



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

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

(11)



1-0029185

(51)⁷ C07D 473/34; A61K 31/52; C07D
487/04; A61K 31/519; A61P 37/00

(13) B

(21) 1-2011-01162

(22) 29/10/2009

(86) PCT/US2009/062646 29/10/2009

(87) WO/2010/059401 27/05/2010

(30) 61/109,821 30/10/2008 US; 61/242,765 15/09/2009 US

(45) 25/08/2021 401

(43) 25/10/2011 283A

(73) 1. NOVARTIS AG (CH)

Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland

2. THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE (US)

10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, United States of America

(72) BOITANO, Anthony (US); TELLEW, John (US); SCHULTZ, Peter G. (US);

COOKE, Michael (US); WAN, Yongqin (US); PAN, Shifeng (US); WANG, Xing (CN).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) HỢP CHẤT VÀ CHẾ PHẨM, PHƯƠNG PHÁP LÀM TĂNG SỐ LƯỢNG TẾ BÀO
MÀM TẠO MÁU NGOÀI CƠ THỂ

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất và chế phẩm để làm tăng số tế bào CD34+ cho việc cấy ghép. Sáng chế cũng đề cập đến quần thể tế bào chứa các tế bào mầm tạo máu (HSC) được làm tăng số lượng để sử dụng trong việc tự ghép hoặc ghép cùng loài khác gen để điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh thiếu hụt di truyền và bệnh tự miễn và các rối loạn tạo máu khác nhau để tái tạo dòng tế bào tạo máu và sự bảo vệ của hệ thống miễn dịch.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất và chế phẩm để làm tăng số tế bào CD34+ để ghép. Sáng chế còn đề cập đến quần thể tế bào chứa các tế bào mầm tạo máu (Hematopoietic stem cell - HSC) được làm tăng số lượng để sử dụng trong việc tự ghép hoặc di ghép để điều trị cho các bệnh nhân mắc các bệnh suy giảm miễn dịch và bệnh tự miễn di truyền và các rối loạn tạo máu khác nhau để phục hồi số lượng tế bào tạo máu và sự bảo vệ của hệ thống miễn dịch.

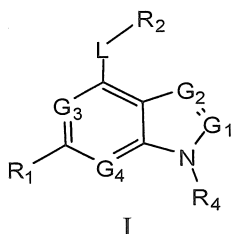
Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các tế bào mầm tạo máu (HSC) có khả năng tái tạo mọi sản phẩm máu suốt cuộc đời của một cá thể, làm cân bằng sự phục hồi của chúng với sự biệt hóa của thể hệ con. Các tế bào mầm tạo máu có khả năng điều trị bệnh nhờ khả năng phục hồi máu và các tế bào miễn dịch ở bệnh nhân được ghép tạng. Hơn nữa, các HSC có khả năng tạo ra các tế bào cho các mô khác nhau như não, cơ và gan. Các phương pháp tự ghép hoặc di ghép tủy xương hiện đang được sử dụng làm liệu pháp điều trị các bệnh bạch cầu, u bạch huyết, và các bệnh nguy hiểm đến tính mạng khác. Đối với các quy trình này, một số lượng lớn tế bào mầm phải được phân lập để đảm bảo có đủ HSC cho việc cấy mô. Số lượng HSC sẵn có để điều trị bị hạn chế về mặt lâm sàng.

Sáng chế đề cập đến các hợp chất và chế phẩm để làm tăng số lượng quần thể tế bào mầm tạo máu.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



trong đó:

G_1 được chọn từ N và CR_3 ;

G_2 , G_3 và G_4 độc lập được chọn từ CH và N; với điều kiện ít nhất 1 trong số G_3 và G_4 là N; với điều kiện G_1 và G_2 không đồng thời là N;

L được chọn từ $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$ (0-3, ở đây có nghĩa là 0, 1, 2 or 3), $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$ và $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$; trong đó R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$;

R_1 được chọn từ hydro, phenyl, thiophenyl, furanyl, 1H-benzoimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, 1H-pyrazolyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrrolidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrololyl và thiazolyl; trong đó phenyl, thiophenyl, furanyl, 1H-benzoimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, 1H-pyrazolyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrrolidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrololyl hoặc thiazolyl của R_1 có thể tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ xyano, hydroxy, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, halo, $C_{1-4}alkyl$ được thế halo, $C_{1-4}alkoxy$ được thế halo, hydroxy, amino, $-C(O)R_{8a}$, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$, $-C(O)OR_{8a}$ và $-C(O)NR_{8a}R_{8b}$; trong đó R_{8a} và R_{8b} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$; với điều kiện R_1 và R_3 không đồng thời là hydro;

R_2 được chọn từ $-S(O)_2NR_{6a}R_{6b}$, $-NR_{9a}C(O)R_{9b}$, $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, phenyl, 1H-pyrolopyridin-3-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzoimidazolyl và 1H-indazolyl; trong đó R_{6a} , R_{6b} và R_{6c} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$; trong đó phenyl, 1H-pyrolopyridin-3-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzoimidazolyl hoặc 1H-indazolyl của R_2 tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ hydroxy, halo,

metyl, metoxy, amino, $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NR}_{7a}\text{R}_{7b}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}_{7a}\text{R}_{7b}$, $-\text{OS}(\text{O})_2\text{NR}_{7a}\text{R}_{7b}$ và $-\text{NR}_{7a}\text{S}(\text{O})_2\text{R}_{7b}$; trong đó R_{7a} và R_{7b} độc lập được chọn từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$;

R_3 được chọn từ hydro, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ và biphenyl; và

R_4 được chọn từ $\text{C}_{1-10}\text{alkyl}$, prop-1-en-2-yl, xyclohexyl, xyclopropyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)metyl và 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)etyl; trong đó alkyl, xyclopropyl, xyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)metyl hoặc 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)etyl có thể tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ hydroxy, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ được thế halo; hoặc các dẫn xuất N-oxit, các dẫn xuất tiền dược chất, các dẫn xuất được bảo vệ, các isome riêng rẽ và hỗn hợp các isome của chúng; hoặc muối (tốt hơn là muối dược dụng) và solvat (ví dụ, các hydrat) của các hợp chất này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 bộc lộ mô hình PXRD của cải biến dạng rắn A của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol;

Các hình vẽ từ Fig. 2 đến Fig. 12 bộc lộ các mô hình PXRD của các dạng rắn của các muối 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol, lần lượt của các muối nitrat, mesylat, tosylat, hydroclorua, sulfat, besylat, esylat, hydrobromua, orotat, fumarat và napadysilat; và

Fig. 13 bộc lộ mô hình DSC của dạng vô định hình của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

“Alkyl” dưới dạng nhóm và thành phần cấu trúc của các nhóm khác, ví dụ, alkyl và alkoxy được thế bằng halo, có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Ví dụ, alkyl

bao gồm metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl, t-butyl, v.v.. C₁₋₄-alkoxy bao gồm metoxy, etoxy, và các nhóm tương tự. Alkyl được thế halo bao gồm triflometyl, pentafloretyl, và các nhóm tương tự.

“Aryl” được dùng để chỉ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng dung hợp chứa 6 đến 10 nguyên tử cacbon. Ví dụ, aryl có thể là phenyl hoặc naphtyl, tốt hơn là phenyl. “Arylen” được dùng để chỉ gốc hóa trị hai thu được từ nhóm aryl.

“Heteroaryl” như được xác định đối với aryl trong đó một hoặc nhiều nguyên tử trong vòng là nguyên tử khác loại hoặc gốc được chọn từ -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- or -S(O)₂-, trong đó R là hydro, C₁₋₄alkyl hoặc nhóm bảo vệ nitơ. Ví dụ, heteroaryl bao gồm pyridyl, indolyl, indazolyl, quinoxaliny, quinoliny, benzofuranyl, benzopyranyl, benzothiopyranyl, benzo[1,3]dioxol, imidazolyl, benzo-imidazolyl, pyrimidinyl, furanyl, oxazolyl, isoxazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrazolyl, thienyl, v.v.

“Xycloalkyl” được dùng để chỉ vòng nhiều vòng đơn vòng, hai vòng dung hợp hoặc có cầu no hoặc không no từng phần chứa số nguyên tử trong vòng được chỉ định. Ví dụ, C₃₋₁₀xycloalkyl bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, v.v. “Heteroxycloalkyl” được dùng để chỉ xycloalkyl, như được xác định trong bản mô tả này, với điều kiện một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của vòng được chỉ định, được thế bằng gốc được chọn từ -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O)- or -S(O)₂-, trong đó R là hydro, C₁₋₄alkyl hoặc nhóm bảo vệ nitơ. Ví dụ, C₃₋₈heteroxycloalkyl như được sử dụng trong bản mô tả này để mô tả hợp chất theo sáng chế bao gồm morpholino, pyrrolidinyl, piperazinyl, piperidinyl, piperidinylon, 2-Oxo-pyrrolidin-1-yl, 1,4-dioxa-8-aza-spiro[4.5]dec-8-yl, v.v..

Tốt hơn nếu “halogen” (hoặc halo) là clo hoặc flo, nhưng cũng có thể là bromo hoặc iodo.

“Tế bào mầm tạo máu” (HSC) như được sử dụng ở đây để chỉ các tế bào máu chưa trưởng thành có khả năng tự phục hồi và biệt hóa thành tế bào máu trưởng thành chứa các bạch cầu hạt (ví dụ, tế bào tủy non, bạch cầu trung tính, bạch cầu ưa eosin, bạch cầu ưa bazơ), các hồng cầu (ví dụ, tế bào lưới, hồng cầu), các tiểu cầu (ví dụ, nguyên bào nhân không lồ, các tế bào nhân không lồ sản sinh tiểu cầu, tiểu cầu),

và bạch cầu đơn nhân to (ví dụ, bạch cầu đơn nhân to, đại thực bào). Các HSC được mô tả lẫn nhau dưới dạng tế bào mầm trong bản mô tả này. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, đã biết rằng các tế bào này có thể hoặc không thể bao gồm các tế bào CD34⁺. Các tế bào CD34⁺ là các tế bào chưa trưởng thành biểu hiện dấu chuẩn bề mặt tế bào CD34. Các tế bào CD34⁺ được cho là bao gồm tiểu quần thể tế bào có tính chất của tế bào mầm như được xác định trên đây. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, đã biết rõ rằng các tế bào HSC bao gồm các tế bào mầm đa năng, tế bào mầm bội năng (ví dụ, tế bào mầm dạng bạch huyết), và/hoặc các tế bào mầm liên quan đến các dòng tạo máu cụ thể. Các tế bào mầm liên quan đến các dòng tạo máu cụ thể có thể bao gồm dòng tế bào T, dòng tế bào B, dòng tế bào sợi nhánh, dòng tế bào Langerhans và/hoặc dòng tế bào đại thực bào đặc hiệu mô lympho. Ngoài ra, các HSC cũng chỉ HSC dài hạn (Long term HSC - LT-HSC) và HSC ngắn hạn (Short term HSC - ST-HSC). Các ST-HSC hoạt động hơn và tăng sinh nhiều hơn các LT-HSC. Tuy nhiên, LT-HSC có khả năng tự phục hồi không hạn chế (nghĩa là, chúng sống sót qua tuổi trưởng thành), trong khi đó ST-HSC có khả năng tự phục hồi hạn chế (nghĩa là, chúng chỉ sống sót trong một khoảng thời gian giới hạn). HSC bất kỳ có thể được sử dụng trong phương pháp bất kỳ được mô tả ở đây. Tùy ý, các ST-HSC là hữu dụng vì chúng tăng sinh nhiều hơn và do đó, gia tăng số lượng HSC và thế hệ con của chúng nhanh hơn. Các tế bào mầm tạo máu tùy ý thu được từ các sản phẩm máu. Sản phẩm máu bao gồm sản phẩm thu được từ cơ thể hoặc cơ quan của cơ thể chứa tế bào có nguồn gốc tạo máu. Các nguồn này bao gồm tủy xương không phân đoạn, dây rốn, máu ngoại vi, gan, tuyến ức, bạch huyết và lách. Tất cả các sản phẩm máu thô hoặc un-fractionated có thể được làm giàu tế bào có các đặc điểm của tế bào mầm tạo máu theo các phương pháp mà chuyên gia trong lĩnh vực này đã biết.

“Điều trị”, và “việc điều trị” chỉ phương pháp làm thuyên giảm hoặc làm dịu bệnh và/hoặc các triệu chứng kèm theo của nó.

“Tăng số lượng” dùng với các tế bào chỉ chỉ việc làm tăng số lượng một loại hoặc các loại tế bào đặc biệt, từ quần thể tế bào ban đầu, mà có thể là đồng nhất hoặc không đồng nhất. các tế bào ban đầu để tăng số lượng có thể không giống với các tế bào được tạo ra từ việc tăng số lượng.

“Quần thể tế bào” được dùng để chỉ các tế bào nhân điển hình của động vật có vú, tốt hơn là người, được phân lập từ các nguồn sinh học, ví dụ, sản phẩm máu hoặc mô và thu được từ nhiều hơn một tế bào.

“Làm giàu” khi được sử dụng với quần thể tế bào được dùng để chỉ quần thể tế bào được chọn dựa trên sự có mặt của một hoặc nhiều dấu chuẩn, ví dụ, CD34+.

Thuật ngữ “các tế bào CD34+” chỉ các tế bào biểu hiện dấu chuẩn CD34 trên bề mặt của chúng. Các tế bào CD34+ có thể được phát hiện và đếm bằng cách sử dụng, ví dụ, bào kế kiểu dòng và các kháng thể kháng CD34 được đánh dấu huỳnh quang.

“Làm giàu các tế bào CD34+” nghĩa là quần thể tế bào được chọn dựa trên sự có mặt của dấu chuẩn CD34. Do đó, tỷ lệ phần trăm các tế bào CD34+ trong quần thể tế bào sau khi chọn lọc cao hơn tỷ lệ phần trăm các tế bào CD34+ trong quần thể tế bào ban đầu trước bước chọn lọc trên các dấu chuẩn CD34. Ví dụ, các tế bào CD34+ có thể có mặt với lượng ít nhất là 50%, 60%, 70%, 80% hoặc ít nhất là 90% số tế bào của quần thể tế bào được làm giàu tế bào CD34+.

“Đơn vị máu dây rốn” chỉ máu thu được từ dây rốn của một thực thể mới sinh đơn lẻ.

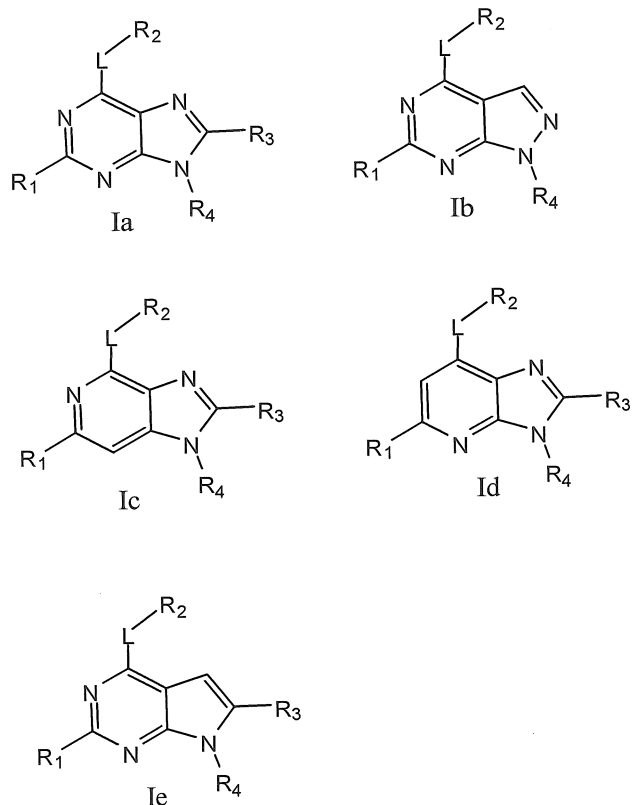
Mô tả các phương án được ưu tiên

Sáng chế đề cập đến phương pháp ngoài cơ thể và chế phẩm để tăng số lượng quần thể HSC bằng cách sử dụng tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt động và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

Theo một phương án, tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt động và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon là hợp chất có công thức I.

Theo một phương án, tác nhân nói trên có khả năng điều chỉnh giảm hoạt động và/hoặc sự biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon là hợp chất có công thức I.

Theo một phương án, đối với các hợp chất có công thức I, là các hợp chất được chọn từ công thức Ia, Ib, Ic, Id và Ie:



trong đó:

L được chọn từ $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-$ và $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; trong đó R_{5a} và R_{5b} được chọn một cách độc lập từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$; trong đó phía bên phải của L một nửa như được thể hiện được gắn vào R_2 , ví dụ: $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-\text{R}_2$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-\text{R}_2$ và $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-\text{R}_2$.

R_1 được chọn từ hydro, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl và thiazol-5-yl;

trong đó phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl,

pyrimidin-5-yl, pyridiny-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridiny-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl hoặc thiazol-5-yl của R_1 này có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ cyano, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, halo, được thế halo C_{1-4} alkyl, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ và $-C(O)OR_{8a}$; trong đó R_{8a} và R_{8b} được chọn một cách độc lập từ hydro và C_{1-4} alkyl; với điều kiện là R_1 và R_3 cả hai không phải là hydro;

R_2 được chọn từ $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, phenyl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl và 1H-indazol-3-yl; trong đó R_{6a} , R_{6b} và R_{6c} được chọn một cách độc lập từ hydro và C_{1-4} alkyl; trong đó phenyl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl hoặc 1H-indazol-3-yl của R_2 này được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ hydroxy, halo, metoxy, amino, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ và $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; trong đó R_{7a} và R_{7b} được chọn một cách độc lập từ hydro và C_{1-4} alkyl;

R_3 được chọn từ hydro, C_{1-4} alkyl và biphenyl; và

R_4 được chọn từ isopropyl, metyl, etyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, xyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl và benzyl; trong đó xyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl hoặc benzyl này có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ C_{1-4} alkyl và được thế halo C_{1-4} alkyl.

Theo phương án khác, L được chọn từ $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$ và $-NR_{5a}CH_2CH(OH)-$; trong đó R_{5a} và R_{5b} được chọn một cách độc lập từ hydro và metyl; và R_1 được chọn từ hydro,

phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl và thiazol-5-yl; trong đó phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl hoặc thiazol-5-yl này của R_1 có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ cyano, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, halo, được thế halo C_{1-4} alkyl, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ và $-C(O)OR_{8a}$; trong đó R_{8a} và R_{8b} được chọn một cách độc lập từ hydro và C_{1-4} alkyl; với điều kiện là R_1 và R_3 cả hai không phải là hydro.

Theo phương án khác, khi L là $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}$, tốt hơn là là $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}$ (ở đây từ 1 đến 3 nghĩa là 1, 2 hoặc 3).

Theo phương án khác, R_2 được chọn từ ure, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl và 1H-imidazol-4-yl; trong đó phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl hoặc 1H-benzo[d]imidazol-5-yl này của R_2 được tùy ý thế bằng hydroxy, metoxy, metyl, halo, amino và amino-sulfonyl.

Theo phương án khác, R_3 được chọn từ hydro, metyl và biphenyl; và R_4 được chọn từ isopropyl, metyl, etyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, xyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl và benzyl; trong đó xyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl hoặc benzyl này

có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ methyl và triflometyl.

Theo phương án khác là các hợp chất được chọn từ: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-(triflometyl)benzyl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isobutyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-methyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-methylbenzyl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)etyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(thiophen-3-yl)etyl)-9H-purin-6-amin; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-flophenetyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; N-(4-aminophenetyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrimidin-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(furan-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-flophenetyl)-9-phenyl-9H-purin-6-amin; N-benzyl-8-(biphenyl-4-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)etyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amin; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)-1H-indol-5-yl 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoat; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenetylamino)-9H-purin-9-yl)etyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)etoxy)etoxy)etoxy)etyl)acetamit; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; etyl 5-(6-(4-hydroxyphenetylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinat; etyl 5-(6-(4-hydroxyphenetylamino)-9-isopropyl-

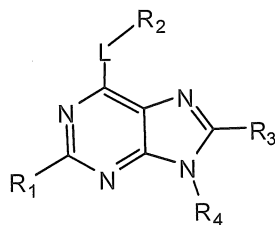
9H-purin-2-yl)nicotinat; 4-(2-(2-(6-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrazin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-metoxoxyphenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-metoxoxyphenol; N-[2-(6-metoxoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-[2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 1-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-(2-([9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amin; 9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-{2-[(3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]ethyl}-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 1-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl]-2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)pyridin-2-amin; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9H-purin-6-amin; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin; (2-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)ethyl)ure; 5-([2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino)methyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-

yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl)metan-sulfonamid; 4-(2-(2-(pyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)propyl)phenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)-N-metylnicotinamid; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl sulfamat; 4-(2-(2-(2-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-metyl-1H-pyrol-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-benzo[d]imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(2,4-dimetyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-metyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(9-sec-butyl-6-(4-hydroxy-3-metylphenethylamino)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-pyrol[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amine; 9-isopropyl-N-(2-(5-metyl-1H-pyrazol-3-yl)ethyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(triflometyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-9-sec-butyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(6-(benzo[b]thiophen-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; (R)-4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-3-metylphenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-

isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitrile; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)isonicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(6-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(isoquinolin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-clo-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-flo-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(5-clo-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(5-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (S)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(3H-imidazo[4,5-b]pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4,5-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)-1-hydroxyethyl)phenol; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(prop-1-en-2-yl)-9H-purin-6-amin; 5-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)pyridin-2-ol; N-(2-(1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; N-(2-(6-(2-(diethylamino)etoxy)-1H-

indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(5-(5-flopyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(2-metyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(2-ethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-propyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-6-ol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(2-metyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(7-metyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(6-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-metyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(2-metyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(4-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; N-(2-(7-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(4-metyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-N-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-pyrol[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(1-hydroxypropan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-metylphenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-xyclohexyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; và 1-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenetylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)pyrrolidin-2-one. Các hợp chất có công thức I được mô tả chi tiết trong các Ví dụ và Bảng 1, sau đây.

