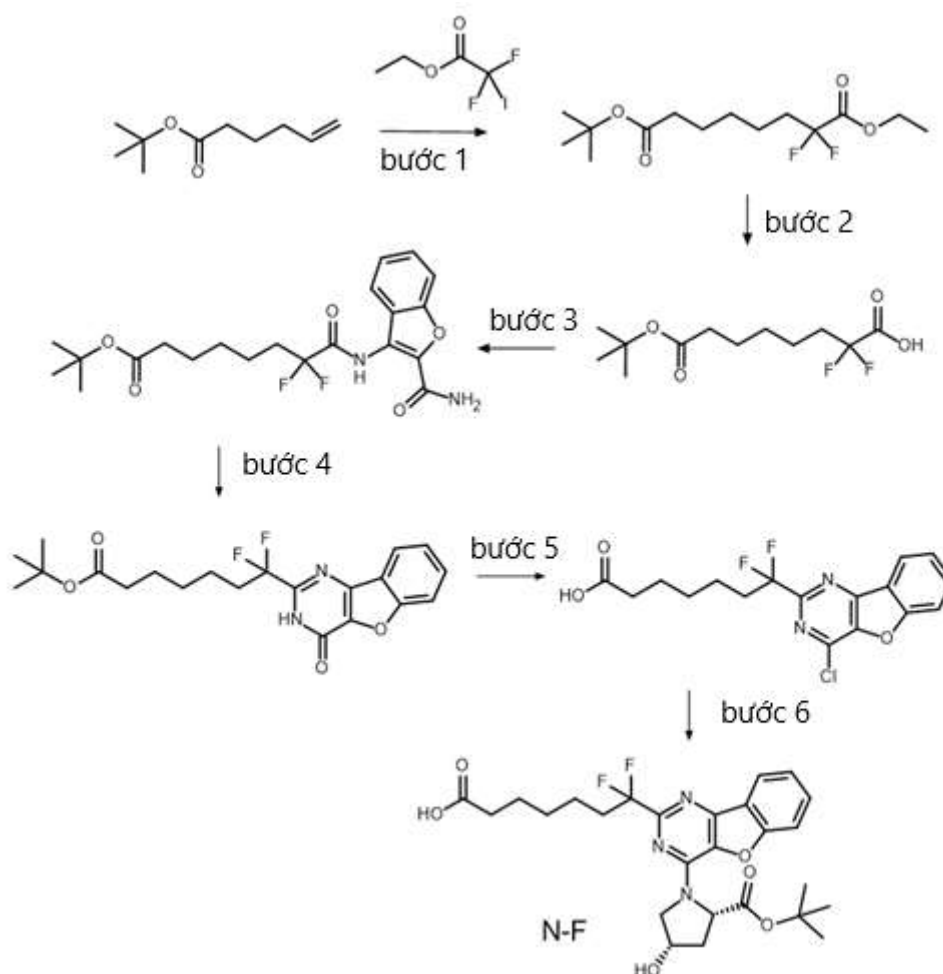
hợp được khuấy qua đêm, sau đó ethanol (10 mL) được bổ sung, và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ nữa. Hỗn hợp được cô đặc dưới áp suất giảm. Metyl tert-butyl ete được bổ sung và kết tủa tạo thành được rửa bằng nước metyl tert-butyl ete và được làm khô ở 50 °C để thu được etyl 2 - [2 - ({6 - oxo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,10,12 - pentaen - 4 - yl}metoxy)etoxy]axetat.

Sản phẩm từ bước 2 được phản ứng tiếp trong quy trình hai bước theo quy trình chung thứ nhất Int-C và sau đó là Int-D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 516 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 phút (phương pháp E)

Hợp chất trung gian N-F:



Bước 1:

Bột kẽm đã sử dụng được rửa bằng nước dung dịch axit clohydric 2 %, nước và axeton trước khi sử dụng. Bột đã tinh chế được làm khô trong chân không cao và được bảo quản dưới argon. Một bình được nạp bột kẽm (2,44 g; 36,9 mmol), niken(II)clorua hexahydrat (0,754 g; 3,14 mmol), THF (35,0 mL) và 3 giọt nước và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, tert - butyl hex - 5 - enoat (4,63 g; 18,5 mmol; được điều chế như được mô tả trong WO2010/15447) được bổ sung trong một phần và ethyl iodofloaxetat (2,80 mL; 18,5 mmol) được bổ sung nhỏ giọt (phản ứng tỏa nhiệt trong quá trình bổ sung) trong khi nhiệt độ được giữ ở mức dưới 30 °C. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ ở 60 °C. Hỗn hợp phản ứng được rót vào hỗn hợp của dung dịch amoni clorua bão hòa (100 mL) và diethyl ete (100 mL) và được khuấy trong 10 phút. Sau đó, hỗn hợp được lọc qua đệm xelit và sau khi tách pha, pha nước được chiết bằng diethyl ete. Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, được làm khô bằng natrisulfat, được lọc và được bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; CH/DCM 10 % -> 100 %).

ESI-MS: 312 $[M+NH_4]^+$

R_t (HPLC): 0,78 phút (phương pháp A)

Bước 2:

Quy trình chung Int-E:

Lithi hydroxit (276 mg; 11,0 mmol) được bổ sung vào dung dịch sản phẩm từ bước 1 trong THF/H₂O có tỷ lệ 2:1 và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng RP HPLC chỉ ra việc tiêu thụ nguyên liệu khởi đầu (ở đây: 2,5 giờ). Các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không, phần còn lại được axit hóa đến pH = 1 bằng cách thêm 5,50 mL dung dịch axit clohydric 1N và hỗn hợp được chiết xuất bằng EtOAc ba lần. Pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natrisulfat, được lọc và được bay hơi.

ESI-MS: 211 $[M\text{-isobuten}+H]^+$

R_t (HPLC): 0,59 phút (phương pháp A)

Bước 3:

Quy trình chung Int-F:

Ở nhiệt độ phòng, PFTU (2,40 g; 5,60 mmol) được bổ sung vào dung dịch sản phẩm được khuấy từ bước 2 (1,40 g; 5,09 mmol) và DIPEA (970 μ L; 5,60 mmol) trong DMF (21,0 mL) và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Sau đó, 3-aminobenzofuran-2-carboxamit (1,01 g; 5,60 mmol) và thêm DIPEA (970 μ L; 5,60 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 50 °C và được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ này. khi kiểm soát phản ứng bằng RP HPLC chỉ ra việc tiêu thụ không hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu, DIPEA bổ sung (441 μ L; 2,80 mmol) và PFTU (0,86 g; 2,04 mmol) được bổ sung và khuấy ở 50 °C tiếp tục trong 2,5 giờ nữa. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước, axit hóa bằng TFA, được lọc được tinh chế bằng phương pháp RP HPLC (XBridge C18; ACN/nước; chất cải biến: TFA).

ESI-MS: 425 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,72 phút (phương pháp A)

Bước 4:

Ở nhiệt độ trong phòng, chlorotrimethylsilan (4,05 mL; 30,3 mmol) được bổ sung từ từ vào dung dịch sản phẩm từ bước 3 (950 mg; 2,13 mmol và TEA (13,0 mL; 92,4 mmol) trong 1,2-dicloetan (28,5 mL). Sau khi việc bổ sung hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 85 °C và được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ này. Hỗn hợp phản ứng được rót vào 30 mL axit clohydric 4 M (pH = 1) và được chiết bằng DCM hai lần. Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được bay hơi để thu được tert - butyl 7,7 - diflo - 7 - {6 - oxo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),3,9,11 - pentaen - 4 - yl}heptanoat.

ESI-MS: 405 [M-H]⁻

R_t (HPLC): 0,44 phút (phương pháp F)

Bước 5:

Sản phẩm từ bước 4 được chuyển hóa thành sản phẩm được clo hóa sử dụng quy trình chung Int-C, sau đó tinh chế bằng RP-HPLC (XBridge C18; ACN/nước; chất cải biến: TFA)

ESI-MS: 367 [M-H]⁻

R_t (HPLC): 0,64 phút (phương pháp A)

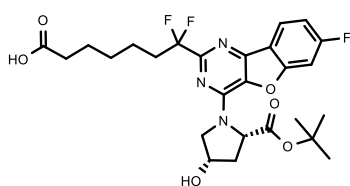
Bước 6:

Sản phẩm từ bước 6 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung Int-D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 520 [M+H]⁺

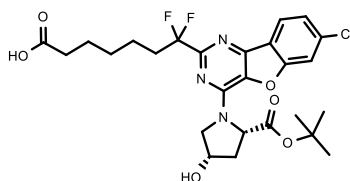
R_t (HPLC): 0,61 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-G:



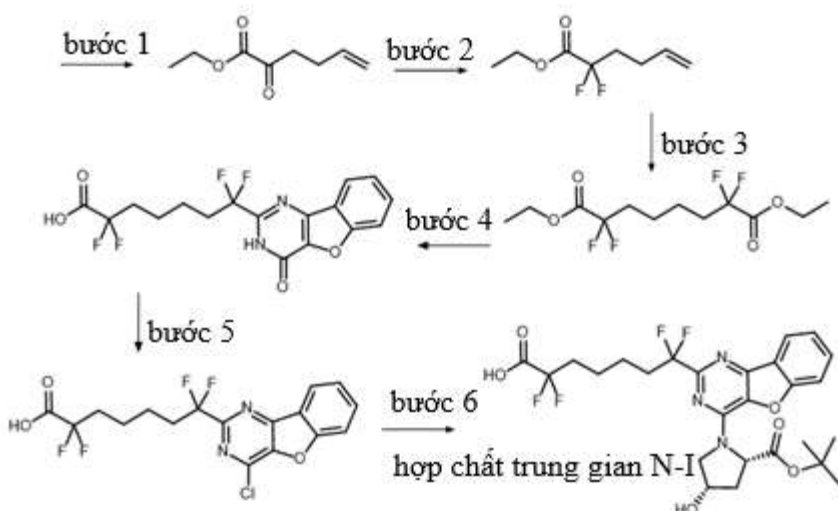
Điều chế tương tự như trình tự phản ứng được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-F, sử dụng 3 - amino - 6 - flobenzofuran - 2 - carboxamit trong bước 3.

Hợp chất trung gian N-H:



Điều chế tương tự như trình tự phản ứng được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-F, sử dụng 3 - amino - 6-clobenzofuran - 2 - carboxamit trong bước 3.

Hợp chất trung gian N-I:



Bước 1:

Dung dịch bột magie (45,0 g; 1,85 mol) trong THF (285 mL), được bổ sung Iot (1,00 g; 3,94 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch 1-bromo-3-buten (111 g; 821 mmol) trong THF (850 mL). Nhiệt độ theo đó được giữ dưới 50 °C. Hỗn hợp thu được được làm lạnh xuống -75 °C và dung dịch diethyl oxalat (100 g; 684 mmol; 93,5 mL) trong THF (1,89 L) được bổ sung nhỏ giọt ở -75 °C. Hỗn hợp được khuấy ở -75 °C trong 4 giờ nữa. Hỗn hợp phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung dung dịch amoni clorua bão hòa (900 mL) ở 0 °C, sau đó độ pH được điều chỉnh đến pH3 bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric (1 M). Hỗn hợp được chiết ba lần bằng EtOAc (500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (900 mL), được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm để thu được phần cặn được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu mỏ/Etyl axetat 0% -> 100%).

^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3) δ = 5,85 - 5,72 (m, 1H), 5,11 - 4,92 (m, 2H), 4,37 - 4,24 (m, 2H), 2,92 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,36 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 1,24 - 1,21 (m, 3H)

Bước 2:

Dung dịch sản phẩm từ bước 1 (50,0 g, 320 mmol) trong DCM (1000 mL) được bổ sung Bis-(2-metoxyletyl)aminosulfur triflorua (Deoxofluor) (120 g, 544 mmol, 119 mL) và etanol (2,95 g, 64,0 mmol) ở 0 °C. Hỗn hợp được khuấy ở 25 °C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung 500 mL dung dịch natri bicarbonat bão hòa và sau đó được chiết ba lần bằng DCM (500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch axit clohydric (1 M; 200 mL) và nước muối (200 mL),

được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm để thu được phần cặn. Sản phẩm thô được chưng cất trong chân không (30 °C, -0,09 MPa/bơm dầu).

¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,80 (br dd, *J* = 10,3, 16,9 Hz, 1H), 5,13 - 5,00 (m, 2H), 4,39 - 4,28 (m, 2H), 2,30 - 2,12 (m, 4H), 1,43 - 1,34 (m, 3H)

Bước 3:

Hỗn hợp của bột kẽm (8,79 g, 134 mmol) và THF (30,0 mL) được bổ sung niken (II)clorua hexahydrat (804 mg, 3,38 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở -65 °C trong 5 phút. Sau đó được bổ sung nhỏ giọt etyl difloiodoacetat (12,0 g, 48,0 mmol) và sản phẩm từ bước 2 (6,00 g, 33,7 mmol) ở -65 °C. Hỗn hợp được khuấy ở 25 °C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ngừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa bổ sung (60,0 mL) ở 0 °C, và sau đó được chiết ba lần bằng DCM (60,0 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (60,0 mL), được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm.

¹H NMR: (400 MHz, cloroform-d): δ = 4,33 (q, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,18 - 1,98 (m, 4H), 1,56 (td, *J* = 3,8, 8,0 Hz, 4H), 1,36 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H)

Bước 4:

Dung dịch sản phẩm từ bước 3 (11,0 g, 36,4 mmol) trong dioxan (30,0 mL) được bổ sung 1,5,7-Triazabicyclo[4,4,0]dec-5-en (14,2 g, 102 mmol) và 3 - amino - 1 - benzofuran - 2 - carboxamid (4,50 g, 25,5 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở 110 °C trong 2 giờ và sau đó được pha loãng bằng nước (30,0 mL) và được chiết ba lần bằng EtOAc (30,0 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30,0 mL), được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng RP HPLC (ACN/nước, chất cải biến: TFA).

¹H NMR: (400 MHz, DMSO-d): δ = 8,09 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,72 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,53 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 2,40 - 2,37 (m, 2H), 2,12 - 2,07 (m, 2H), 1,54 - 1,48 (m, 4H).

Bước 5:

Sản phẩm từ bước 4 được clo hóa sử dụng quy trình chung Int-C.

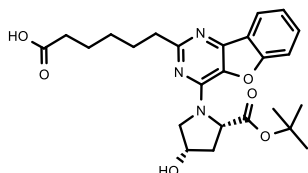
Bước 6:

Sản phẩm từ bước 5 được phản ứng áp dụng quy trình chung Int-D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 556 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,64 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-J:



Việc điều chế được thực hiện từ hợp chất trung gian N-R áp dụng trình tự 3 bước sau đây:

Bước 1:

Quy trình chung Int-G:

Hợp chất trung gian N-R (300 mg; 0,69 mmol) và metyl este của axit 5-hexenoic (298 μ L; 2,07 mmol) được hòa tan trong DMF (10 mL; 123 mmol). Triethylamin (0,39 mL; 2,76 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khử khí bằng argon. Paladi(II)-axetat (31 mg; 0,14 mmol) và tri-*o*-tolylphosphin (84 mg; 0,28 mmol) được bổ sung dưới argon. Lọ bít kín được khuấy ở 95°C qua đêm. Hỗn hợp được pha loãng bằng ACN/nước, axit hóa bằng TFA, được lọc qua bộ lọc ống tiêm. Tinh chế bằng phương pháp RP HPLC điều chế (Sunfire C18, ACN/nước; chất cải biến: TFA) thu được tert - butyl (2S,4S) - 4 - hydroxy - 1 - {4 - [6 - metoxy - 6 - oxohex - 1 - en - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl}pyrrolidin - 2 - carboxylat.

Bước 2:

Sản phẩm từ bước 1 được hydro hóa theo quy trình tổng hợp chung Int-A để thu được tert - butyl (2S,4S) - 4 - hydroxy - 1 - [4 - (6 - metoxy - 6 - oxohexyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl]pyrrolidin - 2 - carboxylat.

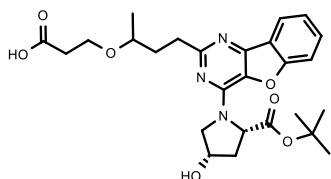
ESI-MS: 484 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,65 phút (phương pháp B)

Bước 3:

Sản phẩm từ bước 2 được phản ứng theo quy trình chung Int-E để thu được hợp chất tiêu đề được phân cắt este.

Hợp chất trung gian N-K:



Việc điều chế được thực hiện từ hợp chất trung gian N-R và methyl 3 - (but - 3 - en - 2 - yloxy)propanoat áp dụng trình tự ba bước sau đây (nguyên liệu khởi đầu methyl 3 - (but - 3 - en - 2 - yloxy)propanoat được điều chế từ tert-butyl este tương ứng bằng cách phân cắt este có tính axit sau đó tạo thành methyl este (metanol, thionyl clorua):

Bước 1: Ghép nối kiểu Heck theo quy trình tổng hợp chung Int-G

Bước 2: Hydro hóa theo quy trình tổng hợp chung Int-A

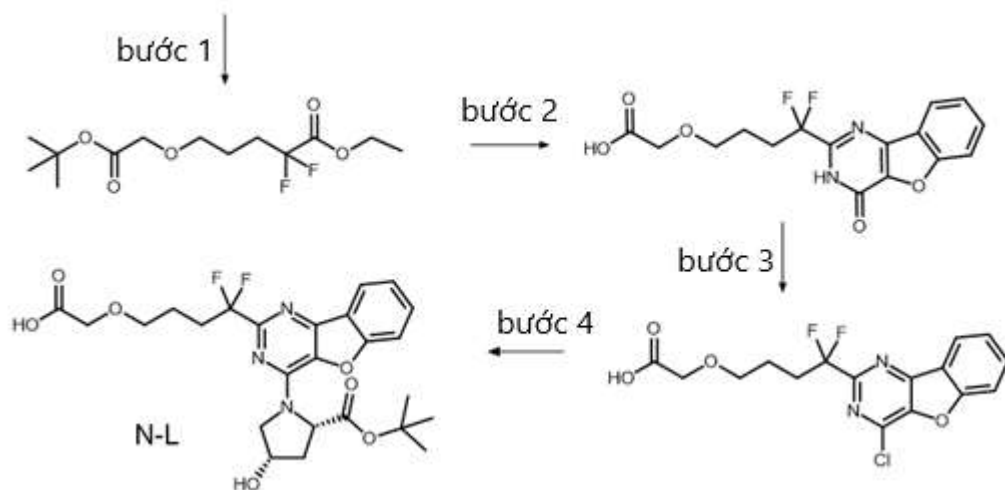
Bước 3: Phân cắt este theo quy trình tổng hợp chung Int-E để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 500 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,82 phút (phương pháp G)

Hợp chất trung gian N-L:

Axit 2 - (4 - {6 - [(2S,4S) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 4 - hydroxypyrrolidin - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 4 - yl} - 4,4 - diflobutoxy)axetic



Bước 1:

Bình phản ứng khô được trang bị thanh khuấy từ và được nạp tert-butyl 2-allyloxyacetat (1,00 g; 5,81 mmol), niken(II)clorua khan (0,038 g; 0,290 mmol) và natri cacbonat (0,61 g; 5,81 mmol). Sau đó, bình phản ứng được hút chân không trong thời gian ngắn và nạp lại khí argon (trình tự này được lặp lại tổng cộng ba lần). DMF khan (40mL), etyl bromodifloaxetat (1,5 mL, 11,6 mmol) và phenylsilan (2,9 mL; 23,2 mmol) được thêm vào bình phản ứng thông qua ống tiêm theo trình tự. Bình được đun nóng ở 70 °C trong bồn dầu và khuấy cho đến khi theo dõi TLC chỉ ra rằng nguyên liệu khởi đầu vào đã được tiêu thụ (ở đây: qua đêm). Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 30 mL EtOAc, và lớp hữu cơ được rửa bằng nước 80 ml dung dịch natri clorua bão hòa trong nước. Sau đó, lớp hữu cơ được làm khô bằng sulfat và được cô dưới áp suất giảm và được tinh chế tiếp bằng FC (silicagel; hexan/EtOAc) để thu được etyl 5-(2-tert-butoxy-2-oxo-etoxy)-2,2-diflo-pentanoat.

Bước 2:

Ở nhiệt độ trong phòng, 1,5,7-Triazabixyclo[4,4,0]dec-5-en (0,79 g; 5,68 mmol) được bổ sung vào dung dịch 3-aminobenzofuran-2-carboxamit (0,25 g; 1,42 mmol) trong 1,4-dioxan (1mL). Sau đó, sản phẩm từ bước 1 (0,84 g; 2,84 mmol) được bổ sung, nhiệt độ được tăng lên 120 °C và tiếp tục khuấy cho đến khi TLC chỉ ra quá trình chuyển hóa gần như hoàn tất (tại đây: 18 giờ). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (15 mL) và chiết bằng DCM (3 x 7 mL). Độ pH của lớp nước thu được được điều chỉnh trong khoảng từ 4 đến 5 và chất rắn kết tủa được lọc.

ESI-MS: 353 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,61 phút (phương pháp H)

Bước 3:

Sản phẩm từ bước 2 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung Int-C.

ESI-MS: 371 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,82 phút (phương pháp H)

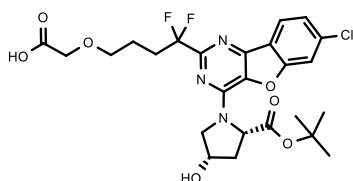
Bước 4:

Sản phẩm từ bước 2 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung Int-D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 522,6 [M+H]⁺

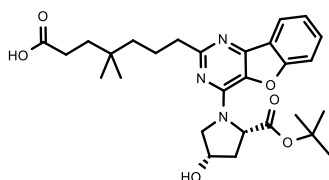
R_t (HPLC): 2,96 phút (phương pháp G)

Hợp chất trung gian N-M:



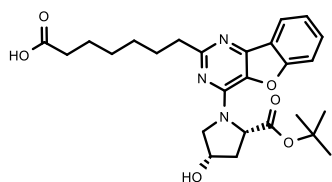
Quy trình điều chế được thực hiện tương tự như quy trình được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-L sử dụng 3-amino-6-clo-1-benzofuran-2-carboxamit (được điều chế như được mô tả trong EP1710233) làm nguyên liệu khởi đầu trong bước 2.

Hợp chất trung gian N-N:



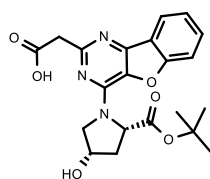
Điều chế từ hợp chất trung gian N-R và methyl 4,4 - dimethylhept - 6 - enoat tương tự như trình tự phản ứng được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-J.

Hợp chất trung gian N-O:



Điều chế từ hợp chất trung gian N-R và etyl 6 - heptenoat tương tự như trình tự phản ứng được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-J.

Hợp chất trung gian N-P:

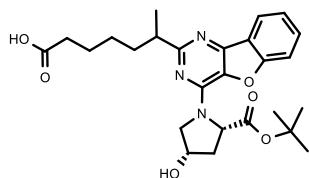


Hợp chất trung gian N-U được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung Int-E để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 414 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,55 phút (phương pháp B)

Hợp chất trung gian N-Q:



tert - butyl (2S,4S) - 1 - [4 - (7 - etoxy - 7 - oxohept - 1 - en - 2 - yl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl] - 4 - hydroxypyrrolidin - 2 - carboxylat được hình thành như một sản phẩm phụ trong bước 1 của quy trình tổng hợp hợp chất trung gian N-O được tách bằng RP HPLC và được phản ứng tiếp theo trình tự phản ứng được mô tả để điều chế hợp chất trung gian N-O để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

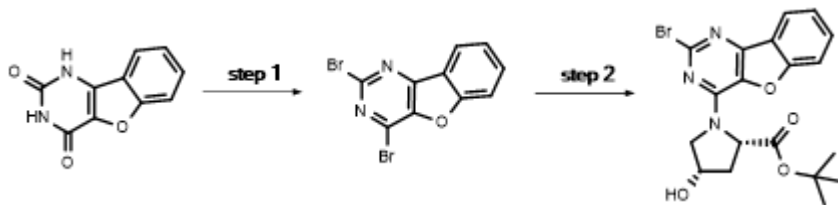
Hợp chất trung gian N-R:

tert - Butyl

(2S,4S) - 1 - {4 - bromo - 8 - oxa - 3,5 -

diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),3,5,9,11 - hexaen - 6 - yl} - 4 -

hydroxypyrolidin - 2 - carboxylat



Bước 1: 4,6 - Dibromo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),3,5,9,11 - hexaen

Hỗn hợp của 1H-Benzo[4,5]furo[3,2-d]pyrimidin-2,4-dion (11,6 g; 0,0573 mol) và phosphoryl tribromua (40,8 mL, 0,402 mol) được làm nóng ở 150 ° C trong 3 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng, độ pH được điều chỉnh đến pH = 7 sử dụng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa trong khi làm lạnh ở 0 °C, và hỗn hợp được chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Các lớp hữu cơ được kết hợp, sấy khô trên natri sulfat và được bay hơi dưới áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng cách hòa tan trong hỗn hợp DCM (3 V so với khối lượng sản phẩm thô) và EtOAc (3 V so với khối lượng sản phẩm thô) trong khi khuấy. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, hỗn hợp được lọc và dịch nổi được bay hơi dưới áp suất giảm.

ESI-MS: 327/329/331 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,67 phút (phương pháp A)

Bước 2: tert - Butyl (2S,4S) - 1 - {4 - bromo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),3,5,9,11 - hexaen - 6 - yl} - 4 - hydroxypyrolidin - 2 - carboxylat

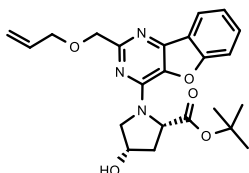
Hỗn hợp của 4,6 - Dibromo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),3,5,9,11 - hexaen (5,56 g, 16,9 mmol) trong 93 mL DMF được bổ sung tert - butyl (2S,4S) - 4 - hydroxypyrolidin - 2 - carboxylat hydroclorua (4,17 g, 16,6 mmol) và kali cacbonat bão hòa (7,03 g, 50,8 mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, hỗn hợp phản ứng được rót vào nước và được trung hòa bằng dung dịch HCl 4M

trong nước. Phần kết tủa được tập hợp bằng cách lọc và làm khô trong môi trường chân không.

ESI-MS: 434/436 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,64 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-S:



Bước 1:

Axit 2-Allyloxyaxetic (9,02 g; 73,8 mmol) được hòa tan trong DCM bằng một giọt DMF và được làm lạnh xuống 0 °C. Oxalyl clorua (23,4 g; 184 mmol) được bổ sung nhỏ giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Sau đó dung môi được bay hơi dưới áp suất giảm. Cặn được hòa tan trong DMF và thêm vào dung dịch 3-aminobenzofuran-2-carboxamid (13,0 g; 73,8 mmol) được khuấy trong DMF. Sau 2 giờ, hỗn hợp được rót vào 100 mL nước và được khuấy trong 5 phút. Chất rắn tạo thành được thu gom, được hòa tan trong DCM và được làm khô bằng magie sulfat. Các chất dễ bay hơi được làm bay hơi và chất rắn được nghiền với tert-butyl methyl ete để thu được 3 - [2 - (prop - 2 - en - 1 - yloxy)axetamido] - 1 - benzofuran - 2 - carboxamid.