Theo phương án khác là các hợp chất có công thức Ia:



trong đó:

L được chọn từ $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NR}_{5a}\text{CH}_2-$, $-\text{NR}_{5a}\text{C}(\text{O})\text{CH}_2-$ và $-\text{NR}_{5a}\text{Y}-$; trong đó R_{5a} và R_{5b} được chọn một cách độc lập từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$; và Y là năm vòng heteroaryl thành viên chứa nhiều nhất là ba nguyên tử khác loại được chọn từ O, N và S;

R_1 được chọn từ hydro, phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, pyrimidin-4-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 1H-pyrazol-3-yl, pyridin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, 1H-pyrazol-1-yl, pyridazin-4-yl, 1H-indol-2-yl, thiazol-4-yl, 1H-indol-3-yl, 1H-pyrol-2-yl và thiazol-5-yl; trong đó phenyl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, pyrimidin-4-yl, pyrimidin-5-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 1H-pyrazol-3-yl, pyridin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrrolidin-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, 1H-pyrazol-1-yl, pyridazin-4-yl, 1H-indol-2-yl, thiazol-4-yl, 1H-indol-3-yl, 1H-pyrol-2-yl hoặc thiazol-5-yl này của R_1 có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ cyano, hydroxy, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$, $\text{C}_{1-4}\text{alkoxy}$, halo, được thế $\text{haloC}_{1-4}\text{alkyl}$, được thế $\text{haloC}_{1-4}\text{alkoxy}$, hydroxy, amino, $-\text{C}(\text{O})\text{R}_{8a}$, $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_{8a}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{8a}$ và $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_{8a}\text{R}_{8b}$; trong đó R_{8a} và R_{8b} được chọn một cách độc lập từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$; với điều kiện là R_1 và R_3 cả hai không phải là hydro;

R_2 được chọn từ $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}_{6a}\text{R}_{6b}$, $-\text{NR}_{9a}\text{C}(\text{O})\text{R}_{9b}$, $-\text{NR}_{6a}\text{C}(\text{O})\text{NR}_{6b}\text{R}_{6c}$, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-

pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphtalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl và 1H-imidazol-4-yl; trong đó R_{6a}, R_{6b} và R_{6c} được chọn một cách độc lập từ hydro và C₁₋₄alkyl; trong đó phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl hoặc furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphtalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl hoặc 1H-imidazol-4-yl này của R₂ được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ hydroxy, halo, metyl, metoxy, amino, -S(O)₂NR_{7a}R_{7b}, -OS(O)₂NR_{7a}R_{7b} và -NR_{7a}S(O)₂R_{7b}; trong đó R_{7a} và R_{7b} được chọn một cách độc lập từ hydro và C₁₋₄alkyl; hoặc gốc đơn được chọn từ 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoyloxy, 2-(2-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)etoxy)etoxy và 2-(4-(4-hex-5-ynamidobenzoyl)phenylamino)-2-oxoetoxy;

R₃ được chọn từ hydro, C₁₋₄alkyl và biphenyl; và

R₄ được chọn từ isopropyl, isobutyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, xyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)metyl và 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)etyl; trong đó xyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)metyl hoặc 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)etyl có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ C₁₋₄alkyl và được thế haloC₁₋₄alkyl; hoặc các dẫn xuất N-oxit, các dẫn xuất tiền dược chất, các dẫn xuất bảo vệ, các isome đơn

và hỗn hợp của các isome của chúng; hoặc các muối được dụng và các solvat (ví dụ, hydrat) của các hợp chất như vậy.

Theo phương án khác nữa, đối với các hợp chất có công thức Ia, L được chọn từ $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$, $-NR_{5a}CH(C(O)OCH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2NR_{5b}-$, $-NR_{5a}(CH_2)_2S-$, $-NR_{5a}CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-NR_{5a}CH(CH_3)CH_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-CH_2OCH_2-$, $-CH_2NR_{5a}CH_2-$, $-NR_{5a}C(O)CH_2-$ và $-NR_{5a}Y-$; trong đó R_{5a} và R_{5b} được chọn một cách độc lập từ hydro và metyl; Y được chọn từ isoxazol và 1,3,4-oxadiazol.

Theo phương án khác, khi L là $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}$, tốt nhất là là $-NR_{5a}(CH_2)_{1-3}$ (ở đây từ 1 đến 3 có nghĩa là 1, 2 hoặc 3).

Theo phương án khác, R_1 được chọn từ hydro, phenyl, thiophen-3-yl, thiophen-2-yl, furan-3-yl, furan-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-4-yl, pyridin-2-yl, pyrrolidin-1-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyrazin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrazol-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-imidazol-1-yl, thiazol-4-yl, 1H-pyrol-2-yl, thiazol-5-yl, và pyridin-3-yl; trong đó phenyl, thiophen-3-yl, thiophen-2-yl, furan-3-yl, furan-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-4-yl, pyridin-2-yl, pyrrolidin-1-yl, 1H-pyrazol-4-yl, pyrazin-2-yl, pyridazin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrazol-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-imidazol-1-yl, thiazol-4-yl, 1H-pyrol-2-yl, thiazol-5-yl hoặc pyridin-3-yl này của R_1 được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ cyano, metyl, metyl-sulfonyl, metoxy, halo, hydroxy, carboxyl, etoxy-carbonyl, metyl-amino-carbonyl và amino; với điều kiện là R_1 và R_3 cả hai không phải là hydro.

Theo phương án khác, R_2 được chọn từ amino-sulfonyl, metyl-carbonyl-amino, metyl-sulfonyl-amino, amino-sulfonyl-oxy, ure, phenyl, 1H-indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphtalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl và 1H-imidazol-4-yl; trong đó phenyl, 1H-

indol-2-yl, 1H-indol-3-yl, benzo[b]thiophen-2-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, benzofuran-2-yl, benzofuran-3-yl, thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-2-yl, furan-3-yl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, piperidin-1-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 3-oxopiperazin-1-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1,2,3,4-tetrahydronaphtalen-2-yl, indolin-5-yl, 2-oxoindolin-5-yl, 1H-benzo[d]imidazol-5-yl, 1H-indazol-5-yl và 1H-imidazol-4-yl này của R₂ được tùy ý thế bằng hydroxy, metoxy, metyl, halo, amino, amino-sulfonyl, 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoyloxy, 2-(2-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)etoxy)etoxy và 2-(4-(4-hex-5-ynamidobenzoyl)phenylamino)-2-oxoetoxy.

Theo phương án khác, R₃ được chọn từ hydro, metyl, và biphenyl; và R₄ được chọn từ isopropyl, isobutyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, xyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)metyl và 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)etyl; trong đó xyclopropyl, oxetan-3-yl, oxetan-2-yl, benzhydryl, piperidin-4-yl, piperidin-3-yl, piperidin-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-2-yl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, tetrahydrofuran-2-yl, benzyl, (4-pentylphenyl)(phenyl)metyl hoặc 1-(1-(2-oxo-6,9,12-trioxa-3-azatetradecan-14-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)etyl có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ metyl và triflometyl.

Theo phương án khác là các hợp chất được chọn từ: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-(triflometyl)benzyl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isobutyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-

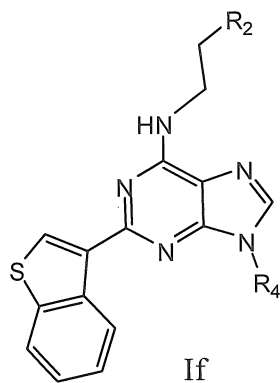
(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-methyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-methylbenzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(thiophen-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-flophenetyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; N-(4-aminophenetyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrimidin-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-phenyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(furan-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-flophenetyl)-9-phenyl-9H-purin-6-amin; N-benzyl-8-(biphenyl-4-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-((4-pentylphenyl)(phenyl)methyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-ol; 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanoat; N-(2-(2-(3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yloxy)etoxy)ethyl)-5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamit; N-(4-(4-(2-(3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yloxy)acetamit)benzoyl)phenyl)hex-5-ynamit; N-(2-(2-(2-(2-(4-(1-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenetylamino)-9H-purin-9-yl)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)etoxy)etoxy)etoxy)ethyl)acetamit; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenetylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinat; ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenetylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinat; 4-(2-(2-(6-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-

isopropyl-2-(2-metoxypyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrrolidin-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1H-pyrazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrazin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(2-clopyridin-3-yl)-6-isopropyl-2,6-dihydroimidazo[4,5-c]pyrazol-3-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(4-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-metoxypyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1H-pyrazol-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1H-pyrazol-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)thiophen-2-carboxylic acid; 4-(2-(2-(furan-2-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylthiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methoxyphenol; N-[2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-[2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-[2-(piperidin-4-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 1-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)piperidin-4-ol; methyl (2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}propanoate; 4-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)benzen-1-sulfonamide; 2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-

(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etan-1-sulfonamit; 4-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)benzene-1,2-diol; N-[2-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 1-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)etyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)pyridin-2-amin; 9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-[2-({[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}metyl)propyl]acetamit; 4-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)piperazin-2-one; N-{2-[(3-metyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]etyl}-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-[3-(3,5-dimetyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)ure; 5-({[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}metyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[2-(1H-imidazol-4-yl)etyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin; 1-(2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)imidazolidin-2-one; N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)etyl]-2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)pyridin-2-amin; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9H-purin-6-amin; N-[2-({[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}metyl)propyl]acetamit; 4-(2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)piperazin-2-one; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-{2-[(3-metyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]etyl}-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin; 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[3-(3,5-dimetyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin; (2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}etyl)ure; 5-({[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}metyl)-2,3-dihydro-1H-1,3-benzodiazol-2-one; N-[2-(1H-indol-3-yl)etyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenyl)metansulfonamit; 4-(2-(2-(pyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)propyl)phenol; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-

purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)-N-metylnicotinamit; 6-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-ol; N-(2-(1H-indazol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)(metyl)amino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-8-metyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 1-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-one; 4-(3-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)propyl)phenol; 4-(((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)metyl)(metyl)amino)metyl)phenol; 4-(((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)metyl)amino)metyl)phenol; 4-(((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)metoxy)metyl)phenol; N-(2-(indolin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(9-(1-metyl piperidin-4-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-(piperidin-4-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indazol-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-benzo[d]imidazol-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 5-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)indolin-2-one; 4-(2-(9-xyclopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl sulfamat; 2-(4-hydroxyphenyl)-N-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)acetamit; 4-(5-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)isoxazol-3-yl)phenol; 4-(5-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)phenol; 4-(2-(2-(2-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-metyl-1H-pyrol-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; và 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.

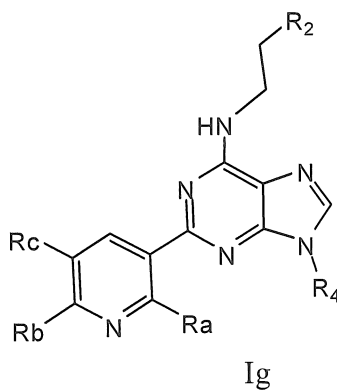
Theo phương án khác là hợp chất có công thức If:



trong đó: R₂ được chọn từ 1H-indol-3-yl và phenyl được tùy ý thế bằng hydroxy; và R₄ được chọn từ isopropyl, sec-butyl, benzhydryl, nonan-2-yl, oxetan-3-yl và tetrahydrofuran-3-yl.

Theo phương án khác nữa là các hợp chất được chọn từ: 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; (S)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; và (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol.

Theo phương án khác là hợp chất có công thức Ig:



trong đó: R₂ được chọn từ: 1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-yl; 1H-indol-3-yl được tùy ý thế bằng từ 1 đến 2 gốc được chọn một cách độc lập từ halo, metyl và metoxy; và phenyl được tùy ý thế bằng từ 1 đến 2 gốc được chọn một cách độc lập từ metyl, halo và hydroxy; R₄ được chọn từ isopropyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, prop-1-en-2-yl, benzhydryl, nonan-2-yl, oxetan-3-yl và tetrahydrofuran-3-yl; và Ra, Rb và Rc được chọn một cách độc lập từ hydro, cyano, metyl, halo, -SO₂CH₃ và triflometyl.

Theo phương án khác nữa là các hợp chất được chọn từ: 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(6-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 5-(6-(4-hydroxyphenetyl-amino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(metylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(4-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 9-isopropyl-N-(2-(6-metoxyl-1H-indol-3-yl)etyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 9-isopropyl-N-(2-(5-metyl-1H-indol-3-yl)etyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)etyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(2-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 5-(9-sec-butyl-6-(4-hydroxy-3-metylphenetyl-amino)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)phenol; 4-(2-(2-(5-clopyridin-3-yl)-9-

isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 5-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-9-sec-butyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; (S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-2-yl)nicotinonitrile; 4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)isonicotinonitrile; 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol; 4-(2-(9-isopropyl-2-(6-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 2-clo-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; 3-flo-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(5-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(5-clo-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol; 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol; (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-amin; 4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(prop-1-en-2-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 4-(2-(5-(5-flopyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol; N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-

9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(7-metyl-1H-indol-3-yl)etyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)etyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(1H-indol-3-yl)etyl)-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(6-flo-1H-indol-3-yl)etyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(2-metyl-1H-indol-3-yl)etyl)-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-metyl-1H-indol-3-yl)etyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(4-flo-1H-indol-3-yl)etyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(4-metyl-1H-indol-3-yl)etyl)-9H-purin-6-amin; N-(2-(7-flo-1H-indol-3-yl)etyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin; và 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(1-hydroxypropan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)etyl)-2-metylphenol.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp kích thích sự gia tăng số lượng tế bào mầm bằng cách làm tăng số lần phân chia; phương pháp này bao gồm bước cho tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất có công thức I.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp trong đó sự gia tăng số lượng tế bào mầm diễn ra *in vitro*, hoặc *ex vivo*.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp trong đó tế bào mầm là tế bào mầm tạo máu của người.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến quần thể tế bào có các tế bào mầm tạo máu được làm tăng số lượng, như thu được hoặc có thể thu được bằng phương pháp theo sáng chế.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa quần thể tế bào có các HSC được làm tăng số lượng thu được từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, tốt hơn là một đơn vị máu dây rốn, trong đó chế phẩm này chứa tổng lượng tế bào ít nhất là 10^5 tế bào, 10^7 tế bào, 10^8 tế bào hoặc 10^9 tế bào, và trong đó 20-100% tổng số tế bào là tế bào CD34+, ví dụ, 40-80% tổng số tế bào là CD34+.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến quần thể tế bào theo sáng chế để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn mà liệu pháp tế bào mầm có thể phòng ngừa, điều trị hoặc tiêu diệt.

Cần phải nhận thấy rằng việc sử dụng tế bào mầm làm tiến triển các bệnh mà có thể điều trị được bằng việc ghép tế bào mầm sẽ tăng lên. Các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế được thể hiện dưới đây.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I như được xác định trong mục Bản chất kỹ thuật của sáng chế, hoặc muối của nó, để sản xuất chế phẩm để điều trị bệnh suy giảm miễn dịch di truyền, bệnh tự miễn và/hoặc rối loạn tạo máu.

Theo một phương án khác, quần thể tế bào được sử dụng bằng cách tự ghép và rối loạn tạo máu được chọn từ bệnh đa u tủy, u bạch huyết không Hodgkin, bệnh Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, U nguyên bào thần kinh, u tế bào mầm, rối loạn tự miễn và thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một phương án khác, rối loạn tự miễn được chọn từ bệnh Luput ban đỏ hệ thống (Systemic lupus erythematosus - SLE) và bệnh xơ cứng toàn thân.

Theo một phương án khác, quần thể tế bào được sử dụng bằng cách dị ghép và rối loạn tạo máu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính, bệnh bạch cầu tủy xương mạn tính, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho mạn tính, rối loạn tăng sinh tủy xương, hội chứng loạn sản tủy, đa u tủy, u bạch huyết không Hodgkin, bệnh Hodgkin, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh bất sản đơn thuần dòng hồng cầu, bệnh huyết cầu tố niệu kịch phát ban đêm, bệnh thiếu máu Fanconi, bệnh Thalassemia thể nặng, bệnh thiếu máu hồng cầu hình liềm, chứng suy giảm miễn dịch kết hợp nghiêm trọng (Severe combined immunodeficiency - SCID), hội chứng Wiskott-Aldrich, hội chứng thực bào máu (Hemophagocytic lymphohistiocytosis - HLH) và các lệch lạc chuyển hóa bẩm sinh.

Theo một phương án khác, các lệch lạc chuyển hóa bẩm sinh được chọn từ rối loạn chuyển hóa polysacarit, bệnh Gaucher, bệnh loạn dưỡng chất trắng biến sắc và bệnh loạn dưỡng chất trắng tuyến thượng thận.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến quần thể tế bào để sử dụng trong việc điều trị bệnh suy giảm miễn dịch di truyền, bệnh tự miễn và/hoặc rối loạn tạo

máu bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng các tế bào mầm tạo máu được tăng số lượng bằng hợp chất được mô tả trong mục Bản chất kỹ thuật của sáng chế.

Theo một phương án khác, quần thể tế bào được sử dụng bằng cách tự ghép và rối loạn tạo máu được chọn từ bệnh đa u tủy, u bạch huyết không Hodgkin, bệnh Hodgkin, bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, u nguyên bào thần kinh, u tế bào mầm, các rối loạn tự miễn và bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một phương án khác, các rối loạn tự miễn được chọn từ bệnh luput ban đỏ hệ thống (SLE) và bệnh xơ cứng toàn thân.

Theo một phương án khác, quần thể tế bào được sử dụng bằng cách dị ghép và rối loạn tạo máu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, bệnh bạch cầu lympho bào cấp tính, bệnh bạch cầu tủy xương mạn tính, bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính, các rối loạn tăng sản tủy, hội chứng loạn sản tủy, bệnh đa u tủy, u bạch huyết không Hodgkin, bệnh Hodgkin, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh bất sản đơn thuần dòng hồng cầu, bệnh huyết cầu tố niệu kịch phát ban đêm, bệnh thiếu máu Fanconi, bệnh Thalassemia thể nặng, bệnh thiếu máu hồng cầu hình liềm, chứng suy giảm miễn dịch kết hợp nghiêm trọng (SCID), hội chứng Wiskott-Aldrich, hội chứng thực bào máu (HLH) và các lệch lạc chuyển hóa bẩm sinh.

Theo một phương án khác, các lệch lạc chuyển hóa bẩm sinh được chọn từ bệnh rối loạn chuyển hóa polysacarit, bệnh Gaucher, bệnh loạn dưỡng chất trắng biến sắc và bệnh loạn dưỡng chất trắng tuyến thượng thận.

Giải pháp

Các HSC là các tế bào gốc có khả năng tái tạo tất cả các tế bào máu. Trong quá trình phát triển, các thể tạo máu di chuyển từ gan bào thai đến tủy xương, sau đó giữ ở vị trí này của thể tạo máu trong suốt tuổi trưởng thành. Khi thể tạo máu đã được thiết lập trong tủy xương, các HSC không được phân bố một cách ngẫu nhiên khắp hốc xương. Thay vào đó, chúng được phát hiện ở vị trí gần với các bề mặt trong màng xương. Các tế bào mầm trưởng thành hơn gia tăng số lượng khi khoảng cách tính từ bề mặt xương gia tăng. Cuối cùng, khi đến được trục dọc ở tâm của xương, sự biệt hóa cuối của các tế bào trưởng thành diễn ra.

Sự gia tăng số lượng các tế bào mầm, thu được từ các nguồn người lớn, máu dây rốn, bào thai, hoặc phôi, có tác động lớn đến liệu pháp ghép và và các liệu pháp khác để điều trị các bệnh hoặc rối loạn về máu hoặc ung thư, ít nhất là tăng độ an toàn và giảm chi phí. Như được mô tả trong các phương pháp ở đây, số lượng HSC được tăng lên *ex vivo*. Phương pháp là tăng số lượng tế bào mầm là quan trọng vì hiện nay, khoảng 25% mảnh ghép tự ghép bị cản trở vì thiếu tế bào mầm. Ngoài ra, dưới 25% bệnh nhân cần mảnh ghép dị ghép có thể tìm được người cho tương hợp. Hiện nay, đã có ngân hàng máu dây rốn và bao gồm thành phần chủng tộc rộng của quần thể chung, nhưng những ngân hàng này hiện bị hạn chế sử dụng ở trẻ em vì không đủ số tế bào mầm trong mẫu cho người nhận là người lớn. Phương pháp tăng số tế bào mầm thừa nhận máu dây rốn hữu dụng cho bệnh nhân trưởng thành, do đó làm tăng việc sử dụng phương pháp dị ghép. Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để tăng số tế bào progenitor hữu dụng về mặt lâm sàng, ví dụ, để cấy mô nhanh và giảm thời gian mất bạch cầu trung tính.

Theo đó, sáng chế đề xuất phương pháp làm tăng số HSC. Như được sử dụng ở đây, sự tăng các HSC nghĩa là đối tượng có ít nhất một HSC nữa, tăng 10%, tăng 20%, tăng 30% hoặc nhiều hơn. Các HSC có thể gồm một tập hợp phụ tế bào CD34+, mức tăng HSC có thể được đo trực tiếp bằng cách đếm số tế bào CD34+ trong quần thể tế bào và, tùy ý, bằng cách đánh giá các tính chất biệt hóa của các tế bào CD34+ bằng cách phân tích các đơn vị tạo khuẩn lạc (colony forming unit - CFU) như được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây: Mức tăng giống nuôi cấy tế bào CD34+ ít nhất 10%, tốt hơn là tăng 20% hoặc tăng 30% hoặc nhiều hơn so với mẫu đối chứng không có sự gia tăng số lượng là chỉ thị của sự gia tăng số lượng HSC. Quần thể HSC được làm tăng số lượng được thu gom, ví dụ, từ mẫu tủy xương của đối tượng hoặc từ giống nuôi cấy. Việc thu gom các HSC là việc thu lấy hoặc tách các tế bào. Việc này được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều phương pháp, như phương pháp sử dụng enzym, phương pháp không sử dụng enzym, phương pháp ly tâm, phương pháp điện, hoặc phương pháp dựa trên kích thước, hoặc tốt hơn, bằng cách rửa các tế bào bằng cách sử dụng môi trường nuôi cấy (ví dụ, môi trường trong đó các tế bào được ủ) hoặc dung dịch được đệm. Tùy ý, các tế bào được thu gom, tách, và làm tăng số lượng tiếp để tạo ra các quần thể HSC và thế hệ con biệt hóa còn lớn hơn.