Bước 2:

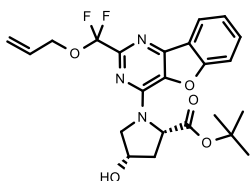
Huyền phù của sản phẩm từ bước 1 trong dung dịch natri hydroxit 4 M được khuấy trong 2 giờ ở 70 °C. Hỗn hợp được axit hóa bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric và kết tủa tạo thành được thu gom và được làm khô để thu được 4 - [(prop - 2 - en - 1 - yloxy)metyl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,10,12 - pentaen - 6 - on.

Sản phẩm từ bước 2 được phản ứng tiếp trong quy trình hai bước theo quy trình tổng hợp chung Int-C và sau đó Int-D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MS: 426 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,49 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-T:



Bước 1:

Natri hydrua (60 % trong dầu khoáng; 1,73 g, 44,2 mmol) được bổ sung từng phần vào natri 2-clo-2,2-difloaxetat (4,5 g, 29,5 mmol) và prop-2-en-1-ol (2,14 g, 36,8 mmol) trong THF (30 mL) ở 0°C trong khoảng thời gian 2 phút dưới điều kiện nitơ. Huyền phù tạo thành được khuấy ở 65 °C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh và được pha loãng bằng dung dịch axit clohydric (2 M) cho đến khi đạt được độ pH= 5~6 và sau đó lớp nước được chiết hai lần bằng DCM (30 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được bay hơi để thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 0% -> 30% để thu được axit 2-(allyloxy)-2,2-difloaxetic.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9,34 (s, 1H), 6,01 – 5,91 (m, 1H), 5,45 – 5,36 (m, 1H), 5,33 – 5,26 (m, 1H), 4,50 (dt, J = 5,8, 1,2 Hz, 2H)

Bước 2:

Dung dịch sản phẩm từ bước 1 (5 g, 33 mmol) trong pyridin (100 mL) được bổ sung 3-amino-1-benzofuran-2-carboxamit (4,63 g, 26 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt phosphoryl trichlorua (15,3 g, 0,1 mol) ở 0°C dưới môi trường nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước (200 mL) và được chiết ba lần bằng EtOAc (200 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natrisulfat, và được cô đặc. Cặn được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 15%) để thu được 3-(2-(allyloxy)-2,2-difloaxetamido)benzofuran-2-carboxamit.

ESI-MdS: 311 [M+H]⁺

Bước 3:

Sản phẩm từ bước 2 (3 g, 9,7 mmol) được bổ sung vào dung dịch natri hydroxit (14,5 mL, 4 M, 58,2 mmol), sau đó THF (1,5 mL) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ ở 70 °C. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội (nhiệt độ trong phòng) được axit hóa bằng dung dịch axit clohydric (2 M) đến độ pH= 5 ~ 6 và kết tủa tạo thành được thu gom và được làm khô để thu được 2-((allyloxy)diflometyl)benzofuro[3,2-d]pyrimidin-4(3H)-on thô mà được đưa vào bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 4:

Bình 3 cỡ 0,5 L được nạp DMF (1,36 g, 18,6 mmol) và DCM (250 mL) được trang bị nhiệt kế và bóng nitơ. Bình được làm lạnh đến 0 °C, sau đó nhỏ từng giọt dung dịch oxalyl clorua (3,54 g, 27,9 mmol) trong DCM (5 mL) trong 5 phút, trong khi nhiệt độ được duy trì ở mức 0 đến 5 °C. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ môi trường trong 0,5 giờ. Phản ứng được làm lạnh trong bồn nước đá đến 0 °C và sản phẩm từ bước 3 (1,8 g, 6,2 mmol) được thêm vào từng phần. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, sau đó ở 40 °C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ phòng, phản ứng được đổ vào đá, trung hòa bằng dung dịch natri bicacbonat, chiết xuất hai lần bằng DCM (100 mL). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, sấy khô bằng natri sulfat và cô đặc. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 2% -> 10%) để thu được hợp chất tiêu đề 2-((allyloxy)diflometyl)-4-clobenzofuro[3,2-d]pyrimidin.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,41 – 8,31 (m, 1H), 7,79 (m, 2H), 7,60 – 7,54 (m, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,06 (dq, J = 10,8, 6,0 Hz, 1H), 5,45 (dd, J = 17,2, 1,2 Hz, 1H), 5,30 (dd, J = 10,4, 1,0 Hz, 1H), 4,70 (d, J = 6,0 Hz, 2H)

Bước 5:

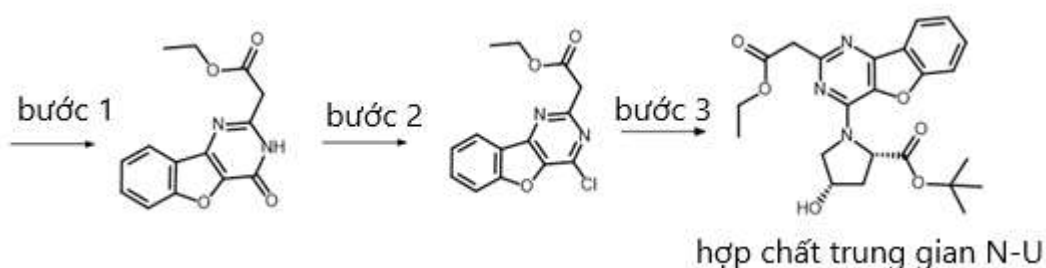
Sản phẩm từ bước 4 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung Int-D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MdS: 462 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,68 phút (phương pháp A)

Hợp chất trung gian N-U:

tert - Butyl (2S,4S) - 1 - [4 - (2 - etoxy - 2 - oxoethyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 6 - yl] - 4 - hydroxypyrrolidin - 2 - carboxylat



Bước 1: Ethyl 2 - {6 - oxo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,10,12 - pentaen - 4 - yl}axetat

Hỗn hợp của ethyl-3-aminobenzofuran-2-carboxylat (5,00 g; 24,4 mmol) trong dung dịch axit clohydric 4 M (50,00 mL; 200 mmol) được bổ sung ethyl xyanoaxetat (5,19 mL; 48,7 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được làm nóng ở 100°C trong 4 giờ. Sau khi làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, 2,6 mL (24,4 mmol) khác của ethyl xyanoaxetat được bổ sung và làm nóng được tiếp tục trong 48 giờ ở 100°C. Dung môi được làm bay hơi và cặn thô được pha loãng bằng 100mL MeOH, được lọc làm khô. Sản phẩm thô được đưa trực tiếp vào bước tiếp theo.

ESI-MdS: 273 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,63 phút (phương pháp B)

Bước 2: Ethyl 2 - {6-clo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}axetat

Hỗn hợp của ethyl 2 - {6 - oxo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,10,12 - pentaen - 4 - yl}axetat (3,35 g; 12,3 mmol) trong phosphoryl trichlorua (50,0 mL; 547 mmol) được làm nóng ở 110°C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng và được bổ sung nhỏ giọt vào bể nước đá (500 mL) trong điều kiện khuấy trong 30 phút. Ethyl axetat được bổ sung và các lớp được tách ra. Lớp hữu cơ được bổ sung từ từ dung dịch bicacbonat bão hòa được bổ sung, và các pha được tách ra. Lớp hữu cơ được rửa bằng

nước và nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc, và cô đặc trong chân không.

ESI-MdS: 291 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,43 phút (phương pháp A)

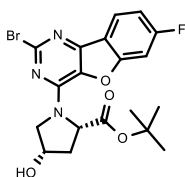
Bước 3: tert - Butyl (2S,4S) - 1 - [4 - (2 - etoxy - 2 - oxoetyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 6 - yl] - 4 - hydroxypyrolidin - 2 - carboxylat

Etyl 2 - {6-clo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}axetat (8,17 mmol; 1,00 đương lượng, 2,50 g) trong 30 mL NMP được bổ sung tert - butyl (2S,4S) - 4 - hydroxypyrolidin - 2 - carboxylat hydroclorua (8,99 mmol; 2,01 g) và DIPEA (27,0 mmol; 4,64 mL), và hỗn hợp thu được được khuấy ở 70°C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng được bổ sung từ từ vào 300mL nước đá. Chất kết tủa được lọc, rửa vài lần bằng nước và làm khô.

ESI-MdS: 442 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,67 phút (phương pháp B)

Hợp chất trung gian N-V:

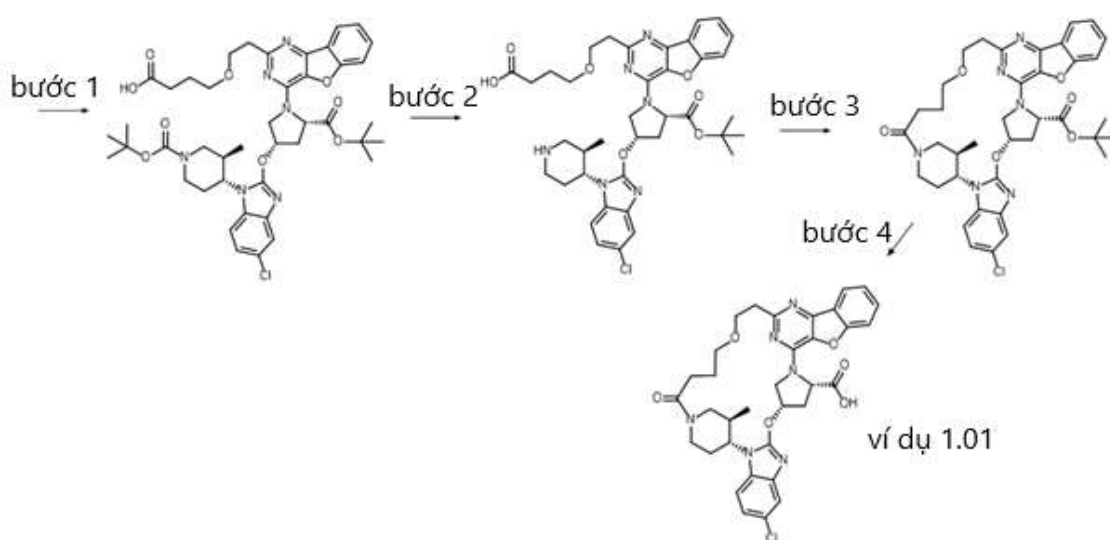


Điều chế từ 11 - fluoro - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),9,11 - tetraen - 4,6 - dion tương tự như trình tự phản ứng được mô tả để tổng hợp hợp chất trung gian N-R. Nguyên liệu khởi đầu 11 - flo-8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),9,11 - tetraen - 4,6 - dion được điều chế tương tự với quy trình tổng hợp 11-clo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2(7),9,11 - tetraen - 4,6 - dion được mô tả trong WO2019059577.

Điều chế các hợp chất cuối

Cấu hình tuyệt đối của gốc piperidin của hợp chất với R2 là nhóm methyl có trong một phần (chẳng hạn hợp chất ví dụ 1.01) được gán từ cấu trúc đồng tinh thể với protein cGAS người theo phương pháp được mô tả bởi D. J. Patel et al, PNAS 2019, 11946-11955 (doi.org/10.1073/pnas.1905013116). Trong các trường hợp khác, cấu hình tuyệt đối được gán dựa trên giả định rằng đồng phân không đối quang mạnh hơn luôn có cấu hình (S,S,S,S).

Ví dụ 1.01 (Quy trình chung A, B, C, D)



Bước 1 (Quy trình chung A):

Trong đồ thủy tinh làm khô trong lò trong môi trường argon, hợp chất trung gian N-A (216 mg; 0,418 mmol) và hợp chất trung gian B-01 (188 mg; 0,439 mmol), được hòa tan trong DMA (4,05 ml), được bổ sung natri hydrua (55% trong dầu khoáng; 73,0 mg; 1,67 mmol). Sau khi bong bóng đã lắng xuống, phản ứng được ấm đến 35 °C và được khuấy trong 25 phút nữa. Phản ứng sau đó được làm ngừng bằng cách bổ sung nước đá, được pha loãng bằng EtOAc, và được axit hóa bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric (1 M; 1,7 mL). Hỗn hợp được chiết ba lần bằng EtOAc, các lớp hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước và nước muối, và được bay hơi đến khô. Hỗn hợp phản ứng thô được tinh chế bằng FC (silicagel; xyclohexan/EtOAc 25% -> 100%).

ESI-MdS: 833 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,92 phút (phương pháp B)

Bước 2 (Quy trình chung B):

Hỗn hợp của hợp chất trung gian từ bước 1 (272 mg; 0,326 mmol) và ACN (10 mL) được bổ sung TosOH (124 mg; 0,653 mmol) và hỗn hợp được khuấy trong 3 ngày ở nhiệt độ trong phòng trong lọ bịt kín. Khi kiểm soát phản ứng bằng HPLC đã chỉ ra mức chuyển hóa thấp, thêm TosOH (45,0 mg; 0,237 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được gia nhiệt thêm ở 40 °C cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng HPLC đã chỉ ra sự chuyển hóa ở mức cao thành sản phẩm mong muốn. DMF và giọt nước được bổ sung, hỗn hợp sau đó được lọc và được tinh chế bằng HPLC (Sunfire C18; ACN/nước với TFA làm chất cải biến).

ESI-MdS: 733 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,62 phút (phương pháp B)

Bước 3 (Quy trình chung C):

Trong đồ thủy tinh làm khô trong lò dưới argon, dung dịch HATU (81,2 mg; 0,214 mmol) trong DMF (4 mL) được bổ sung từ từ bằng bơm tiêm dung dịch hợp chất trung gian từ bước 2 (145 mg; 0,198 mmol) trong DMF (12 mL) trong khi khuấy mạnh. Hỗn hợp được khuấy tiếp cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng HPLC đã chỉ ra sự chuyển hóa ở mức cao thành sản phẩm mong muốn. Phản ứng sau đó được làm ngừng bằng bổ sung nước, được chiết ba lần bằng EtOAc, các lớp hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước và nước muối, và được bay hơi đến khô. Hỗn hợp phản ứng thô được tinh chế bằng FC (xyclohexan/ EtOAc 50% -> 100%, sau đó EtOAc/MeOH 0% -> 10%).

ESI-MdS: 715 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 phút (phương pháp B)

Bước 4 (Quy trình chung D):

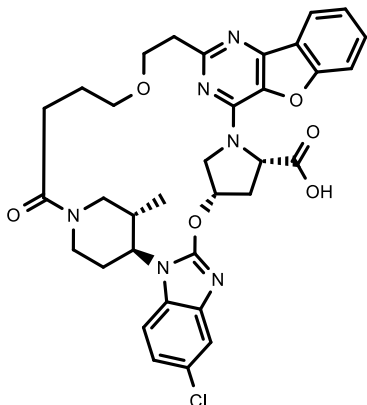
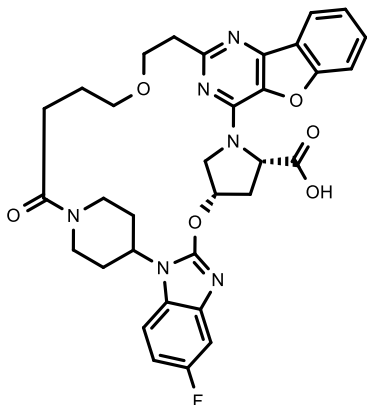
Hỗn hợp của hợp chất trung gian từ bước 3 (79,0 mg; 0,110 mmol), DCM (1,06 ml) và TFA (852 µL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 90 phút. Khi kiểm soát phản ứng bằng HPLC đã chỉ ra mức chuyển hóa thấp, nhiệt độ được tăng lên 37°C và tiếp tục khuấy trong 3 giờ. khi kiểm soát phản ứng bằng HPLC cho thấy mức chuyển hóa vẫn thấp, nhiệt độ được tăng lên 45°C và tiếp tục khuấy cho đến khi kiểm soát phản ứng bằng HPLC đã chỉ ra sự chuyển hóa ở mức cao thành sản phẩm mong muốn. Hỗn

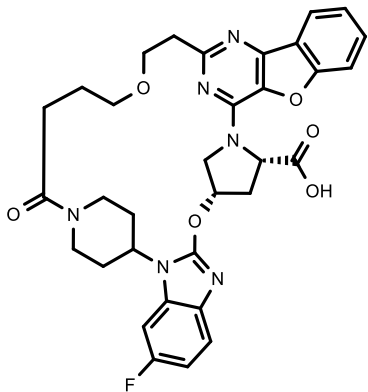
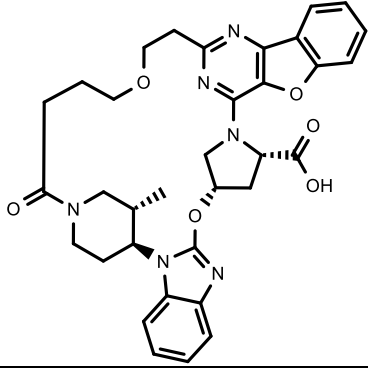
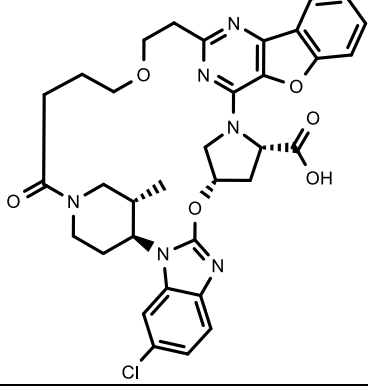
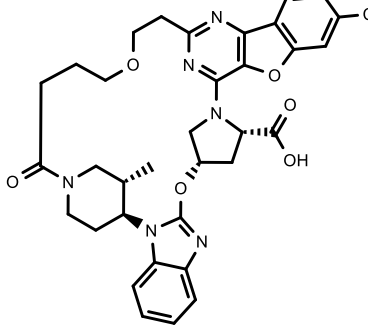
hợp được bay hơi và sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Sunfire C18; ACN/nước với TFA làm chất cải biến).

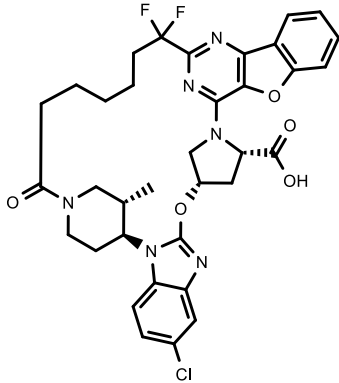
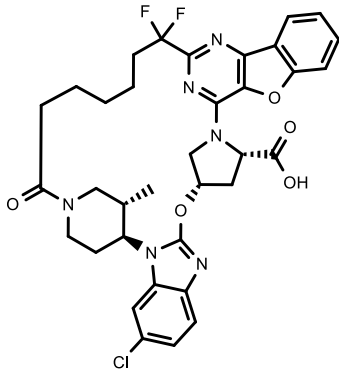
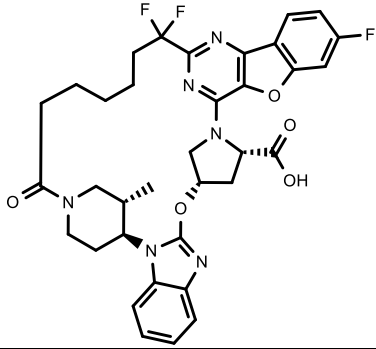
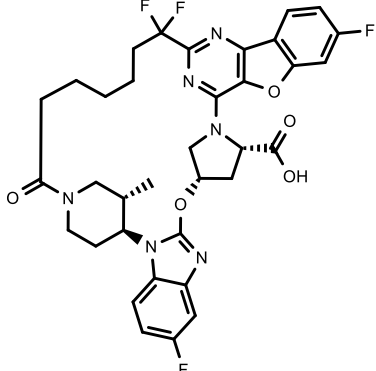
ESI-MdS: 659 [M+H]⁺

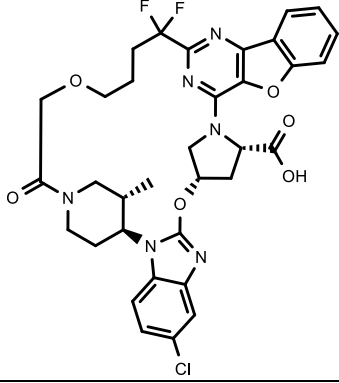
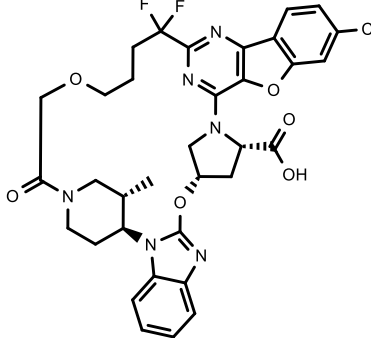
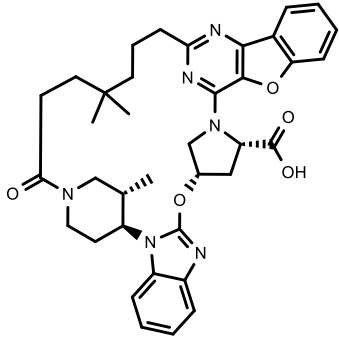
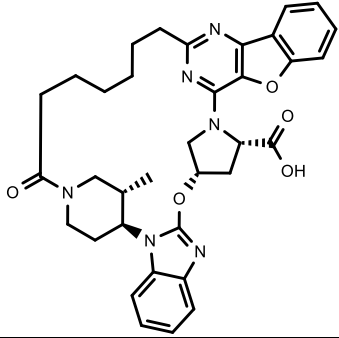
R_t (HPLC): 0,83 phút (phương pháp E)

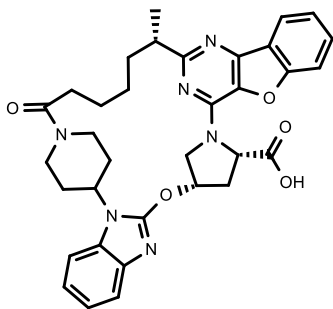
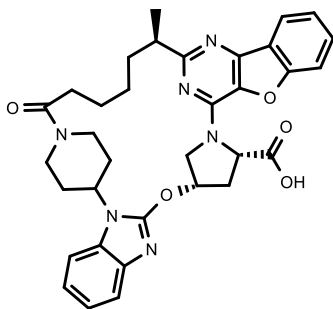
Các hợp chất sau đây được điều chế tương tự như hợp chất ví dụ 1.01 được mô tả trên đây, theo các quy trình chung A, B, C, và D:

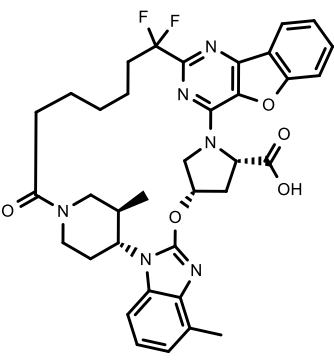
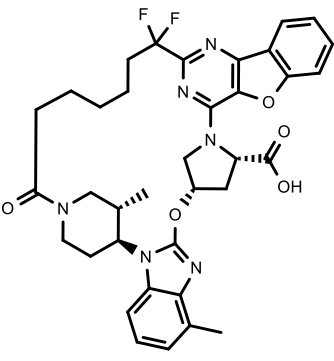
Ví dụ	Nguyên liệu ban đầu	Cấu trúc	ESI-MS	R _t (HPLC) [phút] (phương pháp)	Nhận xét về quy trình tổng hợp
1.02	Int N-A + Int. B-02		659 [M+H] ⁺	0,70 (B)	
1.03	Int N-A + Int. B-03		629 [M+H] ⁺	0.51 (A)	

1.04	Int N-A + Int. B-04		629 [M+H] ⁺	0,51 (A)	
1.05	Int N-A + Int. B-05		625 [M+H] ⁺	0,75 (E)	Bước 2 sử dụng dung dịch axit clohydric 4 M trong dioxan ở nhiệt độ trong phòng
1.06	Int N-A + Int. B-06		659 [M+H] ⁺	0,71 (B)	
1.07	Int N-B + Int. B-05		659 [M+H] ⁺	0,55 (A)	

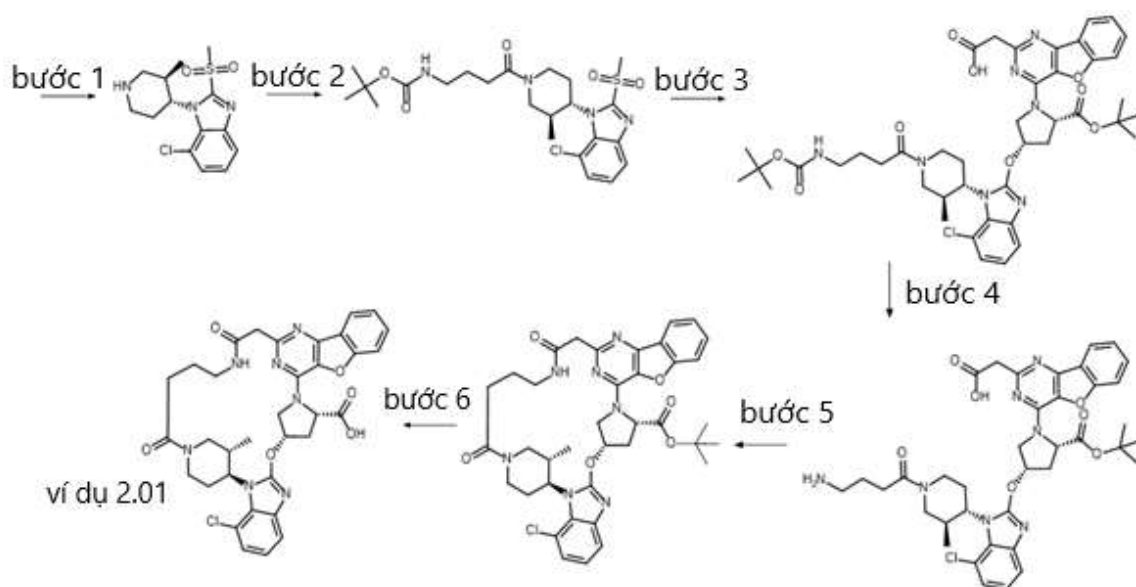
1.12	Int N-F + Int. B-02		693 [M+H] ⁺	0,79 (A)	
1.13	Int N-F + Int. B-06		693 [M+H] ⁺	1,13 (B)	
1.14	Int N-G + Int. B-05		677 [M+H] ⁺	0,70 (A)	
1.15	Int N-G + Int. B-07		695 [M+H] ⁺	0,73 (A)	

1.21	Int N-L + Int. B-02		695 [M+H] ⁺	0,69 (A)	
1.22	Int N-M + Int. B-05		695 [M+H] ⁺	0,68 (A)	
1.23	Int N-N + Int. B-05		651 [M+H] ⁺	0,59 (A)	
1.24	Int N-O + Int. B-08	Hỗn hợp của đồng phân không đối quang: cấu hình trans triệt quang ở piperidin 	623 [M+H] ⁺	0,84 (E)	

1.25	Int N-Q + Int. B-10		609 [M+H] ⁺	0,60 (B)	Đồng phân không đối quang tinh khiết. Hỗn hợp của đồng phân không đối quang tinh khiết thu được từ bước 3 được tách ra bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA). Đồng phân không đối quang rửa giải thứ nhất được đưa vào bước 4.
1.26	Int N-Q + Int. B-10		609 [M+H] ⁺	0,60 (B)	Đồng phân không đối quang tinh khiết. Hỗn hợp của đồng phân không đối quang tinh khiết thu được từ bước 3 được tách ra bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA). Đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai được đưa vào bước 4.