Phương pháp tạo ra quần thể HSC được tăng số lượng bao gồm bước cho tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện AHR theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của AHR, ví dụ, hợp chất theo sáng chế, với quần thể tế bào ban đầu (tức là, quần thể tế bào chưa được làm tăng số lượng) chứa hỗn hợp của các tế bào HSC và tủy ý, các tế bào trợ HSC. Bước sử dụng diễn ra *ex vivo*, *in vivo* và/hoặc *in vitro*. Như được mô tả ở đây, quần thể HSC tùy ý được sử dụng cho đối tượng. Để tăng số lượng *ex vivo*, tác nhân làm tăng số lượng HSC này, ví dụ, hợp chất theo sáng chế, có thể được kết hợp với DMSO hoặc một số chất mang thích hợp khác, “rửa” khỏi tế bào và các tế bào có thể được đưa, ví dụ, vào dung dịch đệm truyền. Chế phẩm DMSO, ví dụ, có thể chứa 0,3mg/ml hợp chất theo sáng chế trong dung dịch chứa 60% DMSO/40% nước. Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp cung cấp quần thể HSC được làm tăng số lượng cho đối tượng bao gồm việc cho đối tượng này sử dụng quần thể HSC được làm tăng số lượng được mô tả ở đây hoặc được tạo ra bằng các phương pháp được mô tả ở đây. Quần thể HSC được làm tăng số lượng tùy ý được sử dụng để tạo ra các tế bào máu. Các tế bào máu tùy ý được sử dụng cho đối tượng khi cần. Tùy ý, đối tượng này giống với đối tượng mà quần thể HSC hoặc hỗn hợp của HSC và tế bào trợ HSC được tăng số lượng được thu nhận.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ tế bào trợ HSC chỉ các tế bào được phát hiện một cách tự nhiên ở xung quanh một hoặc nhiều HSC sao cho các yếu tố do tế bào trợ HSC giải phóng ra đến được HSC bằng cách khuếch tán, ví dụ, các tế bào trợ HSC bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết. Tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết như được sử dụng ở đây bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tất cả các loại tế bào có mặt trong mô bạch huyết mà không phải là tế bào lympho hoặc tiền thân hoặc thể hệ ông bà của tế bào lympho. Do đó, tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết bao gồm nguyên bào xương, tế bào biểu mô, tế bào nội mô, tế bào trung biểu mô, tế bào sợi nhánh, tế bào lách và đại thực bào. Tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết cũng bao gồm các tế bào mà không có chức năng thông thường là tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết, như nguyên bào sợi, mà đã được thay đổi về mặt di truyền để tiết ra hoặc biểu hiện trên bề mặt tế bào của chúng các yếu tố cần thiết cho sự duy trì, sinh trưởng hoặc biệt hóa của HSC, bao gồm thể hệ con của chúng. Các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết tùy ý thu được từ việc

tách một mảnh mô lympho. Các tế bào này có khả năng hỗ trợ sự duy trì, sinh trưởng và biệt hóa *in vitro* hoặc *in vivo* của các HSC, bao gồm thế hệ con của chúng. Mô lympho bao gồm cả tủy xương, máu ngoại vi (bao gồm máu ngoại vi được huy động), máu dây rốn, máu nhau thai, gan bào thai, các tế bào phôi (bao gồm các tế bào mầm của phôi), các tế bào thu được từ động mạch chủ - tuyến sinh dục - trung thận, và mô mềm lympho. Mô mềm lympho, như được sử dụng ở đây bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các mô như tuyến ức, lách, gan, hạch lympho, da, amidan, viên VA và mảng Peyer (mảng hạch lympho), và tổ hợp của chúng.

Các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết tạo ra vi môi trường hỗ trợ trong mô lympho nguyên vẹn cho sự duy trì, sinh trưởng và biệt hóa các HSC, bao gồm thế hệ con của chúng. Vi môi trường này bao gồm các yếu tố hòa tan và yếu tố bề mặt tế bào được biểu hiện bởi các loại tế bào khác nhau chứa chất nền mô lưới hạch bạch huyết. Nói chung, sự hỗ trợ mà các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết tạo ra vừa phụ thuộc tiếp xúc vừa không phụ thuộc tiếp xúc.

Các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết, ví dụ, là thuộc cùng một cơ thể (bản thân) hoặc không thuộc cùng một cơ thể (không phải bản thân, ví dụ, thuộc cá thể khác cùng loài, thuộc cá thể cùng loài khác gen, thuộc cá thể cùng gen hoặc thuộc cá thể khác loài) với các HSC. Thuộc cùng một cơ thể, như được sử dụng ở đây, chỉ các tế bào của cùng một đối tượng. Thuộc cá thể cùng loài khác gen, như được sử dụng ở đây, chỉ các tế bào của cùng loài nhưng khác nhau về mặt di truyền. Thuộc cá thể cùng gen, như được sử dụng ở đây, chỉ các tế bào của đối tượng khác đồng nhất về mặt di truyền với tế bào so sánh. Thuộc cá thể khác loài, như được sử dụng ở đây, chỉ tế bào của các loài khác nhau. Các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết thu được, ví dụ, từ mô lympho của đối tượng người hoặc không phải người ở thời điểm bất kỳ sau khi cơ quan/mô đã phát triển đến giai đoạn (tức là, giai đoạn trưởng thành) mà ở đó nó có thể hỗ trợ sự duy trì, sinh trưởng hoặc biệt hóa của các HSC. Mô lympho mà từ đó thu được các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết thường xác định sự quy định dòng phả hệ mà các HSC đảm nhiệm, dẫn đến sự đặc hiệu dòng phả hệ của thế hệ con được biệt hóa.

Việc đồng nuôi cấy các HSC (và thể hệ con của chúng) với các tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết, thường diễn ra dưới các điều kiện đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, nhiệt độ, nồng độ CO₂ và O₂, môi trường dinh dưỡng, khoảng thời gian, v.v.). Thời gian đủ để làm tăng số lượng tế bào là thời gian mà có thể dễ dàng được xác định bởi chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này và thay đổi tùy thuộc vào số tế bào ban đầu được cấy. Lượng HSC và tế bào liên kết mô lưới hạch bạch huyết ban đầu được đưa vào (và sau đó được cấy) thay đổi theo các nhu cầu của thử nghiệm. Lượng lý tưởng dễ dàng được chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này xác định theo nhu cầu.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, đối tượng nghĩa là cả thể. Do đó, đối tượng bao gồm, ví dụ, động vật được thuần hóa, như mèo và chó, thú nuôi (ví dụ, gia súc, ngựa, lợn, cừu, và dê), động vật thí nghiệm (ví dụ, chuột, thỏ, chuột cống, và chuột lang), động vật có vú, động vật có vú không phải người, linh trưởng, linh trưởng không phải người, động vật gặm nhấm, chim, bò sát, động vật lưỡng cư, cá, và động vật bất kỳ khác. Đối tượng này tùy ý là động vật có vú như linh trưởng hoặc người.

Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm tạo máu

Do đó, sáng chế đề cập đến phương pháp tăng số lượng tế bào mầm tạo máu, bao gồm các bước (a) tạo ra quần thể tế bào ban đầu chứa tế bào mầm tạo máu và (b) nuôi cấy quần thể tế bào ban đầu này *ex vivo* với sự có mặt của tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon, trong các điều kiện thích hợp để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu.

Thụ thể aryl hydrocarbon (dioxin) (Aryl hydrocarbon (dioxin) receptor - AHR) là yếu tố phiên mã được hoạt hóa bằng phối tử phần bào tan đã biết là gây ra nhiều ảnh hưởng độc và gây ung thư ở động vật và có thể cả ở người (Safe S 2001 Toxicol Lett 120: 1-7). Do sự hoạt hóa AHR bởi các phối tử của nó, nhiều gen khử độc được cảm ứng theo cách phiên mã, bao gồm các gen mã hóa các enzym chuyển hóa ngoại sinh pha I, như các xytocrom P450 CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 và CYP2S1, và các enzym pha II UDP-glucuronosyltransferaza UGT1A6, quinon oxidoreductaza-1

(NQO1) phụ thuộc NAD(P)H, aldehyt dehydroaza ALDH3A1, và một số glutathion-S-transferaza.

Theo một phương án, tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon được chọn từ nhóm gồm: (i) hợp chất hữu cơ; (ii) phân tử ARN can thiệp nhỏ (siRNA) có khả năng điều chỉnh mức biểu hiện AHR theo hướng giảm; và (iii) oligonucleotit đối mã có khả năng điều chỉnh mức biểu hiện AHR theo hướng giảm.

Theo một phương án cụ thể, phương pháp tăng số lượng tế bào mầm tạo máu, bao gồm bước (a) tạo ra quần thể tế bào ban đầu chứa tế bào mầm tạo máu và (b) nuôi cấy quần thể tế bào ban đầu này *ex vivo* với sự có mặt của tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon, trong các điều kiện thích hợp để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu, trong đó tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon không phải là alpha-naptoflavon hoặc 3'-metoxy-4'-nitroflavon.

Hợp chất hữu cơ ức chế hoạt tính AHR (ở đây được gọi là chất đối kháng AHR) đã được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, (2-metyl-4-o-tolylazophenyl)amit của axit 2-metyl-2H-pyrazol-3-carboxylic (CH₂₂₃₁₉₁), alpha naphthoflavon, resveratrol (Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis., 2003 Apr; 13(2):104-13), 3'-metoxy-4'-nitroflavon (Biochem. Pharmacol., 2007 May 15; 73(10):1622-34, Epub 2007 Jan 30), và 6-metyl-1,3,8-triclodibenzofuran (Cancer Res., 2004, Apr 15; 64(8):2889-97). Chất ức chế hoạt tính AHR chỉ hợp chất làm giảm hoạt tính AHR ít nhất 10%, 20%, 30%, 50%, 60%, 70%, 80% hoặc ít nhất 90% hoạt tính phiên mã của AHR như có được trong các điều kiện hoạt hóa. Thử nghiệm xác định hoạt tính ức chế AHR là, ví dụ, thử nghiệm gen thông báo luciferaza phụ thuộc AHR được cảm ứng bằng dioxin như được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế. Theo một phương án, chất ức chế hoạt tính AHR là hợp chất có EC₅₀ nhỏ hơn 10µM, tốt hơn là nhỏ hơn 5µM khi đo được trong thử nghiệm gen thông báo luciferaza phụ thuộc AHR được cảm ứng bằng dioxin.

AHR là yếu tố phiên mã điều chỉnh sự phiên mã của nhiều gen khác nhau ở người. Theo một phương án, chất tác động xuôi dòng của quá trình AHR là gen được trực tiếp điều chỉnh mức phiên mã bởi AHR. Ví dụ về các gen này được chọn từ Cyp1B1, Cyp1A1, và AHRR. AHR cũng có chức năng trong các quá trình ngoài vai trò cảm ứng enzym ngoại sinh đã được biết rõ của nó. Các phối tử ngoại sinh của AHR đã thể hiện là điều chỉnh beta catenin, STAT5, STAT1, HES-1, c-Myc, C/EBP, PU.1, β -catenin, p21, P27, pRb, deoxynucleotidyl transferaza, CXCR4, và phối tử chemokin CXCL12 (SDF-1) của nó.

Theo một phương án cụ thể, tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm là hợp chất được xác định trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế.

Theo một phương án khác, tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm là oligonucleotit đối mã hoặc phân tử ARN can thiệp nhỏ (small interfering RNA - siRNA), có khả năng điều chỉnh mức biểu hiện protein AHR hoặc mức biểu hiện protein của hơn một chất tác động xuôi dòng của AHR theo hướng giảm.

Việc thiết kế các oligonucleotit đối mã mà có thể được sử dụng để ức chế một cách hữu hiệu mức biểu hiện protein AHR phải bị ảnh hưởng theo cách mà oligonucleotit đó liên kết đặc hiệu với ARN thông tin được thiết kế trong tế bào theo cách ức chế sự dịch mã của nó. Trình tự thích hợp để sử dụng trong việc thiết kế và tổng hợp các oligonucleotit đối mã mà liên kết đặc hiệu với ARN thông tin của AHR, AND hệ gen và/hoặc gen khởi đầu của nó hoặc trình tự kiểm soát khác có trong trình tự được công bố của AHR, cụ thể là AHR người. Ngoài ra, các thuật toán để xác định các trình tự với ái lực liên kết dự đoán cao nhất với đích ARN thông tin của chúng dựa trên chu trình nhiệt động học chịu trách nhiệm về năng lượng của những thay đổi về cấu trúc ở cả đích ARN thông tin và oligonucleotit cũng có sẵn.

Việc tổng hợp các phân tử RNAi thích hợp để sử dụng trong sáng chế có thể bị ảnh hưởng như sau: Đầu tiên, trình tự ARN thông tin của AHR (hoặc một hoặc nhiều chất tác động xuôi dòng của nó) được quét xuôi dòng mã mở đầu AUG để tìm các trình tự AA-dinucleotit. Sự có mặt của mỗi AA và 19 nucleotit liên kế đầu 3' được ghi

lại làm vị trí đích siRNA tiềm năng. Sau đó, các vị trí đích tiềm năng này được so sánh với cơ sở dữ liệu hệ gen thích hợp (ví dụ, người, chuột, chuột cống, v.v.) bằng cách sử dụng phần mềm sắp thẳng hàng trình tự bất kỳ. vị trí được cho là vị trí đích mà thể hiện độ tương đồng đáng kể với các trình tự mã hóa khác được lọc. Sau đó, các trình tự được ưu tiên là các trình tự chứa hàm lượng G/C thấp, cụ thể là các trình tự với hàm lượng G/C thấp hơn 55%. Sau đó, một số vị trí đích được chọn theo chiều dài của gen đích. Phương pháp hoặc thuật toán để xác định vị trí được cho là vị trí đích của siRNA được mô tả, ví dụ, trong (Tilesi, et al., Curr. Opin. Mol. Ther. 11:156, 2009). Ví dụ về các phân tử siRNA có khả năng điều chỉnh mức biểu hiện AHR theo hướng giảm là: AHR 111S, 5' GCG GCA TAG AGA CCG ACT TAA TTT CAA GAG AAT TAA GTC GGT CTC TAT GCC GCT TTT TTG G 3'; AHR 111AS, 5' CGC GCC AAA AAA GCG GCA TAG AGA CCG ACT TAA TTC TCT TGA AAT TAA GTC GGT CTC TAT GCC GC 3'; AHR 242S, 5' GGC TTC TTT GAT GTT GCA TTA ATT CAA GAG ATT AAT GCA ACA TCA AAG AAG CCT TTT TTG G 3'; AHR 242AS, 5' CGC GCC AAA AAA GGC TTC TTT GAT GTT GCA TTA ATC TCT TGA ATT AAT GCA ACA TCA AAG AAG CC 3'.

Quần thể tế bào ban đầu chứa các tế bào mầm tạo máu sẽ được chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này chọn tùy thuộc vào ứng dụng được dự tính. Các nguồn tế bào khác nhau chứa tế bào mầm tạo máu đã được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm tủy xương, máu ngoại vi, máu dây rốn trẻ mới sinh, nhau thai hoặc các nguồn khác như gan, cụ thể là gan bào thai.

Quần thể tế bào này đầu tiên có thể được làm giàu hoặc tinh chế, bao gồm việc chọn lọc tế bào âm tính và/hoặc dương tính dựa trên dấu chuẩn tế bào đặc hiệu để tạo ra quần thể tế bào ban đầu. Các phương pháp phân lập quần thể tế bào ban đầu này dựa trên các dấu chuẩn tế bào đặc hiệu có thể sử dụng công nghệ phân loại tế bào được hoạt hóa bằng huỳnh quang (fluorescent activated cell sorting - FACS), còn gọi là bào kế kiểu dòng hoặc chất rắn hoặc chất không hòa tan mà liên kết với kháng thể hoặc phối tử tương tác với dấu chuẩn tế bào đặc hiệu. Ví dụ, các tế bào có thể được cho tiếp xúc với chất rắn (ví dụ, cột chứa các hạt, bình, các hạt có từ tính) chứa kháng thể và các tế bào không liên kết bất kỳ được loại bỏ. Khi chất rắn chứa các hạt có từ

tính hoặc thuận từ được sử dụng, các tế bào liên kết với các hạt này có thể dễ dàng được phân lập bằng thiết bị tách từ tính.

Theo một phương án, quần thể tế bào ban đầu này được làm giàu kiểu hình dấu chuẩn tế bào mong muốn (ví dụ, CD34+, CD133+, CD90+) hoặc dựa trên dòng chất nhuộm ra như rhodamin, Hoechst hoặc hoạt tính aldehyt dehydroaza. Theo một phương án cụ thể, quần thể tế bào ban đầu được làm giàu các tế bào CD34+. Các phương pháp làm giàu tế bào CD34+ trong quần thể tế bào máu bao gồm các kit do Miltenyi Biotec (lít phân lập trực tiếp CD34+, Miltenyi Biotec, Bergisch, Gladbach, Germany) hoặc Baxter (Isolex 3000) cung cấp.

Lượng máu dây rốn từ một đối tượng mới sinh duy nhất thường không đủ để điều trị cho người lớn hoặc trẻ lớn hơn. Một ưu điểm của phương pháp tăng số lượng bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế, hoặc tác nhân có khả năng điều chỉnh hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon theo hướng giảm và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon, là ở chỗ nó cho phép tạo ra đủ lượng tế bào mầm tạo máu chỉ từ một đơn vị máu dây rốn.

Theo đó, theo một phương án, quần thể tế bào ban đầu thu được từ các tế bào máu dây rốn trẻ mới sinh đã được làm giàu tế bào CD34+. Theo một phương án có liên quan, quần thể tế bào ban đầu này thu được từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn.

Theo một phương án khác, quần thể tế bào ban đầu thu được từ các tế bào máu ngoại vi được huy động của người đã được làm giàu các tế bào CD34+. Theo một phương án có liên quan, quần thể tế bào thu được từ các tế bào máu ngoại vi được huy động của người được phân lập từ chỉ một bệnh nhân.

Tốt hơn nếu quần thể tế bào ban đầu này chứa ít nhất 50% tế bào CD34+, theo một số phương án, trên 90% tế bào CD34+, và có thể chứa từ 10^5 đến 10^9 tế bào có nhân.

Quần thể tế bào ban đầu có thể được trực tiếp sử dụng để làm tăng số lượng hoặc làm lạnh đông và bảo quản để sử dụng sau này.

Các điều kiện nuôi cấy quần thể tế bào ban đầu để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu thay đổi tùy thuộc, không kể những yếu tố khác, vào quần thể tế bào ban đầu, số tế bào cuối mong muốn, và tỷ lệ các HSC cuối mong muốn.

Theo một phương án cụ thể, sử dụng quần thể tế bào ban đầu từ các tế bào máu dây rốn được làm giàu tế bào CD34+, các điều kiện nuôi cấy bao gồm việc sử dụng các xytokin và yếu tố sinh trưởng khác để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu, thường được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các xytokin và yếu tố sinh trưởng này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, G-CSF, GM-CSF, SCF, Flt3-L, thrombopoietin (TPO), erythropoietin, và các chất tương tự của chúng. Như được sử dụng ở đây, “các chất tương tự” có thể bao gồm biến thể về cấu trúc bất kỳ của các xytokin và yếu tố sinh trưởng có hoạt tính sinh học dưới dạng có trong tự nhiên, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các biến thể với hoạt tính sinh học được tăng cường hoặc làm giảm so với các dạng có trong tự nhiên hoặc các chất chủ vận thụ thể xytokin như kháng thể chủ vận kháng thụ thể TPO (ví dụ, VB22B sc(Fv)₂ như được mô tả trong WO 2007/145227, và các chất tương tự). Các tổ hợp của xytokin và yếu tố sinh trưởng được chọn để tăng số lượng HSC và các tế bào thể hệ ông bà đồng thời hạn chế sự sản sinh các tế bào đã kết thúc biệt hóa. Theo một phương án cụ thể, một hoặc nhiều xytokin và yếu tố sinh trưởng được chọn từ nhóm gồm SCF, Flt3-L và TPO. Theo một phương án cụ thể, ít nhất TPO được sử dụng trong môi trường không có huyết thanh trong các điều kiện thích hợp để tăng số lượng HSC. Theo một phương án có liên quan, hỗn hợp chứa IL6, SCF, Flt3-L và TPO được sử dụng trong phương pháp tăng số lượng HSC kết hợp với hợp chất theo sáng chế hoặc tác nhân có khả năng giảm hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

IL6 hoặc interleukin-6 người, cũng được biết là yếu tố kích thích tế bào B 2 đã được Kishimoto, Ann. mô tả (review of Imm. 23:1 2005) và có bán trên thị trường. SCF hay yếu tố tế bào mầm của người, cũng được biết là phối tử c-kit, yếu tố sinh trưởng tế bào mỡ hoặc yếu tố Steel đã được Smith, MA và các đồng tác giả mô tả (ACTA Haematologica, 105, 3:143, 2001) và có bán trên thị trường. Phối tử Flt3-L hay phối tử FLT-3, cũng gọi là FL là yếu tố mà liên kết với thụ thể flt3 đã được

Hannum C mô tả (*Nature* 368 (6472): 643–8) và có bán trên thị trường. TPO hay thrombopoietin, cũng được biết là yếu tố sinh trưởng tế bào nhân khổng lồ (megakaryocyte growth factor - MGDF) hoặc phối tử c-Mpl đã được Kaushansky K mô tả (2006, *N. Engl. J. Med.* 354 (19): 2034–45) và có bán trên thị trường.

Việc làm tăng số lượng HSC có thể được tiến hành trong môi trường cơ bản, được bổ sung hỗn hợp chứa các xytokin và yếu tố sinh trưởng được mô tả trên đây. Môi trường cơ bản thường chứa axit amin, nguồn cacbon, các vitamin, các protein huyết thanh (ví dụ, albumin), các muối vô cơ, các cation hóa trị hai, chất đệm và các thành phần khác bất kỳ thích hợp sử dụng trong việc tăng số lượng HSC. Ví dụ về môi trường cơ bản thích hợp cho phương pháp tăng số lượng HSC bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, môi trường tăng số lượng không chứa huyết thanh StemSpan® SFEM (StemCell Technologies, Vancouver, Canada), môi trường xác định StemSpan® H3000 (StemCell Technologies, Vancouver, Canada), CellGro® SCGM (CellGenix, Freiburg, Germany), StemPro®-34 SFM (Invitrogen).

Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế hoặc tác nhân có khả năng giảm hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon, được sử dụng trong phương pháp tăng số lượng quần thể tế bào ban đầu với nồng độ thích hợp để tăng số lượng HSC. Theo một phương án cụ thể, hợp chất này hoặc tác nhân điều biến AhR được sử dụng với nồng độ nằm trong khoảng từ 1pM đến 100µM, ví dụ, nằm trong khoảng từ 10pM đến 10µM, hoặc nằm trong khoảng từ 100pM đến 1µM.

Theo một phương án cụ thể khi quần thể tế bào ban đầu chủ yếu chứa các tế bào được làm giàu CD34+ từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, các tế bào được sinh trưởng trong các điều kiện để tăng số lượng HSC trong khoảng thời gian từ 3 ngày đến 90 ngày, ví dụ, từ 2 đến 7 ngày và/hoặc cho đến khi đạt được số lần tăng định trước và thu được quần thể tế bào đặc trưng. Theo một phương án cụ thể, các tế bào được sinh trưởng trong các điều kiện để tăng số lượng HSC không quá 21 ngày, 14 ngày hoặc 7 ngày.