1.27	Int N-F + Int. B-13		673 [M+H] ⁺	0,95 (A)	Đồng phân không đối quang rửa giải thứ nhất trong quá trình tinh chế ở bước cuối cùng thông qua RP HPLC điều chế (XBridge C18; ACN/H ₂ O; chất cải biến: TFA)
1.28	Int N-F + Int. B-13		673 [M+H] ⁺	0,96 (A)	Đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai trong quá trình tinh chế ở bước cuối cùng thông qua RP HPLC điều chế (XBridge C18; ACN/H ₂ O; chất cải biến: TFA)

Ví dụ 2.01:



Bước 1:

Hợp chất trung gian B-09 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung D để thu được muối TFA của rac-trans-7-clo - 2 - metansulfonyl - 1 - [3 - metylpiperidin - 4 - yl] - 1H - 1,3 - benzodiazol

Bước 2:

Sản phẩm của bước 1 được phản ứng với 1,2 đương lượng axit 4 - {[tert - butoxy)carbonyl]amino}butanoic theo quy trình tổng hợp chung C.

Bước 3:

Sản phẩm của bước 2 được phản ứng với hợp chất trung gian N-P theo quy trình tổng hợp chung A để thu được axit 2 - {6 - [(2S,4S) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 4 - ({1 - [1 - (4 - {[tert - butoxy)carbonyl]amino}butanoyl) - 3 - metylpiperidin - 4 - yl] - 7-clo - 1H - 1,3 - benzodiazol - 2 - yl}oxy)pyrrolidin - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}axetic (với cấu hình trans triệt quang ở gốc piperidin).

Bước 4:

Sản phẩm của bước 3 được khử bảo vệ BOC bằng cách phản ứng với 1,5 đương lượng axit clohydric (4 M trong dioxan) trong dioxan ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng RP HPLC (Sunfire C18; ACN/nước/chất cải biến:

TFA) để thu được muối TFA của axit 2 - {6 - [(2S,4S) - 4 - ({1 - [1 - (4 - aminobutanoyl) - 3 - methylpiperidin - 4 - yl] - 7-clo - 1H - 1,3 - benzodiazol - 2 - yl}oxy) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl]pyrrolidin - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}axetic (với cấu hình trans triệt quang ở gốc piperidin).

Bước 5:

Sản phẩm của bước 4 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung C để thu được tert - butyl (12S,14S) - 4-clo - 37 - methyl - 29,34 - dioxo - 11,18 - dioxa - 2,9,15,26,30,35,40 - heptaazaoctaxyclo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta - 3,5,7,9,16(40),17(25),19(24),20,22,26 - decaen - 14 - carboxylat (với cấu hình trans triệt quang ở gốc piperidin).

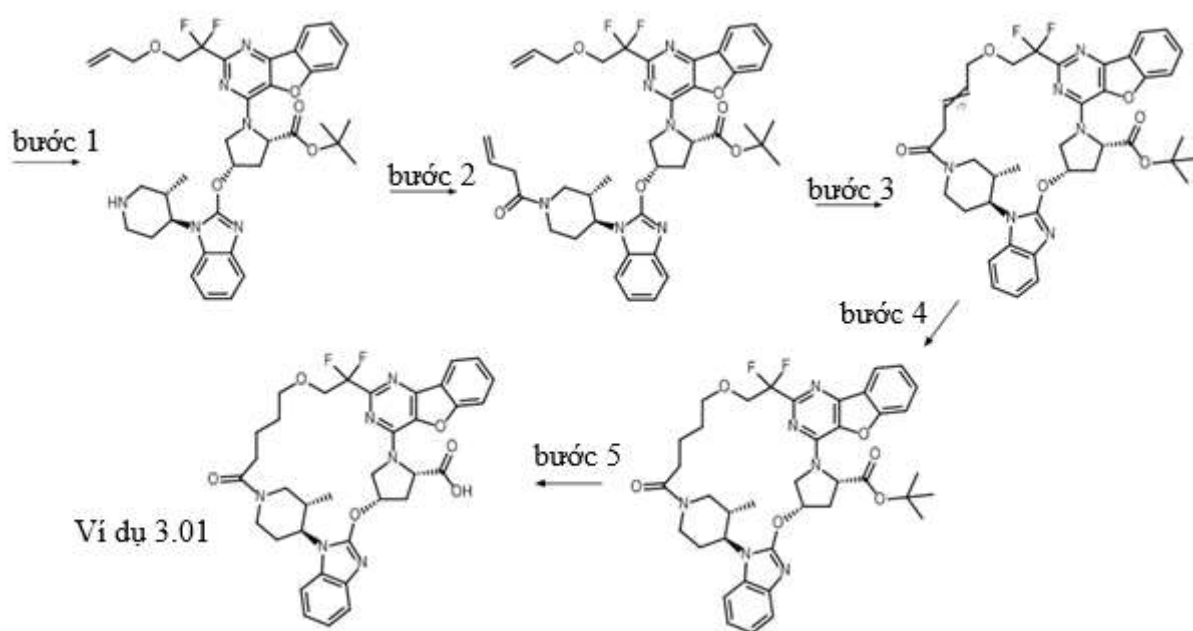
Bước 6:

Sản phẩm của bước 5 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung D để thu được hợp chất nêu ở đề mục axit (12S,14S) - 4-clo - 37 - methyl - 29,34 - dioxo - 11,18 - dioxa - 2,9,15,26,30,35,40 - heptaazaoctaxyclo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta - 3,5,7,9,16(40),17(25),19(24),20,22,26 - decaen - 14 - carboxylic (với cấu hình trans triệt quang ở gốc piperidin).

ESI-MdS: 672 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,88 phút (phương pháp E)

Ví dụ 3.01:



Bước 1:

Hợp chất trung gian I.02 được khử bảo vệ BOC theo quy trình tổng hợp chung B để thu được muối TFA của tert - butyl (2S,4S) - 1 - {4 - [1,1 - diflo - 2 - (prop - 2 - en - 1 - yloxy)etyl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl} - 4 - ({1 - [(3S,4S) - 3 - metylpiperidin - 4 - yl] - 1H - 1,3 - benzodiazol - 2 - yl}oxy)pyrolidin - 2 - carboxylat.

ESI-MdS: 689 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,62 phút (phương pháp A)

Bước 2:

Quy trình chung G:

Dung dịch sản phẩm từ bước 1 (105 mg; 0,127 mmol), axit vinylaxetic (14,5 µl; 0,165 mmol) và DMAP (2,0 mg; 0,016 mmol) trong DCM (1,05 mL) at 0 °C được bổ sung nhỏ giọt DCC (1 M; 165 µL; 0,165 mmol). Trong khi khuấy, hỗn hợp được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và sau đó được khuấy trong một giờ nữa. Hỗn hợp được bay hơi đến khô và cần được tiến hành FC (CH/EtOAc 40% -> 100%). Sản phẩm không tinh khiết thu được được tinh chế thêm bằng RP HPLC (Sunfire C18; ACN/nước, chất cải biến: TFA) để thu được tert - butyl (2S,4S) - 4 - ({1 - [(3S,4S) - 1 - (but - 3 -

enoyl) - 3 - methylpiperidin - 4 - yl] - 1H - 1,3 - benzodiazol - 2 - yl}oxy) - 1 -
 {4 - [1,1 - diflo - 2 - (prop - 2 - en - 1 - yloxy)ethyl] - 8 - oxa - 3,5 -
 diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl}pyrolidin - 2 -
 carboxylat.

ESI-MdS: 757 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,77 phút (phương pháp A)

Bước 3:

Quy trình chung H:

Dung dịch sản phẩm từ bước 2 (được làm khô bằng đồng chung cất đồng sôi với toluen; 77,0 mg; 0,102 mmol) trong 1,2-dicloetan (được khử khí; 9,0 ml) trong bình thủy tinh được làm khô bằng lò được bổ sung chất xúc tác Grubbs II (5,0 mg). Hỗn hợp được khuấy trong 24 giờ ở 80 °C, sau đó cùng một lượng chất xúc tác lại được bổ sung và hỗn hợp được khuấy thêm 24 giờ nữa. Phản ứng được làm ngừng bằng bổ sung imidazol (10 mg), sau đó làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được cô đặc và được tiến hành FC (silicagel; CH/EtOAc 20% -> 100%) để thu được tert - butyl (1S,12S,14S,32E,38S) - 28,28 - diflo - 38 - methyl - 35 - oxo - 11,18,30 - trioxa - 2,9,15,26,36,41 -

hexaazaooctaxyclo[34.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]dotetraconta - 3(8),4,6,9,16(41),17(25),19,21,23,26,32 - undecaen - 14 - carboxylat.

ESI-MdS: 729 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,73 phút (phương pháp A)

Bước 4:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 3 (22,0 mg; 0,0302 mmol), etanol (1,5 mL) và Pd/C 10% được giữ dưới hydro (5 psi) trong thiết bị Parr qua đêm. Hỗn hợp được lọc, bay hơi và được đưa vào bước tiếp theo.

ESI-MdS: 731 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,09 phút (phương pháp E)

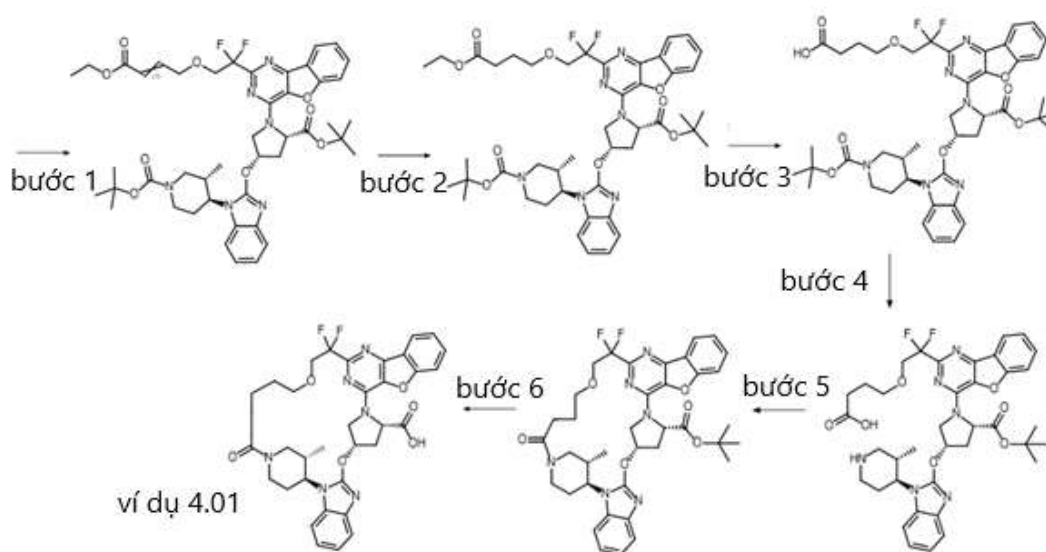
Bước 5:

Sản phẩm từ bước 4 (22,1 mg) được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung D. Sản phẩm được tinh chế thêm bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA).

ESI-MdS: 675 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,60 phút (phương pháp A)

Ví dụ 4.01:



Bước 1:

Dung dịch hợp chất trung gian I.02 được khử khí (150 mg; 0,190 mmol) trong ethyl acrylat (1,56 mL; 14,3 mmol) được bổ sung chất xúc tác Grubbs II (8,1 mg; 0,0095 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 24 giờ, sau đó bay hơi và được tiến hành FC (CH/EtOAc 30% -> 100%) để thu được tert - butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - [4 - (2 - {[4 - etoxy - 4 - oxobut - 2 - en - 1 - yl]oxy} - 1,1 - difloetyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl]pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

ESI-MdS: 861 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,28 phút (phương pháp B)

Bước 2:

Quy trình chung E

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 1 (140 mg; 0,163 mmol), Pd/C 10% (28 mg) và etanol (2,0 mL) được phản ứng trong thiết bị Parr ở nhiệt độ trong phòng dưới hydro (50 psi) cho đến khi kiểm soát HPLC chỉ ra sự chuyển hóa của nguyên liệu ban đầu (4 giờ). Hỗn hợp được lọc, cô đặc dưới điều kiện giảm và tiến hành tinh chế bằng RP HPLC (XBridge C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA) để thu được tert - butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - {4 - [2 - (4 - etoxy - 4 - oxobutoxy) - 1,1 - difloetyl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl}pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

ESI-MdS: 863 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 1,28 phút (phương pháp B)

Bước 3:

Quy trình chung F

Sản phẩm từ bước 2 (118 mg; 0,137 mmol) được đưa vào trong hỗn hợp của dung dịch Lithi hydroxit (2 M; 153 µL; 0,306 mmol), MeOH (0,80 mL) và THF (4,0 mL). Hỗn hợp được khuấy ở 40 °C cho đến khi phân tích HPLC chỉ ra sự chuyển hóa (7 giờ), cô đặc dưới áp suất giảm, được pha loãng bằng nước và axit hóa bằng lượng bằng mol của dung dịch axit clohydric. Giọt metanol được bổ sung và hỗn hợp được chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ được tách ra, cô đặc dưới điều kiện giảm và được đưa vào bước tiếp theo.

Bước 4:

Sản phẩm từ bước 3 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung B để thu được axit 4 - (2 - {6 - [(2S,4S) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 4 - ({1 - [(3S,4S) - 3 - metylpiperidin - 4 - yl] - 1H - 1,3 - benzodiazol - 2 - yl}oxy)pyrrolidin - 1 - yl] -

8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 4 - yl} - 2,2 - difloetoxy)butanoic.

Bước 5:

Sản phẩm từ bước 4 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung C để thu được tert - butyl (1S,12S,14S,37S) - 28,28 - diflo - 37 - methyl - 34 - oxo - 11,18,30 - trioxa - 2,9,15,26,35,40 -

hexaazaotaxyclo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta - 3,5,7,9,16,19,21,23,25,27(40) - decaen - 14 - carboxylat.

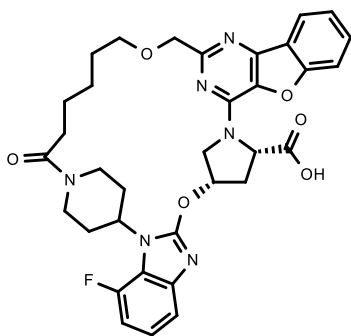
Bước 6:

Sản phẩm từ bước 5 được phản ứng theo quy trình tổng hợp chung D để thu được hợp chất nêu ở đề mục

ESI-MdS: 661 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,90 phút (phương pháp B)

Ví dụ 5.01:



Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-S và B-11 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thể thơm ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-S và B-11)

Bước 2: khử bảo vệ BOC sử dụng quy trình chung B

Bước 3: Phản ứng với axit 4-pentenoic sử dụng quy trình chung G

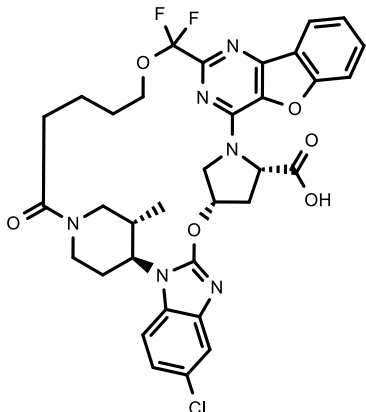
Bước 4: Chuyển vị sử dụng quy trình chung H

Bước 5: Hydro hóa sử dụng quy trình chung E

Bước 6: Khử bảo vệ tert butyl este sử dụng quy trình chung D

ESI-MdS: 643 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,58 phút (phương pháp A)



Ví dụ 6.01:

Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-T và B-02 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thể thơm ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-T và B-02)

Bước 2: Chuyển vị với methyl 3-butenolat làm olefin thứ hai áp dụng cải biến của quy trình chung H (phản ứng trong DCM ở nhiệt độ trong phòng, sử dụng 15 đương lượng methyl 3-butenolat và sau 24 giờ bổ sung thêm 15 đương lượng methyl 3-butenolat và thêm 0,3 đương lượng chất xúc tác trong các phần.

Bước 3: Hydro hóa sử dụng quy trình chung E (dung môi: EtOAc)

Bước 4: Xà phòng hóa este sử dụng quy trình chung F (dung dịch lithi hydroxit / THF, 50 °C, 5 giờ)

Bước 5: Khử bảo vệ BOC sử dụng quy trình chung B

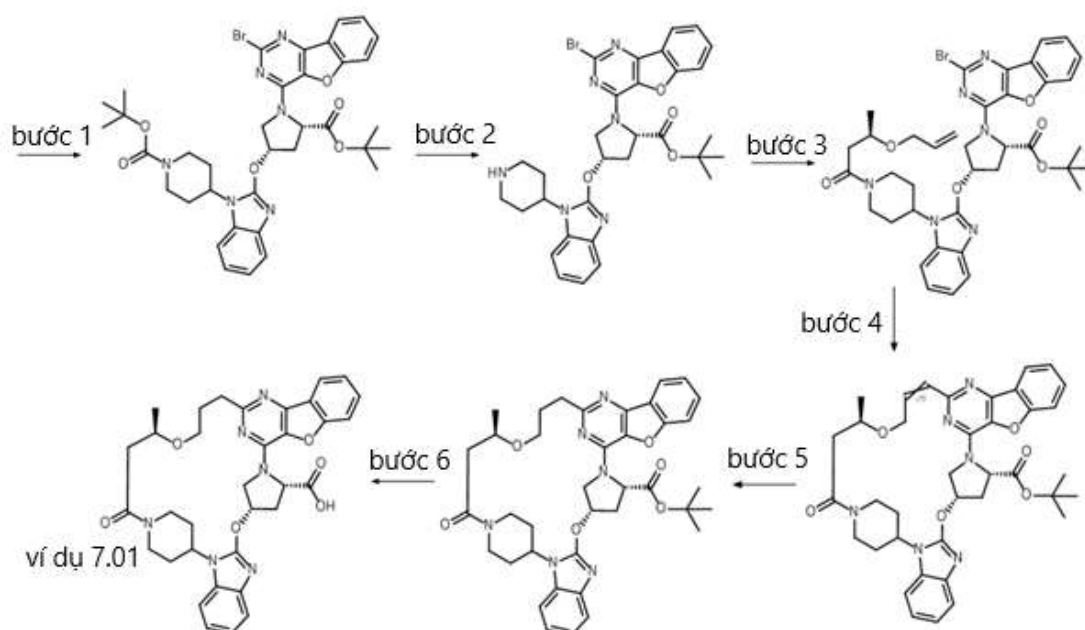
Bước 6: Amit hóa đóng vòng sử dụng quy trình chung C (dung môi: DMA)

Bước 7: Khử bảo vệ tert butyl este sử dụng quy trình chung D

ESI-MdS: 695 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,72 phút (phương pháp A)

Ví dụ 7.01:



Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-R và B-10 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thế thiom ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-R và B-10)

Bước 2: Khử bảo vệ BOC sử dụng quy trình chung B

Bước 3: Amit bằng axit (3*R*)-3-prop-3-en-1-yloxy)butanoic sử dụng quy trình chung C

Bước 4:

Dung dịch được khử khí (dưới argon) của sản phẩm từ bước 3 (162 mg; 0,213 mmol), xesi cacbonat (174 mg; 0,533 mmol) và bạc iodua (55,1 mg; 0,235 mmol) trong dioxan được bổ sung chất xúc tác [1,1'-BIS(DI-TERT-BUTYLPHOSPHINO)FEROXEN]DICLOPALADI(II) (21,3 mg; 0,0320 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở 120 °C trong 24 giờ, sau đó làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được pha loãng bằng ACN/metanol được lọc và được tinh chế bằng RP HPLC điều chế (XBridge C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA) để thu được tert - butyl (12*S*,14*S*,32*R*) - 32 - metyl - 34 - oxo - 11,18,31 - trioxa - 2,9,15,26,35,40 - hexaazaocyclo[33.2.2.1^{12,15}.1^{16,27}.0^{2,10}.0^{3,8}.0^{17,25}.0^{19,24}]hentetraconta - 3(8),4,6,9,16(40),17(25),19(24),20,22,26,28 - undecaen - 14 - carboxylat.

ESI-MdS: 679 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,60 phút (phương pháp A)

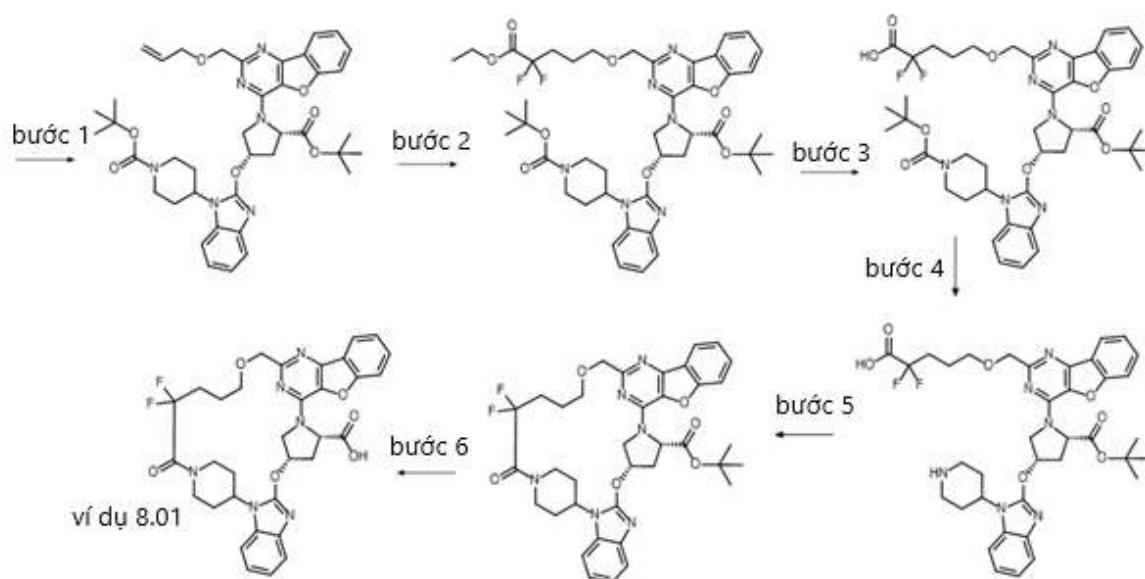
Bước 5: Hydro hóa sử dụng quy trình chung E.

Bước 6: Khử bảo vệ tert butyl este sử dụng quy trình chung D

ESI-MdS: 625 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,47 phút (phương pháp A)

Ví dụ 8.01:



Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-S và B-10 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thể thơm ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-S và B-10)

Bước 2:

Phản ứng dưới argon. Hỗn hợp được khử khí của sản phẩm từ bước 1 (381 mg; 0,500 mmol), niken(II)clorua (3,3 mg; 0,025 mmol), natricacbonat (53 mg; 0,50 mmol) và DMF khan (4,77 ml) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng etyl bromodifloaxetat (209 mg; 1,00 mmol) và phenylsilan (223 mg; 2,00 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong bình bịt kín trong 14 giờ ở 70 °C. hỗn hợp được rót vào nước muối bão hòa và hỗn hợp thu được được chiết bằng EtOAc bão hòa. Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng RP HPLC điều chế (XBridge C18; ACN/nước, chất cải biến: TFA) để thu được tert - butyl 4 - (2 -

{[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - (4 - {[(5 - etoxy - 4,4 - diflo - 5 - oxopentyl)oxy]metyl} - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 6 - yl)pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl)piperidin - 1 - carboxylat.

ESI-MdS: 649 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,80 phút (phương pháp A)

Bước 3: Xà phòng hóa este sử dụng quy trình chung F (dung dịch lithi hydroxit / THF, nhiệt độ trong phòng, 2,5 giờ)

Bước 4: Khử bảo vệ BOC sử dụng quy trình chung B

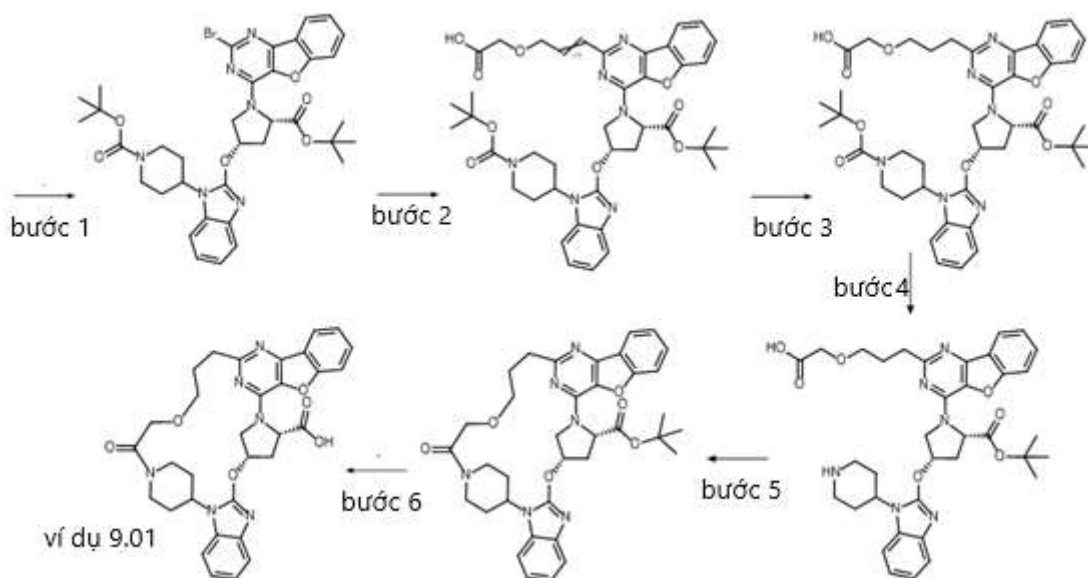
Bước 5: Amit hóa đóng vòng sử dụng HATU trong DMF sử dụng quy trình chung C

Bước 6: khử bảo vệ tert-butyl este sử dụng quy trình chung D

ESI-MdS: 647 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,53 phút (phương pháp A)

Ví dụ 9.01:



Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-R và B-10 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thế thiom ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-R và B-10)

Bước 2:

Quy trình chung I:

Dưới argon, paladi(II)-axetat (9,0 mg; 0,040 mmol) và Tri-*o*-tolylphosphin (24,4 mg; 0,080 mmol) được bổ sung vào dung dịch sản phẩm được khử khí từ bước 1 (326 mg; 0,400 mmol), axit allyloxy-axetic (133 μ L; 1,20 mmol) và triethylamin (112 μ L; 0,800 mmol) trong DMF (6,52 mL). Lọ được bịt kín và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2,5 giờ ở 115 °C. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng ACN/H₂O, được lọc và được tinh chế trực tiếp bằng RP HPLC điều chế (XBridge C18; 30 - 100 % ACN/H₂O, chất cải biến: amoniac) để thu được axit 2 - {[(3 - {6 - [(2S,4S) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 4 - [(1 - {1 - [(tert - butoxy)carbonyl]piperidin - 4 - yl} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 2 - yl)oxy]pyrrolidin - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(13),2,4,6,9,11 - hexaen - 4 - yl}prop - 2 - en - 1 - yl]oxy}axetic là hỗn hợp của các chất đồng phân E/Z.

ESI-MdS: 769 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,57/0,58 phút (phương pháp F)

Bước 3: Hydro hóa sử dụng quy trình chung E (dung môi: EtOAc)

Bước 4: Khử bảo vệ BOC sử dụng quy trình chung B

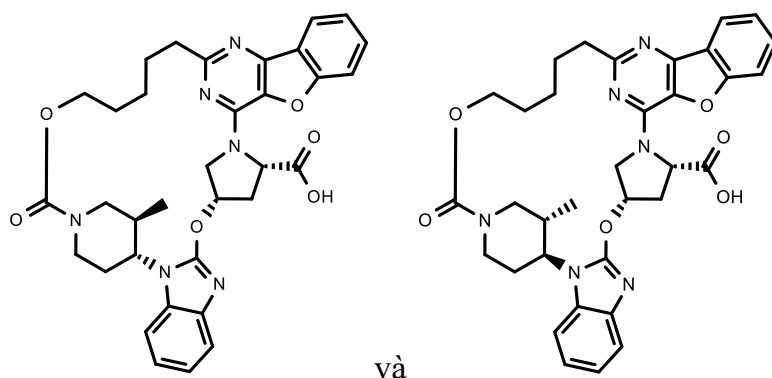
Bước 5: Amit hóa đóng vòng sử dụng HATU trong DMF sử dụng quy trình chung C

Bước 6: Khử bảo vệ tert butyl este sử dụng quy trình chung D

ESI-MdS: 597 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,42 phút (phương pháp A)

Ví dụ 10.01 và ví dụ 10.02:



Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-R và I.03 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thế thơm ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-R và I.03)

Bước 2: Ghép nối Heck nội phân tử áp dụng quy trình chung I (thời gian phản ứng 17 giờ; 100 °C)

Bước 3: Hydro hóa sử dụng quy trình chung E (chất xúc tác: Raney-Ni; dung môi: metanol)

Bước 4: Khử bảo vệ tert butyl este sử dụng quy trình chung D

Bước 5:

Hỗn hợp chất đồng phân không đối quang tinh khiết thu được được tách ra bằng SFC điều chế (Thiết bị: Sepiatec PrepSFC50; Cột: CHIRAL ART Xenluloza-SC (10 mm * 250mm, 5um); pha động: A đối với CO₂ và B đối với IPA [+20 mM NH₃]; Gradient: B% = 25% chế độ rửa giải đẳng dòng; tốc độ dòng: 15 mL/phút; Chiều dài bước sóng: 220nm; nhiệt độ cột: 40 độ C; Áp suất ngược của hệ thống 150 bar).

Ví dụ 10.01 (rửa giải thứ nhất)

ESI-MdS: 625 [M+H]⁺

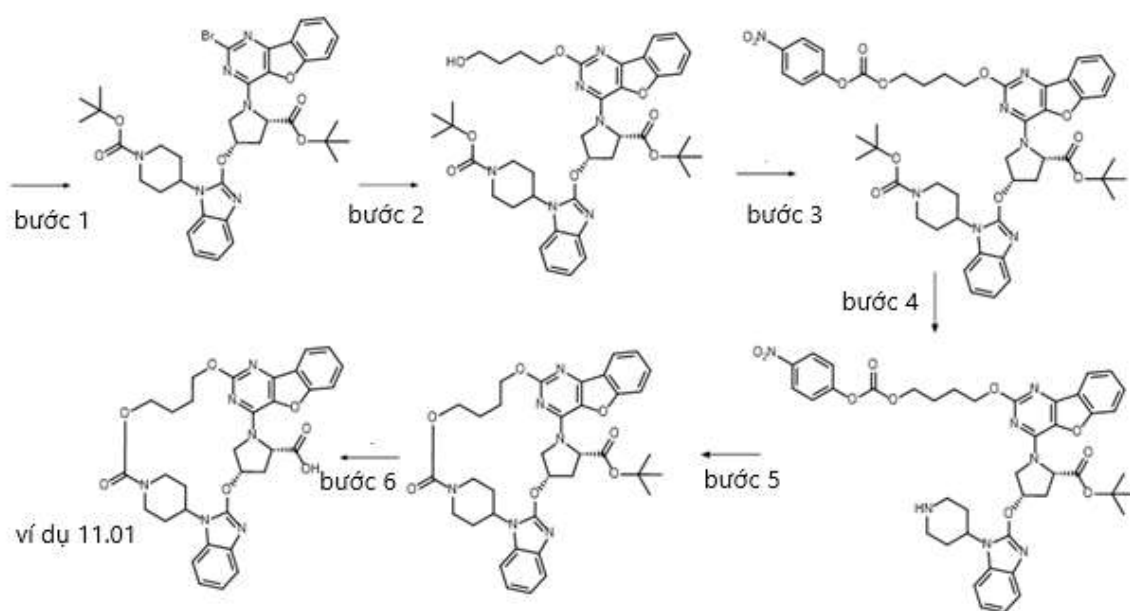
R_t (HPLC): 0,804 phút (phương pháp E)

và ví dụ 10.02 (rửa giải thứ hai).

ESI-MdS: 625 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,814 phút (phương pháp E)

Ví dụ 11.01:



Quá trình tổng hợp được thực hiện bắt đầu từ các hợp chất trung gian N-R và B-10 sử dụng trình tự phản ứng sau đây:

Bước 1: Thử thom ái nhân sử dụng quy trình chung A (các chất phản ứng: N-R và B-10)

Bước 2:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 1 (500 mg; 0,682 mmol), 1,4-butandiol (1,22 mL; 13,6 mmol), kali tert-butyilat (229 mg; 2,04 mmol) và ACN (10 mL; được làm khô bằng rây phân tử) được khuấy trong lọ bít kín ở 80 °C qua đêm. Hỗn hợp được bay hơi và cặn được tiến hành tinh chế bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA) để thu được tert-butyl 4-(2-((3S,5S)-5-((tert-butoxy)carbonyl)-1-[4-(4-hydroxybutoxy)-8-oxa-3,5-diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca-1(13),2,4,6,9,11-hexaen-6-yl]pyrrolidin-3-yl]oxy)-1H-1,3-benzodiazol-1-yl)piperidin-1-carboxylat.

ESI-MdS: 743 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,70 phút (phương pháp A)

Bước 3:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 2 (143 mg; 0,193 mmol), 4-nitrophenyl cloroformat (87,1 mg; 0,424 mmol), pyridin (103 μ L; 1,27 mmol) và DCM (6,0 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Các chất dễ bay hơi được làm bay hơi và sản phẩm thô được đưa vào bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 4: Khử bảo vệ BOC có tính axit được thực hiện áp dụng điều kiện của quy trình chung D.

Bước 5:

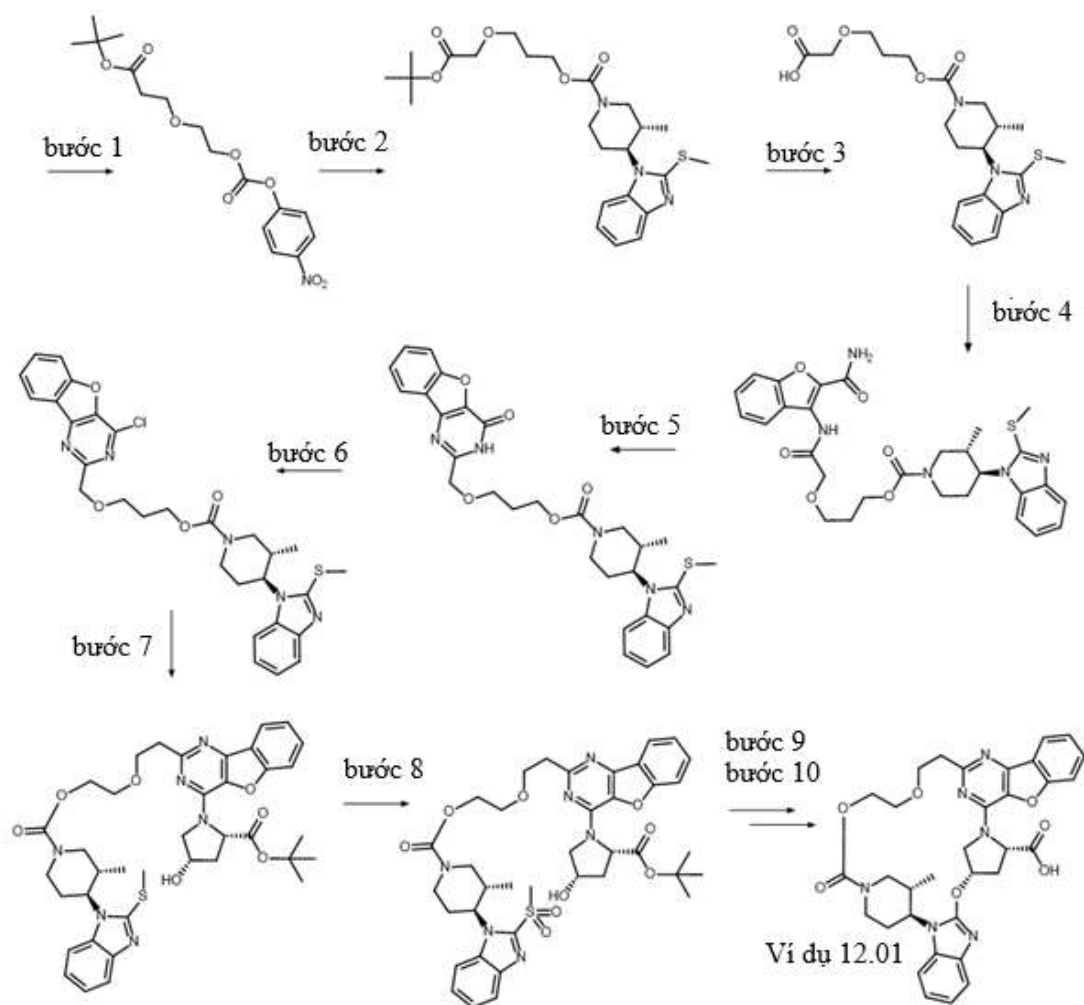
Để đóng vòng tạo thành carbamat, sản phẩm thô từ bước 4 được đưa vào trong DIPEA dư và được khuấy trong 90 phút ở 70 °C. Hỗn hợp được bay hơi và được đưa vào bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 6: Bước 4: Khử bảo vệ tert butyl este sử dụng quy trình chung D

ESI-MdS: 613 $[M+H]^+$

R_t (HPLC): 0,50 phút (phương pháp A)

Ví dụ 12.01 (hỗn hợp triệt quang của các chất đồng phân trans):



Bước 1:

Hỗn hợp của tert-butyl-3-(2-hydroxyetoxy)propanoat (1,45 g ; 7,62 mmol), pyridin (663 mg ; 8,38 mmol) và DCM (15 mL) được làm lạnh xuống 0 °C, được bổ sung nhỏ giọt dung dịch 4-nitrophenyl-cloformat (1,54 g ; 7,62 mmol) trong DCM (15 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, sau đó được pha loãng bằng DCM và được chiết bằng nước. Lớp hữu cơ được bay hơi và sản phẩm thô được đưa vào bước tiếp theo.

Bước 2:

Hỗn hợp của sản phẩm thô từ bước 1 (686 mg), hợp chất trung gian B-12 (500 mg), diisopropyl-etylamin (742 μ L) và THF (8,0 mL) được hồi lưu trong 2 giờ. Hỗn hợp được bay hơi, được đưa vào EtOAc và được chiết hai lần bằng dung dịch natri hydroxit (1 M), sau đó được rửa bằng nước và nước muối. Lớp hữu cơ được bay hơi đến

khô và sản phẩm phản ứng thô được tinh chế bằng FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 5% -> 35%) để thu được tert - butyl 2 - {3 - [3 - methyl - 4 - [2 - (metylsulfanyl) - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl]piperidin - 1 - carbonyloxy]propoxy}axetat trans triệt quang.

ESI-MdS: 478 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,85 phút (phương pháp E)

Bước 3: Phân cắt este có tính axit sử dụng quy trình chung D mà không cần tinh chế sắc ký.

Bước 4:

Dung dịch sản phẩm từ bước 3 (579 mg) trong ACN (10 mL) được bổ sung 1-clo-N,N,2-trimethylpropenylamin (259 µL; 3,92 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được khuấy qua đêm, được bay hơi, được cho vào trong DCM và được chiết bằng nước. Lớp hữu cơ được bay hơi và được tiến hành FC (silicagel; ete dầu hỏa/EtOAc 45% -> 95%).

ESI-MdS: 580 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,81 phút (phương pháp E)

Bước 5:

Sản phẩm từ bước 4 (650 mg; 1,12 mmol) được huyền phù trong dung dịch natri hydroxit (4 M; 15 mL). Hỗn hợp được khuấy ở 60 °C trong 1 giờ, sau đó làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, được axit hóa bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric (4 M). Dịch nổi được gạn và chất rắn được tiến hành tinh chế bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA).

ESI-MdS: 562 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,76 phút (phương pháp E)

Bước 6:

Sản phẩm từ bước 5 (390 mg; 0,694 mmol) được huyền phù trong trong phosphoryl trichlorua (6 mL). Hỗn hợp được khuấy ở 90 °C trong 1 giờ, sau đó được bay hơi. Phần cặn được bổ sung nước cẩn thận và hỗn hợp thu được được chiết bằng EtOAc.

Lớp hữu cơ được tách ra và được bay hơi đến khô để thu được 3 - ({6-clo - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}metoxy)propyl - 3 - metyl - 4 - [2 - (metylsulfanyl) - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl]piperidin - 1 - carboxylat trans triệt quang.

ESI-MdS: 580, 582 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,89 phút (phương pháp E)

Bước 7:

Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 6 (300 mg; 0,517 mmol), tert - butyl (2*S*,4*S*) - 4 - hydroxypyrrolidin - 2 - carboxylat hydroclorua (142 mg; 0,621 mmol), kali cacbonat (173 mg; 1,19 mmol) và DMF (7,0 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Nước được bổ sung và kết tủa được thu gom và được tinh chế bằng RP HPLC (Sunfire C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA) để thu được 3 - ({6 - [(2*S*,4*S*) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 4 - hydroxypyrrolidin - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}metoxy)propyl - 3 - metyl - 4 - [2 - (metylsulfanyl) - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl]piperidin - 1 - carboxylat (với cấu hình trans triệt quang của gốc piperidin).

ESI-MdS: 731 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,77 phút (phương pháp E)

Bước 8:

Sản phẩm từ bước 7 (239 mg; 0,327 mmol) được hòa tan trong DCM (8,0 mL). Axit m-Cloperbenzoic (77%; 161 mg; 0,719 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ, sau đó được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat. Lớp hữu cơ được bay hơi để thu được 3 - ({6 - [(2*S*,4*S*) - 2 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 4 - hydroxypyrrolidin - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 4 - yl}metoxy)propyl - 4 - (2 - metansulfonyl - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat (với cấu hình trans triệt quang của gốc piperidin).

ESI-MdS: 763 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,85 phút (phương pháp E)

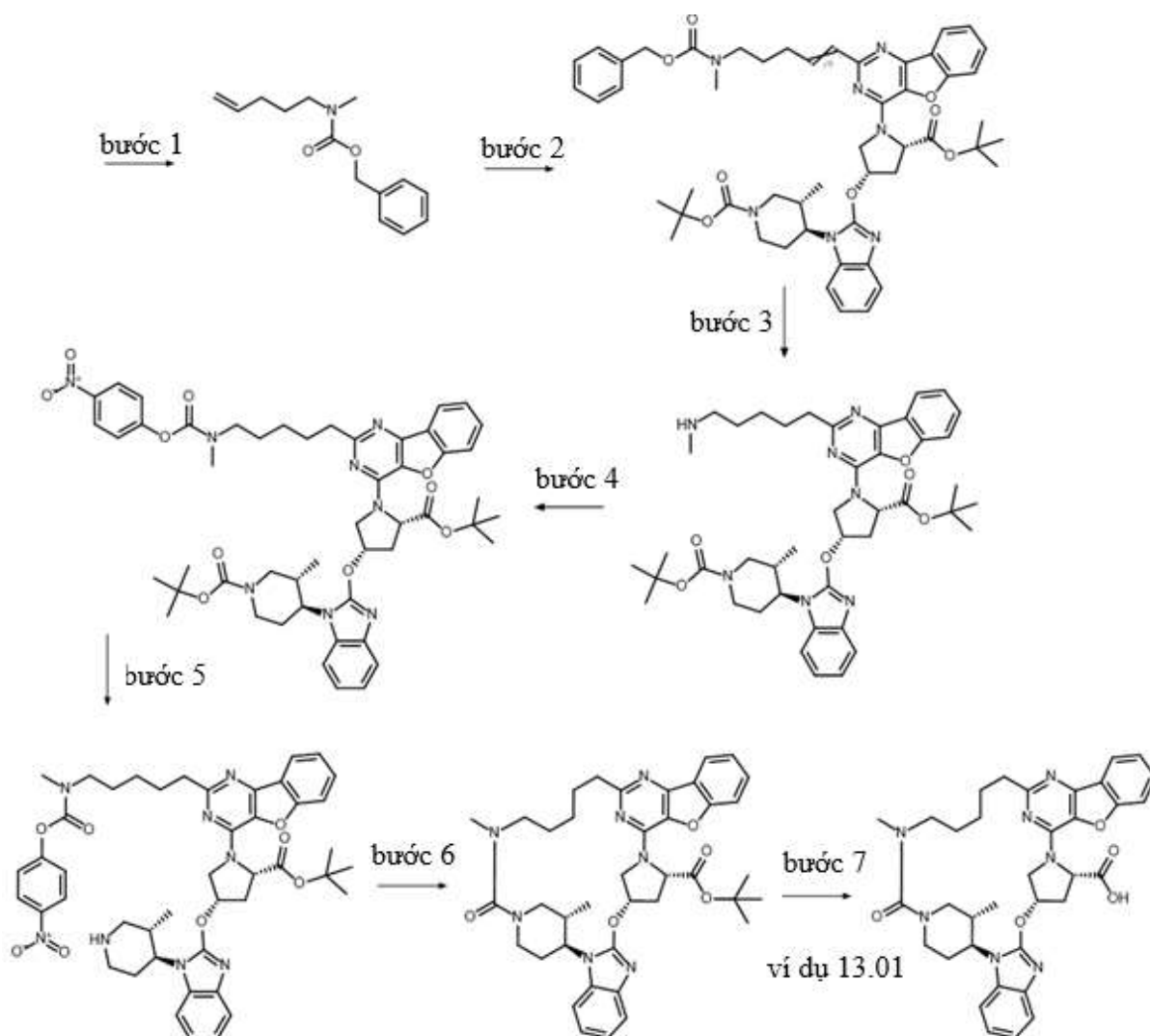
Bước 9: Sự hình thành vòng thông qua sự thay thế ái nhân thơm sử dụng quy trình chung A.

Bước 10: Phân cắt tert butyleste có tính axit sử dụng quy trình chung D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MdS: 627 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,83 phút (phương pháp E)

Ví dụ 13.01:



Bước 1:

Dung dịch nước đá lạnh của N-metyl-(pent-4-en-1-yl)amin (500 mg; 4,79 mmol) trong dung dịch natri cacbonat (2 M; 4,79 mL; 9,58 mmol) được bổ sung nhỏ giọt benzyl cloroformat (774 μ L; 5,27 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở 0 °C, sau đó được pha loãng bằng nước và được chiết ba lần bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước và sau đó nước muối, được làm khô bằng magie sulfat, được lọc và được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FC (silicagel; xyclohexan/EtOAc 25% -> 100%).

ESI-MdS: 234 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,67 phút (phương pháp A)

Bước 2:

Phản ứng dưới argon trong đồ thủy tinh được làm khô trong lò. Hỗn hợp của sản phẩm từ bước 1 (191 mg; 0,778 mmol), hợp chất trung gian I.01 (200 mg; 0,259 mmol), 1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)feroxen paladi diclorua (20,2 mg; 0,0311 mmol) và DMA được khử khí trước đó (2,4 mL) được bổ sung triethylamin (180 μ L; 1,30 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khử khí và sau đó được làm nóng đến 115 °C trong lọ bịt kín trong 10 giờ. Hỗn hợp được bay hơi và cần được tiến hành tinh chế bằng RP HPLC điều chế (XBridge C18, ACN/nước, chất cải biến: amoniac) để thu được tert - butyl (3S,4S) - 4 - (2 - {[(3S,5S) - 1 - {4 - [5 - {[(benzyloxy)carbonyl] (metyl)amino} pent - 1 - en - 1 - yl] - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 6 - yl} - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl]pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

Bước 3: Hydro hóa (bao gồm khử bảo vệ Cbz) sử dụng quy trình chung E mà không cần tinh chế sắc ký.

Bước 4:

Dung dịch sản phẩm thô từ bước 3 (199 mg) trong DCM (3 mL) được bổ sung triethylamin (125 μ L; 1,04 mmol) và 4-nitrophenyl cloroformat (53 mg; 0,26 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được bay hơi và tiến hành tinh chế bằng FC (xyclohexan/EtOAc 20% -> 100%) để thu được tert - butyl (3S,4S) -

4 - (2 - {[(3S,5S) - 5 - [(tert - butoxy)carbonyl] - 1 - [4 - (5 - {metyl[(4 - nitrophenoxy)carbonyl]amino}pentyl) - 8 - oxa - 3,5 - diazatrixyclo[7.4.0.0^{2,7}]trideca - 1(9),2(7),3,5,10,12 - hexaen - 6 - yl]pyrrolidin - 3 - yl]oxy} - 1H - 1,3 - benzodiazol - 1 - yl) - 3 - metylpiperidin - 1 - carboxylat.

Bước 5: Khử bảo vệ BOC sử dụng quy trình chung B

Bước 6:

Sản phẩm thô từ bước 5 được bổ sung nhỏ giọt qua bơm tiêm trong 25 phút vào dung dịch N,N-diisopropyletylamin (49 µL) trong THF (1,5 mL). Hỗn hợp được khuấy ở 80 °C trong 10 giờ. Hỗn hợp được cho qua ống natri bicacbonat và được bay hơi. N-Metylpyrrolidon (3,0 mL) và DIPEA (100 µL) được bổ sung và hỗn hợp được làm nóng trong lò vi sóng đến 180 °C trong 30 phút. Hỗn hợp được tiến hành tinh chế bằng RP HPLC (XBridge C18, ACN/nước, chất cải biến: TFA).

ESI-MdS: 695 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,61 phút (phương pháp A)

Bước 7: Phân cắt tert-Butyl este áp dụng quy trình chung D để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

ESI-MdS: 638 [M+H]⁺

R_t (HPLC): 0,55 phút (phương pháp A)

Các nhận xét kỹ thuật chung

Thuật ngữ "nhiệt độ môi trường" và "nhiệt độ trong phòng" được sử dụng thay thế cho nhau và để chỉ nhiệt độ khoảng 20 °C, ví dụ, 15 đến 25 °C.

Theo quy định, phổ ¹H-NMR và phổ khối được thu thập với hợp chất điều chế được. Trừ khi được thông báo theo cách khác, tất cả các thao tác sắc ký được tiến hành thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

Danh sách các chữ viết tắt

ACN axetonitril

aq.	nước
BOC	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
°C	độ Celsius
CH	xyclohexan
DCM	diclometan
DIPEA	diisopropyletylamin
DMA	dimetylaxetamit
DMAP	4-dimetylaminopyridin
DMF	N,N-dimetylformamit
DMSO	Dimetylsulfoxit
EDC	({[3 - (dimetylamino)propyl]imino} metyliden)(etyl)amin
ESI-MS	Phổ khối ion hóa phun điện tử (m/z)
EtOAc	etyl axetat
FC	phương pháp sắc ký nhanh, SiO ₂ được sử dụng nếu không có chi tiết thêm nào được đưa ra
Grubbs II	DICLO[1,3-BIS(2,4,6-TRIMETYLPHENYL)-2-IMIDAZOLIDINYLIDEN]-(BENZYLIDEN)-(TRIXYCLOHEXYLPHOSPHIN)RUTENI(II)
h	(các) giờ
HCl	clohydric
HATU	[dimetylamino-(1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-3-yloxy)-metylen]-dimetyl-amoni hexaflophosphat
HPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cao
IPA	isopropanol
MeOH	metanol

min	phút
mL	mililit
M	mol
n.d.	không được xác định
Pd/C (x%)	Paladi (x phần trăm khối lượng) trên than
PFTU	Pentaflorphenol-tetrametyluroni hexaflorophosphat
rac	triệt quang
RP	Pha đảo
RT	Nhiệt độ trong phòng (khoảng 20°C)
SFC	Sắc ký chất lỏng siêu tới hạn
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TosOH	Monohydrat của axit P-toluensulfonic
R _t	Thời gian lưu tính bằng phút
Vol%	% thể tích

Phương pháp phân tích (HPLC / SFC):

Phương pháp HPLC A:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm 0,1% TFA)	ACN % thể tích	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	99,0	1,0	1,6
0,02	99,0	1,0	1,6
1,0	0,0	100,0	1,6
1,1	0,0	100,0	1,6

Cột: XBridge BEH C18_2,1 x 30 mm_1,7 µm (Waters); CT: 60 °C

Phương pháp HPLC B:

Thời gian	Nước % thể tích	ACN % thể tích	Tốc độ dòng
-----------	-----------------	----------------	-------------

[phút]	(bao gồm 0,1% TFA)		[mL/phút]
0,0	95,0	5,0	1,5
1,3	0,0	100,0	1,5
1,5	0,0	100,0	1,5

Cột: Sunfire C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm (Waters); CT: 60 °C

Phương pháp HPLC C:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm 0,1% TFA)	ACN % thể tích	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	99,0	1,0	1,5
0,2	99,0	1,0	1,5
1,0	0,0	100,0	1,5
1,1	0,0	100,0	1,5

Cột: XSelect HSS PFP_2,1 x 30 mm_1,8 µm (Waters); CT: 60 °C

HPLC phương pháp D:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm 0,1% TFA)	ACN % thể tích	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	95,0	5	2,2
0,05	95,0	5	2,2
1,4	0,0	100,0	2,2
1,8	0,0	100,0	2,2

Cột: Zorbax StableBond C18_3,0 x 30 mm_1,8 µm (Agilent); CT: 60 °C

Phương pháp HPLC E:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm 0,1% TFA)	ACN % thể tích	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	97,0	3,0	2,2
0,2	97,0	3,0	2,2

1,2	0,0	100,0	2,2
1,25	0,0	100,0	3,0
1,4	0,0	100,0	3,0

Cột: Sunfire C18_3,0 x 30 mm_2,5 µm (Waters); CT: 60 °C

Phương pháp HPLC F:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm 0,1% TFA)	ACN % thể tích	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	95,0	5,0	1,3
0,02	95,0	5,0	1,3
1,0	0,0	100,0	1,3
1,3	0,0	100,0	1,3

Cột: XBridge BEH C18_2,1 x 30 mm_2,5 µm (Waters); CT: 60 °C

Phương pháp HPLC G:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm axit formic 0,1%)	ACN % thể tích (bao gồm axit formic 0,1%)	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	80	20	1
3,35	20	80	1
3,75	20	80	1
3,9	5	95	1
4,75	5	95	1
5,0	80	20	1
6,0	80	20	1

Cột: Kinetex XB-C18 2,6 µm (4,6 x 50mm), 100Å; CT: 25 °C

Phương pháp HPLC H:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm axit formic 0,1%)	ACN % thể tích (bao gồm axit formic 0,1%)	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	80	20	0,5
0,1	80	20	0,5

1,1	0	100	0,5
2,5	80	20	0,5
3,0	80	20	0,5

Cột: Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm (2,1 x 100 mm); CT: 40 °C

Phương pháp HPLC I:

Thời gian [phút]	Nước % thể tích (bao gồm axit formic 0,1%)	ACN % thể tích (bao gồm axit formic 0,1%)	Tốc độ dòng [mL/phút]
0,0	90	10	1
3,35	30	70	1
3,9	5	95	1
4,75	5	95	1
5,0	90	10	1
6,0	90	10	1

Cột: Kinetex XB-C18 2,6 μm (4,6 x 50mm), 100Å; CT: 25 °C

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các hợp chất có công thức I, II hoặc III theo sáng chế làm ví dụ

Các hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III sau đây như được tóm tắt trong bảng 1 đã được tổng hợp và được thử nghiệm về các đặc tính dược lý của chúng liên quan đến hiệu lực ức chế hoạt tính cGAS của chúng.