Theo một phương án, quần thể tế bào ban đầu được nuôi cấy trong khoảng thời gian đủ để đạt được số tế bào CD34+ tuyệt đối ít nhất là 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 hoặc 10^9 tế

bào. Theo một phương án khác, quần thể tế bào bán đầu được nuôi cấy trong khoảng thời gian đủ để tăng số lượng tế bào CD34+ lên 10 đến 50000 lần, ví dụ, tăng số lượng từ 100 đến 10000 lần.

Quần thể tế bào thu được sau khi tăng số lượng có thể được sử dụng mà không cần tinh chế tiếp hoặc có thể được tinh chế hoặc chọn lọc.

Sau đó, quần thể tế bào này có thể được rửa để loại bỏ hợp chất theo sáng chế hoặc tác nhân có khả năng giảm hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon bất kỳ khác và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc thành phần bất kỳ khác của môi trường nuôi cấy tế bào và tạo huyền phù lại trong môi trường tạo huyền phù tế bào thích hợp để sử dụng ngắn hạn hoặc môi trường bảo quản dài hạn, ví dụ, môi trường thích hợp để bảo quản lạnh.

Quần thể tế bào với các HSC được tăng số lượng thu được bằng phương pháp tăng số lượng và được phẩm

Sáng chế cũng đề xuất quần thể tế bào với các HSC được tăng số lượng, thu được bằng phương pháp tăng số lượng được mô tả trên đây. Theo một phương án cụ thể, quần thể tế bào này được tạo huyền phù lại trong môi trường được dụng thích hợp để sử dụng cho vật chủ động vật có vú, nhờ đó tạo ra dược phẩm.

Hợp chất như được xác định trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế hoặc tác nhân có khả năng giảm hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon cho phép tăng số lượng các HSC, ví dụ, chỉ từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, để tạo ra quần thể tế bào có số lượng và chất lượng thích hợp để cấy mô ngắn và dài hạn hữu hiệu ở bệnh nhân là người cần cấy mô. Cụ thể, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa quần thể tế bào với các HSC được tăng số lượng thu được từ không quá một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, trong đó dược phẩm này chứa tổng lượng tế bào ít nhất 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 hoặc 10^9 tế bào, với từ 20 đến 100%, ví dụ, từ 40 đến 80% tổng số tế bào là tế bào CD34+. Theo một phương án có liên quan, dược phẩm này chứa từ 0,1 đến 40%, ví dụ, từ 0,1 đến 10% tổng số tế bào là CD34+ Thy1+ và từ 20 đến 80% tế bào là CD34+ CD45RA+. Theo một số phương án cụ thể, dược phẩm này chứa từ 10 đến 95% số tế bào là CD38+ và từ 5 đến 70% số tế bào là CD133+.

Sáng chế còn đề xuất quần thể tế bào với các HSC được tăng số lượng hoặc được phẩm chứa nó để sử dụng trong việc dị ghép hoặc tự ghép tế bào mầm ở đối tượng động vật có vú.

Đối tượng được nêu ở đây là, ví dụ, người cho tủy xương hoặc cá thể bị hoặc có nguy cơ bị tiêu hao hoặc hạn chế các mức tế bào máu. Tùy ý, đối tượng này là người cho tủy xương trước khi thu thập tủy xương hoặc người cho tủy xương sau khi thu thập tủy xương. Đối tượng tùy ý là người nhận mảnh ghép tủy xương. Các phương pháp được mô tả ở đây đặc biệt hữu dụng với các đối tượng có nguồn dự trữ tủy xương hạn chế như đối tượng cao tuổi hoặc đối tượng trước đó đã được điều trị làm suy yếu miễn dịch hoặc điều trị làm hao mòn tủy như hóa liệu pháp, ví dụ, để điều trị bệnh bạch cầu hoặc u bạch huyết. Tùy ý, đối tượng có mức tế bào máu giảm hoặc có nguy cơ giảm mức tế bào máu so với mức tế bào máu đối chứng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ mức tế bào máu đối chứng chỉ mức tế bào máu trung bình ở đối tượng trước khi hoặc thực tế không thực hiện hoạt động làm thay đổi mức tế bào máu ở đối tượng này. Hoạt động làm thay đổi mức tế bào máu bao gồm, ví dụ, bệnh thiếu máu, chấn thương, hóa trị liệu, ghép tủy xương và trị liệu phóng xạ. Ví dụ, đối tượng mắc bệnh thiếu máu hoặc mất máu so, ví dụ, chấn thương.

Quần thể HSC được làm tăng số lượng hoặc chế phẩm chứa quần thể tế bào với các HSC được tăng số lượng được sử dụng cho đối tượng, ví dụ, trước, lúc, hoặc sau hóa trị liệu, trị liệu phóng xạ hoặc ghép tủy xương. Tùy ý, đối tượng bị tiêu hao tủy xương liên quan đến, ví dụ, hội chứng bẩm sinh, di truyền hoặc mắc phải đặc trưng bởi sự mất tủy xương hoặc tiêu hao tủy xương. Do đó, đối tượng này tùy ý là đối tượng cần các thể tạo máu. Tùy ý, đối tượng này là người cho tủy xương hoặc đối tượng mắc hoặc có nguy cơ bị tiêu hao tủy xương.

Việc sử dụng tế bào mầm tạo máu là hữu dụng trong điều trị bổ sung cho hóa liệu pháp hoặc trị liệu phóng xạ. Ví dụ, các HSC được định vị trong máu ngoại vi và sau đó phân lập từ đối tượng sẽ trải qua hóa trị liệu, và sau đó các tế bào trị liệu này sẽ được đưa trở lại. Do đó, đối tượng này là đối tượng trải qua hoặc dự tính là sẽ trải qua việc điều trị làm tiêu hao tế bào miễn dịch như hóa trị liệu, trị liệu phóng xạ hoặc làm người cho trong việc ghép tủy xương. Tủy xương là một trong những mô sinh sản

hiều nhất trong cơ thể và do đó thường là cơ quan bị phá hủy đầu tiên bởi các thuốc hóa trị liệu và phóng xạ. Kết quả là việc sản xuất tế bào máu nhanh chóng bị tiêu diệt trong quá trình hóa trị liệu hoặc điều trị bằng phóng xạ, và hóa trị liệu hoặc phóng xạ phải được dừng lại để hệ thống tạo máu bổ sung thêm nguồn tế bào máu trước khi bệnh nhân được điều trị lại bằng hóa trị liệu. Do đó, như được mô tả ở đây, các HSC hoặc các tế bào máu được tạo ra bằng các phương pháp được mô tả ở đây tùy ý được sử dụng cho các đối tượng này khi cần các tế bào máu bổ sung.

Sáng chế đề xuất các HSC được tăng số lượng bằng hợp chất theo sáng chế hoặc tác nhân có khả năng giảm hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện của thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon hoặc các chế phẩm với các HSC được tăng số lượng như được mô tả trên đây kết hợp với yếu tố trị liệu có khả năng tăng cường mức tăng sinh của các HSC *in vivo*, *in vitro*, hoặc *ex vivo* (ví dụ, phân tử nhỏ, kháng thể, hoặc các chất tương tự) và tùy ý ít nhất một tá dược hoặc chất mang dược dụng. Yếu tố trị liệu có khả năng tăng cường mức tăng sinh của HSC nghĩa là: kháng thể chủ vận kháng thụ thể TPO (ví dụ, VB22B sc(Fv)2 như được mô tả chi tiết trong công bố đơn quốc tế số WO 2007/145227, và tương tự); xytokin như SCF, IL-6, phối tử Flt-3, TPO hoặc chất tương tự TPO (ví dụ, như các chất được mô tả trong WO/2007/022269; WO/2007/009120; WO/2004/054515; WO/2003/103686; WO/2002/085343; WO/2002/049413; WO/2001/089457; WO/2001/039773; WO/2001/034585; WO/2001/021180; WO/2001/021180; WO/2001/017349; WO/2000/066112; WO/2000/035446; WO/2000/028987; WO/2008/028645; và tương tự); yếu tố kích thích tập đoàn bạch cầu hạt (Granulocyte colony stimulating factor - G-CSF); yếu tố kích thích tập đoàn đại thực bào đại thực bào (granulocyte macrophage colony stimulating factor - GM-CSF); prostaglandin hoặc chất chủ vận thụ thể prostaglandin (ví dụ, chất chủ vận thụ thể 1 của prostaglandin E2 (EP-1), chất chủ vận thụ thể 2 của prostaglandin E2 (EP-2), chất chủ vận thụ thể 3 của prostaglandin E2 (EP-3) và chất chủ vận thụ thể 4 của prostaglandin E2 (EP-4), như được mô tả chi tiết trong công bố đơn quốc tế số WO/2008/073748); tetraetylenpentin (TEPA); các phối tử Notch (Delta-1); và/hoặc chất chủ vận WNT. Ngoài ra, việc nuôi cấy các tế bào mầm với tế bào mầm trung mô (mesenchymal stem cells - MSCs) ngăn ngừa bệnh ghép chống chủ (graft-versus-host

disease - GVHD) và có thể giúp tăng số lượng tế bào mầm. Các MSC và tế bào mầm có thể được ghép dưới dạng toàn bộ giống nuôi cấy.

Dược dụng nghĩa là nguyên liệu không phải là không được mong muốn về mặt sinh học hoặc theo cách khác, nghĩa là, nguyên liệu này có thể được sử dụng cho đối tượng hoặc tế bào, mà không gây ra các tác dụng sinh học không mong muốn hoặc tương tác theo các có hại với các thành phần khác của dược phẩm chứa nó. Chất mang hoặc tá dược được chọn để giảm thiểu sự thoái hóa của hoạt chất và giảm thiểu các tác dụng phụ bất lợi ở đối tượng hoặc tế bào.

Chế phẩm được bào chế theo cách thông thường bất kỳ để sử dụng trong các phương pháp được mô tả ở đây. Việc sử dụng là qua đường bất kỳ mà các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này biết là hữu hiệu. Ví dụ, chế phẩm có thể được sử dụng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, trong tĩnh mạch), bằng cách tiêm trong bắp, tiêm trong màng bụng, qua da, ngoài cơ thể, trong mũi hoặc cục bộ.

Phương pháp sử dụng được ưu tiên là truyền trong tĩnh mạch. Số tế bào được truyền sẽ phụ thuộc vào các yếu tố như giới tính, độ tuổi, thể trọng, loại bệnh hoặc rối loạn, giai đoạn bệnh, tỷ lệ phần trăm các tế bào mong muốn trong quần thể tế bào và lượng tế bào cần để tạo ra hiệu quả điều trị. Theo một phương án cụ thể, chế phẩm được sử dụng bằng cách truyền trong tĩnh mạch và chứa ít nhất 10^4 tế bào/kg, từ 10^5 đến $5 \cdot 10^7$ tế bào/kg hoặc nhiều hơn nếu cần. Theo một phương án cụ thể, các tế bào được truyền đều thu được từ các tế bào máu dây rốn được tăng số lượng từ một trẻ sơ sinh duy nhất.

Chất mang được dụng để truyền chế phẩm chứa tế bào vào bệnh nhân thường bao gồm nước muối được đệm bằng 5% HSA hoặc môi trường cơ bản không bổ sung hoặc môi trường đã biết trong lĩnh vực này.

Để sử dụng qua đường miệng, chế phẩm có dạng, ví dụ, viên nén hoặc viên nang được bào chế bằng phương pháp thông thường với tá dược được dụng như chất liên kết (ví dụ, tinh bột ngô được gelatin hóa trước, polyvinylpyrrolidon hoặc hydroxypropyl methylxenluloza); chất độn (ví dụ, lactoza, xenluloza vi tinh thể hoặc canxi hydro phosphat); chất làm trơn (ví dụ, magie stearat, talc hoặc silic oxit); chất gây rã (ví dụ, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột natri glycolat); hoặc chất làm ẩm (ví dụ,

natri lauryl sulfat). Viên nén được bao bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chế phẩm dạng lỏng để sử dụng qua đường miệng có dạng, ví dụ, dung dịch, xi rô hoặc huyền phù, hoặc chúng có thể có dạng sản phẩm khô để hoàn nguyên bằng nước hoặc chất dẫn thích hợp khác trước khi sử dụng. Các chế phẩm dạng lỏng này được bào chế với các chất phụ trợ được dụng như chất tạo huyền phù (ví dụ, xi rô sorbitol, các dẫn xuất xenluloza hoặc chất béo ăn được được hydro hóa); chất tạo nhũ tương (ví dụ, lexitin hoặc acacia); các chất dẫn không chứa nước (ví dụ, dầu hạnh nhân, các este dầu, rượu etylic hoặc dầu thực vật phân đoạn); và các chất bảo quản (ví dụ, metyl hoặc propyl-p-hydroxybenzoat hoặc axit sorbic). Chế phẩm này tùy ý chứa muối đệm, chất tạo hương, chất tạo màu và chất làm ngọt nếu thích hợp.

Các chế phẩm được bào chế để sử dụng ngoài đường tiêu hóa bằng cách tiêm, ví dụ, bằng cách tiêm liều cao hoặc truyền liên tục. Chế phẩm dùng để tiêm được thể hiện dưới dạng liều đơn vị, ví dụ, trong ống ampun hoặc dụng cụ chứa nhiều liều, có hoặc không bổ sung chất bảo quản. Chế phẩm ở dạng này như huyền phù, dung dịch hoặc nhũ tương trong chất dẫn dầu hoặc nước, và có thể chứa các chất định dạng như chất tạo huyền phù, chất ổn định và/hoặc chất phân tán. Theo cách khác, hoạt chất ở dạng bột để hoàn nguyên bằng chất dẫn thích hợp, ví dụ, nước vô trùng không chứa chất gây sốt, trước khi sử dụng. Nói chung, nước, dầu thích hợp, nước muối, dung dịch nước dextroza (glucoza), và các dung dịch đường có liên quan và glycol như propylen glycol hoặc polyetylen glycol là các chất mang thích hợp cho các dung dịch dùng ngoài đường tiêu hóa. Các dung dịch để sử dụng ngoài đường tiêu hóa chứa, ví dụ, muối hòa tan trong nước của hoạt chất, chất ổn định thích hợp và, nếu cần, các chất đệm. Các chất chống oxy hóa như natri bisulfat, natri sulfite hoặc axit ascorbic, là các chất ổn định thích hợp một mình hoặc kết hợp. Tương tự, axit citric và muối của nó và axit natri etylenđiamintetraaxetic (EDTA) tùy ý được sử dụng. Ngoài ra, các dung dịch dùng ngoài đường tiêu hóa tùy ý chứa chất bảo quản như benzalkoni clorua, metyl- hoặc propyl-paraben và clobutanol. Các chất mang được dụng thích hợp được mô tả trong tài liệu của Remington: The Science và Practice of Pharmacy, 21st Edition, David B. Troy, ed., Lippicott Williams & Wilkins (2005), ít nhất các nguyên liệu liên quan đến chất mang được dụng và chế phẩm.

Các chế phẩm tùy ý được bào chế dưới dạng vật phẩm chứa. Chế phẩm hoạt động kéo dài này tùy ý được sử dụng bằng cách cấy dưới da. Do đó, ví dụ, các chế phẩm được bào chế với nguyên liệu polymer hoặc nguyên liệu kỵ nước thích hợp (ví dụ, dưới dạng nhũ tương trong dầu được dùng) hoặc nhựa trao đổi ion, hoặc dưới dạng các dẫn xuất ít hòa tan, ví dụ, dưới dạng muối ít tan. Các chế phẩm được sử dụng hoặc cấy cùng với viên cấy đồng thời hoặc sau khi cấy ghép bằng phẫu thuật.

Ngoài ra, các phương pháp được chuẩn được sử dụng để kiểm soát thời gian hoạt động. Bao gồm chế phẩm giải phóng có kiểm soát và các phân tử lớn thích hợp, ví dụ, polyme, polyeste, axit polyamino, polyvinyl, pyrrolidon, etylenvinylaxetat, methyl xenluloza, carboxymethyl xenluloza hoặc protamin sulfat. Chế phẩm chứa các phân tử lớn cũng như phương pháp kết hợp được điều chỉnh để giải phóng có kiểm soát. Tùy ý, chất này được kết hợp vào hạt vật liệu polyme như polyeste, axit polyamino, hydrogel, axit poly(lactic) hoặc copolyme etylenvinylaxetat. Ngoài việc được kết hợp, các chất này tùy ý được sử dụng để chứa hợp chất trong vi nang.

Chế phẩm để sử dụng trong các phương pháp được mô tả ở đây tùy ý được bào chế dưới dạng chế phẩm giải phóng chậm và/hoặc giải phóng theo thời gian. Các được phẩm giải phóng kéo dài và/hoặc giải phóng theo thời gian được bào chế bằng các thể giải phóng kéo dài hoặc dụng cụ phân phối đã được các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ. Chế phẩm được sử dụng để giải phóng chậm hoặc kéo dài một hoặc nhiều hoạt chất bằng cách sử dụng, ví dụ, hydropropylmethyl xenluloza, các chất nền polyme khác, gel, các màng thấm được, các hệ thấm thấu, các màng bao nhiều lớp, vi hạt, hạt mỡ, vi cầu hoặc tổ hợp của chúng để tạo ra profin giải phóng mong muốn theo tỷ lệ thay đổi. Các chế phẩm giải phóng kéo dài thích hợp được chọn để sử dụng cùng với các chế phẩm được mô tả ở đây. Do đó, các dạng liều đơn vị đơn thích hợp để sử dụng qua đường miệng, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, viên nén, viên nhộng, viên nang, viên bao gel, bột được làm thích ứng để giải phóng kéo dài được sử dụng.

Các chế phẩm tùy ý được phân phối bằng hệ giải phóng có kiểm soát. Ví dụ, chế phẩm được sử dụng bằng cách truyền trong tĩnh mạch, bơm thấm thấu cấy ghép được, các hạt mỡ, hoặc các phương pháp sử dụng khác. Hệ giải phóng có kiểm soát được bố trí gần với đích.

Tùy ý, cần sử dụng chế phẩm theo cách cục bộ, tức là, ở vùng cần điều trị. Ví dụ, chế phẩm được sử dụng bằng cách tiêm vào tủy xương củ xương dài. Việc sử dụng cục bộ được thực hiện, ví dụ, bằng cách tiêm cục bộ trong quá trình phẫu thuật, sử dụng khu trú (ví dụ, kết hợp với việc băng bó vết thương sau khi phẫu thuật), tiêm, thông tiểu, thuốc đạn, hoặc viên cấy. Viên cấy có chất liệu xốp, không xốp hoặc gelatin, bao gồm màng, như màng cao su silic hoặc sợi.

Dược phẩm được mô tả ở đây được sử dụng theo cách thông thường bất kỳ sẵn có để sử dụng kết hợp với dược phẩm dưới dạng hoạt chất trị liệu riêng biệt hoặc kết hợp với các hoạt chất trị liệu. Tùy ý, chúng được sử dụng một mình, nhưng thường sử dụng cùng với chất mang được dụng được chọn trên cơ sở đường dùng thuốc được chọn và thực hành được tiêu chuẩn.

Các hợp chất được mô tả ở đây được tạo ra ở dạng dược dụng bao gồm muối và dẫn xuất dược dụng của chúng. Thuật ngữ dạng dược dụng chỉ chế phẩm chứa hợp chất được mô tả ở đây thường an toàn, tương đối không độc và không phải là không được mong muốn về mặt sinh học hoặc theo cách khác. Các chế phẩm này tùy ý chứa chất mang hoặc chất ổn định dược dụng không độc với tế bào hoặc đối tượng tiếp xúc với chúng ở liều lượng và nồng độ được sử dụng. Ví dụ về các chất mạnh chấp nhận được về mặt sinh lý bao gồm các chất đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ; các chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic; polypeptit phân tử lượng thấp (ít hơn 10 gốc); protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc globulin miễn dịch; các polyme ưa nước như polyvinylpyrrolidon; các axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, arginin hoặc lysin; các monosacarit, disacarit, và các hydrat cacbon khác bao gồm glucoza, mannoza, hoặc dextrin; các chất chelat hóa như EDTA; các rượu đường như manitol hoặc sorbitol; các ion đối tạo muối như natri; và/hoặc các chất hoạt động bề mặt không ion như TWEEN™ (Uniqema, United Kingdom), polyetylen glycol (PEG), và PLURONICS™ (BASF, Germany).

Thuật ngữ muối axit và dẫn xuất dược dụng chỉ muối và dẫn xuất của các hợp chất có công thức I được mô tả ở đây mà giữ được hoạt tính sinh học và các tính chất như được mô tả, và không phải là không mong muốn về mặt sinh học hoặc theo cách khác. Các muối được dụng được điều chế, ví dụ, bằng các axit vô cơ như axit

clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric và các axit tương tự, và các axit hữu cơ như axit axetic, axit propionic, axit glycolic, axit pyruvic, axit oxalic, axit maleic, axit malonic, axit suxinic, axit fumaric, axit tartric, axit xitric, axit benzoic, axit xinamic, axit mandelic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit p-toluensulfonic, axit salixylic, và các axit tương tự.

Độ ổn định về mặt hóa học của chế phẩm chứa hợp chất có công thức I hoặc muối hoặc este được dụng của nó được tăng cường bằng các phương pháp mà chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết rõ. Ví dụ, este của axit alkanoic của sorbitol được polyetoxi hóa (polysorbat) được bổ sung vào chế phẩm chứa hợp chất có công thức I với lượng hữu hiệu để tăng cường độ ổn định về mặt hóa học của hợp chất này.

Dữ liệu thu được từ các thử nghiệm nuôi cấy tế bào và nghiên cứu động vật tùy ý được sử dụng để định ra các khoảng liều để sử dụng ở người. Tốt hơn, nếu liều hợp chất này nằm trong khoảng các nồng độ tuần hoàn chứa một lượng nhỏ hoặc không chứa độc tố. Liều thay đổi trong phạm vi này tùy thuộc vào dạng liều được sử dụng và đường sử dụng. Đối với hợp chất bất kỳ được sử dụng trong các phương pháp đã đề xuất, liều hữu hiệu ban đầu được đánh giá từ các thử nghiệm nuôi cấy tế bào.