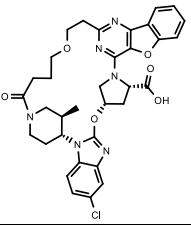
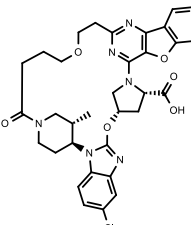
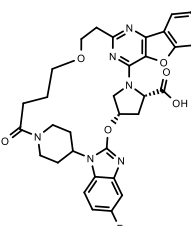
Cụ thể, "các giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" liên quan đến sự ức chế cGAS (THP_(vir) IC₅₀), "giá trị IC₅₀ liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong các tế bào THP1 được kích thích bởi virus" (THP_(vir) IC₅₀), "giá trị IC₅₀ liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong các tế bào THP1 kích thích bởi cGAMP (THP_(cGAMP) IC₅₀) và "giá trị IC₅₀ liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong máu toàn phần người được kích thích bởi dsADN" (hWB IC₅₀) đã được xác định bằng thực nghiệm theo các phương pháp thử nghiệm như được mô tả trong phần 6 dưới đây. Các kết quả được tóm tắt trong bảng 1.

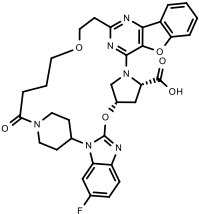
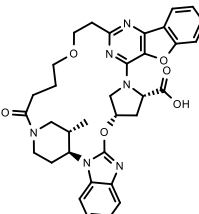
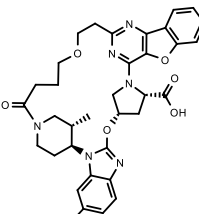
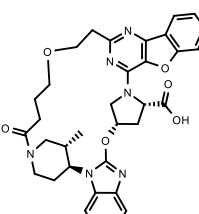
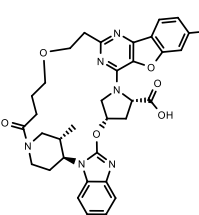
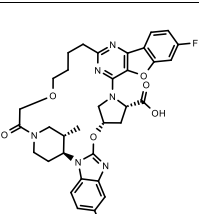
Các hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III như được tóm tắt trong bảng 1 đồng thời thể hiện ba đặc tính sau:

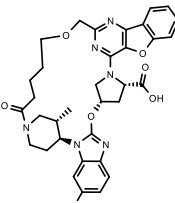
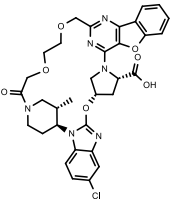
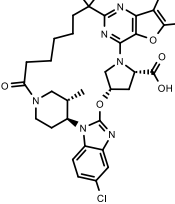
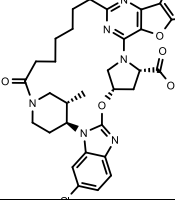
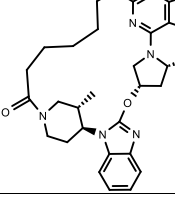
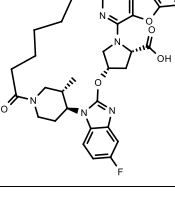
- "giá trị IC_{50} hóa (in vitro) thỏa mãn liên quan đến sự ức chế thành cGAS" (với hcGAS $IC_{50} \leq 100$ nM, tốt hơn là ≤ 50 nM, đặc biệt là ≤ 10 nM),
- "giá trị IC_{50} tế bào thỏa mãn liên quan đến sự ức chế cGAS" (với $THP1_{(vir)} IC_{50} \leq 1$ μ M, tốt hơn là ≤ 500 nM, tốt hơn nữa là ≤ 100 nM, đặc biệt là ≤ 50 nM) và
- khả năng chọn lọc thỏa mãn đối với sự ức chế cGAS
(với tỷ lệ $THP1_{(cGAMP)}IC_{50} / THP1_{(vir)}IC_{50}$ là ≥ 10 , tốt hơn nữa ≥ 50 , tốt hơn nữa ≥ 500 , đặc biệt ≥ 1000).

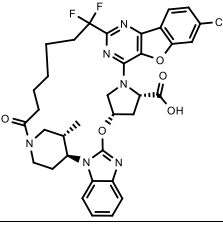
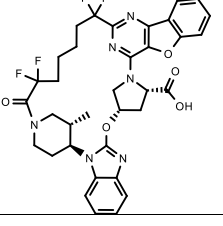
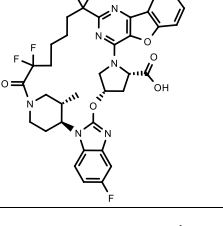
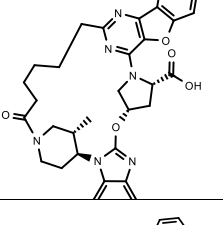
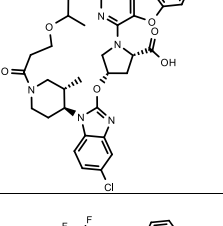
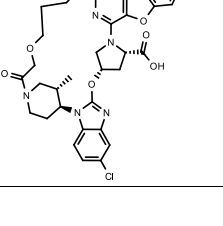
Ngoài ra, hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III cũng thể hiện các giá trị IC_{50} chấp nhận được liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong máu toàn phần người được kích thích bởi dsADN (hWB IC_{50}).

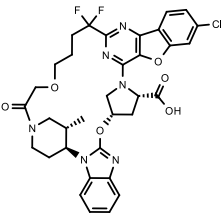
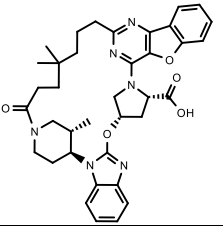
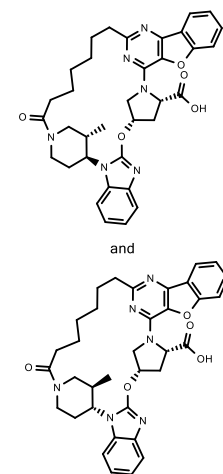
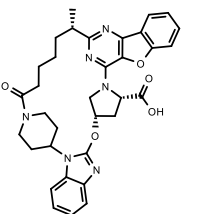
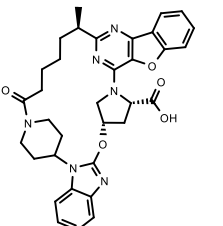
Bảng 1: Đặc tính dược động học của các hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III theo sáng chế

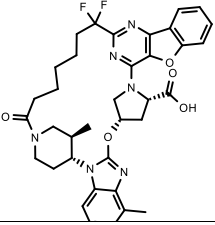
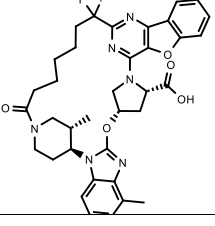
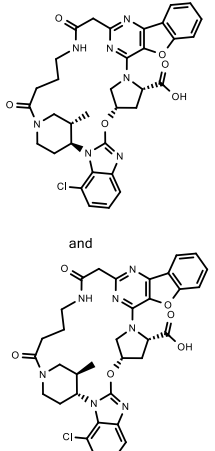
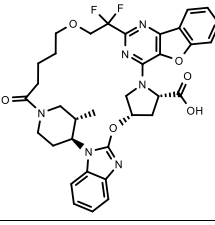
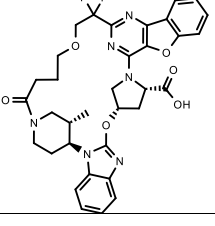
Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC_{50} [nM]	$THP_{(vir)} IC_{50}$ [nM]	$THP_{(cGAMP)} IC_{50}$ [nM]	hWB IC_{50} [nM]	Tỷ lệ $THP_{(cGAMP)} IC_{50} / THP_{(vir)} IC_{50}$
1.01		14	39	>10000	87	>253
1.02		2,8	2,8	>10000	5	>3557
1.03		5,6	110	>10000	36	>90

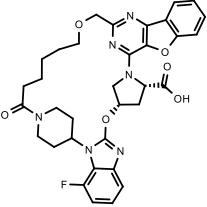
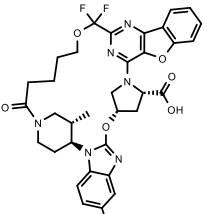
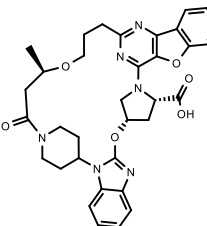
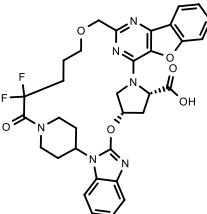
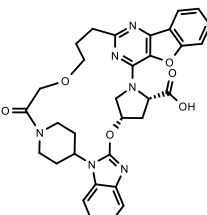
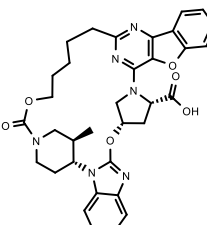
Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.04		4,5	44	>10000	44	>229
1.05		1,8	2,9	>10000	5	>3448
1.06		3,2	4,1	>10000	15	>2417
1.07		3,8	6,5	>10000	13	>1541
1.08		4,5	2,4	9500	17	3928
1.09		3,9	4,3	>10000	2	4305

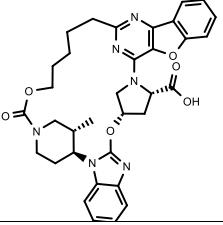
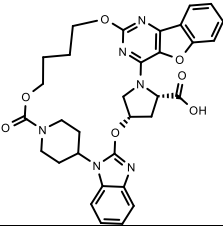
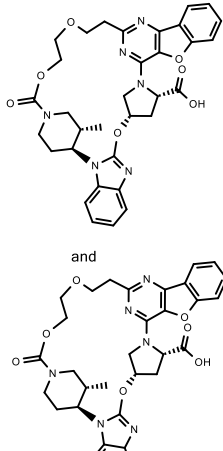
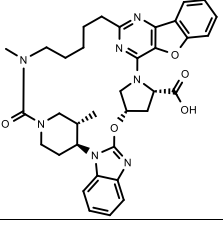
Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.10		5	13	>10000	12	>790
1.11		1,9	3,6	10000	3	>2907
1.12		5,2	2,2	3600	5	1620
1.13		6,1	4,9	11000	15	2251
1.14		4,1	1,5	18000	4	11920
1.15		3,5	7,1	>10000	3	>1408

Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP) MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.16		3,3	9,7	11000	10	1134
1.17		7,2	13	6600	8	519
1.18		3,9	37	10000	10	270
1.19		3,8	40	11000	18	277
1.20		4,9	13	>10000	7	>773
1.21		3,3	1,9	>10000	1	>5238

Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.22		2,7	1,5	>10000	4	>6579
1.23		41	190	9500	143	51
1.24	Ví dụ 1.24 là hỗn hợp của hai đồng phân không đối quang sau đây: 	18	170	11000	86	65
1.25		5,5	8	>10000	41	>1251
1.26		3,4	5,5	15000	19	2687

Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
1.27		100	180	6000	1584	33
1.28		11	15	4000	28	267
2.01	Ví dụ 2.01 là hỗn hợp của các đồng phân không đối quang sau đây: 	6	11	>10000	35	>948
3.01		2,1	0,44	14000	1	32066
4.01		1,7	0,69	>10000	1	>14442

Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
5.01		5,5	38	>10000	33	>260
6.01		3,5	3,1	>10000	3	>2225
7.01		8,8	150	3500	101	23
8.01		5,6	39	>10000	35	255
9.01		7,5	400	n.d.	41	n.d.
10.01		54	180	8200	439	45

Ví dụ số	Cấu trúc	hCGAS IC ₅₀ [nM]	THP _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP _(cGAMP) MP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]	Tỉ lệ THP _(cGAMP) IC ₅₀ / THP _(vir) IC ₅₀
10.02		34	64	>10000	83	>156
11.01		10	180	>1000	138	>56
12.01	Ví dụ 12.01 là hỗn hợp của hai đồng phân không đối quang sau đây: 	8,9	240	>10000	225	>42
13.01		34	500	7300	186	15

So sánh các hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III với các hợp chất tình trạng kỹ thuật

Các hợp chất nêu trong tài liệu WO 2020/142729

Trong tài liệu WO 2020/142729, các chất ức chế cGAS có cấu trúc tương tự một phần đã được bộc lộ.

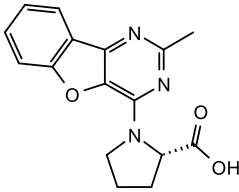
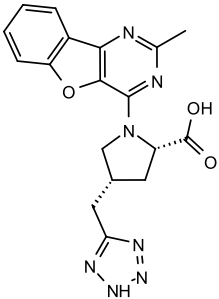
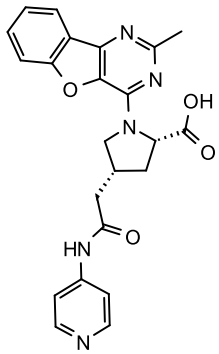
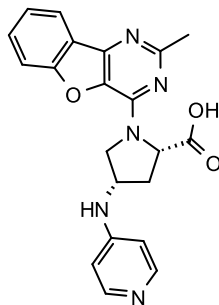
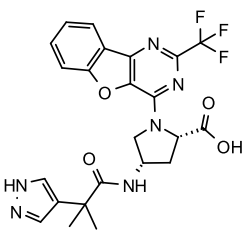
Trang 44 và 45 của tài liệu WO 2020/142729 bộc lộ rằng "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" liên quan đến sự ức chế cGAS (tương ứng với "hcGAS IC₅₀") đã được bộc lộ. Do đó, các hợp chất với "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" thấp hơn 100 nM đã được chỉ định vào "nhóm A", các hợp chất với "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" lớn hơn 100 nM và thấp hơn 500nM đã được chỉ định vào "nhóm B", các hợp chất với "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" lớn hơn 500 nM và nhỏ hơn 1 µM đã được chỉ định vào "nhóm C", các hợp chất với "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" lớn hơn 1 µM và nhỏ hơn 10 µM đã được chỉ định vào "nhóm D" và các hợp chất với "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" lớn hơn 10 µM đã được chỉ định vào "nhóm E" (xem trang 44 của tài liệu WO 2020/142729).

Trang 45 của tài liệu WO 2020/142729 bộc lộ rằng chỉ duy nhất hợp chất số 25 có thể được chỉ định vào "nhóm A" có "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" nhỏ hơn 100 nM. Tất cả các hợp chất ví dụ khác của tài liệu WO 2020/142729 thể hiện "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" lớn hơn 100 nM.

Các hợp chất đối chứng được chọn của WO 2020/142729 bao gồm hợp chất số 25 đã được tổng hợp và sau đó, đã được thử nghiệm về các đặc tính dược lý của chúng liên quan đến hiệu lực ức chế con đường cGAS/STING sử dụng chính xác các thử nghiệm giống như được sử dụng để thử nghiệm các hợp chất sáng chế. Cụ thể, "giá trị IC₅₀ sinh hóa (in vitro)" liên quan đến sự ức chế cGAS (hcGAS IC₅₀), "các giá trị IC₅₀ tế bào liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong các tế bào THP1 được kích thích bởi virus" (THP1_(vir) IC₅₀), "giá trị IC₅₀ tế bào liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong các tế bào THP1 kích thích bởi cGAMP" (THP1_(cGAMP) IC₅₀) và "giá trị IC₅₀ liên quan đến sự ức chế cảm ứng IFN trong máu toàn phần của người" (hWB) đã được xác định bằng thực nghiệm đối với các ví dụ có cấu trúc sát nhất của tài liệu WO 2020/142729 theo các phương pháp thử nghiệm như được mô tả trong phần 6 dưới đây (xem trong bảng 2).

Bảng 2: Các đặc tính dược lý của tập hợp các hợp chất ví dụ của tài liệu WO 2020/142729

Ví dụ số (như được bộc lộ trong	Cấu trúc	hcGAS IC ₅₀ [nM]	THP1 _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP1 _(cGAMP) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]
---------------------------------------	----------	-----------------------------------	--	--	---------------------------------

tài liệu WO 2020/142729)					
15		2700	>17000	>17000	-
25		55	>17000	>17000	>9992
28		630	>32000	>17000	>9990
38		3000	>17000	>17000	>9990
58		320	21000	23000	>9982

Các đặc tính được lý của các hợp chất ví dụ theo sáng chế được tóm tắt trong bảng 1 và các đặc tính được lý tương ứng của các hợp chất trong tài liệu WO 2020/142729 như được tóm tắt trong bảng có thể được so sánh với nhau, vì chúng được xác định bằng thực nghiệm theo các quy trình thử nghiệm giống nhau như được mô tả trong phần 6 dưới đây.

Từ dữ liệu được thể hiện trong bảng 2, rõ ràng là, tất cả các hợp chất ví dụ của tài liệu WO 2020/142729 đều thể hiện “các giá trị IC_{50} sinh hóa (in vitro)” (= hcGAS IC_{50}) lớn hơn nhiều so với 100 nM – với duy nhất ngoại trừ ví dụ số 25 của tài liệu WO 2020/142729 (trong tài liệu WO 2020/142729 được chỉ định vào “nhóm A” có “giá trị IC_{50} sinh hóa (in vitro)” (= hcGAS IC_{50}) nhỏ hơn 100 nM). Trái lại, tất cả các hợp chất ví dụ theo sáng chế đều có “giá trị IC_{50} hóa (in vitro)” (hcGAS IC_{50}) nhỏ hơn 100 nM. Tuy nhiên, ví dụ số 25 của tài liệu WO 2020/142729 mà có “giá trị IC_{50} sinh hóa (in vitro)” (hcGAS IC_{50}) bằng 55 nM, hoàn toàn không phù hợp với tiêu chuẩn lựa chọn “hiệu lực ức chế tế bào thỏa mãn” được chứng minh bởi $THP1_{(vir)}$ IC_{50} nhỏ hơn 1 μ M, vì $THP1_{(vir)}$ IC_{50} của ví dụ số 25 của tài liệu WO 2020/142729 là 17 μ M.

Các hợp chất nêu trong tài liệu WO 2022/174012

Trong tài liệu WO 2022/174012, các chất ức chế cGAS có cấu trúc tương tự một phần đã được bộc lộ.

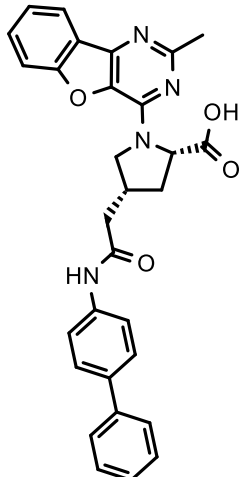
Ở trang 65 của WO 2022/174012 “ giá trị IC_{50} sinh hóa (in vitro)” liên quan đến sự ức chế cGAS và ở trang 67 của WO 2022/174012 “giá trị IC_{50} tế bào” (IFN β ELISA được kích thích bằng THP-1) đã được bộc lộ. Hợp chất 5 (BBL0100455) of WO 2022/174012 dường như dường như là hợp chất duy nhất của WO 2022/174012 có khả năng đáp ứng các tiêu chí lựa chọn của sáng chế mà có nghĩa là có

- a) “giá trị IC_{50} sinh hóa (hoặc enzym) (in vitro)” nhỏ hơn 100 nM (trong “thử nghiệm enzym của WO 2022/174012” hợp chất 5 đã được xác định là rơi vào “nhóm B” biểu thị “giá trị IC_{50} của enzym” từ 50 nM đến 100 nM”, xem trang 65, Bảng 2 của WO 2022/174012)
- b) và có “giá trị IC- tế bào” (IFN β ELISA được kích thích bằng THP-1) nhỏ hơn 1 μ M (trong “thử nghiệm tế bào” của WO 2022/174012 hợp chất 5 được xác định

là rơi vào “nhóm A” biểu thị “giá trị IC₅₀ tế bào” < 1 μ M”, xem trang 67 và 68, bảng 3 của WO 2022/174012).

Tuy nhiên cả hai, thử nghiệm sinh hóa/enzym và thử nghiệm tế bào của WO 2022/174012, không giống hệt với các “thử nghiệm sinh hóa/enzym và thử nghiệm tế bào” tương ứng của sáng chế và do đó các giá trị IC- sinh hóa/enzym và các giá trị IC- tế bào được đo của WO 2022/174012 không thể so sánh với các giá trị IC- tương ứng được đo cho các hợp chất của sáng chế. Vì thế, hợp chất 5 của WO 2022/174012 đã được tổng hợp và sau đó đã được thử nghiệm về các đặc tính dược lý liên quan đến khả năng ức chế con đường cGAS/STING bằng cách sử dụng chính xác các thử nghiệm giống như được sử dụng để thử nghiệm các hợp chất của sáng chế và như được mô tả trong Mục 6 bên dưới.

Bảng 3: Đặc tính dược lý của hợp chất 5 của WO 2022/174012

Ví dụ số (như được bộc lộ trong tài liệu WO 2022/174012)	Cấu trúc	hcGAS IC ₅₀ [nM]	THP1 _(vir) IC ₅₀ [nM]	THP1 _(cGAM P) IC ₅₀ [nM]	hWB IC ₅₀ [nM]
Hợp chất 5 (BBL010045 5)		55	> 10000	> 10000	

Theo dữ liệu từ Bảng 3 cho thấy hợp chất số 5 (BBL0100455) của WO 2022/174012 có giá trị IC₅₀ sinh hóa/enzym chấp nhận được là 55 nM (hcGAS IC₅₀ = 55 nM), nhưng giá trị IC₅₀ tế bào lớn hơn 10000 nM (THP1_(vir) IC₅₀ = 10000 nM). Do đó, tất cả hợp chất của sáng chế đều tương đương với hợp chất số 5 của WO 2022/174012 về giá trị IC₅₀ sinh hóa/enzym, nhưng rõ ràng là vượt trội hơn hợp chất

số 5 của WO 2022/174012 về giá trị IC_{50} tế bào (tất cả đều nhỏ hơn 1000 nM đối với các hợp chất có công thức I, II hoặc III của sáng chế).

Các tiền dược chất

Đã biết rằng, este của các hoạt chất có nhóm axit carboxylic có thể là các tiền dược chất khả thi mà chúng có thể, nghĩa là thể hiện khả năng hấp thu/sinh khả dụng theo đường uống được cải thiện hơn so với hoạt chất tương ứng. Các tiền dược chất được sử dụng thường xuyên của các hoạt chất có nhóm axit carboxylic là, ví dụ, các methyl este, ethyl este, iso-propyl este v.v. (xem trong tài liệu Beaumont et al., *Current Drug Metabolism*, 2003, Vol. 4, Issue 6, 461 - 485).

Hơn nữa, tác giả Nakamura et al., *Bioorganic & Medicinal Chem.*, Vol. 15, Issue 24, p. 7720-7725 (2007), mô tả rằng, cả dẫn xuất N-axylsulfonamid và dẫn xuất N-axylsulfonylure của một hoạt chất cụ thể có nhóm axit carboxylic tự do đều có tiềm năng trở thành tiền dược chất khả thi.

Ngoài ra, các gợi ý thực nghiệm đã phát hiện ra rằng, các methyl este của hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III cũng là các tiền dược chất khả thi của các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III.

PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496 (cả hai đều chưa được công bố cho đến nay) đều bộc lộ các chất ức chế cGAS có cấu trúc tương tự như các chất ức chế cGAS của sáng chế, tất cả đều bao gồm nhóm axit cacboxylic gắn với gốc pyrrolidin. Trong cả hai trường hợp PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496, các thử nghiệm đã chỉ ra rằng các dẫn xuất methyl este của các chất ức chế cGAS này mang nhóm axit cacboxylic gắn vào nhóm pyrrolidin hoạt động như các tiền dược chất khả thi của các chất ức chế cGAS với nhóm axit cacboxylic tự do.

Các hợp chất P01, P02, P03 và P04 của PCT/EP2022/062480 là các dẫn xuất methyl este và là tiền dược chất được cho là của các hợp chất Ví dụ tương ứng 4.04, 1.10, 1.12 và 3.14 của PCT/EP2022/062480 (tất cả đều có nhóm cacboxylic tự do và là chất ức chế cGAS hoạt động với giá trị IC_{50} sinh hóa thấp và giá trị IC_{50} tế bào thấp liên quan đến ức chế cGAS).

Các hợp chất P01, P02 và P03 của PCT/EP2022/062496 là các dẫn xuất methyl este và là tiền dược chất được cho là của các hợp chất Ví dụ tương ứng 2.12, 1.13 và

1.05 của PCT/EP2022/062496 (tất cả đều có nhóm cacboxylic tự do và là chất ức chế cGAS hoạt động với giá trị IC_{50} sinh hóa thấp và giá trị IC_{50} tế bào thấp liên quan đến ức chế cGAS).

Trong cả hai trường hợp PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496, “các chất ức chế cGAS hoạt động/Các hợp chất ví dụ có axit cacboxylic tự do” và “các dẫn xuất methyl este tương ứng/các tiền dược chất dự kiến” của chúng đã được tổng hợp và đã được thử nghiệm về các đặc tính dược lý liên quan đến hiệu lực ức chế con đường cGAS/STING.

Việc so sánh các đặc tính của hợp chất ví dụ của PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496 với axit cacboxylic tự do của chúng một mặt và các đặc tính của các dẫn xuất este methyl tương ứng/tiền dược chất được cho là của chúng cho thấy rằng “giá trị IC_{50} sinh hóa (giá trị IC_{50} hcGAS)” đối với các hợp chất ví dụ luôn ở mức khoảng hoặc thậm chí nhỏ hơn 10 nM, trong khi “giá trị IC_{50} sinh hóa” (giá trị IC_{50} hcGAS) đối với các dẫn xuất este methyl/tiền dược chất tương ứng luôn cực kỳ lớn, nghĩa là thường lớn hơn 7000 nM. Sự khác biệt lớn giữa các giá trị IC_{50} của các hợp chất ví dụ một mặt và các giá trị IC_{50} của tiền dược chất/các dẫn xuất methyl este tương ứng của chúng mặt khác chưa bao giờ được quan sát thấy đối với các giá trị IC_{50} của tế bào tương ứng (các giá trị $(THP1_{(vir)})IC_{50}$) luôn nằm trong cùng một phạm vi giữa các hợp chất ví dụ và các tiền dược chất tương ứng của chúng (xem Bảng 4 bên dưới).

Một giải thích khả dĩ cho quan sát đó là tất cả các hợp chất ví dụ đều có nhóm cacboxylic tự do có vẻ rất quan trọng đối với việc ức chế hoạt tính của cGAS, trong khi ở tất cả "tiền dược chất/dẫn xuất của methyl este", nhóm cacboxyl bị che khuất bởi nhóm este cacboxy-methyl. Do đó, tiền dược chất/dẫn xuất methyl este mất đi hiệu lực ức chế của chúng trong "thử nghiệm enzym cGAS người in vitro" (xem trong phần 6.1 dưới đây), vì trong thử nghiệm này, các enzym trong tế bào mà chúng tách nhóm carboxy-methyl este không có mặt và vì thế nhóm axit cacboxylic tự do quan trọng không thể được khôi phục trong thử nghiệm sinh hóa. Do đó, các tiền dược chất thể hiện “các giá trị IC_{50} sinh hóa (in vitro)” (=hcGAS IC_{50}) cực lớn trong "thử nghiệm enzym cGAS người in vitro" này, trong khi đó các hợp chất ví dụ tương ứng (mà có nhóm axit cacboxylic tự do ngay từ đầu) thể hiện “giá trị IC_{50} sinh hóa in vitro” (=hcGAS IC_{50}) nhỏ.

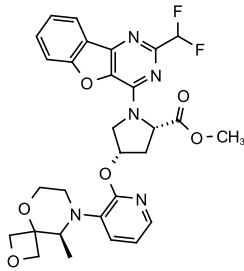
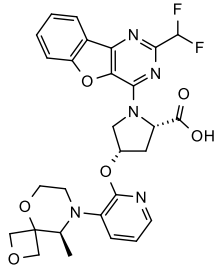
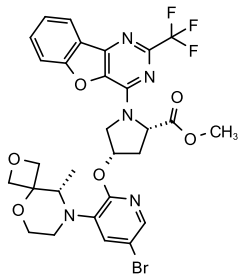
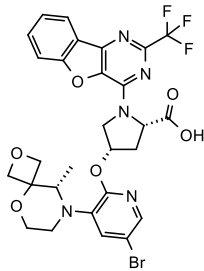
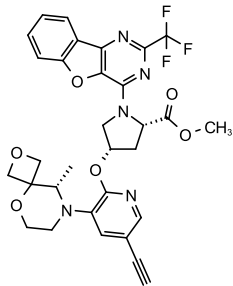
Trong thử nghiệm tế bào ("thử nghiệm tế bào cGAS người và đếm tế bào"), xem trong phần 6.2 dưới đây), các enzym tế bào nội sinh mà tách nhóm carboxy-methyl este đều có mặt. Do đó, không chỉ các hợp chất ví dụ của PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496 (đã mang nhóm axit cacboxylic tự do) cho thấy giá trị $THP1_{(vir)}IC_{50}$ nhỏ mà các tiền dược chất/ dẫn xuất methyl este tương ứng cũng cho thấy "giá trị $THP1_{(vir)}IC_{50}$ " tương đối nhỏ, bởi vì trong "thử nghiệm tế bào cGAS người" này, nhóm carboxyl-methyl este của tiền dược chất có thể bị cắt bởi các enzym nội bào nội sinh và do đó sẽ giải phóng "các hợp chất ví dụ có hoạt tính có nhóm axit cacboxylic tự do" cho thấy khả năng ức chế cGAS một lần nữa.

Giải thích này cùng với các phép đo như thể hiện trong Bảng 4 ngụ ý rằng các dẫn xuất carboxyl-methyl este của các hợp chất ví dụ có cấu trúc tương tự của PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496 thực sự có vẻ đại diện cho các tiền dược chất khả thi của hợp chất ví dụ tương ứng với nhóm axit cacboxylic tự do (bản thân chúng không có khả năng ức chế liên quan đến ức chế cGAS sinh hóa người in vitro). Tuy nhiên, khi phân cắt carboxyl-methyl este bằng enzym nội bào có trong các thử nghiệm tế bào, "các hợp chất ví dụ có hoạt tính" được phục hồi, một lần nữa thể hiện khả năng ức chế liên quan đến con đường cGAS/STING.

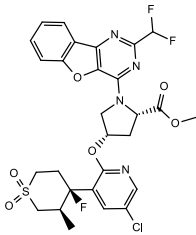
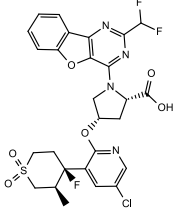
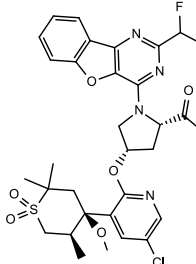
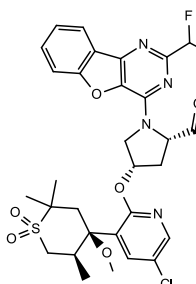
Do các hợp chất ví dụ có công thức I, II hoặc III của sáng chế có cùng axit cacboxylic tự do gắn vào nhóm pyrrolidinyl như các hợp chất ví dụ của PCT/EP2022/062480 hoặc của PCT/EP2022/062496, nên có thể mong đợi rằng các dẫn xuất cacboxy-methyl este của các hợp chất này có công thức I, II hoặc III cũng sẽ hoạt động như tiền dược chất.

Bảng 4: So sánh giữa hợp chất chất ức chế cGAS được chọn bậc lộ trong PCT/EP2022/062480 và PCT/EP2022/062496 và tiền dược chất methyl este tương ứng của chúng:

Ví dụ số/ Tiền dược chất số	Cấu trúc	hcGAS IC_{50} [nM]	$THP1_{(vir)}$ IC_{50} [nM]	$THP1_{(cGAMP)}$ IC_{50} [nM]	hWB IC_{50} [nM]
--------------------------------	----------	----------------------------	-------------------------------------	---------------------------------------	-----------------------

P01 của PCT/EP2022/062 480) (Tiền dược chất của ví dụ 4.04 của PCT/EP 2022/062480)		> 9956	358	26058	1313
Ví dụ 4.04 của PCT/EP2022/062 480)		2	386	> 16611	77
P02 của PCT/EP2022/062 480) (Tiền dược chất của ví dụ 1.10 của PCT/EP2022/062480)		> 9952	444	17109	5327
Ví dụ 1.10 của PCT/EP2022/062 480)		5	91	16130	33
P03 của PCT/EP2022/062 480) (Tiền dược chất của ví dụ 1.12 của PCT/EP2022/062480)		9617	188	22845	1088

Ví dụ 1.12 của PCT/EP2022/062 480)		3	7	11892	15
P04 của PCT/EP2022/062 480) (Tiền dược chất của ví dụ 3.14 của PCT/EP2022/062480)		> 9954	67	> 16621	2747
Ví dụ 3.14 của PCT/EP2022/062 480)		11	10	7832	26
P01 của PCT/EP2022/062 496) (Tiền dược chất của ví dụ 2.12 của PCT/EP2022/062496)		19147	11	>16612	67
Ví dụ 2.12 của PCT/EP2022/062496		3	8	21781	8

P02 của PCT/ EP2022/062496) (tiền dược chất của ví dụ 1.13 của PCT/ EP2022/062496)		>9954	29	>16620	140
Ví dụ 1.13 của PCT/ EP2022/062496		2	6	22502	6
P03 của PCT/ EP2022/062496) (tiền dược chất của ví dụ 1.05 của PCT/ EP2022/062496)		7253	202	20592	1994
Ví dụ 1.05 của PCT/ EP2022/062496		2	44	13188	135

Thử nghiệm sinh học

Hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế có thể được chứng minh sử dụng các thử nghiệm enzyme cGAS in vitro và thử nghiệm tế bào sau:

Phương pháp: Thử nghiệm enzyme cGAS người (hcGAS IC₅₀ (in vitro))

Enzyme cGAS người được ủ trong sự có mặt của ADN sợi kép 45 cặp bazơ để kích hoạt enzyme và GTP và ATP làm cơ chất. Hoạt tính của hợp chất được xác định bằng cách xác định sự tác động của các hợp chất lên sự hình thành sản phẩm của phản ứng enzyme, cGAMP, sản phẩm này được đo bằng phương pháp phổ khối.

Tạo ra chế enzyme:

cGAS người (axit amin 1-522) có thể 6x-His tận cùng N và thẻ SUMO được biểu hiện trong các tế bào E. coli BL21(DE3) pLysS (Novagen) trong thời gian 16 giờ ở nhiệt

độ 18°C. Các tế bào được phân giải trong dung dịch đệm chứa 25 mM Tris (pH 8), 300 mM NaCl, 10 mM imidazol, 10 % glyxerol, dung dịch ức chế proteaza (cOmplete™, EDTA-free, Roche) và ADNaza (5 µg/mL). Protein cGAS được phân lập bằng phương pháp sắc ký ái lực trên nhựa Ni-NTA agarosa và được tinh chế thêm bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước sử dụng cột Superdex 200 (GE Healthcare) được cân bằng trong 20 mM Tris (pH=7,5), 500 mM KCl, và 1 mM TCEP. Protein tinh chế được cô còn 1,7 mg/mL và được lưu giữ ở nhiệt độ -80°C.

Phương pháp thử nghiệm

Các hợp chất được phân phối trong 10mM dung dịch DMSO, được pha loãng theo dãy và được chuyển sang đĩa thử nghiệm 384 giếng (Greiner #781201) sử dụng bộ định lượng âm thanh Echo. Điển hình, 8 nồng độ được sử dụng với nồng độ cao nhất ở mức 10 µM trong thể tích thử nghiệm cuối cùng, tiếp theo bằng các bước pha loãng ~1:5. Nồng độ DMSO được thiết đặt ở 1% trong thể tích thử nghiệm cuối cùng. Đĩa thử nghiệm 384 giếng chứa 22 hợp chất thử nghiệm (cột 1-22), và DMSO ở cột 23 và 24.

Sau khi chuyển hợp chất, 15 µL dung dịch hoạt động enzym-ADN (12 nM cGAS, 0,32 µM ADN 45 cặp bazơ trong dung dịch đệm thử nghiệm, 10 mM Tris pH 7,5 / 10 mM KCl / 5 mM MgCl₂/1 mM DTT) được bổ sung vào mỗi giếng từ cột 1-23 thông qua bộ định lượng MultiDrop Combi. Ở cột 24, 15 µL dung dịch đệm thử nghiệm không chứa enzym/ADN được bổ sung làm đối chứng thấp.

Các đĩa sau đó được ủ trước trong 60 phút ở nhiệt độ trong phòng.

Sau đó, 10 µL hỗn hợp GTP (ThermoFisher #R0461)-ATP (Promega #V915B) trong dung dịch đệm thử nghiệm được bổ sung vào đĩa thử nghiệm (các cột 1-24, 30 µM mỗi nồng độ cuối cùng) sử dụng bộ định lượng Multidrop Combi.

Các đĩa lại được ủ trong 90 phút ở nhiệt độ trong phòng.

Sau khi ủ, phản ứng được làm dừng bằng 80 µL axit formic 0,1% trong dung dịch đệm thử nghiệm chứa 5 nM di-GMP vòng (Sigma #SML1228) được sử dụng làm nội chuẩn trong phổ khối. Tổng thể tích/giếng là 105 µL.

Phát hiện MS Rapidfire

Các đĩa được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút, 4°C, trong 5 phút.

Thiết bị lấy mẫu tự động RapidFire được ghép với bơm nhĩ phân (Agilent 1290) và hệ thống Triple Quad 6500 (ABSciex, Toronto, Canada). Hệ thống này được trang bị khay vòng lặp 10 μ L, C18 [12 μ L thể tích nền] (Agilent, Part No. G9210A) chứa 10 mM NH₄Ac (nước) nước (pH 7,4) làm dung môi rửa giải A (bơm 1 ở tốc độ 1,5 mL/phút, bơm 2 ở tốc độ 1,25 mL/phút) và 10 mM NH₄Ac theo tỷ lệ thể tích/thể tích/thể tích 47,5/47,5/5 ACN/MeOH/ H₂O (pH=7,4) làm dung môi rửa giải B (bơm 3 ở tốc độ 1,25 mL/phút). Thời gian hút: 250 miligiây; Thời gian tải: 3000 miligiây; Thời gian rửa giải: 3000 miligiây; Thể tích rửa: 500 μ L.

MS được hoạt động ở phương thức ion dương với nguồn ion HESI, với nhiệt độ nguồn là 550°C, khí chắn = 35, khí 1 = 65, và khí 2 = 80. Độ phân giải đơn vị khối lượng theo phương thức SRM. Những sự chuyển dịch và các thông số MS sau (DP: thể phân mảnh và CE: năng lượng va chạm) đối với cGAMP và DicGMP được xác định:

Chất phân tích: cGAMP theo tỷ lệ 675,1/524, DP = 130, CE = 30 và

Nội chuẩn: di-GMP vòng theo tỷ lệ 690,1/540, DP = 130, CE = 30.

Sự hình thành cGAMP được giám sát và được đánh giá theo tỷ lệ với di-GMP vòng.

Đánh giá và tính toán số liệu:

Để đánh giá và tính toán số liệu, số đo của đối chứng thấp được đặt làm đối chứng 0% và số đo của đối chứng cao được đặt làm đối chứng 100%. Các giá trị IC₅₀ được tính toán sử dụng công thức hồi quy logistic 4 tham số chuẩn. Tính toán: $[y=(a-d)/(1+(x/c)^b)+d]$, a = giá trị thấp, d = giá trị cao; x = nồng độ M; c=IC₅₀ M; b = độ dốc

6.2 Phương pháp: thử nghiệm tế bào cGAS người và thử nghiệm đếm tế bào được kích thích bởi cGAMP (THP1_(vir) IC₅₀ và THP1_(cGAMP) IC₅₀)

Các tế bào THP1-Dual™ (InvivoGen #thpd-nfis) biểu hiện gen thông báo Lucia luciferaza phụ thuộc IRF được sử dụng làm cơ sở cho cả hai thử nghiệm. Để phát hiện hoạt tính cGAS tế bào, các tế bào được kích thích bằng cách gây nhiễm baculovirus (pFastbac-1, Invitrogen, đoạn chèn không mã hóa) mà nó phân phối enzym cGAS kích thích ADN sợi kép (đo giá trị THP1_(vir) IC₅₀).

Đối với thử nghiệm đếm tế bào, các tế bào được kích thích bằng cGAMP (SigmaAldrich #SML1232) để kích hoạt con đường độc lập tương tự và ngay sau cGAS (đo giá trị $THP1_{(cGAMP)} IC_{50}$).

Hoạt tính của con đường được giám sát bằng cách đo hoạt tính Lucia luciferaza được cảm ứng bởi ADN kích thích bởi hoạt tính enzym cGAS (đo giá trị $THP1_{(vir)} IC_{50}$) hoặc bởi cGAMP trực tiếp (đo giá trị $THP1_{(cGAMP)} IC_{50}$, thử nghiệm đếm).

Phương pháp thử nghiệm

Các hợp chất được phân phối trong 10mM dung dịch DMSO, được pha loãng theo dãy và được chuyển sang đĩa thử nghiệm 384 giếng (Greiner #781201) sử dụng bộ định lượng âm thanh Echo. Điển hình, 8 nồng độ được sử dụng với nồng độ cao nhất ở mức 10 μ M trong thể tích thử nghiệm cuối cùng, tiếp theo bằng các bước pha loãng ~1:5. Nồng độ DMSO được thiết đặt ở 1% trong thể tích thử nghiệm cuối cùng. Đĩa thử nghiệm 384 giếng chứa 21 hợp chất thử nghiệm (cột 1-22), và DMSO ở cột 23 và 24.

Các tế bào được nuôi cấy theo điều kiện của nhà sản xuất, được thu hoạch bằng cách ly tâm ở tốc độ 300g/10 phút, sau đó được huyền phù lại và pha loãng thành $1,66E5$ tế bào/ml trong môi trường nuôi cấy tế bào tươi (RPMI 1640 (Gibco #A10491-01), 10% FCS (Gibco #10500), 1x GlutaMax (Gibco #35050-061), 1x dung dịch Pen/Strep (Gibco #15140-122), 100 μ g/ml Normocin (InvivoGen #ant-nr), 100 μ g/ml Zeocin (InvivoGen #ant-zn), 10 μ g/ml Blastocidin S (Life Technologies #A11139-03)). Dung dịch baculovirus sau đó được bổ sung theo tỷ lệ 1:200 (thay đổi theo mẻ virus) vào các tế bào (đo giá trị $THP1_{(vir)} IC_{50}$). Theo cách khác, đối với thử nghiệm đếm, cGAMP được bổ sung vào các tế bào ở nồng độ cuối là 10 μ M (đo giá trị $THP1_{(cGAMP)} IC_{50}$).

30 μ L hỗn hợp tế bào/virus được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa hợp chất từ cột 1-23 thông qua bộ định lượng MultiDrop Combi (5000 tế bào/giếng). Ở cột 24, 30 μ L/5000 tế bào/giếng không có virus được bổ sung làm đối chứng thấp.

Các đĩa sau đó được ủ trong 18 giờ ở nhiệt độ 37°C trong tủ ủ được làm ẩm.

Sau đó, 15 μ L chất phản ứng phát hiện QuantiLuc (InvivoGen #rep-qlcg5) được bổ sung vào mỗi giếng sử dụng bộ định lượng MultiDrop Combi. Phép đo được tiến hành ngay sau khi bổ sung sử dụng thiết bị đọc EnVision (phương thức đọc phát quang US).

Đánh giá và tính toán số liệu:

Để đánh giá và tính toán dữ liệu, số đo đối chứng thấp được đặt là đối chứng 0 % và số đo đối chứng cao được đặt là đối chứng 100%. Các giá trị IC₅₀ được tính toán sử dụng công thức hồi quy logistic 4 tham số chuẩn. Tính toán: $[y=(a-d)/(1+(x/c)^b)+d]$, a = giá trị thấp, d = giá trị cao; x = nồng độ M; c=IC₅₀ M; b = độ dốc

Phương pháp: thử nghiệm máu toàn phần của người (WB IC₅₀ người)

Để phát hiện hoạt tính cGAS tế bào, máu toàn phần của người được kích thích bằng cách gây nhiễm bằng ADN sợi kép. Hoạt tính của con đường này được theo dõi bằng cách đo mức sản sinh IFN α 2 α .

Phương pháp thử nghiệm

Các hợp chất được phân phối ở dạng 10 mM dung dịch DMSO và được pha loãng theo dãy và được chuyển sang đĩa nuôi cấy tế bào 96 giếng (Corning #3595), được nạp đầy trước bằng 20 μ l OptiMEM (Gibco, #11058-021) trong mỗi giếng, sử dụng bộ định lượng âm thanh Echo. Điển hình, 8 nồng độ được sử dụng với nồng độ cao nhất ở mức 10 μ M trong thể tích thử nghiệm cuối cùng, tiếp theo bằng các bước pha loãng ~1:5. Nồng độ DMSO được thiết đặt ở 0,1% trong thể tích thử nghiệm cuối cùng. Đĩa thử nghiệm 96 giếng chứa 10 hợp chất thử nghiệm, và DMSO trong các giếng đối chứng.

Việc thu thập máu người toàn phần từ 3 hoặc nhiều người cho khỏe mạnh (nam hoặc nữ, không dùng thuốc trong 7 ngày trừ thuốc tránh thai và thyroxin) dưới dạng máu Na-xitrat (ví dụ, 3,8% trong Monovettes của hãng Sarstedt) được thực hiện song song. Máu toàn phần được giữ ở nhiệt độ trong phòng trong tối đa 3 giờ sau khi thu thập cho tới khi sử dụng trong thử nghiệm.

160 μ l mẫu máu toàn phần được chuyển vào mỗi giếng của các đĩa thử nghiệm 96-giếng đã nạp hợp chất/OptiMEM. Tất cả các đĩa thử nghiệm được chuẩn bị làm hai bộ với máu từ các đối tượng cho khác nhau. Các đĩa máu được giữ ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút và lắc liên tục với tốc độ 450 vòng/phút, được đậy bằng nắp, nhưng không đậy kín.

Hỗn hợp ADN-Fugene (Herring DNA, Sigma Aldrich #D6898-1G, Fugene (5x 1 mL), Promega # E2312) được chuẩn bị trong OptiMEM và được ủ trong 10 phút ở

nhiệt độ trong phòng (125 ng ADN / 20 μ l và Eugene theo tỷ lệ 9,6:1). 20 μ l hỗn hợp ADN Eugene được bổ sung vào mỗi giếng, sinh ra 125 ng ADN/giếng/200 μ l, và Eugene theo tỷ lệ 9,6:1. 20 μ l OptiMEM và Eugene theo tỷ lệ 9,6:1 được bổ sung vào tất cả các giếng đối chứng thấp.

Sau khi đập các đĩa thử nghiệm bằng các đệm bít kín diện tích và nắp, đĩa máu được giữ ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút và lắc liên tục với tốc độ 450 vòng/phút, tiếp theo bằng cách ủ qua đêm trong 22 giờ ở nhiệt độ 37°C trong tủ ủ, không cần lắc.

Để phát hiện IFN α -2 α trong huyết tương người, kháng thể bắt giữ được biotinyl hóa (bộ kháng thể IFNA2, Meso Scale Diagnostics #B21VH-3, bao gồm lớp phủ và kháng thể bắt giữ) được pha loãng theo tỷ lệ 1:17,5 trong thể pha loãng 100 (Meso Scale Diagnostics #R50AA-4), theo các chỉ dẫn của nhà sản xuất. Các đĩa Streptavidin SECTOR vết nhỏ 96 giếng U-Plex MSD GOLD (Meso Scale Diagnostics #L45SA-5) được phủ 25 μ l kháng thể bắt giữ pha loãng. Các đĩa đã phủ được ủ trong 60 phút ở nhiệt độ trong phòng trong điều kiện lắc liên tục ở tốc độ 700 vòng/phút. Các đĩa IFN α -2 α MSD được rửa ba lần bằng 150 μ l dung dịch đệm rửa (1x HBSS, 0,05% Tween).

Sau khi phong bế các đĩa bằng 100 μ l dung dịch phong bế/giếng (1x HBSS với 0,2% Tween, 2% BSA) trong 60 phút ở nhiệt độ trong phòng và lắc liên tục ở tốc độ 700 vòng/phút, các đĩa được làm xả hết càng khô càng tốt bằng cách trút xuống ngay trước khi tiếp tục bằng huyết tương người.

Các đĩa thử nghiệm máu toàn phần được ly tâm ở tốc độ 1600 vòng/phút trong 10 phút. 25 μ l dịch nổi được chuyển bằng robot pipet từ mỗi đĩa máu toàn phần sang đĩa IFN α -2 α tương ứng. Các đĩa được bít kín bằng các màng bít vi đĩa và lại giữ ở nhiệt độ trong phòng trong điều kiện lắc liên tục ở 700 vòng/phút trong hai giờ.

Tiếp theo, các đĩa IFN α -2 α MSD được rửa ba lần bằng 150 μ l đệm rửa (1x HBSS, 0,05% Tween), trước khi bổ sung 25 μ l dung dịch kháng thể IFN α -2 α MSD SULFO-TAG (được pha loãng 1:100 trong thể pha loãng 3 (Meso Scale Diagnostics # R50AP-2) vào mỗi giếng của các đĩa.

Sau đó, các đĩa được bít kín bằng màng bít vi đĩa và lại giữ ở nhiệt độ trong phòng trong điều kiện lắc liên tục ở 700 vòng/phút trong hai giờ. Cuối cùng, các đĩa IFN α -2 α

, MSD được rửa ba lần bằng 150 µl đệm rửa (1x HBSS, 0,05% Tween). 150 µl đệm đọc 2x được bổ sung vào mỗi giếng và các đĩa được đo ngay bằng bộ đọc MSD Sector S600 sử dụng mã vạch của nhà cung cấp.

Đánh giá và tính toán số liệu:

Để đánh giá và tính toán dữ liệu, việc tính toán % đối chứng của từng giếng là dựa trên giá trị trung bình của các đối chứng cao (đối chứng được kích thích bằng ADN) và giá trị trung bình của các đối chứng thấp (đối chứng không được kích thích) bằng cách sử dụng công thức sau:

$$[\text{số đếm(mẫu)} - \text{số đếm(thấp)}] / (\text{số đếm(cao)} - \text{số đếm(thấp)}) * 100$$

Các giá trị IC_{50} được tính toán sử dụng công thức hồi quy logistic 4 tham số chuẩn. Tính toán: $[y = (a - d) / (1 + (x/c)^b) + d]$, a = giá trị thấp, d = giá trị cao; x = nồng độ M; c = IC_{50} M; b = độ dốc

Các chỉ định

Như đã phát hiện, các hợp chất có công thức I, II hoặc III đặc trưng bởi phạm vi ứng dụng của chúng trong lĩnh vực điều trị. Được nêu cụ thể là các ứng dụng mà các hợp chất có công thức I, II hoặc III theo sáng chế được ưu tiên sử dụng trên cơ sở hoạt tính dược lý của chúng ở dạng các chất ức chế cGAS. Trong khi con đường cGAS có tầm quan trọng đối với việc phòng vệ vật chủ chống lại các tác nhân gây bệnh xâm nhập, như nhiễm trùng do virus và sự xâm nhập bởi một số vi khuẩn nội bào, sự kích ứng tế bào và các yếu tố di truyền có thể cũng dẫn đến việc sản xuất ra dsADN tế bào bất thường, ví dụ, bởi sự rò rỉ nhân hoặc ty thể, và do đó khởi phát các đáp ứng tự viêm. Do đó, các chất ức chế cGAS có tiềm năng trị liệu mạnh mẽ để được sử dụng trong điều trị các bệnh tự viêm và tự miễn dịch khác nhau.