Như được đề xuất ở đây gói hoặc kit chứa một hoặc nhiều dụng cụ chứa một hoặc nhiều thành phần được mô tả ở đây. Kit này tùy ý chứa các dung dịch và dung dịch đệm nếu cần. Kit này tùy ý bao gồm quần thể tế bào mầm được tăng số lượng được tạo ra bằng phương pháp mô tả trên đây hoặc có thể chứa các dụng cụ chứa hoặc chế phẩm để tạo ra quần thể HSC được tăng số lượng. Cụ thể, sáng chế đề xuất kit để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu *ex vivo*, chứa hợp chất như được xác định trong phần bản chất kỹ thuật của sáng chế và phần hướng dẫn để sử dụng hợp chất này theo phương pháp tăng số lượng HSC và, tùy ý, một hoặc nhiều xytokin hoặc yếu tố sinh trưởng, hoặc môi trường sinh trưởng của tế bào, cụ thể là môi trường để tế bào mầm tạo máu sinh trưởng như được mô tả trên đây. Kit này có thể chứa thêm các kháng thể để kiểm tra sự sản sinh các tế bào, như kháng thể kháng CD34, kháng thể kháng CD133, kháng thể kháng CD38, kháng thể kháng CD45RA và/hoặc kháng thể kháng Thy1. Theo một phương án cụ thể, kit này còn chứa thêm một hoặc nhiều xytokin or

yếu tố sinh trưởng được chọn từ nhóm gồm IL6, FLT3-L, SCF và TPO. Tùy ý kết hợp (các) túi hoặc kit này với phân hướng dẫn sử dụng.

Sáng chế cũng đề xuất kit để cung cấp lượng hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế để tăng HSC ở đối tượng, kit này chứa một hoặc nhiều liều hợp chất để sử dụng trong một khoảng thời gian, trong đó tổng số liều hợp chất theo sáng chế trong kit bằng lượng hữu hiệu đủ để tăng HSC ở đối tượng. Khoảng thời gian là từ một đến vài ngày hoặc tuần hoặc tháng. Do đó, khoảng thời gian ít nhất khoảng 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 20, 21, 30 hoặc 60 ngày hoặc dài hơn hoặc nằm trong khoảng từ 1 đến 90 ngày.

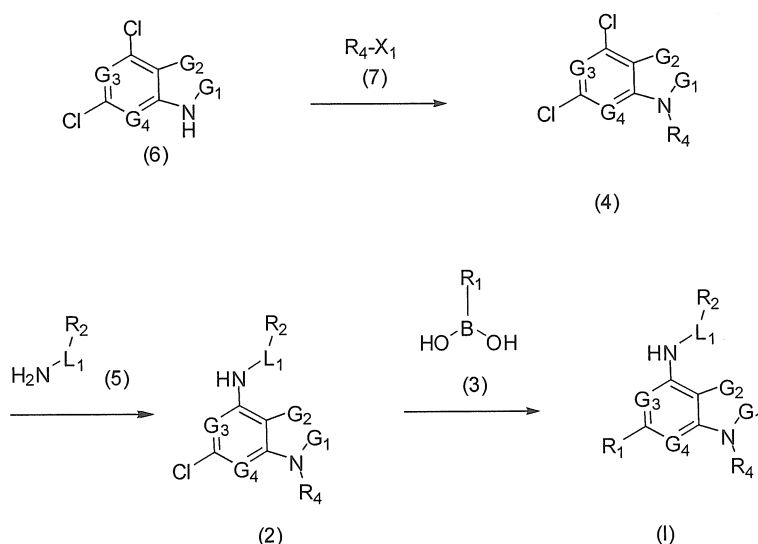
Quy trình điều chế các hợp chất theo sáng chế

Sáng chế cũng bao gồm các quy trình điều chế các hợp chất theo sáng chế. Trong các phản ứng được mô tả, cần bảo vệ các nhóm chức dễ phản ứng, ví dụ, các nhóm hydroxy, amino, imino, thio hoặc carboxy được mong muốn trong sản phẩm cuối, để tránh việc chúng tham gia vào các phản ứng không mong muốn. Các nhóm bảo vệ thông thường có thể được sử dụng theo phương pháp thực hành chuẩn, ví dụ, xem T.W. Greene và P. G. M. Wuts trong “Protective Groups in Organic Chemistry”, John Wiley and Sons, 1991.

Các sơ đồ phản ứng 1-5 sau mô tả chi tiết việc điều chế các hợp chất theo sáng chế. Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này cần nhận thấy rằng, theo các phương pháp chi tiết sau, các nhóm R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , và L_1 bất kỳ có thể tùy ý được tạo ra tiếp bằng các phép chuyển hóa đã biết để thu được các hợp chất cuối mong muốn có công thức I.

Các hợp chất có công thức I có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 1:

Sơ đồ phản ứng 1



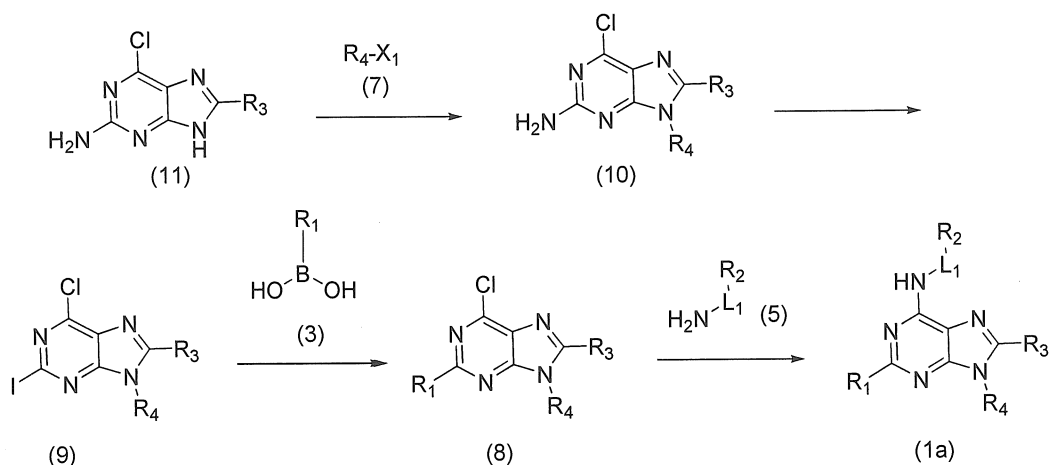
trong đó G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 , R_2 và R_4 như được xác định cho công thức I trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế và L của công thức I được xác định trong sơ đồ phản ứng là $-NH-L_1-$ tương đương với, ví dụ, $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$ khi R_{5a} là hydro và $-(CH_2)_{0-3}-$ là L_1 .

Các hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức 2 phản ứng với hợp chất có công thức 3 với sự có mặt của chất xúc tác thích hợp (ví dụ, $Pd_2(dba)_3$, hoặc các chất tương tự) với sự có mặt của phối tử thích hợp (ví dụ, 1,3-bis(2,4,6-trimetylphenyl) imidazoli clorua), bazơ thích hợp (ví dụ, Cs_2CO_3 , hoặc các chất tương tự) và dung môi thích hợp (ví dụ, 1,4-dioxan) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80 đến 100°C trong 2 đến 48 giờ. Các hợp chất có công thức 2 lần lượt có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức 4 phản ứng với lượng hơi dư hợp chất amin có công thức 5 trong dung môi thích hợp (ví dụ, isopropanol) ở nhiệt độ từ nhiệt độ trong phòng đến khoảng 80°C. Các hợp chất có công thức 4 có thể được điều chế bằng cách alkyl hóa hợp chất có công thức 6 bằng chất alkyl hóa thích hợp 7, trong đó X_1 is clo, brom, iod hoặc este sulfonat ester, với sự có mặt của bazơ thích hợp (ví dụ, natri hydrua hoặc kali carbonat), trong dung môi thích hợp (ví dụ, DMF), ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 80°C. Theo cách khác, phản ứng có thể được thực hiện trong các điều kiện Mitsunobu bằng cách sử dụng rượu thích hợp R_4-OH với sự có mặt của phosphin thích hợp (ví dụ, triphenylphosphin) và

azodicarboxylat (ví dụ, diethylazodicarboxylat), trong dung môi trơ như THF hoặc toluen, ở nhiệt độ từ 0 °C đến nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất có công thức Ia, trong đó G_1 là CR_3 và trong đó tất cả các nhóm G khác là N, có thể cũng được điều chế bằng tiến trình như là theo sơ đồ phản ứng sau 2:

Sơ đồ phản ứng 2



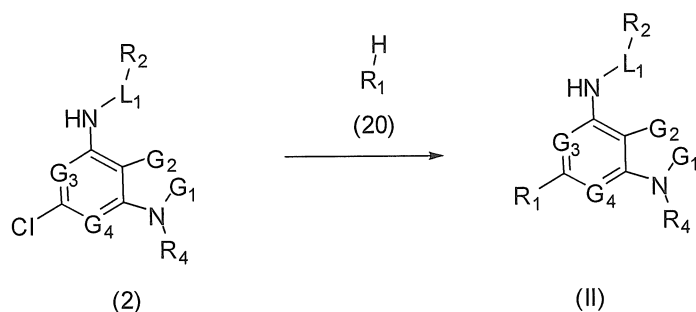
trong đó R_1 , R_2 , R_3 và R_4 như được xác định cho công thức I trong phần bản chất kỹ thuật của sáng chế và L của công thức I được xác định theo sơ đồ phản ứng là $-NH-L_1-$ tương đương với, ví dụ, $-NR_{5a}(CH_2)_{0-3}-$ trong đó R_{5a} là hydro và $-(CH_2)_{0-3}-$ là L_1 .

Các hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức 8 phản ứng với hợp chất amin có công thức 5 trong dung môi thích hợp (ví dụ, isopropanol) ở nhiệt độ từ nhiệt độ trong phòng đến khoảng 100°C. Các hợp chất có công thức 8 có thể lần lượt được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức 9 phản ứng với hợp chất có công thức 3 với sự có mặt của chất xúc tác thích hợp (ví dụ, $Pd(Ph_3P)_4$, $Pd_2(dba)_3$, hoặc các chất tương tự), tùy ý với sự có mặt của phối tử thích hợp (ví dụ, 1,3-bis(2,4,6-trimetylphenyl)imidazoli clorua), bazơ thích hợp (ví dụ, Cs_2CO_3 , hoặc các chất tương tự) và dung môi thích hợp (ví dụ, 1,4-dioxane) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80 đến 100°C trong 2 đến 48 giờ. Các hợp chất có công thức 9 lần lượt có thể được điều chế cho hợp chất có công thức 10 phản ứng với hỗn hợp chứa di-iodometan, đồng (I) iotua, và alkyl nitrit (ví dụ, isoamylnitrit), tùy ý với sự có mặt của dung môi trơ, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 100°C. Các hợp

chất có công thức 10 có thể được điều chế bằng cách alkyl hóa hợp chất có công thức 11 bằng chất alkyl hóa thích hợp 7, trong đó X_1 là clo, brom, iod, hoặc este sulfonat, với sự có mặt của bazơ thích hợp (ví dụ, natri hydrua hoặc kali carbonat), trong dung môi thích hợp (ví dụ, DMF), ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 80°C . Theo cách khác, phản ứng có thể được thực hiện trong các điều kiện Mitsunobu bằng cách sử dụng rượu thích hợp $R_4\text{-OH}$ với sự có mặt của phosphin thích hợp (ví dụ, triphenylphosphin) và azodicarboxylat (ví dụ, diethylazodicarboxylat), trong dung môi trơ như THF hoặc toluen, ở nhiệt độ từ 0°C đến nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất có công thức II, là tập con của các hợp chất có công thức I trong đó R_1 là heterocyclyl liên kết N hoặc heteroaryl liên kết N, có thể được điều chế như được mô tả chi tiết trong sơ đồ phản ứng 3 sau:

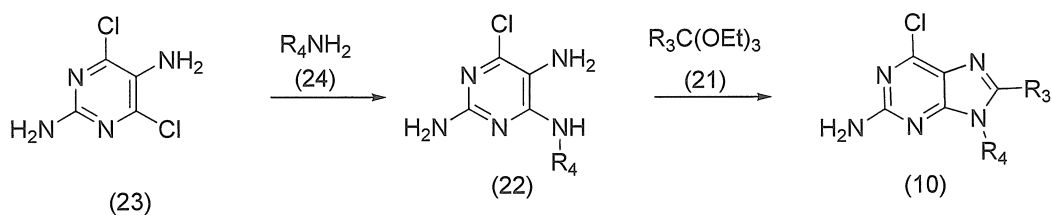
Sơ đồ phản ứng 3



G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 , R_2 và R_4 như được xác định cho công thức I trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế và L của công thức I được xác định trong sơ đồ phản ứng là $-\text{NH-L}_1-$ tương đương với, ví dụ, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$ khi R_{5a} là hydro và $-(\text{CH}_2)_{0-3}-$ là L_1 . Các hợp chất có công thức II có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức 2 phản ứng với hợp chất có công thức 20 với sự có mặt của lượng dư amin vòng hoặc dị vòng có chứa NH (ví dụ, pyrazol được thế, imidazol được thế, và các chất tương tự), ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 250°C , trong 1 đến 24 giờ, tùy ý với sự có mặt của bazơ như natri hydrua hoặc DBU.

Các hợp chất có công thức 10 trong đó G_1 là CR_3 , và trong đó tất cả các nhóm không phải G là N, cũng có thể được điều chế bằng cách thực hiện như trong sơ đồ phản ứng 4 sau:

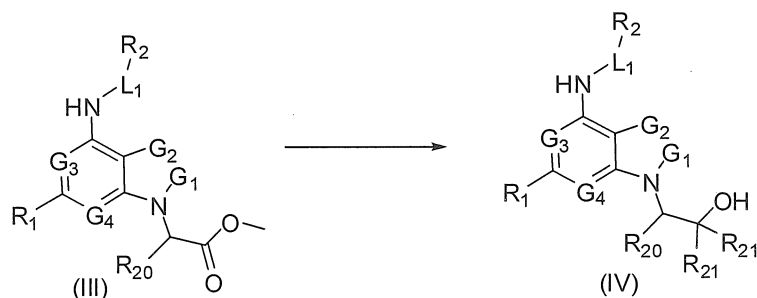
Sơ đồ phản ứng 4



trong đó R_3 và R_4 như được xác định cho công thức I trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế. Các hợp chất có công thức 10 có thể được điều chế theo quy trình được mô tả trong J. Med. Chem, 1972, 456, và J. Med. Chem., 1992, 4180. Hợp chất orthoeste có công thức 21 được cho phản ứng với hợp chất có công thức 22, tùy ý với sự có mặt của axit như axit axetic, ở nhiệt độ từ nhiệt độ trong phòng đến 150°C , trong khoảng 1 đến 24 giờ. Hợp chất có công thức 22 có thể lần lượt được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức 23 phản ứng với hợp chất amin bậc một có công thức 24, tùy ý với sự có mặt của axit như pTSA, hoặc bazơ như triethylamin hoặc DBU, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 200°C .

Các hợp chất có công thức IV có thể được điều chế như chi tiết trong sơ đồ phản ứng 5 sau:

Sơ đồ phản ứng 5



trong đó G_1 , G_2 , G_3 , G_4 , R_1 và R_2 như được xác định cho công thức I trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế và L của công thức I được xác định trong sơ đồ phản ứng là $-\text{NH}-\text{L}_1-$ tương đương với, ví dụ, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{0-3}-$ khi R_{5a} là hydro và $-(\text{CH}_2)_{0-3}-$ là L_1 . R_{20} và R_{21} độc lập được chọn từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$. Hợp chất có công thức IV, trong đó R_{21} là hydro, có thể được điều chế từ hợp chất có công thức III bằng cách xử lý bằng chất khử thích hợp như lithi nhôm hydrua hoặc di-isobutyl nhôm hydrua, trong dung môi thích hợp như THF hoặc toluen, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -78°C

đến 50°C. Phản ứng hoàn thành sau 0,5 đến 16 giờ. Hợp chất có công thức IV, trong đó R₂₁ là alkyl thấp hơn, có thể được điều chế bằng cách xử lý hợp chất có công thức III bằng lithi alkyl hoặc chất phản ứng Grignard, trong dung môi thích hợp như ete hoặc tetrahydrofuran, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -78°C đến 50°C. Phản ứng hoàn thành sau 0,5 đến 16 giờ.

Các ví dụ chi tiết về việc tổng hợp hợp chất có công thức I được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Quy trình bổ sung để điều chế hợp chất theo sáng chế

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dưới dạng muối công axit được dùng bằng cách cho dạng bazơ tự do của hợp chất này phản ứng với axit hữu cơ hoặc vô cơ được dùng. Theo cách khác, muối công bazơ được dùng của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách cho dạng axit tự do của hợp chất này phản ứng với bazơ hữu cơ hoặc vô cơ được dùng. Theo cách khác, các dạng muối của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng muối của nguyên liệu ban đầu hoặc các hợp chất trung gian.

Ví dụ, các dạng muối của hợp chất 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (Ví dụ 1, dưới đây) được tổng hợp như sau:

Muối mesylat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 12ml axeton ở nhiệt độ 50°C. Axit metansulfonic (0,137g; 1,40mmol) được bổ sung từng giọt vào. Quá trình kết tinh diễn ra nhanh. Huyền phù màu trắng được để nguội trong khoảng 30 phút có làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Huyền phù này được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lọc. Chất rắn được rửa bằng axeton (6ml) trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong 16 giờ ở 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 233°C với entanpy nóng chảy là 98g/J. Nguyên liệu thu được bị hao khi làm khô là 0,2%. Mức hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước là 0,4%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối mmuối esylat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối mesylat của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các pic nhiễu xạ tia X dạng bột (góc 2-Theta °) sau: 6,4, 6,7, 18,3, 18,6, 26,9; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các pic nhiễu xạ tia X dạng bột (góc 2-Theta °) sau: 6,4, 6,7, 10,3, 12,9, 16,4, 18,3, 25,8, 26,5, 26,9.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối mesylat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 3 ở đây.

Muối tosylat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 12ml ở nhiệt độ 50°C. Dung dịch chứa axit para-toluensulfonic mono-hydrat (0,271g; 1,40mmol) trong axeton (1,2 ml) được bổ sung từng giọt vào. Dung dịch này được cấy ở 50°C và quá trình kết tinh diễn ra nhanh chóng. Huyền phù được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong khoảng 18 giờ. Sau khi lọc, chất rắn được rửa bằng axeton (6ml) trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 233°C với entanpy nóng chảy là 88g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô là 0,2%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước là 0,4%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối tosylat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối tosylat của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (góc 2-Theta °): 6,2, 13,3, 16,7, 19,5, 25,4; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau: 6,2, 7,6, 12,4, 13,3, 15,1, 16,7, 17,7, 19,5, 20,2, 24,6, 24,9, 25,4, 25,6.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối tosylat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 4 ở đây.

Muối sulfat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 10ml axeton và 1ml nước ở nhiệt độ khoảng 55°C. Dung dịch chứa axit lưu huỳnhic (0,280g; 2,79mmol) trong 1ml nước được bổ sung từng giọt vào. Quá trình kết tinh diễn ra

nhanh chóng. Huyền phù được để nguội trong khoảng 30 phút có làm mát đến nhiệt độ trong phòng, khuấy trong khoảng 18 giờ và lọc. Bánh lọc được rửa bằng 6ml axeton trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu có điểm nóng chảy khoảng 224°C với entanpy nóng chảy là 91g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô dưới 0,05%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Do được độ hấp thụ nước là 0,2%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối sulfat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối sulfat của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (góc 2-Theta °): 6,5, 6,8, 10,7, 13,5, 26,4, 27,6; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (góc 2-Theta °): 6,5, 6,8, 10,7, 13,1, 13,5, 18,6, 18,8, 20,8, 26,4, 27,1, 27,6.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối sulfat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 6 ở đây.

Muối esylat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 12ml axeton ở nhiệt độ 50°C. Axit etansulfonic (0,155g; 1,40mmol) được bổ sung từng giọt vào. Quá trình kết tinh diễn ra nhanh chóng. Huyền phù trắng thu được được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng. Huyền phù này khuấy trong khoảng 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lọc. Chất rắn được rửa bằng 6ml axeton trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 231°C với entanpy nóng chảy là 76g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô là 0,6%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước là 0,05%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối esylat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối esylat của hợp chất theo Ví dụ

1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,3, 9,9, 18,4, 25,3, 26,1; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,3, 9,9, 17,1, 17,9, 18,4, 19,0, 22,0, 25,3, 26,1, 27,1.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối esylat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 8 ở đây.

Muối hydrobromua: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 6ml DMF ở nhiệt độ 65°C. Axit hydrobromic 48% (0,235g; 1,40mmol) được bổ sung từng giọt vào. Dung dịch này được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng. Mầm tinh thể được bổ sung vào ở nhiệt độ 55°C và quá trình kết tinh diễn ra chậm. Huyền phù được khuấy trong khoảng 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lọc. Chất rắn được rửa bằng 4ml DMF/nước 1:1 và 6ml nước. Muối này đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 285°C với entanpy nóng chảy là 119g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô là 1,0%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Không quan sát thấy sự hấp thụ nước.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối hydrobromua của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối hydrobromua của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 7,0, 25,9, 26,8, 27,9; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 7,0, 11,4, 13,3, 21,4, 23,4, 25,9, 26,4, 26,8, 27,9.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối hydrobromua của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 9 ở đây.

Muối orotat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) và axit orotic (0,222g; 1,40mmol) được hòa tan trong 7,8 ml NMP (1-Metyl-2-pyrrolidon) ở nhiệt độ 85°C. Dung dịch này được làm nguội đến 60°C và 6ml nước được bổ sung từng giọt vào trong khoảng 5 phút. Huyền phù màu trắng thu được được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt

độ trong phòng và khuấy trong 18 giờ. Sau khi lọc, bánh lọc được rửa bằng 4ml NMP/nước 1:1 trong 2 phần và 6ml nước trong ba phần. Chất rắn đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 240°C với entanpy nóng chảy là 130g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô dưới 0,05%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước là 1,7%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối orotat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối orotat của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 7,1, 16,3, 19,2, 23,5, 25,6, 26,9; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 7,1, 14,4, 16,3, 18,6, 19,2, 21,7, 23,0, 23,5, 25,6, 26,9, 28,7. Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối orotat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 10 ở đây.