An et al., *Arthritis Rheumatol.* 2017 Apr;69(4):800-807, tài liệu này bộc lộ rằng, sự biểu hiện cGAS trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMCs) ở các bệnh nhân bị bệnh tự miễn dịch lupus ban đỏ hệ thống (SLE) cao hơn đáng kể so với các đối chứng bình thường. Phép đo cGAMP hướng đích bằng phương pháp đo phổ khối song song đã phát hiện cGAMP trong 15% số bệnh nhân SLE được thử nghiệm, nhưng không phát hiện thấy ở các đối chứng bình thường hoặc đối chứng viêm khớp dạng thấp. Mức độ hoạt động của bệnh ở các bệnh nhân SLE có cGAMP là cao hơn so với các bệnh nhân

không có cGAMP. Trong khi đó, sự biểu hiện cGAS cao hơn có thể là hệ quả của sự tiếp xúc với interferon typ I (IFN), thì việc phát hiện ra cGAMP ở các bệnh nhân SLE với mức độ hoạt động của bệnh tăng lên chỉ ra sự liên quan tiềm tàng của con đường cGAS trong biểu hiện bệnh.

Park et al., *Ann Rheum Dis.* 2018 Oct;77(10):1507-1515, tài liệu này cũng bộc lộ sự liên quan của con đường cGAS với sự phát triển của SLE.

Thim-Uam et al., *iScience* 2020 Sep 4;23(9), 101530 (doi: 10.1016/j.isci.2020.101530), tài liệu này bộc lộ rằng, con đường STING trung gian cho bệnh lupus thông qua sự kích hoạt sự trưởng thành của tế bào đuôi gai thông thường và sự biệt hóa của tế bào đuôi gai dạng tương bào.

Gao et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2015 Oct 20;112(42):E5699-705, mô tả rằng, việc kích hoạt cGAS bởi ADN tự thân dẫn đến các bệnh tự miễn nhất định như bệnh liên quan đến interferon.

Tonduti et al., *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2020 Feb;16(2):189-198 bộc lộ rằng, các chất ức chế cGAS có tiềm năng trị liệu đặc biệt trong hội chứng Aicardi- Goutières và hội chứng lupus chilblain gia đình, mà nó là rối loạn qua trung gian miễn dịch tự viêm giống lupus.

Steiner et al., *Nat Commun.* 2022 Apr 28;13(1):232; doi: 10.1038 cho thấy sự thiếu hụt phức hợp coatome I gây ra sự hoạt hóa bất thường của tín hiệu STING và hội chứng COPA, và cGAS là cần thiết để thúc đẩy tín hiệu IFN loại I trong mô hình tế bào hội chứng COPA.

Li et al cho thấy rằng các nang ngoại bào chứa ADN có nguồn gốc huyết tương cảm ứng các đáp ứng gây viêm qua trung gian STING ở bệnh viêm da cơ (Theranostics, 2021; 11(15): 7144–7158). Zhou et al (*J Clin Lab Anal*, 2022 Oct; 36(10): e24631) mô tả mối tương quan giữa sự hoạt hóa con đường cGAS - STING và teo sợi cơ/hoại tử ở bệnh viêm da cơ.

Trong tài liệu của tác giả Yu et al., *Cell* 2020 Oct 29;183(3):636-649, sự liên quan giữa ADN ty thể khởi phát bởi TDP-43 và sự kích hoạt của con đường cGAS/STING trong bệnh xơ cứng teo cơ một bên (ALS) được mô tả.

Ryu et al., *Arthritis Rheumatol.* 2020 Nov;72(11):1905-1915, tài liệu này cũng chứng minh rằng, ADN ty thể huyết tương có hoạt tính sinh học có liên quan với sự tiến triển của bệnh trong các bệnh xơ cứng đặc trưng như xơ cứng bì hệ thống (SSc) hoặc bệnh phổi kẽ (ILD), bệnh phổi kẽ xơ hóa tiến triển (PF-ILD), và xơ phổi vô căn (IPF).

In Schuliga et al., *Clin. Sci. (Lond.)*. 2020 Apr 17;134(7):889-905, ADN tự thân được mô tả là duy trì sự lão hóa nguyên bào sợi phổi IPF theo cách phụ thuộc cGAS.

Các dấu hiệu khoa học khác cho thấy mối liên quan giữa nguyên nhân của các bệnh xơ hóa khác như viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH) với con đường cGAS/STING đã được mô tả trong tài liệu của Yu et al., *J. Clin. Invest.* 2019 Feb 1;129(2):546-555, và trong tài liệu Cho et al., *Hepatology*. 2018 Oct;68(4): 1331-1346.

Nascimento et al., *Sci. Rep.* 2019 Oct 16; 9(1):14848, bộc lộ rằng, sự giải phóng ADN tự thân và thụ cảm phụ thuộc STING điều khiển tình trạng viêm do hút thuốc ở chuột nhắt cho thấy sự liên quan giữa con đường cGAS-STING và bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD).

Ma et al., *Sci. Adv.* 2020 May 20;6(21):eaaz6717, bộc lộ rằng, viêm loét đại tràng và bệnh ruột viêm (IBD) có thể được kiểm chế bằng cách kiểm soát tình trạng viêm qua trung gian cGAS.

Gratia et al., *J. Exp. Med.* 2019 May 6;216(5):1199-1213, chứng minh rằng, protein trong hội chứng Bloom ngăn cản sự cảm biến miễn dịch bẩm sinh của các nhân nhỏ bởi cGAS. Do đó, các chất ức chế cGAS có tiềm năng trị liệu trong điều trị hội chứng Bloom.

Kerur et al., *Nat. Med.* 2018 Jan; 24(1):50-61, mô tả rằng, cGAS đóng vai trò đáng kể trong sự hoạt hóa thể viêm không theo quy tắc (noncanonical-inflammasome) trong thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi tác (AMD).

Visitchanakun et al., *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 23;22(21):11450, cho thấy chuột thiếu GAS ít nghiêm trọng hơn chuột hoang dã trong các mô hình nhiễm trùng huyết do thất và chọc manh tràng (CLP) và tiêm lipopolysaccharit (LPS).

Wang et al., *Mediators Inflamm.* 2015;2015:192329, mô tả rằng cGAS cần thiết cho sự tăng sinh tế bào và sản xuất cytokin gây viêm trong tế bào màng hoạt dịch viêm

khớp dạng thấp. Cũng đã báo cáo rằng trong mô hình chuột bị viêm khớp, tình trạng thiếu hụt cGAS đã ức chế phản ứng interferon, sự thâm nhiễm tế bào viêm và sưng khớp (Willemssen et al., Cell Rep. 2021 Nov 9;37(6):109977).

Guo et al., Osteoarthritis Cartilage. 2021 Aug;29(8):1213-1224, mô tả rằng ADN bị tổn thương là một yếu tố bệnh lý quan trọng đối với bệnh viêm xương khớp (OA) và điều này có thể được điều tiết bởi con đường cGAS/STING, vì việc loại bỏ STING làm giảm sự mất ổn định của quá trình phát triển OA do sụn chêm giữa gây ra ở chuột.

Mao et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol (2017) 37(5):920–929, cho thấy con đường cGAS/STING điều tiết tình trạng viêm nội mô để đáp ứng với tổn thương ty thể do axit béo tự do gây ra trong tình trạng béo phì do chế độ ăn uống, cho thấy chất ức chế cGAS cũng có tiềm năng trong điều trị béo phì và đái tháo đường.

Kerur et al, Nat Med. 2018 Jan;24(1):50-61, mô tả rằng nồng độ cGAS tăng cao trong biểu mô sắc tố võng mạc ở mắt người bị teo địa lý, và cGAS thúc đẩy hoạt hóa thể viêm không điển hình trong thoái hóa điểm vàng do tuổi tác.

cGAS thúc đẩy quá trình lão hóa tế bào và kiểu hình tiết liên quan đến lão hóa (Yang et al, Proc Natl Acad Sci USA 2017 Jun 6;114:E4612-E4620). Chromatin tế bào chất kích hoạt tình trạng viêm trong quá trình lão hóa thông qua cGAS/STING và chuột không có STING đã giảm tình trạng viêm mô và lão hóa (Dou et al, Nature. 2017 550: 402–406). Hơn nữa, ở người sự thay đổi trong gen STING có liên quan đến sự lão hóa khỏe mạnh, chủ yếu là do giảm viêm (Hamann et al, Gerontology 2019;65:145–154). Tổng hợp lại, chất ức chế STING sẽ làm giảm lão hóa liên quan đến viêm và sự tích tụ tế bào lão hóa và sẽ dẫn đến cải thiện sự lão hóa liên quan đến các bệnh như rối loạn cơ và xơ hóa.

Hơn nữa, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III cũng có tiềm năng trị liệu trong điều trị ung thư (xem tài liệu của tác giả Hoong et al., Oncotarget. 2020 Jul 28;11(30):2930-2955, and Chen et al., Sci. Adv. 2020 Oct 14;6(42):eabb8941).

Ngoài ra, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III cũng có tiềm năng trị liệu trong điều trị suy tim (Hu et al., Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2020 Jun 1;318(6):H1525-H1537).

Những gợi ý khoa học tiếp theo về mối tương quan giữa bệnh Parkinson và con đường cGAS/STING (Sliter et al., Nature. 2018 Sep;561(7722):258-262) và giữa hội chứng Sjogren và con đường cGAS/STING (Papinska et al., J. Dent. Res. 2018 Jul;97(8):893-900) có tồn tại.

Hơn nữa, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III cũng có tiềm năng trị liệu trong điều trị các nhiễm trùng do COVID-19/SARS-CoV-2 như được chứng minh trong tài liệu của tác giả Di Domizio et al., Nature. 2022 Jan 19. doi: 10,1038/s41586-022-04421-w: “The cGAS-STING pathway drives type I IFN immunopathology in COVID-19“, and in Neufeldt et al., Commun Biol. 2022 Jan 12;5(1):45. doi: 10,1038/s42003-021-02983-5: “SARS-CoV-2 infection induces a pro-inflammatory cytokine response through cGAS-STING and NF-kappaB”.

Ngoài ra, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III có tiềm năng trị liệu trong điều trị viêm thận và xơ hóa thận như được chứng minh trong tài liệu của tác giả Chung et al., Cell Metab. 2019 30:784-799: “Mitochondrial Damage and Activation of the STING Pathway Lead to Renal Inflammation and Fibrosis”, và trong Maekawa et al., Cell Rep. 2019 29:1261-1273: “Mitochondrial Damage Causes Inflammation via cGAS-STING Signaling in Acute Kidney Injury”.

Hơn nữa, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III có tiềm năng trị liệu trong điều trị ung thư như được chứng minh trong tài liệu của tác giả Bakhoun et al., Nature. 2018 Jan 25;553(7689):467-472: “Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response”, and in Liu et al., Nature. 2018 Nov;563(7729):131-136: “Nuclear cGAS suppresses DNA repair and promotes tumorigenesis“.

Ngoài ra, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III có tiềm năng trị liệu trong điều trị rối loạn chuyển hóa, vì các động vật STING^{gt} thể hiện sự thâm nhiễm đại thực bào giảm trong mô mỡ khi hấp thu lượng calo cao cận mãn tính (HFD) và sự thiếu hụt STING^{gt} và IRF3 dẫn đến sự giảm về glucoza và insulin trong máu và giảm trọng lượng cơ thể (Mao et al, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017;37 (5): 920-929).

Hơn nữa, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III có tiềm năng trị liệu trong điều trị các bệnh về mạch máu và dẫn đến sự sửa chữa/tái tạo mạch, vì sự giải phóng của ADN ty thể vào trong xytosol của các tế bào nội mô dẫn tới kích hoạt con

đường cGAS/STING và kiểm chế sự tăng sinh nội mô. Hơn nữa, việc loại bỏ gen cGAS sẽ khôi phục sự sửa chữa/tái tạo nội mô ở mẫu chuột bị tổn thương phổi do viêm (Huang et al, Immunity, 2020, Mar 2017; 52 (3): 475-486.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2020.02.002).

Ngoài ra, các chất ức chế cGAS có công thức I, II hoặc III có tiềm năng trị liệu trong điều trị các bệnh về tim mạch liên quan đến tuổi tác và liên quan đến béo phì (Hamann et al, Immun Ageing, 2020, Mar 14; 17: 7; doi: 10.1186/s12979-020-00176-y.eCollection 2020).

Do đó, các hợp chất có công thức I, II hoặc III làm chất ức chế cGAS có thể được sử dụng trong liệu pháp điều trị các bệnh tự viêm và tự miễn dịch như lupus ban đỏ hệ thống (SLE), bệnh liên quan đến interferon, hội chứng Aicardi-Goutières (AGS), hội chứng COPA, bệnh lupus chilblain gia đình, thoái hóa điểm vàng tuổi già (AMD), xơ cứng teo cơ một bên (ALS), bệnh ruột viêm (IBD), bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), hội chứng Bloom, hội chứng Sjogren viêm khớp dạng thấp, và bệnh Parkinson.

Ngoài ra, các hợp chất có công thức I, II hoặc III làm chất ức chế cGAS có thể được sử dụng trong liệu pháp điều trị bệnh xơ hóa như xơ cứng bì hệ thống (SSc), bệnh liên quan đến interferon, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh phổi kẽ (ILD), tốt hơn là bệnh phổi kẽ xơ hóa tiến triển (PF-ILD), đặc biệt là xơ phổi vô căn (IPF).

Hơn nữa, các hợp chất có công thức I, II hoặc III làm chất ức chế cGAS có thể được sử dụng trong liệu pháp điều trị thoái hóa điểm vàng tuổi già (AMD), bệnh vông mạc, bệnh tăng nhãn áp, bệnh tiểu đường, béo phì, lão hóa, rối loạn cơ, nhiễm trùng huyết, viêm xương khớp, suy tim, nhiễm trùng do COVID-19/SARS-CoV-2, viêm thận, xơ hóa thận, rối loạn chuyển hóa, các bệnh về mạch máu, các bệnh về tim mạch và ung thư.

CÁC TỔ HỢP

Các hợp chất có công thức I, II hoặc III có thể được sử dụng cho bệnh nhân đơn độc hoặc kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất dược lý khác.

Trong một phương án ưu tiên theo sáng chế, các hợp chất có công thức I, II hoặc III có thể được kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất dược lý được chọn từ nhóm gồm

chất chống viêm, chất chống xơ hóa, chất chống dị ứng/ kháng histamin, chất giãn phế quản, chất chủ vận beta 2 /chất hướng giao cảm betamimetic, chất chủ vận adrenergic, chất chống tiết cholin, metotrexat, mycophenolat mofetil, chất điều biến leukotrien, chất ức chế JAK, kháng thể kháng interleukin, chất trị liệu miễn dịch không đặc hiệu như interferon hoặc các xytokin/chemokin khác, chất điều biến thụ thể xytokin/chemokin (tức là, các chất chủ vận hoặc đối kháng thụ thể xytokin), chất chủ vận thụ thể giống toll (= chất chủ vận TLR), chất điều hòa điểm kiểm soát miễn dịch, các kháng thể kháng TNF (Humira™), và các tác nhân kháng BAFF (Belimumab và Etanercept).

Chất chống xơ hóa tốt hơn được chọn từ Pirfenidon và chất ức chế tyrosin kinaza như Nintedanib, trong đó Nintedanib đặc biệt được ưu tiên.

Ví dụ được ưu tiên về chất chống viêm là các NSAID và corticosteroid.

Các NSAID tốt hơn được chọn từ ibuprofen, naproxen, diclofenac, meloxicam, celecoxib, axit axetylsalixylic (Aspirin™), indomethacin, axit mefenamic và etoricoxib.

Các corticosteroid tốt hơn được chọn từ Flunisolide, Beclomethasone, Triamcinolone, Budesonide, Fluticasone, Mometasone, Ciclesonide, Rofleponide và Dexametasone.

Các chất chống dị ứng/kháng histamin tốt hơn được chọn từ Epinastine, Cetirizine, Azelastine, Fexofenadine, Levocabastine, Loratadine, Ebastine, Desloratidine và Mizolastine.

Chất chủ vận beta 2 /chất hướng giao cảm betamimetic có thể chất chủ vận beta 2 tác dụng kéo dài (LABA) hoặc chất chủ vận beta tác dụng ngắn (SABA). Các chất chủ vận beta 2 /chất hướng giao cảm betamimetic đặc biệt ưu tiên được chọn từ Bambuterol, Bitolterol, Carbuterol, Clenbuterol, Fenoterol, Formoterol, Hexoprenalin, Ibuterol, Pirbuterol, Procaterol, Reproterol, Salmeterol, Sulfonterol, Terbutalin, Tolubuterol, Olodaterol, và Salbutamol, đặc biệt là Olodaterol.

Chất chống tiết cholin tốt hơn được chọn từ muối ipratropium, muối tiotropium, muối glycopyronium, và theophylline, trong đó tiotropium bromua đặc biệt được ưu tiên.

Chất điều biến leukotrien tốt hơn được chọn từ Montelukast, Pranlukast, Zafirlukast, Ibudilast và Zileuton.

Chất ức chế JAK tốt hơn được chọn từ Baricitinib, Cerdulatinib, Fedratinib, Filgotinib, Gandotinib, Lestaurtinib, Momelotinib, Pacritinib, Peficitinib, Ruxolitinib, Tofacitinib, và Upadacitinib.

Các kháng thể kháng interleukin tốt hơn được chọn từ kháng thể kháng IL23 như Risankizumab, kháng thể kháng IL17, kháng thể kháng IL1, kháng thể kháng IL4, kháng thể kháng IL13, kháng thể kháng IL-5, kháng thể kháng IL-6 như Actemra™, kháng thể kháng IL-12, kháng thể kháng IL-15.

DUỢC PHẨM BẢO CHẾ

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng theo đường dùng thích hợp bất kỳ, bao gồm cả dùng toàn thân và dùng cục bộ. Dùng theo đường toàn thân bao gồm đường uống, đường ngoài tiêu hóa, đường qua da, đường trực tràng, và dùng theo đường hít. Dùng theo đường ngoài tiêu hóa chỉ các đường dùng khác với đường ruột, qua da hoặc đường hít, và thường bằng cách tiêm hoặc truyền. Việc dùng theo đường ngoài tiêu hóa bao gồm tiêm hoặc truyền theo trong tĩnh mạch, trong cơ, trong xương ức, và dưới da. Dùng theo đường xông hít đề cập đến việc đưa vào trong phổi của bệnh nhân đã hít qua đường miệng hoặc qua đường mũi. Dùng theo đường tại chỗ bao gồm việc áp dụng lên da. Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng thông qua việc nhỏ giọt vào mắt để điều trị hội chứng Sjogren.

Dạng thích hợp để sử dụng là, ví dụ viên nén, viên nang, dung dịch, xi-rô, nhũ dịch hoặc bột hoặc sol khí hít được. Hàm lượng của hợp chất/các hợp chất có hiệu quả được lý trong mỗi một trường hợp cần phải nằm trong khoảng từ 0,1 đến 90% khối lượng, tốt hơn từ 0,5 đến 50% khối lượng của tổng chế phẩm, tức là với các lượng đủ để đạt được khoảng liều được xác định sau đây.

Các chế phẩm có thể được dùng theo đường uống ở dạng viên nén, ở dạng bột, dạng bột trong nang (ví dụ, nang gelatin cứng), ở dạng dung dịch hoặc hỗn dịch. Khi được dùng bằng cách xông hít, tổ hợp hoạt chất có thể được dùng ở dạng bột, ở dạng dung dịch nước hoặc nước- etanol hoặc sử dụng thành phần khí đẩy.

Do đó, tốt hơn là được phẩm đặc trưng bởi hàm lượng của một hoặc nhiều hợp chất có công thức I, II hoặc III theo các phương án ưu tiên nêu trên.

Đặc biệt tốt hơn nếu các hợp chất có công thức I, II hoặc III được dùng theo đường uống, và cũng đặc biệt tốt hơn nếu chúng được dùng một lần hoặc hai lần một ngày. Các viên nén thích hợp có thể thu được, ví dụ, bằng cách trộn kết hợp hoạt chất/các hoạt chất với các tá dược đã biết, ví dụ các chất pha loãng như canxi cacbonat, canxi phosphat hoặc lactoza, chất gây rã như tinh bột ngô hoặc axit alginic, chất kết dính như tinh bột hoặc gelatin, chất làm trơn như magie stearat hoặc talc và/hoặc các chất làm chậm sự giải phóng, như cacboxymetyl xenluloza, xenluloza axetat phtalat, hoặc polyvinyl axetat. Viên nén cũng có thể bao gồm nhiều lớp.

Do đó, các viên nén được bao có thể được bào chế bằng cách bao các lõi được tạo ra theo cách tương tự như viên nén bằng các chất thường được sử dụng để bao viên nén, ví dụ kolidon hoặc senlac, gôm arabic, talc, titan dioxit hoặc đường. Để đạt được sự giải phóng chậm hoặc ngăn chặn khả năng không tương hợp, lõi cũng có thể bao gồm nhiều lớp. Do đó, các viên nén được bao có thể được bào chế bằng cách bao các lõi được tạo ra theo cách tương tự như viên nén bằng các chất thường được sử dụng để bao viên nén, ví dụ kolidon hoặc senlac, gôm arabic, talc, titan dioxit hoặc đường.

Xi-rô chứa các hoạt chất hoặc tổ hợp của chúng theo sáng chế có thể còn chứa chất tạo ngọt như sacarin, xyclamat, glyxerol hoặc đường và chất tăng cường hương vị, ví dụ, hương vị như vanillin hoặc chiết xuất cam. Chúng cũng có thể chứa các chất phụ gia hoặc chất làm đặc huyền phù như natri cacboxymetyl xenluloza, chất làm ướt ví dụ các sản phẩm ngưng tụ của các rượu béo với etylen oxit, hoặc các chất bảo quản như phydroxybenzoat.

Viên nang chứa một hoặc nhiều hoạt chất hoặc tổ hợp của các hoạt chất có thể, ví dụ được điều chế bằng cách trộn kết hợp hoạt chất với các chất mang trợ như lactoza hoặc sorbitol và đóng gói chúng thành viên nang gelatin. Thuốc đạn thích hợp có thể được tạo ra, ví dụ bằng cách trộn với các chất mang được cung cấp cho mục đích này, như các loại chất béo trung tính hoặc polyetylen glycol hoặc dẫn xuất của chúng.

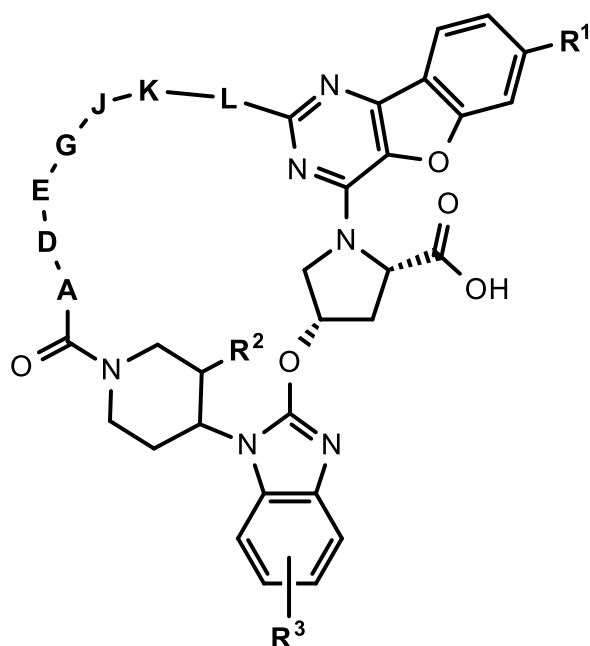
Tá dược mà có thể được sử dụng bao gồm, ví dụ, nước, dung môi hữu cơ được dụng như parafin (ví dụ, các phân đoạn dầu mỡ), dầu thực vật (ví dụ, dầu lạc hoặc dầu

vùng), các rượu đơn hoặc đa chức (ví dụ, etanol hoặc glyxerol), các chất mang ví dụ như bột khoáng tự nhiên (ví dụ, cao lanh, đất sét, talc, đá phấn), bột khoáng tổng hợp (ví dụ, axit silixic và các silicat độ phân tán cao), các đường (ví dụ, đường mía, lactoza và glucoza), các chất nhũ hóa (ví dụ, lignin, nước cái sulphit đã qua sử dụng, metylxenluloza, tinh bột và polyvinylpyrrolidon) và các chất làm trơn (ví dụ, magie stearat, talc, axit stearic và natri lauryl sulphat).

Để dùng theo đường uống, viên nén dĩ nhiên có thể chứa, ngoài các chất mang nêu trên, các chất phụ gia như natri xitrat, canxi cacbonat và dicanxi phosphat cùng với các chất phụ gia khác nhau như tinh bột, tốt hơn là tinh bột khoai tây, gelatin và tương tự. Ngoài ra, các chất làm trơn như magie stearat, natri lauryl sulphat và talc có thể được sử dụng đồng thời trong quá trình nén viên. Trong trường hợp huyền phù nước, các hoạt chất có thể được kết hợp với các chất tăng cường hương vị hoặc chất tạo màu khác nhau ngoài các tá dược nêu trên.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



I,

trong đó

R¹ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, metyl, etyl, -CF₃, -CHF₂, -CFH₂ và metoxy,

R² được chọn từ nhóm bao gồm hydro và metyl,

R³ được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl và halogen,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -N(CH₃)-, -NH- và -CHCH₃-;

D được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF- và -CHCH₃-;

E được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -C(CH₃)₂-, -CHF-, CF₂- và -CHCH₃-;

G được chọn từ nhóm bao gồm -NH-, -NCH₃-, -CH₂-, -O-, -CF₂-, -CHF-, -CHCH₃- và -C(CH₃)₂;

J được chọn từ nhóm bao gồm -CO-, -CH₂-, -O-, -CHF-, -CF₂- và -CHCH₃-;

K được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -CF₂-, -O- hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm -CH₂-, -O-, -CHCH₃-, -CHF-, -CF₂- hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

2. Hợp chất có công thức I theo điểm 1, trong đó

trong đó

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, Cl và F,

R^2 được chọn từ nhóm bao gồm hydro và metyl,

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, Cl và F,

và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$, $-CF_2-$ và $-N(CH_3)-$,

D được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$ và $-CHCH_3-$,

E được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-O-$ và $-C(CH_3)_2-$,

G được chọn từ nhóm bao gồm $-NH-$, $-CH_2-$, $-O-$, $-CHCH_3-$,

J được chọn từ nhóm bao gồm $-CO-$, $-CH_2-$, $-O-$, và $-CHCH_3-$;

K được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-CF_2-$, $-O-$ hoặc không có mặt;

L được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$, $-CF_2-$ hoặc không có mặt;

và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

3. Hợp chất có công thức I theo điểm 1 hoặc 2, trong đó L không có mặt, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

4. Hợp chất có công thức I theo điểm 1 hoặc 2, trong đó L không có mặt và trong đó A được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-CF_2-$,

và tiền dược chất, muối dược dụng của chúng hoặc chất tương tự được đoteri hóa của chúng.