Muối hemi-fumarat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 18ml metanol ở nhiệt độ 65°C. Axit fumaric (0,164g; 1,40mmol) và 6ml metanol được bổ sung vào. Dung dịch này được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng. Một số mầm tinh thể được bổ sung vào ở nhiệt độ 60°C và quá trình kết tinh diễn ra chậm. Huyền phù được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lọc. Chất rắn được rửa bằng 6ml metanol trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 232°C với entanpy nóng chảy là 83g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô dưới 0,05%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước là 0,3%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối hemi-fumarat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối hemi-fumarat của hợp

chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 7,2, 8,7, 14,4, 15,8, 17,4, 19,0, 23,7; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 7,2, 8,7, 10,8, 14,4, 15,8, 17,4, 17,8, 19,0, 20,1, 23,7, 27,5.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối hemi-fumarat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 11 ở đây.

Muối besylat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 12ml axeton ở nhiệt độ 50°C. Dung dịch chứa axit benzensulfonic (0,225g; 2,79mmol) trong 1,2ml axeton được bổ sung từng giọt vào. Mầm tinh thể được bổ sung vào ở nhiệt độ 48°C và quá trình kết tinh diễn ra chậm. Huyền phù được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng. Huyền phù này được khuấy trong khoảng 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lọc. Muối được rửa bằng 6ml axeton trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C /khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C /khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu này có điểm nóng chảy khoảng 219°C với entanpy nóng chảy là 92g/J. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô là 0,3%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước khoảng 0,05%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối besylat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối besylat của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,2, 7,7, 17,7, 25,5; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,2, 7,7, 15,2, 16,7, 17,1, 17,7, 19,8, 20,2, 24,9, 25,2, 25,5.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối besylat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 7 ở đây.

Muối napadisylat: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) và 0,259g axit 1,5-naphtalendisulfonic (0,70 mmol) được hòa tan trong 9ml DMF ở 87°C. Dung dịch trong được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng. Mầm tinh thể

được bổ sung vào ở nhiệt độ 65°C và quá trình kết tinh diễn ra chậm. Huyền phù khuấy trong khoảng 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng và lọc. Chất rắn được rửa bằng 4ml DMF/nước 1:1 trong hai phần và 6ml nước trong ba phần. Muối này đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu có điểm nóng chảy khoảng 304°C với entanpy nóng chảy là 83g/J. Quan sát thấy hiện tượng thu nhiệt rộng ở 107°C có thể gây ra sự mất nước. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô là 6,1%. Độ hấp thụ nước được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thụ nước nhỏ hơn 0,05%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối napadysilat của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối napadysilat của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,4, 9,6, 13,1, 15,7, 16,1, 26,0; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 9,6, 13,1, 15,7, 16,1, 16,4, 20,4, 20,9, 23,7, 26,0, 26,9. Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối napadysilat của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 12 ở đây.

Muối hydroclorua: bazơ tự do của 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,60g; 1,40mmol) được hòa tan trong 12ml axeton ở nhiệt độ 55°C. Axit clohydric 37% (0,138g; 1,40mmol) được bổ sung từng giọt vào. Quá trình kết tinh diễn ra nhanh chóng. Huyền phù màu trắng được để nguội trong khoảng 30 phút đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 18 giờ. Sau khi lọc, chất rắn được rửa bằng 6ml axeton trong ba phần và đầu tiên được làm khô trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ 50°C / khoảng 1kPa (10mbar) và sau đó trong khoảng 16 giờ ở nhiệt độ 80°C / khoảng 1kPa (10mbar). Nguyên liệu thể hiện sự tỏa nhiệt ở khoảng 162°C với entanpy là -13.8J/g. Hiện tượng này có thể gây ra sự chuyển hóa chất rắn thành biến thể bền hơn. Sau đó sự thu nhiệt được thấy ở khoảng 259°C với entanpy là 99.7J/g. Nguyên liệu thu được bị hao hụt khi làm khô là 0,6%. Độ hấp thụ nước được đánh giá

bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng sau khi cho tiếp xúc với độ ẩm tương đối (80%rh) trong 24 giờ. Đo được độ hấp thu nước là 0,3%.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối hydroclorua của hợp chất theo Ví dụ 1. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất muối hydroclorua của hợp chất theo Ví dụ 1 bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,1, 7,0, 19,8, 26,1; và theo một phương án bổ sung, muối này bao gồm các đỉnh nhiễu xạ tia X dạng bột sau (Góc 2-Theta °): 6,1, 7,0, 18,1, 19,8, 24,7, 26,1, 27,0, 27,7.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất muối hydroclorua của hợp chất theo Ví dụ 1 có phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trên Fig. 5 ở đây.

Các dạng axit tự do hoặc bazơ tự do của hợp chất theo sáng chế có thể lần lượt được điều chế từ dạng muối cộng bazơ hoặc muối cộng axit tương ứng. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế ở dạng muối cộng axit có thể được chuyển thành bazơ tự do tương ứng bằng cách xử lý bằng bazơ thích hợp (ví dụ, dung dịch amoni hydroxit, natri hydroxit, và các chất tương tự). Hợp chất theo sáng chế ở dạng muối cộng bazơ có thể được chuyển thành axit tự do tương ứng bằng cách xử lý bằng axit thích hợp (ví dụ, axit clohydric, v.v.). Muối nitrat của hợp chất theo Ví dụ 1 có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp đã được chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ. Phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được thể hiện trong Fig. 2 ở đây.

Các hợp chất theo sáng chế ở dạng không được oxy hóa có thể được điều chế từ N-oxit của các hợp chất theo sáng chế bằng cách xử lý bằng chất khử (ví dụ, lưu huỳnh, lưu huỳnh dioxit, triphenyl phosphin, lithi bohhydrua, natri borohydrua, phospho trichlorua, tribromua, hoặc các chất tương tự) trong dung môi hữu cơ trơ thích hợp (ví dụ, axetonitril, etanol, dung dịch nước dioxan, hoặc các chất tương tự) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 80°C.

Các dẫn xuất tiền dược chất của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã được các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ (ví dụ, chi tiết xem, Saulnier et al., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). Ví dụ, các tiền dược chất thích hợp có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất không được dẫn xuất theo sáng chế phản ứng với chất carbamyl hóa

thích hợp (ví dụ, 1,1-axyloxyalkylcarbanocloridat, para-nitrophenyl carbonat, hoặc các chất tương tự).

Các dẫn xuất được bảo vệ của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã được các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ. Mô tả chi tiết các kỹ thuật được áp dụng để tạo ra các nhóm bảo vệ và loại bỏ chúng có thể xem trong T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley và Sons, Inc., 1999.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế một cách thuận tiện, hoặc tạo ra trong quy trình theo sáng chế, dưới dạng solvat (ví dụ, hydrat). Các hydrat của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế một cách thuận tiện bằng cách kết tinh lại từ hỗn hợp dung dịch nước/dung môi hữu cơ, bằng cách sử dụng các dung môi hữu cơ như dioxin, tetrahydrofuran hoặc metanol.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dưới dạng các chất đồng phân lập thể riêng biệt của chúng bằng cách cho hỗn hợp raxemic của hợp chất này phản ứng với chất tách có hoạt tính quang học để tạo ra cặp hợp chất đồng phân không đối quang, tách các chất đồng phân không đối quang và thu hồi các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết về mặt quang học. Dù việc tách các chất đồng phân đối ảnh có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các dẫn xuất đồng phân không đối quang đồng hóa trị của hợp chất theo sáng chế, các phức hòa tan được ưu tiên (ví dụ, các muối đồng phân không đối quang dạng tinh thể). Các chất đồng phân không đối quang có các tính chất vật lý riêng (ví dụ, điểm nóng chảy, điểm sôi, độ hòa tan, khả năng phản ứng, v.v.) và có thể dễ dàng được tách bằng cách lợi dụng các điểm khác nhau đó. Các chất đồng phân không đối quang có thể được tách bằng phương pháp sắc ký, hoặc tốt hơn là, bằng các kỹ thuật tách dựa trên sự khác nhau về độ hòa tan. Enantiomer tinh khiết về mặt quang học được thu hồi, cùng với chất tách, bằng phương pháp thực hành bất kỳ không gây ra sự raxemic hóa. Mô tả chi tiết về các lý thuật được áp dụng để tách các chất đồng phân lập thể của các hợp chất từ hỗn hợp raxemic của chúng có thể xem trong Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Chất đồng phân đối ảnh, Racemates và Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981. Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được điều chế dưới dạng các chất đồng phân lập thể riêng biệt bằng

cách sử dụng kỹ thuật sắc ký không đối xứng, cụ thể, bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký HPLC hoặc SFC bằng cách sử dụng pha tĩnh không đối xứng.

Phổ nhiễu xạ tia X dạng bột được kèm theo đây thu được bằng cách sử dụng thiết bị Bruker D8 Vario trong hình học truyền qua, bức xạ CuK α (30 kV, 40 mA), khoảng quét 2°-40° (giá trị 2 theta), bước thời gian 90,3s. Phương pháp quét nhiệt vi sai (Differential scanning calorimetry - DSC) theo Ví dụ 1 đối với nguyên liệu vô định hình được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị Perkin Elmer DSC7 với vận tốc đun nóng là 40°C/phút.

Tóm lại, các hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng quy trình, bao gồm:

- (a) các hợp chất theo sơ đồ phản ứng 1-5; và
- (b) tùy ý chuyển hóa hợp chất theo sáng chế thành muối được dụng;
- (c) tùy ý chuyển hóa dạng muối của hợp chất theo sáng chế thành dạng không phải muối;
- (d) tùy ý chuyển hóa dạng không bị oxy hóa của hợp chất theo sáng chế thành N-oxit được dụng;
- (e) tùy ý chuyển hóa dạng N-oxit của hợp chất theo sáng chế thành dạng không bị oxy hóa;
- (f) tùy ý tách chất đồng phân riêng rẽ của hợp chất theo sáng chế từ hỗn hợp các chất đồng phân;
- (g) tùy ý chuyển hóa hợp chất theo sáng chế không được dẫn xuất thành dẫn xuất tiền được chất được dụng; và
- (h) tùy ý chuyển hóa dẫn xuất tiền được chất của hợp chất theo sáng chế thành dạng không được dẫn xuất của nó.

Khi việc sản xuất các nguyên liệu ban đầu không được mô tả một cách cụ thể, các hợp chất đã biết hoặc có thể được điều chế theo cách tương tự như các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc được bộc lộ trong các Ví dụ sau đây.

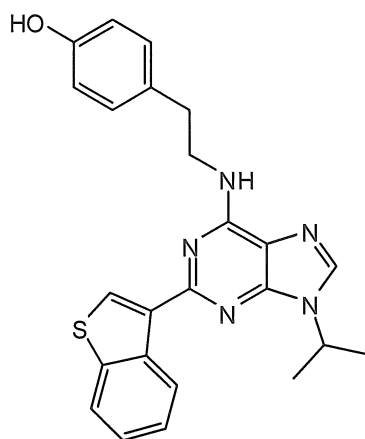
Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này cần phải nhận thấy rằng các phép biến đổi trên đây chỉ là đại diện của các phương pháp điều chế hợp chất theo sáng chế, và các phương pháp đã biết khác có thể được sử dụng theo cách tương tự.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa, nhưng không bị giới hạn, bởi các ví dụ sau minh họa việc điều chế các hợp chất có công thức I (các ví dụ) theo sáng chế.

Ví dụ 1

4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol



Tổng hợp 2,6-diclo-9-isopropyl-9H-purin (b): Natri hydrua (7,8mmol) được bổ sung từ từ vào 2,6-diclo-9H-purin (a) (6,0mmol) được hòa tan trong DMF khan (5,0mL) có khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. 2-iodopropan được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng hexan/EtOAc (tỷ lệ 20:1 đến 3:1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 8,15 (s, 1H), 4,91 (m, 1H), 1,63 (d, 6H).

Tổng hợp 4-(2-(2-clo-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c): 2,6-diclo-9-isopropyl-9H-purin (1,1mmol) được trộn với tyramin (1,16mmol) được hòa tan trong i-PrOH (6ml) và hỗn hợp này được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc, và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng hexan/EtOAc (tỷ lệ 5:1 đến 1:2) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 9,21 (br, 1H), 8,49 (s, 1H),

7,80 (s, 1H), 7,10 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 4,87 (m, 1H), 4,03 (t, 2H), 3,01 (t, 2H), 1,68 (d, 6H); HRMS (EI) theo tính toán cho $C_{16}H_{18}ClN_5O$ ($M + H^+$) 332,1273, thu được 332,1278.

Tổng hợp 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (d): Bình schlenk được làm khô bằng ngọn lửa được bổ sung 4-(2-(2-clo-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (0,62mmol), axit thianaphten-3-boronic (0,94mmol), $pd_2(dba)_3$ (0,062mmol), CS_2CO_3 (1,25mmol) và 1,3-bis(2,4,6-trimethylphenyl)imidazol clorua (0,125mmol). Bình này được xả và đổ đầy lại bằng N_2 và 1,4-dioxan (2mL) được bổ sung vào. Bình này được hàn kín và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ $80^\circ C$ trong 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được cô đặc và tinh chế trực tiếp bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng hexan/EtOAc (20:1 to 1:4) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu vàng.

Theo cách khác, việc tổng hợp trong Ví dụ 1 có thể được tiến hành như sau:

Tổng hợp 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-clo-9-isopropyl-9H-purin (b): Bình đáy tròn được bổ sung 6-clo-2-iodo-9-isopropyl-9H-purin (được điều chế trong Ví dụ 15c, 3,31g, 0,0103mol), axit benzo[b]thiophen-3-ylboronic (2,74g, 0,0154mol), và tetrakis(triphenylphosphin)paladi (0) (1,19g, 0,0103mol). Toluene (80ml), etanol (25ml) và dung dịch nước natri carbonat (2M, 21ml) được bổ sung vào hỗn hợp này. Bình này được hàn kín lại và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ $90^\circ C$ trong 1h. Nước được bổ sung vào hỗn hợp được làm lạnh, được chiết bằng etyl axetat. Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng 20 đến 50% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn, chất rắn này được kết tinh lại từ metanol/nước tỷ lệ 1:1. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 9,15 (d, 1H), 8,85 (s, 2H), 8,17 (d, 1H), 7,62 (t, 1H), 7,53 (t, 1H), 5,06 (m, 1H), 1,71 (d, 6H); MS m/z 329,0 ($M + 1$).

Tổng hợp 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c): 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-clo-9-isopropyl-9H-purin (2,2g, 0,0067mol) được tạo huyền phù trong 2-propanol (70mL) khan trong ống áp lực. Tyramin (1,01g, 0,0074mol) được bổ sung vào. Ống này được hàn kín và đun nóng ở

nhệt độ 85°C trong 16 giờ. Tyramin (0,50g, 0,0037mol) được bổ sung thêm vào và hỗn hợp này được đun nóng ở nhiệt độ 85°C trong 48 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc. Dung dịch nước natri bicarbonat được bổ sung vào phần cặn được chiết bằng EtOAc. Các phần chiết hữu cơ kết hợp được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng 50 đến 85% EtOAc trong hexan để thu được chất rắn. Chất rắn này được nghiền thành bột với metanol để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Theo cách khác, việc tổng hợp ở Ví dụ 1 có thể được tiến hành như sau:

Tổng hợp 2,6-diclo-9-isopropyl-9*H*-purin (b): Bổ sung vào 2,6-diclo-9*H*-purin (a) (998g, 5,28mol) được hòa tan trong DMF khan (5,0L) natri hydrua (thể phân tán 60%, 254g, 6,35mol) có khuấy ở nhiệt độ 10°C trong 1 giờ. 2-iodopropan (1595g) được bổ sung vào và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Nước (5,0L) được bổ sung vào, và chất kết tủa rắn thu được được thu gom và rửa bằng nước (500ml) và heptan (2 x 2,5L). chất rắn thô được kết tinh từ isopropyl axetat (2,1L) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn.

Tổng hợp 4-(2-(2-clo-9-isopropyl-9*H*-purin-6-ylamino)etyl)phenol (c): 2,6-diclo-9-isopropyl-9*H*-purin (500g) được bổ sung từng phần vào hỗn hợp được khuấy chứa tyramin (593g), trietylamin (262g), và i-PrOH (5,0L) ở nhiệt độ 50°C. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong 4 giờ, sau đó hỗn hợp phản ứng này được cô đặc. Phần cặn được hòa trong isopropyl axetat (6,0L) và được rửa bằng dung dịch axit xitric 20% (2,0L) và nước (2,0L). Lớp hữu cơ được cô đặc đến khô, sau đó được hòa trong etanol (2,0L) và cô đặc lại đến khô. Chất rắn thô được kết tinh từ etanol (3,2L) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn.

Tổng hợp 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9*H*-purin-6-ylamino)etyl)phenol (d): Hỗn hợp chứa 4-(2-(2-clo-9-isopropyl-9*H*-purin-6-ylamino)etyl)phenol (950g), axit thianaphten-3-boronic (561g), diclobis(triphenylphosphin)paladi(II) (10,1g), kali carbonat (791g), nước (3,25L), và DMA (3,25L) được khuấy trong khí quyển nitơ trong 10 phút. Sau đó, hỗn hợp được khuấy này được đun nóng ở nhiệt độ 70°C trong 14 giờ. Etyl axetat (6,5L) và nước (3,25L) được bổ sung vào, và hỗn hợp này được lọc qua xelit (125g) ở 50°C, rửa bằng

ethyl axetat (1,0L). Các lớp được tách riêng, và lớp nước được chiết ở nhiệt độ 50°C bằng ethyl axetat bổ sung (7,5L). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (3 x 2,5L), sau đó được chưng cất để loại bỏ khoảng 2,5L dung môi. Tetrahydrofuran (2,5L) và silic oxit liên kết với thio silica gel (200g) được bổ sung vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 16 giờ, sau đó được lọc, rửa phần lọc bằng ethyl axetat (1,0L). Các dịch lọc kết hợp được cô đặc ở áp suất khí quyển đến thể tích khoảng 5L, sau đó hỗn hợp này được để nguội. Chất rắn thu được được thu gom và rửa bằng ethyl axetat (2 x 1,0L) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục.

Hợp chất của Ví dụ 1 có thể được kết tinh lại bằng cách sử dụng hỗn hợp toluen/etanol và rửa ở nhiệt độ trong phòng bằng dung dịch nước NaHCO₃.

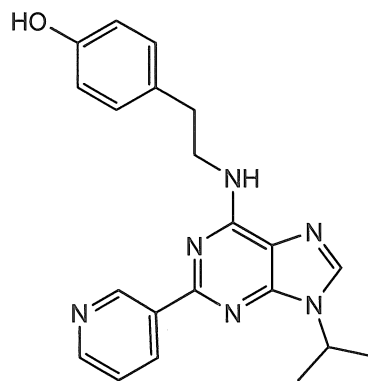
Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo Ví dụ 1 ở cải biến dạng tinh thể A, trong đó cải biến A bao gồm các pic nhiễu xạ tia X dạng bột sau (góc 2-Theta °): 12,1, 16,9, 18,9, 21,3; và theo một phương án bổ sung, cải biến này bao gồm các pic nhiễu xạ tia X sau (góc 2-Theta °): 12,1, 15,9, 16,9, 17,3, 18,9, 21,3, 22,1, 23,6, 24,4, 27,3.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất theo Ví dụ 1 dưới dạng cải biến dạng chất rắn A bao gồm các pic nhiễu xạ tia X sau (góc 2-Theta °): 9,0, 12,1, 13,0, 13,1, 13,6, 14,4, 14,7, 15,1, 15,9, 16,9, 17,3, 17,7, 18,0, 18,9, 19,0, 20,1, 21,3, 22,1, 22,3, 22,6, 22,8, 23,4, 23,6, 24,4, 25,3, 26,3, 26,5, 27,3, 27,8, 28,2, 29,5, 29,7, 30,4, 30,7, 31,0, 31,4, 32,2, 32,8, 33,3, 34,3, 35,5, 36,4, 37,5, 38,4, 39,0, 39,4.

Phổ nhiễu xạ tia X của hợp chất theo Ví dụ 1, cải biến A, được thể hiện trên Fig. 1 trong bản mô tả này. Chất liệu vô định hình của hợp chất theo Ví dụ 1 được tạo ra tại chỗ trong thiết bị nung DSC (quét nhiệt vi sai) bằng cách đun nóng hợp chất này đến khi tan chảy và tôi/làm mát. Trong chu kỳ nguội, sự chuyển sang dạng thủy tinh có thể quan sát được nhưng trong chu kỳ đun nóng lại cự chuyển dạng này characterized hơn nhiều ở khoảng nhiệt độ 70-75°C. Phổ DSC được thể hiện trên Fig. 13 trong bản mô tả này.

Ví dụ 15

4-(2-(Pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethylphenol



Tổng hợp 2-Amino-6-clo-9-isopropyl-9*H*-purin (b): Natri hydrua (1,5g thể phân tán 60% trong dầu khoáng, 38mmol) được bổ sung từng phần trong 10 phút vào huyền phù được khuấy chứa 2-amino-6-clo-9*H*-purin (5,34g, 31,5mmol) trong DMF khan (50mL) ở nhiệt độ trong phòng. Sau 45 phút, hỗn hợp này được làm mát trong bể nước đá, sau đó 2-iodopropan được bổ sung vào. Bể làm mát được lấy đi và hỗn hợp được khuấy được để cho ấm lên đến nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp này được làm mát trong nước đá, sau đó nước được bổ sung vào. Hỗn hợp này được cô đặc và phần cặn được xử lý bằng etyl axetat nóng. Hỗn hợp được làm mát được lọc, và dịch lọc được cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng 0 đến 50% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,83(s, 1H), 5,17(s, 2H), 4,71-4,66(m, 1H), 1,57(d, 6H). MS m/z 212,1 ($M + 1$).

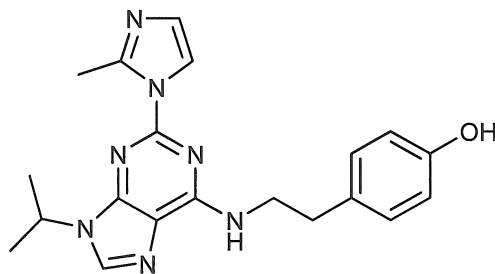
Tổng hợp 6-Clo-2-iodo-9-isopropyl-9*H*-purin (c): 6-clo-9-isopropyl-9*H*-purin-2-amin (2,68g, 12,7mmol) được hòa tan trong THF (64mL) ở nhiệt độ trong phòng. Iod (1,61g, 6,25mmol), CH_2I_2 (10,6mL) và CuI (1,27g, 6,66mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp này được khuấy trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. Isopentyl nitrit (5,33mL) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được đun hồi lưu trong 45 phút, và sau đó làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa được bổ sung vào, và hỗn hợp này được chiết ba lần bằng EtOAc. Pha hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng 0 đến 30% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,09(s, 1H), 4,95-4,88(m, 1H), 1,65(d, 6H). MS m/z 323,0 ($M + 1$).

Tổng hợp 6-Clo-2-(pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9*H*-purin (d): Bình đáy tròn được bổ sung 6-clo-2-iodo-9-isopropyl-9*H*-purin (1,2g, 3,7mmol), este dạng vòng 1,3-propandirol của axit pyridin-3-boronic (0,91g, 5,6mmol), và tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (430mg, 0,37mmol). Toluene (60mL), etanol (6mL) và dung dịch nước natri carbonat (2M, 15mL) được bổ sung vào hỗn hợp này. Bình được hàn kín và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong 4 giờ. Nước được bổ sung vào hỗn hợp được làm mát, hỗn hợp này được chiết bằng ethyl axetat (50ml x 3). Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng 30 đến 70% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 9,60(d, 1H), 8,90-8,87(m, 1H), 8,68(s, 1H), 8,67(d, 1H), 7,63-7,60(m, 1H), 5,12-5,05(m, 1H), 1,74(d, 6H). MS *m/z* 274,1 (M + 1).

Tổng hợp 4-(2-(pyridin-3-yl)-9-isopropyl-9*H*-purin-6-ylamino)ethylphenol (e): 6-clo-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9*H*-purin (300mg, 1,1mmol) được tạo huyền phù trong 2-propanol (40mL) khan trong ống áp lực. Tyramin (300mg, 2,2mmol) được bổ sung vào. Ống này được hàn kín lại và đun nóng đến 85°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel, rửa giải bằng 0 đến 70% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn.

Ví dụ 123

4-(2-(9-Isopropyl-2-(2-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)-9*H*-purin-6-ylamino)ethylphenol

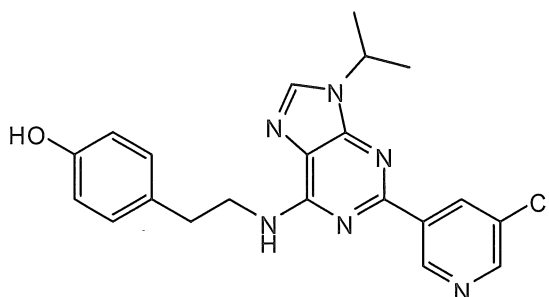


Ống phản ứng vi sóng được bổ sung 4-(2-(2-clo-9-isopropyl-9*H*-purin-6-ylamino)ethylphenol (30mg, 0,091mmol), 2-methyl-1*H*-imidazol (59mg, 0,73mmol) và 0,5ml NMP. Ống hàn kín được đun nóng dưới bức xạ vi sóng ở 240°C trong 2 giờ.

Hỗn hợp phản ứng này được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C₁₈, rửa giải bằng ACN-H₂O 0,05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Ví dụ 128

4-(2-(2-(5-Clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol

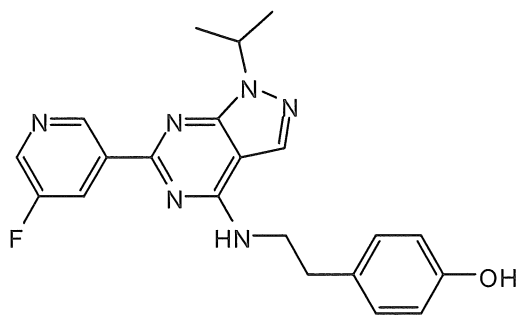


Tổng hợp 4-(2-(2-(2-iodo-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (b): Hỗn hợp chứa 6-clo-2-iodo-9-isopropyl-9H-purin (a) (1,0g, 3,1mmol), tyramin (0,64g, 4,65mmol), triethylamin (0,63g, 6,2mmol) và 2-propanol (30mL) được đun nóng ở 85°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được cô đặc và dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa được bổ sung vào. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (50ml x 3). Các lớp hữu hữu cơ hỗn hợp được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silica gel (25 đến 75% etyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS m/z 424,1 (M + 1).

Tổng hợp 4-(2-(2-(5-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c): sau quy trình của Ví dụ 15d, 4-(2-(2-iodo-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (b) được cho phản ứng với axit 5-clopyridin-3-ylboronic. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C₁₈, rửa giải bằng ACN-H₂O 0,05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Ví dụ 134

4-(2-(6-(5-Flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol

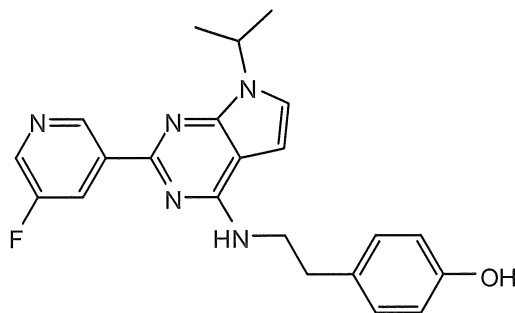


Tổng hợp 4-(2-(6-(4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (b): Sau quy trình của Ví dụ 128b, 4,6-diclo-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin (US3399196) (a) (0,184g, 0,795mmol) được cho phản ứng với tyramin. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (25 đến 75% ethyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS m/z 332,1 (M + 1).

Tổng hợp 4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (c): Sau quy trình của Ví dụ 15d, 4-(2-(6-(4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (b) được cho phản ứng với axit 5-flopyridin-3-ylboronic. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C₁₈, rửa giải bằng ACN-H₂O 0,05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Ví dụ 141

4-(2-(2-(5-Flopyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol



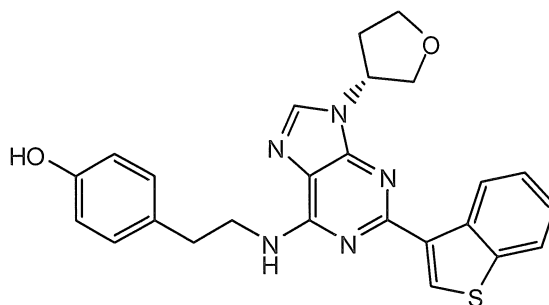
Tổng hợp 2,4-diclo-7-isopropyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (b): Sau quy trình của Ví dụ 15b, 2,4-diclo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (0,5g, 2,67mmol) được cho phản ứng với 2-iodopropan. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (15 đến 25% ethyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS m/z 230,2 ($M + 1$).

Tổng hợp 4-(2-(2-clo-7-isopropyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (c): Sau quy trình của Ví dụ 128b, 2,4-diclo-7-isopropyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (b) (0,278g, 1,21mmol) được cho phản ứng với tyramin. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (25 đến 75% ethyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS m/z 331,1 ($M + 1$).

Tổng hợp 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-7-isopropyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (d): Sau quy trình của Ví dụ 15d, 4-(2-(2-clo-7-isopropyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ylamino)ethyl)phenol (20mg, 0,06mmol) được cho phản ứng với axit 5-flopyridin-3-ylboronic. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C_{18} , rửa giải bằng ACN- H_2O 0,05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Ví dụ 153

(R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol



Tổng hợp (R)-2,6-diclo-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin (b): Dung dịch chứa 5,7- 2,6-diclo-9H-purin (400mg, 2,12mmol), (S)-tetrahydrofuran-3-ol (88mg, 2,5mmol) và triphenylphosphin (1,0g, 3,8mmol) trong THF khan (30mL) được xử lý ở nhiệt độ $-78^{\circ}C$ bằng diisopropyl azodicarboxylat (856mg, 4,23mmol). Phản ứng

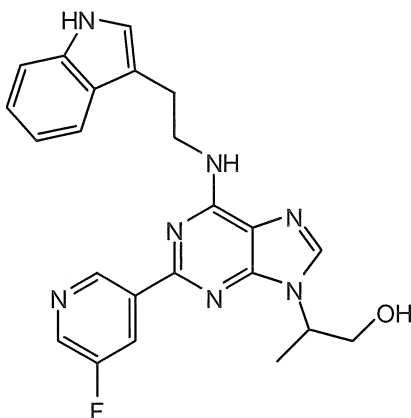
được để cho ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 16 giờ. Dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa được bổ sung vào và hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (10 đến 80% etyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được chất rắn màu trắng chứa hợp chất nêu ở đề mục có lẫn triphenylphosphoxit. MS m/z 258,0 ($M + 1$).

Tổng hợp (R)-4-(2-(2-clo-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c): Sau quy trình của Ví dụ 128b, (R)-2,6-diclo-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin (b) được cho phản ứng với tyramin. Hỗn hợp phản ứng thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế đảo pha. MS m/z 360,1 ($M + 1$).

Tổng hợp (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol: Sau quy trình của Ví dụ 15d, (R)-4-(2-(2-clo-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (c) được cho phản ứng với axit benzo[b]thiophen-3-ylboronic (22,3mg, 0,125mmol). Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế đảo pha để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Ví dụ 157

2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol



Tổng hợp methyl 2-(2,6-diclo-9H-purin-9-yl)propanoate (b): Hỗn hợp chứa 2,6-diclo-9H-purin (5,0g, 26,5mmol), methyl 2-bromopropanoat (5,3g, 31,7mmol) và kali carbonat (11,0g, 79,4mmol) trong DMF khan (100mL) được đun nóng ở nhiệt độ

100°C trong 15 giờ. Dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng etyl axetat (150ml X 3). Các lớp hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (10 đến 80% etyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 275,0 (M + 1).

Tổng hợp metyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-clo-9H-purin-9-yl)propanoate (c): Hỗn hợp chứa metyl 2-(2,6-diclo-9H-purin-9-yl)propanoat (b) (600mg, 2,2mmol), tryptamin (420mg, 2,6mmol) và 2-propanol (30mL) được đun nóng ở nhiệt độ 85°C trong ống hàn kín trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (10 đến 80% etyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 360,1 (M + 1).

Tổng hợp metyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propanoat (d): Ống áp lực dung tích 150ml được bổ sung metyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-clo-9H-purin-9-yl)propanoat (c) (300mg, 0,75mmol), axit 5-flopyridin-3-ylboronic (159mg, 1,1mmol), tetrakis(triphenylphosphin)-paladi(0) (87mg, 0,075mmol), K₃PO₄ (638mg, 3,0mmol), và dioxan khan (15mL). Ống áp lực này được phun bằng khí nitơ và hàn kín lại, sau đó hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở nhiệt độ 130°C trong 6 giờ có khuấy. Nước được bổ sung vào hỗn hợp được làm mát, và hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (50ml x 3). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước muối, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (10 đến 80% etyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục có lẫn một lượng nhỏ triphenylphosphin oxit. MS m/z 460,1 (M + 1).

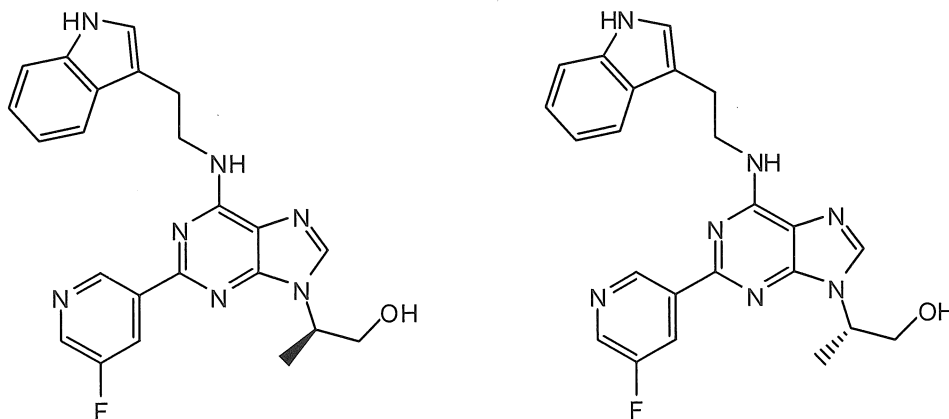
Tổng hợp 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol: Lithi nhôm hydrua (230mg, 6,1mmol) được bổ sung từng phần vào dung dịch chứa metyl 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propanoat (282mg, 0,61mmol) trong THF khan (15mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy này được để cho ấm lên đến nhiệt độ trong phòng

trong 2 giờ, sau đó nước được bổ sung vào một cách cẩn thận. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc (50ml x 3). Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silica gel (0 đến 5% dung môi B trong diclometan; dung môi B = dung dịch amoniac 2M trong metanol) để thu được sản phẩm nêu ở đề mục được tinh chế từng phần. Sản phẩm này được tinh chế tiếp bằng phương pháp TLC điều chế (5% dung môi B trong diclometan) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 157R & 157S

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol &

(S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol

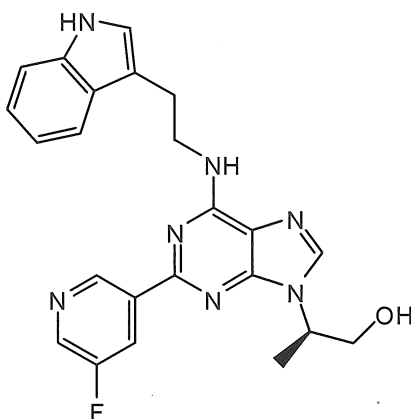


(R/S)-6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol được tách thành các chất đồng phân lập thể, chất đồng phân đối ảnh riêng biệt bằng cách sử dụng phương pháp HPLC không đối xứng điều chế trên cột không đối xứng Lux-Xenluloza-2 (Phenomenex) 21x250mm. Dung dịch raxemat 3mg/ml trong metanol được điều chế và tải lên cột với 0,5ml dung dịch trong một lần tiêm. Cột này được rửa giải bằng hexan/etanol/metanol tỷ lệ 85/7,5/7,5 ở tốc độ chảy 20mL/phút trong 25 phút. Các pic 1 và 2 lần lượt được rửa giải ở 20 phút và 22,5 phút. Phép sắc ký phân tích được thực hiện trên cột không đối xứng Lux_Xenluloza-2

(Phenomenex) 4,6 x 100mm, rửa giải bằng hexan/etanol/metanol tỷ lệ 90/5/5 ở tốc độ 1 mL/phút trong 20 phút. Các pic 1 và 2 lần lượt được rửa giải ở 17,45 và 18,14 phút.

Ví dụ 157R

(R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol

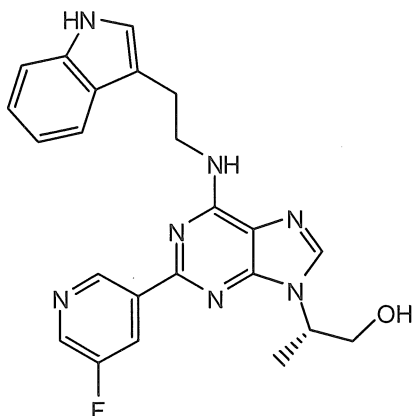


Tổng hợp (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-(1-(benzyloxy)propan-2-yl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin (b): Sau khi thành công với quy trình của Ví dụ 153b (bằng cách sử dụng 2,6-diclo-9H-purin và (S)-1-(benzyloxy)propan-2-ol làm chất phản ứng), Ví dụ 153c (bằng cách sử dụng tryptamin làm chất phản ứng), và Ví dụ 153d (bằng cách sử dụng axit 5-flopyridin-3-ylboronic làm chất phản ứng), thu được hợp chất nêu ở đề mục.

Tổng hợp (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol (c): Dung dịch chứa (R)- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-(1-(benzyloxy)propan-2-yl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin (b) (0,15g, 0,29mmol) trong DCM (10mL) được xử lý bằng BCl₃ (1M, 2,9 ml, 2,9mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ -78°C trong 2 giờ. Dung dịch nước natri hydroxit 1N được bổ sung vào, và hỗn hợp này được chiết bằng DCM. Các phần chiết hữu cơ hỗn hợp được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc và phần cặn được tinh chế phương pháp sắc ký cột silica gel (5% MeOH trong chất rửa giải DCM) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. MS m/z 432,2 (M + 1).

Ví dụ 157S

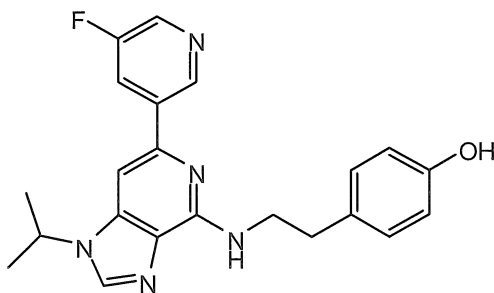
(S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol



Sau quy trình của Ví dụ 157R, nhưng không sử dụng (R)-1-(benzyloxy)propan-2-ol thay cho (S)-1-(benzyloxy)propan-2-ol, điều chế được hợp chất nêu ở đề mục. MS m/z 432,2 (M + 1).

Ví dụ 161

4-(2-(6-(5-Flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol



Tổng hợp 4,6-diclo-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (b): Sau quy trình của Ví dụ 15b, 4,6-diclo-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (J. Het. Chem. 1965, 196-201) (0,19g, 1,0mmol) được cho phản ứng với 2-iodopropan. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (25 đến 35% etyl axetat trong chất rửa giải hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS m/z 230,2 (M + 1).

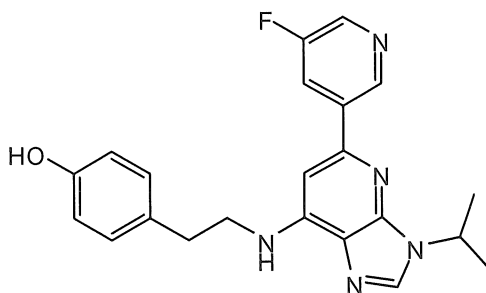
Tổng hợp 4-(2-(6-clo-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol (c): Hỗn hợp chứa 4,6-diclo-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (b) (40mg, 0,17mmol), tyramin (120mg, 0,86mmol), và 2-butanol (2mL)

được đun nóng dưới bức xạ vi sóng ở nhiệt độ 140°C trong 8 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C₁₈, rửa giải bằng ACN-H₂O 0,05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS m/z 331,1 (M + 1).

Tổng hợp 4-(2-(6-(5-flopyridin-3-yl)-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol (d): Lọ phản ứng vi sóng dung tích 5ml được bổ sung 4-(2-(6-clo-1-isopropyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-ylamino)ethyl)phenol (c): (17mg, 0,051mmol), 5-flopyridin-3-ylboronic acid (72mg, 0,51mmol), và tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (36mg, 0,031mmol). Bổ sung vào hỗn hợp này toluen (1mL), etanol (0,5mL) và dung dịch nước natri carbonat (2M, 0,5mL). Lọ được hàn kín và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 140°C dưới bức xạ vi sóng trong 2 giờ. Nước được bổ sung vào hỗn hợp được làm mát, hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (5ml x 3). Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C₁₈, rửa giải bằng ACN-H₂O 0.05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

Ví dụ 177

4-(2-(5-(5-Flopyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol



Tổng hợp 5,7-diclo-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin (b): Sau quy trình của Ví dụ 15b, 5,7-diclo-3H-imidazo[4,5-b]pyridin (J. Med. Chem., 2007, 50, 828–834) (0,118g, 0,624mmol) được cho phản ứng với 2-iodopropan. Hỗn hợp sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (25 đến 35% etyl axetat

trong chất rửa giải hexan) để thu được hỗn hợp chứa hợp chất nêu ở đề mục (thành phần chính) và sản phẩm đồng phân dưới dạng chất rắn. MS m/z 230,2 ($M + 1$).

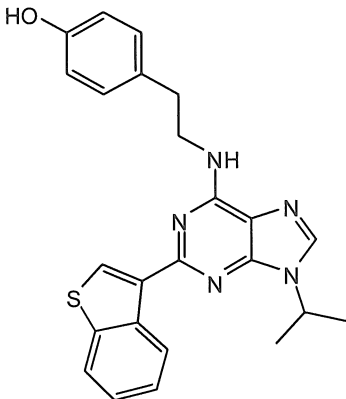
Tổng hợp 4-(2-(5-clo-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol (c): Hỗn hợp sản phẩm chứa 5,7-diclo-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin (b) (40mg, 0,17mmol), tyramin (120mg, 0,87mmol), và 2-propanol (2mL) được đun nóng trong lọ hàn kín ở nhiệt độ 140°C trong 72 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc, và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp TLC điều chế (chất rửa giải hexan/ethyl axetat tỷ lệ 1:2) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS m/z 331,1 ($M + 1$).

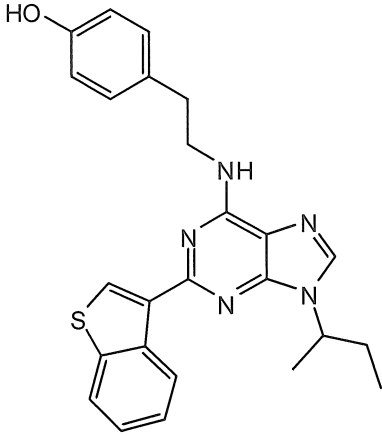
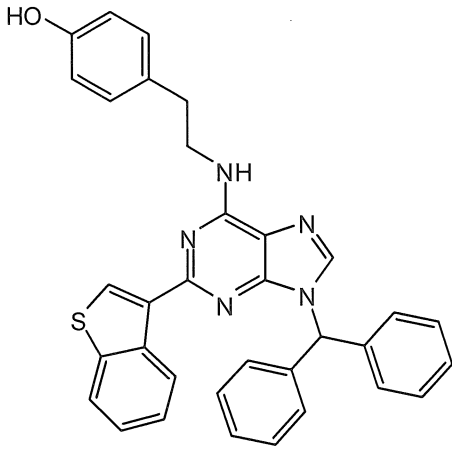
Tổng hợp 4-(2-(5-(5-flopyridin-3-yl)-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol (d): Sau quy trình của Ví dụ 161d, 4-(2-(5-clo-3-isopropyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-ylamino)ethyl)phenol (c) (15mg, 0,047mmol) được cho phản ứng với axit 5-flopyridin-3-ylboronic. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp TLC điều chế (chất rửa giải hexan/ethyl axetat tỷ lệ 1:1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

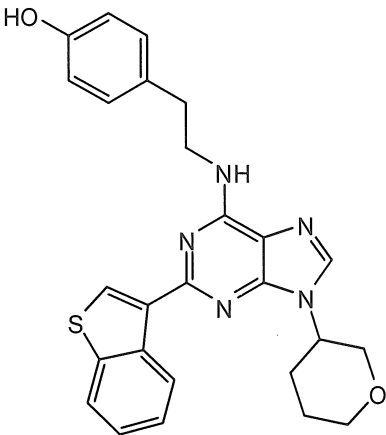
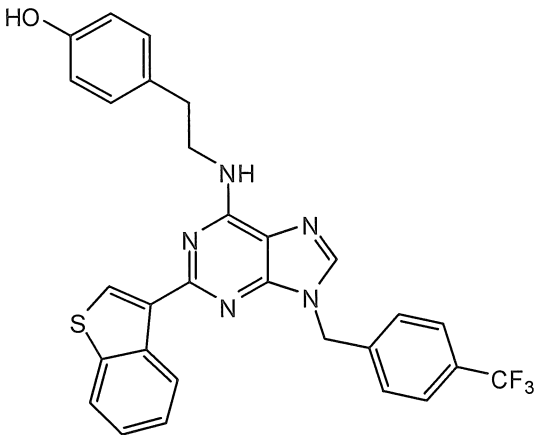
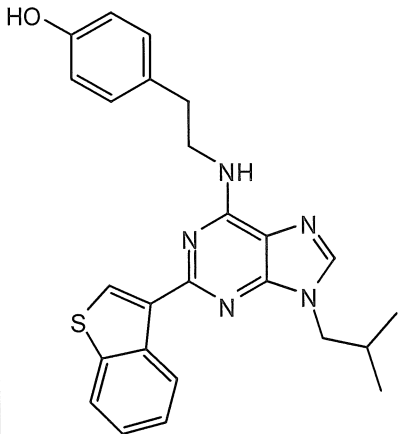
Bằng cách lặp lại các tiến trình đã mô tả trong các ví dụ nêu trên, sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp, các hợp chất tiếp theo của công thức I, như được thấy rõ trong Bảng 1, thu được.