5. Hợp chất có công thức I theo điểm 1 hoặc 2, trong đó L không có mặt và trong đó K là CF_2 , và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

6. Hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó R^3 là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

7. Hợp chất có công thức I theo điểm 6, trong đó R^3 là Cl hoặc F, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

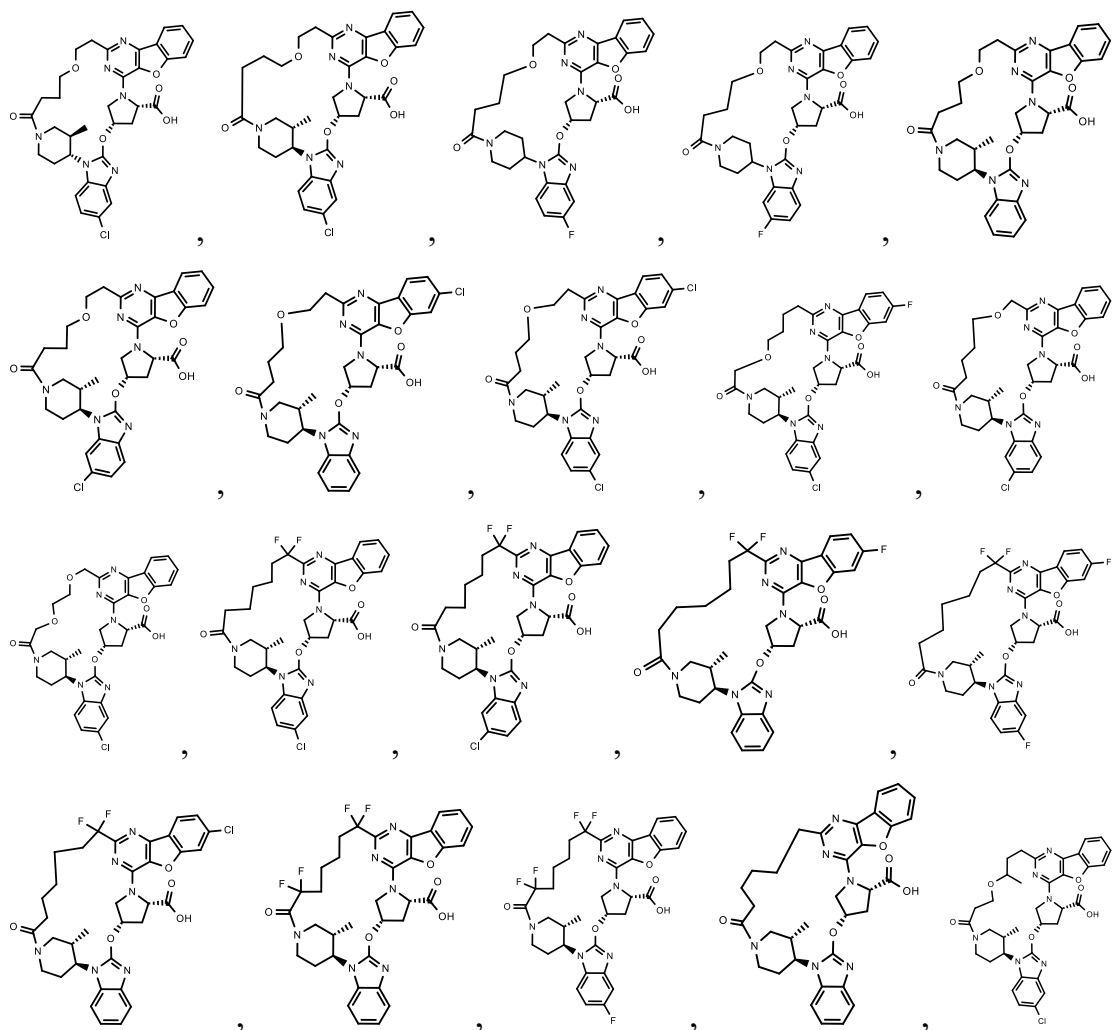
8. Hợp chất có công thức I theo điểm 7, trong đó R^3 là Cl hoặc F và được nằm ở vị trí 5 của gốc benzimidazol, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

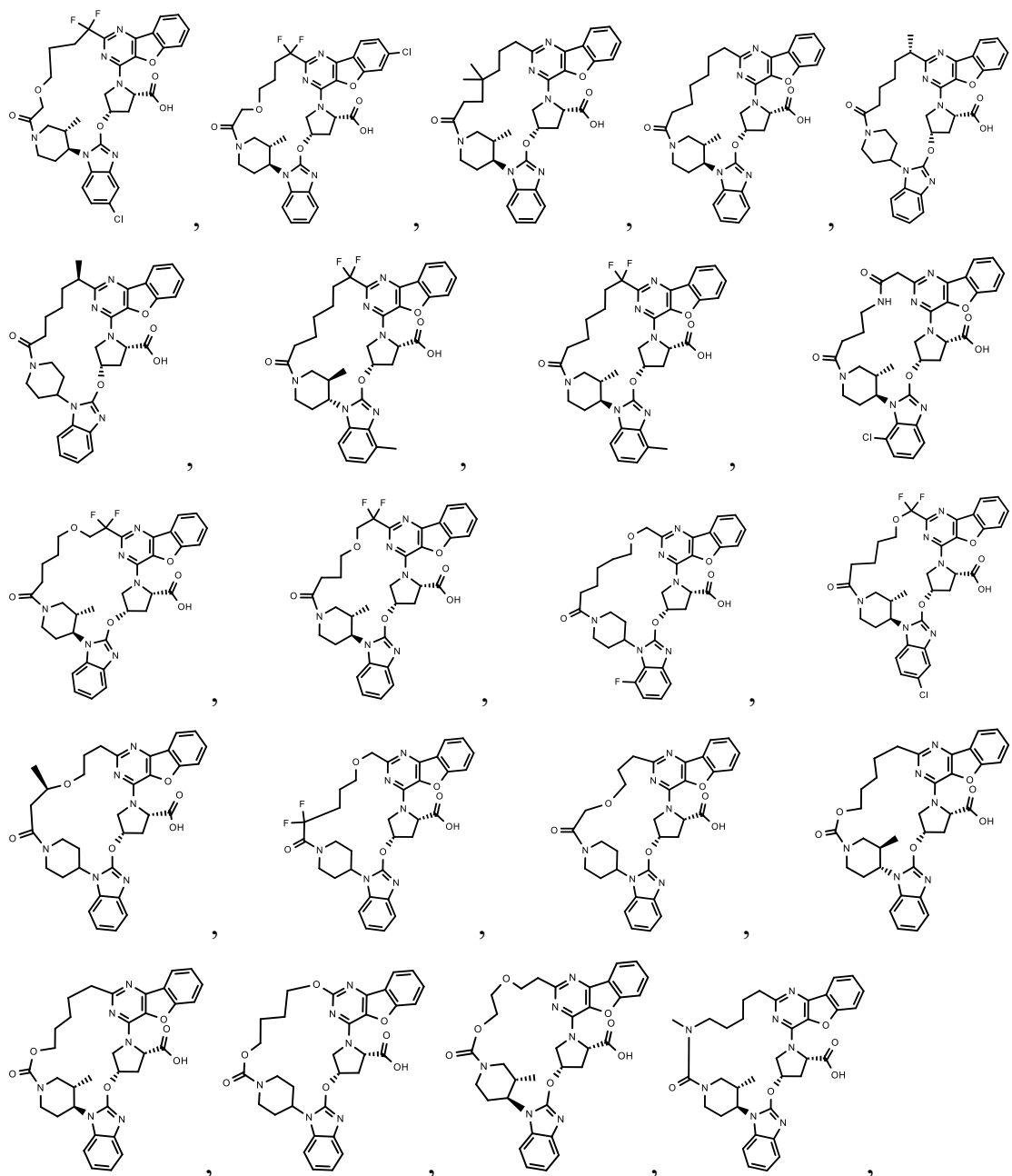
9. Hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó R^1 là halogen và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

10. Hợp chất có công thức I theo điểm 9, trong đó R^1 là Cl hoặc F và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

11. Hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó R^1 là hydro, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

12. Hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 hoặc 2 được chọn từ nhóm bao gồm





và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

13. Hợp chất có công thức I theo điểm 1 hoặc 2, trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{CF}_2-$,

mỗi D và E là $-\text{CH}_2-$,

G được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{O}-$,

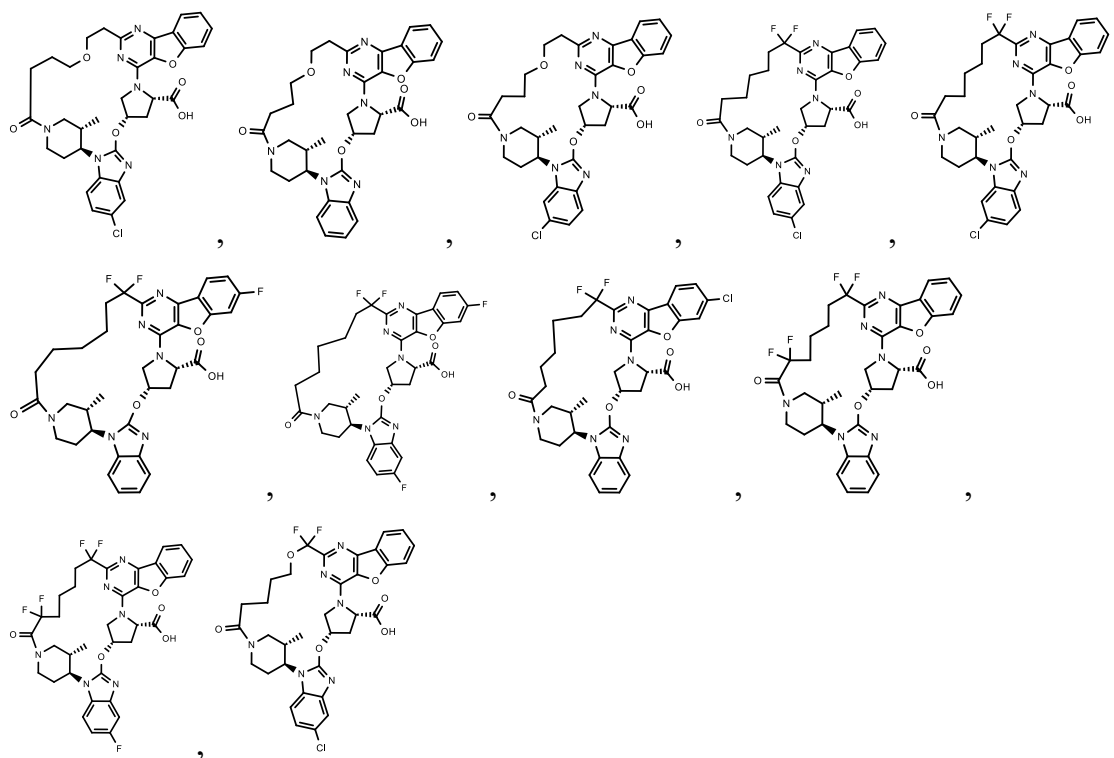
J được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{O}-$,

K được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CF}_2-$ và $-\text{CH}_2-$,

và L không có mặt,

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

14. Hợp chất có công thức I theo điểm 13, được chọn từ nhóm bao gồm

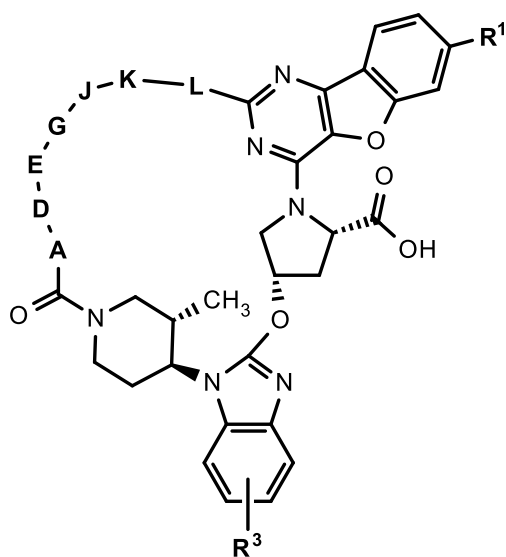


và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

15. Hợp chất có công thức I theo điểm 1, trong đó R_2 là methyl, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

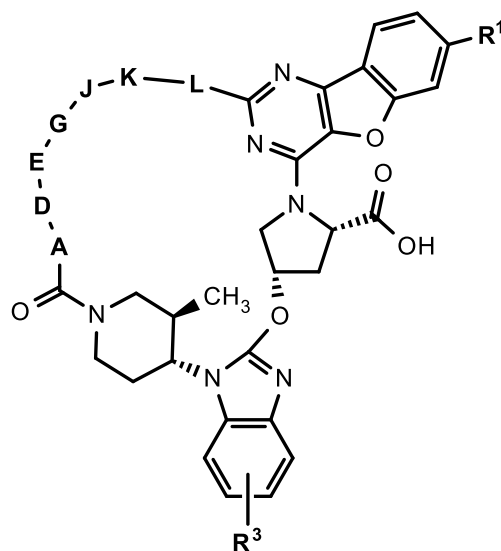
16. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất này là

hợp chất có công thức II



II

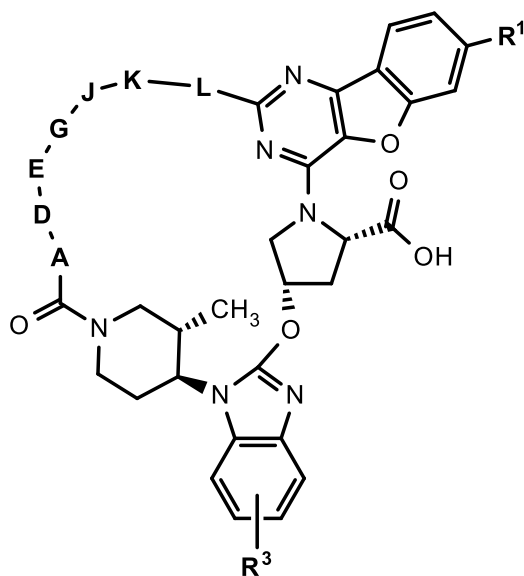
hoặc hợp chất có công thức III



III,

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

17. Hợp chất theo điểm 16, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II



II,

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

18. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó L không có mặt, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

19. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III và trong đó L không có mặt và trong đó K là CF₂, và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

20. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^3 là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

21. Hợp chất theo điểm 20, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^3 là Cl hoặc F, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

22. Hợp chất theo điểm 21, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^3 là Cl hoặc F, và được nằm ở vị trí 5 của gốc benzimidazol, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

23. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^3 là hydro, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

24. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^1 là halogen, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

25. Hợp chất theo điểm 24, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^1 được chọn từ nhóm bao gồm Cl hoặc F, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

26. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó R^1 là hydro, và tiền dược chất, chất tương tự được đoteri hóa và muối dược dụng của chúng.

27. Hợp chất theo điểm 16 hoặc 17, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-CF_2-$,

mỗi D và E là $-CH_2-$,

G được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-O-$,

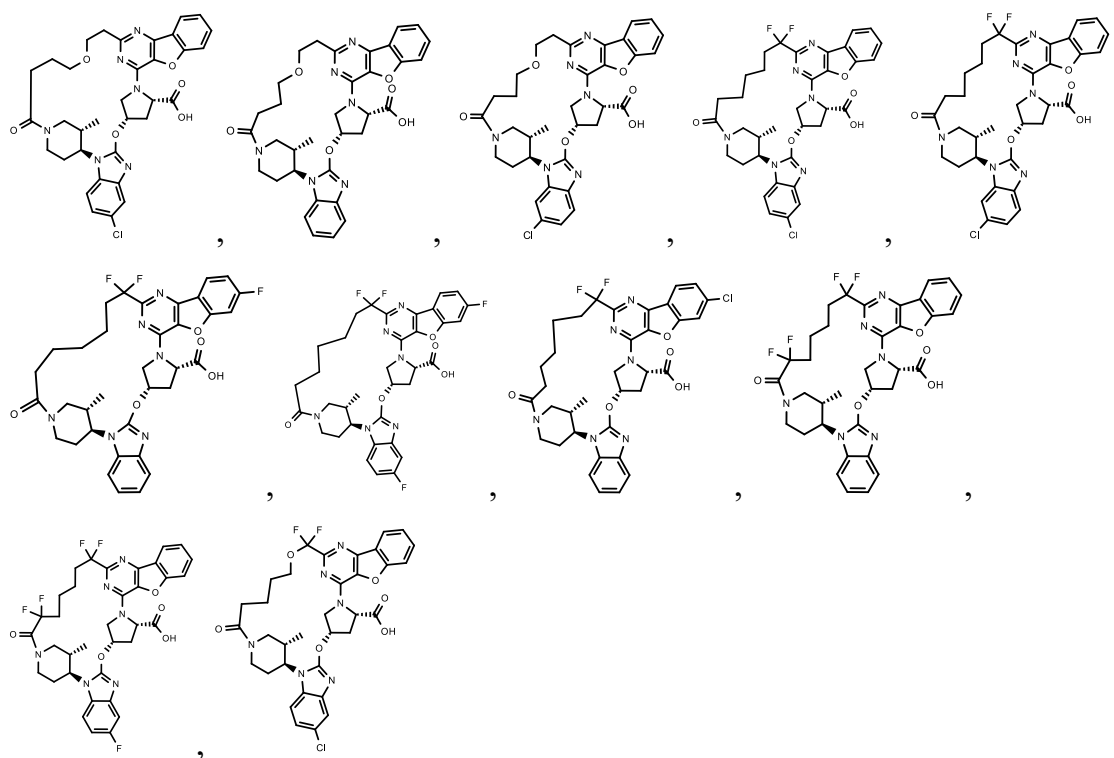
J được chọn từ nhóm bao gồm $-CH_2-$ và $-O-$,

K được chọn từ nhóm bao gồm $-CF_2-$ và $-CH_2-$,

và L không có mặt,

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

28. Hợp chất có công thức II theo điểm 27, được chọn từ nhóm bao gồm



và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

29. Hợp chất theo điểm 27, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức II hoặc công thức III, và trong đó

A được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{CF}_2-$,

mỗi D, E và G là $-\text{CH}_2-$,

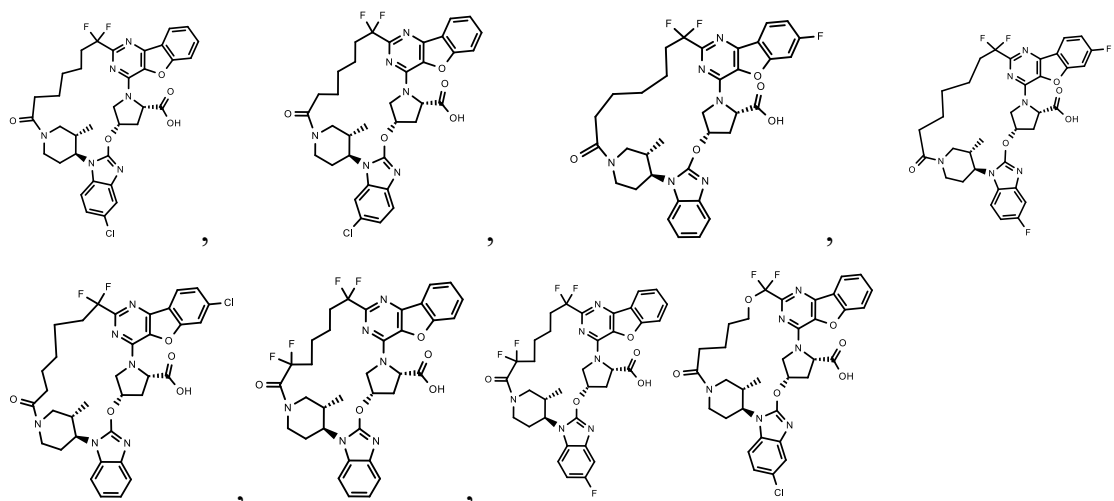
J được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2-$ và $-\text{O}-$,

K là $-\text{CF}_2-$,

và L không có mặt,

và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối được dụng của chúng.

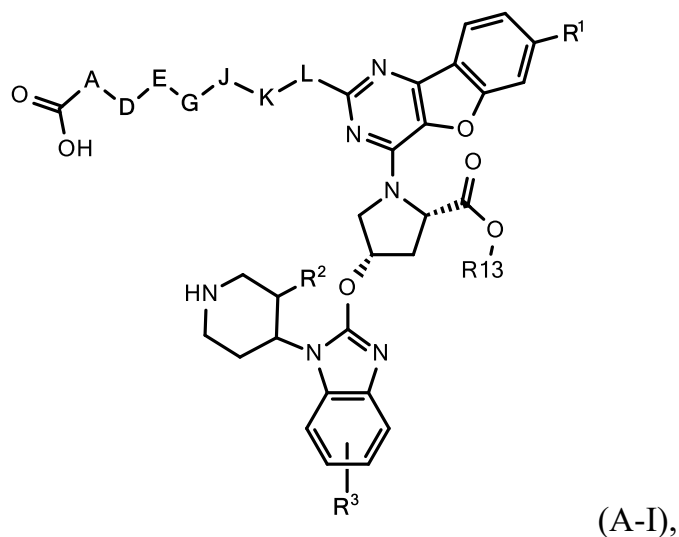
30. Hợp chất có công thức II theo điểm 29, được chọn từ nhóm bao gồm



và tiền dược chất, chất tương tự được đơteri hóa và muối dược dụng của chúng.

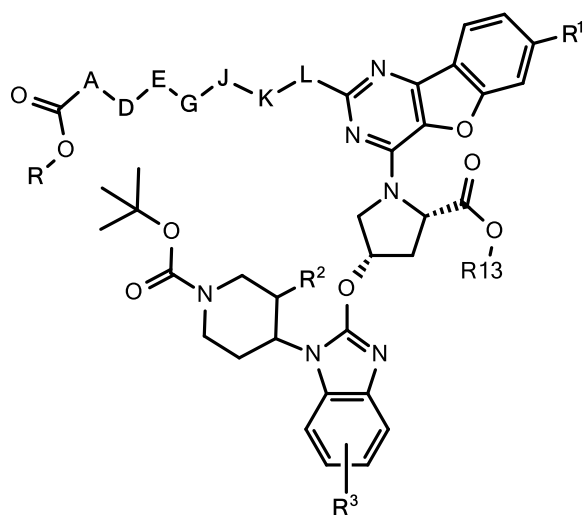
31. Hợp chất trung gian có

- công thức (A-I)



trong đó R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R13 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, etyl và tert-butyl,

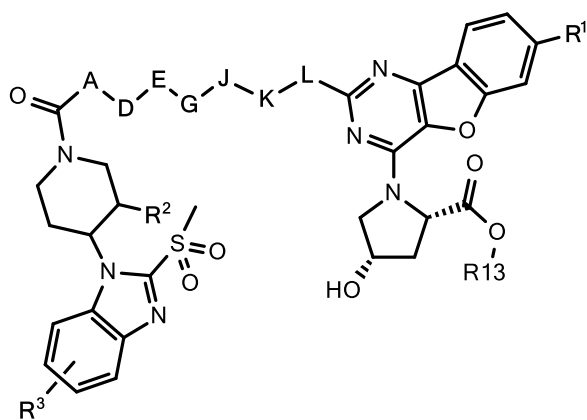
- có công thức (A-II),



(A-II),

trong đó R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R13 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, etyl và tert-butyl, và trong đó R là hydro hoặc nhóm bảo vệ được chọn từ nhóm bao gồm tert-butyl, metyl, etyl và benzyl,

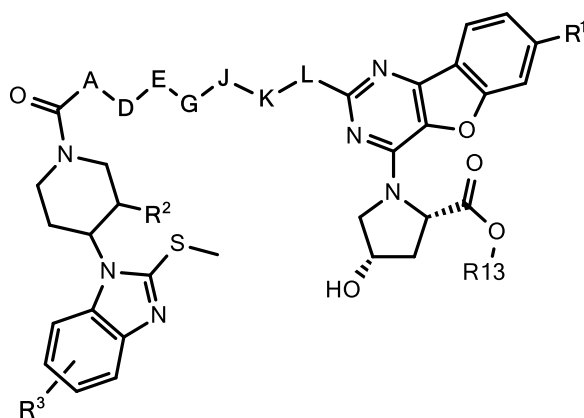
- có công thức (B-I)



(B-I),

trong đó R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R13 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, etyl và tert-butyl, hoặc

- có công thức (B-II)



(B-II),

trong đó R^1 , R^2 , R^3 , A, D, E, G, J, K và L được định nghĩa như được đề cập ở trên và trong đó R13 được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, etyl và tert-butyl.

32. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 hoặc hợp chất có công thức II hoặc III theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 30 và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

33. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 hoặc hợp chất có công thức II hoặc III theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 30 kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm kháng chất chống viêm, chất chống xơ hóa, chất chống dị ứng/ kháng histamin, thuốc giãn phế quản, chất chủ vận beta 2/chất hướng giao cảm betamimetic, chất chủ vận, chất kháng cholinergic, methotrexat, mycophenolat mofetil, chất điều biến leukotrien, chất ức chế JAK, kháng thể kháng interleukin, liệu pháp miễn dịch không đặc hiệu chẳng hạn các interferon hoặc các xytokin/chemokin khác, chất điều biến thụ thể xytokin/chemokin, chất chủ vận thụ thể giống toll, chất điều hòa điểm kiểm soát miễn dịch, kháng thể kháng TNF chẳng hạn Humira™, kháng thể kháng BAFF chẳng hạn Belimumab và Etanercept, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

34. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 hoặc hợp chất có công thức II hoặc III theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 30 kết hợp với một hoặc nhiều chất chống xơ hóa được chọn từ nhóm bao gồm Pirfenidon và Nintedanib, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

35. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 hoặc hợp chất có công thức II hoặc III theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 30 kết hợp với một hoặc nhiều chất chống viêm được chọn từ nhóm bao gồm NSAID và corticosteroid, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

36. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 hoặc hợp chất có công thức II hoặc III theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 30 kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm thuốc giãn phế quản, chất chủ vận beta 2 /chất hướng giao cảm betamimetic, chất chủ vận và chất kháng cholinergic, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

37. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15 hoặc hợp chất có công thức II hoặc III theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 30 và một hoặc nhiều kháng thể kháng interleukin được chọn từ nhóm bao gồm kháng IL-23 chẳng hạn Risankizumab, kháng thể kháng IL-17, kháng thể kháng IL-1, kháng thể kháng IL-4, kháng thể kháng IL-13, kháng thể kháng IL-5, kháng thể kháng IL-6 chẳng hạn Actemra™, kháng thể kháng IL-12 và kháng thể kháng IL-15.