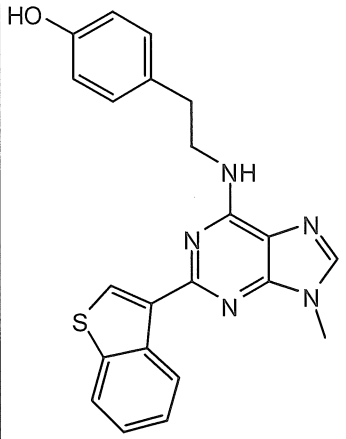
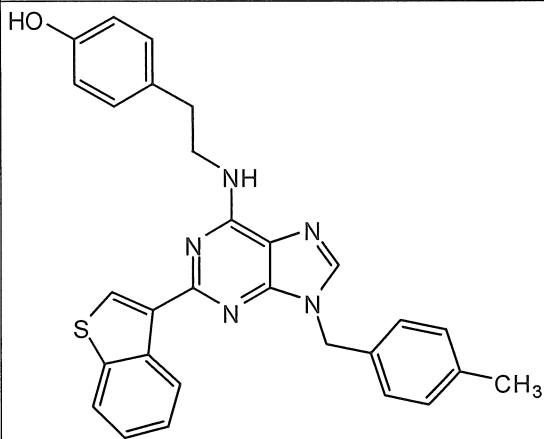
Bảng 1

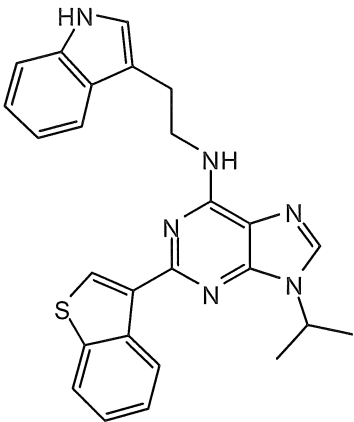
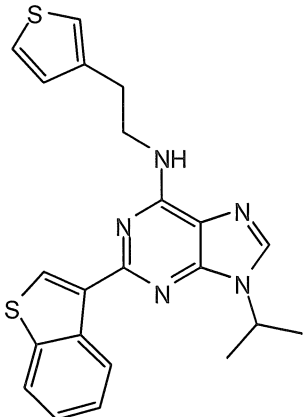
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ^1H NMR và/hoặc MS	EC_{50} (%CD34+) μM
--------------	----------	---	---

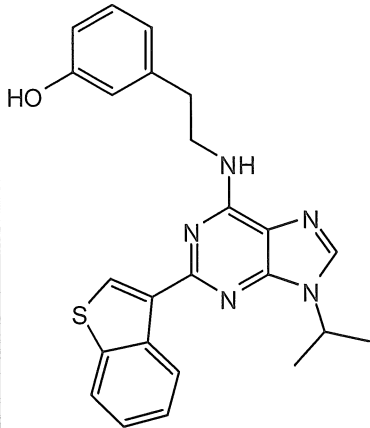
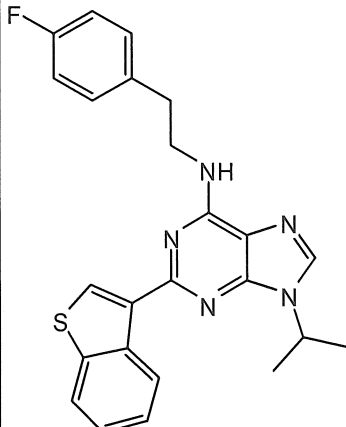
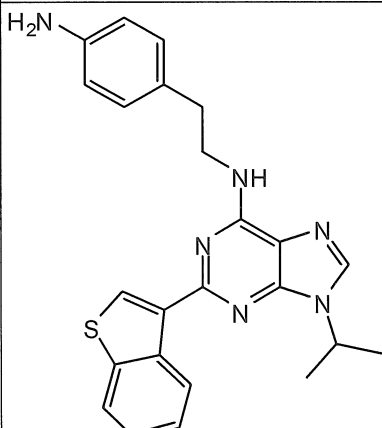
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
1		¹ H NMR (500,12 MHz, CDCl ₃): δ = 9,20 (d, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,00-7,80 (m, 2H), 7,55-7,38 (m, 3H), 7,11 (d, 2H), 6,72 (d, 2H), 6,18 (br, 1H), 5,01-4,68 (m, 1H), 4,02 (br, 2H), 3,00 (t, 2H), 1,68 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 430,1698 (M+1)	

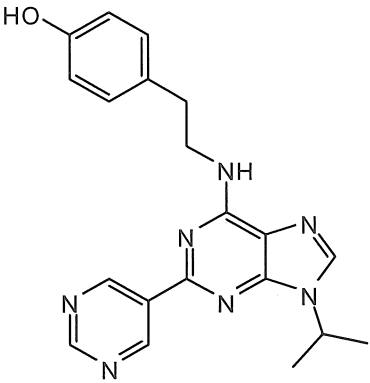
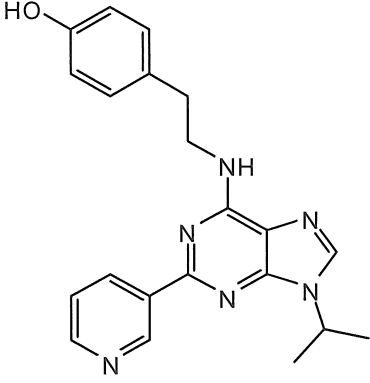
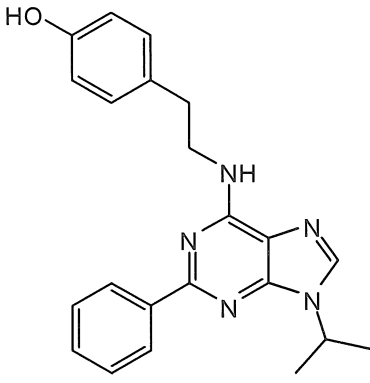
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
2		¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9,22 (d, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,92 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,52-7,33 (m, 3H), 7,13 (d, 2H), 6,74 (d, 2H), 6,08 (br, 1H), 4,80-4,62 (m, 1H), 4,02 (br, 2H), 3,01 (t, 2H), 2,20-1,90 (m, 2H), 1,77 (d, 3H), 0,92 (t, 3H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 444,1857 (M+1)	0,03
3		HRMS (EI) <i>m/z</i> 554,2005 (M+1)	0,15

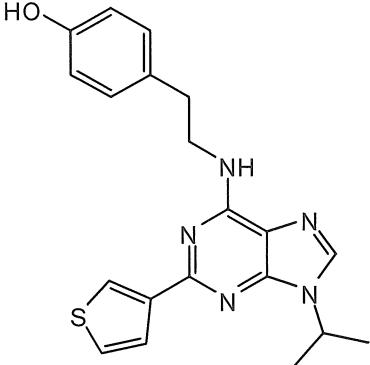
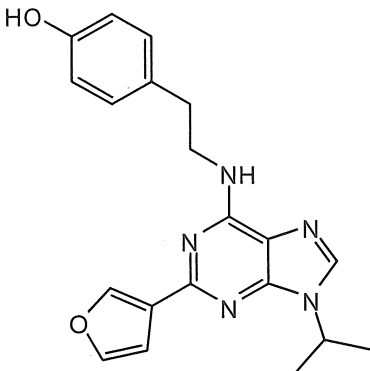
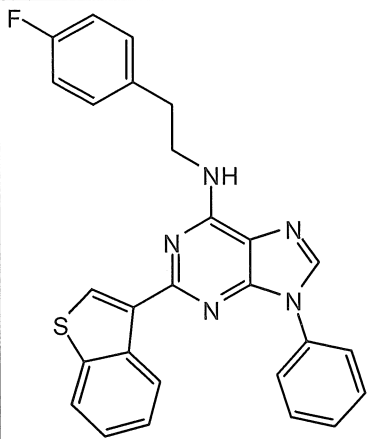
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
4		HRMS (EI) <i>m/z</i> 472,1807 (M+1)	1,49
5		HRMS (EI) <i>m/z</i> 546,1571 (M+1)	2,08
6		HRMS (EI) <i>m/z</i> 444,1857 (M+1)	2,53

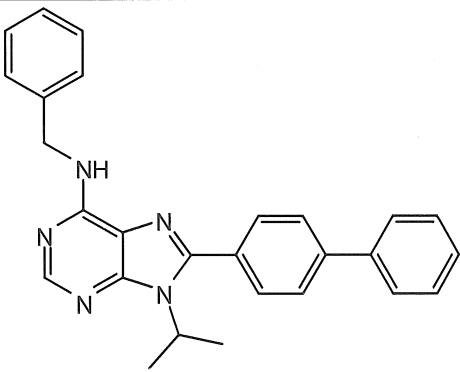
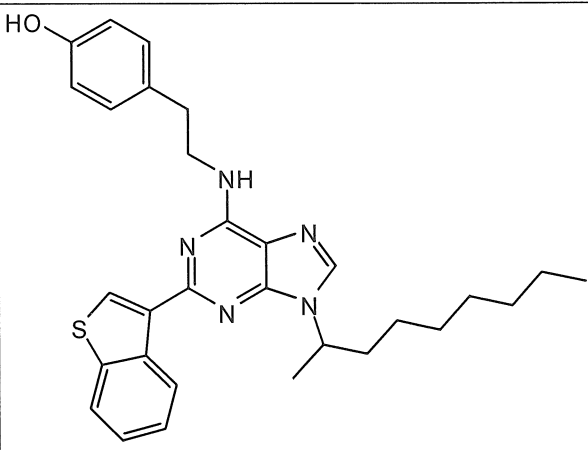
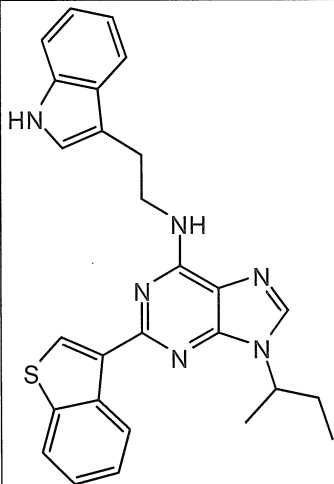
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
7		HRMS (EI) <i>m/z</i> 402,1385 (M+1)	7,2
8		HRMS (EI) <i>m/z</i> 492,1856 (M+1)	6,03

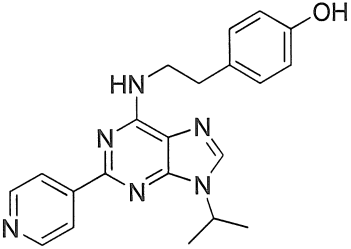
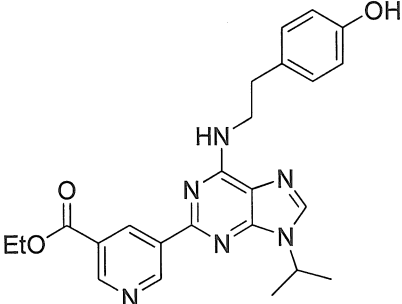
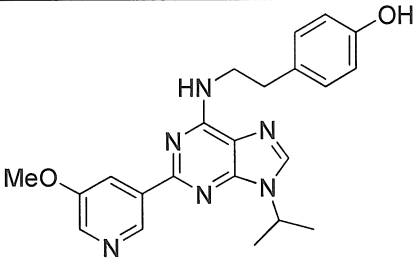
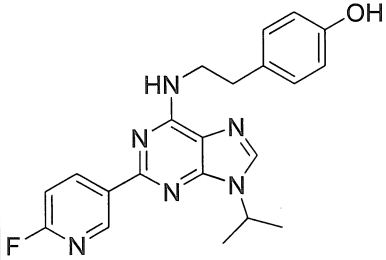
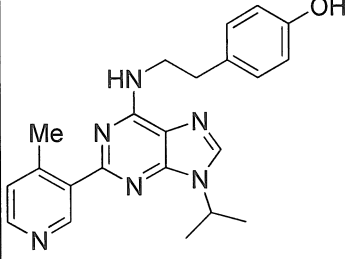
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
9		¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃): δ = 9,21 (d, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,02 (br, 1H), 7,89 (d, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,50-7,07 (m, 6H), 5,82 (br, 1H), 5,00-4,88 (m, 1H), 4,13 (br, 2H), 3,22 (t, 2H), 1,69 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 453,1857 (M+1)	0,02
10		HRMS (EI) <i>m/z</i> 420,1315 (M+1)	1,38

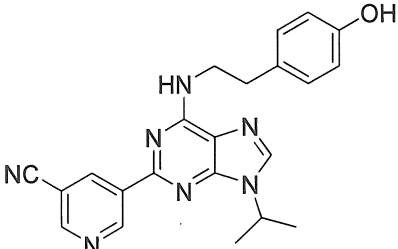
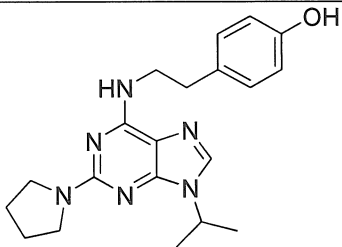
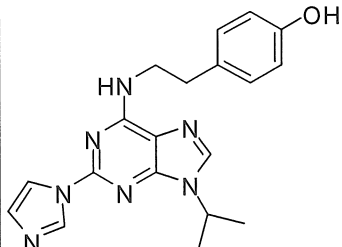
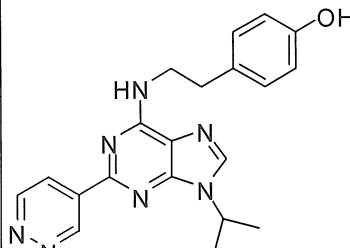
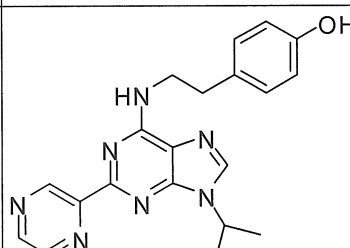
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
11		HRMS (EI) <i>m/z</i> 430,1697 (M+1)	1,45
12		HRMS (EI) <i>m/z</i> 432,1655 (M+1)	1,76
13		HRMS (EI) <i>m/z</i> 429,1853 (M+1)	5,75

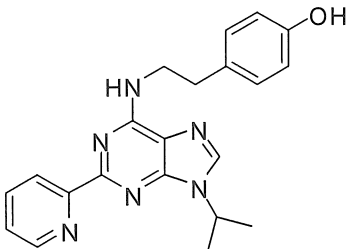
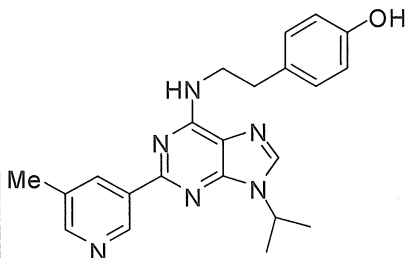
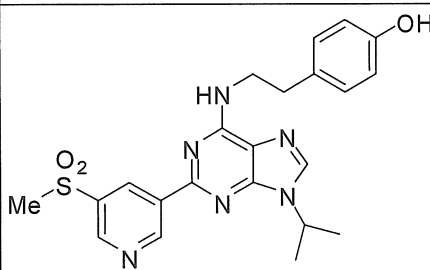
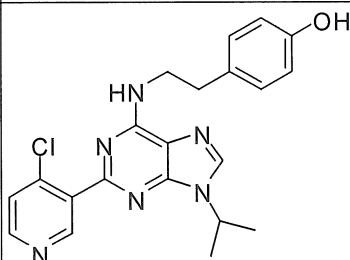
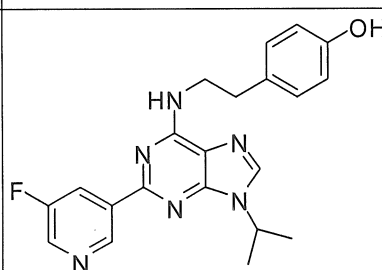
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
14		HRMS (EI) <i>m/z</i> 376,1881 (M+1)	0,17
15		¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 9,57 (d, 1H), 8,85-8,83 (m, 1H), 8,59 (q, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,57 (q, 1H), 7,13 (d, 2H), 6,72 (d, 2H), 4,98-4,91 (m, 1H), 3,91 (bs, 2H), 2,98 (t, 2H), 1,68 (d, 6H); HRMS (EI) <i>m/z</i> 375,1928 (M+1)	0,19
16		HRMS (EI) <i>m/z</i> 374,1976 (M+1)	0,46

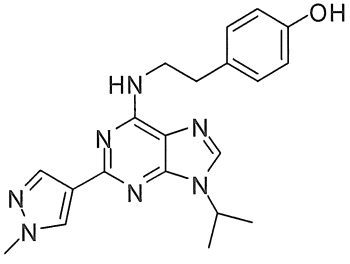
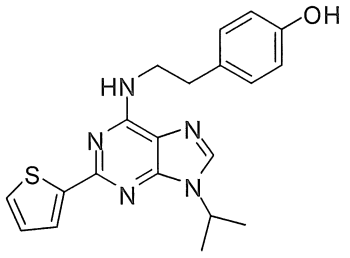
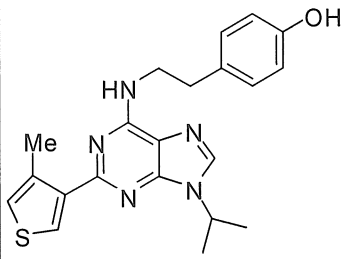
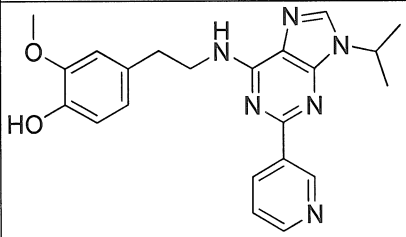
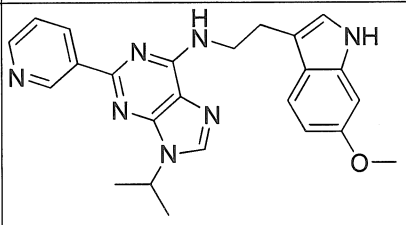
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
17		HRMS (EI) <i>m/z</i> 380,1544 (M+1)	0,97
18		HRMS (EI) <i>m/z</i> 364,1769 (M+1)	3,9
19		HRMS (EI) <i>m/z</i> 466,1493 (M+1)	1,1

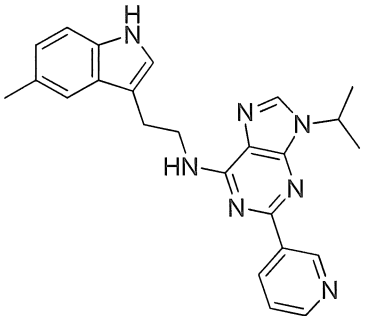
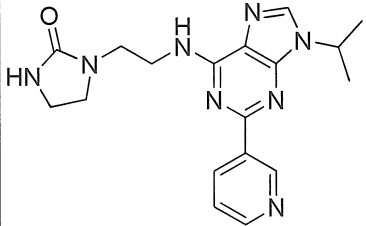
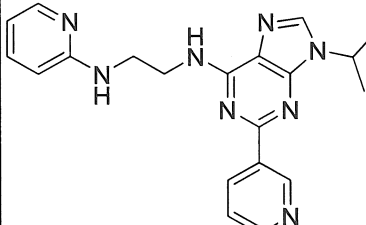
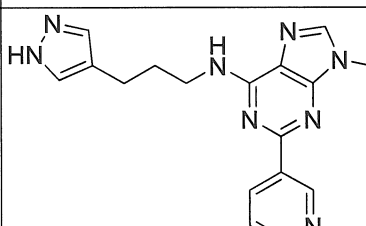
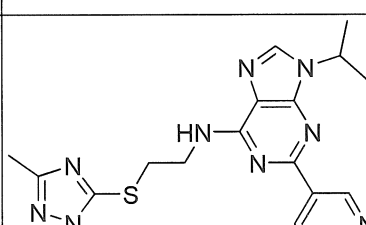
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
20		HRMS (EI) <i>m/z</i> 420,2184 (M+1)	7,8
21		HRMS (EI) <i>m/z</i> 514,2638 (M+1)	0,13
23		HRMS (EI) <i>m/z</i> 467,2013 (M+1)	0,019

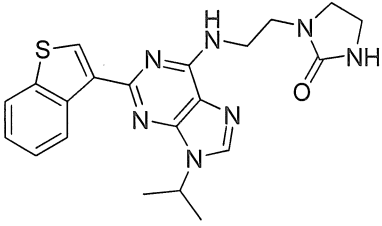
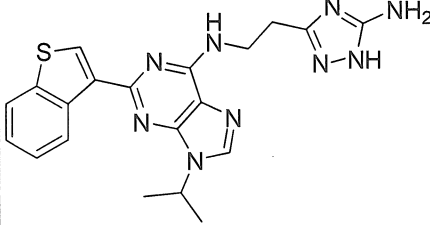
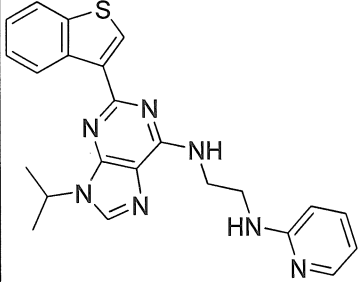
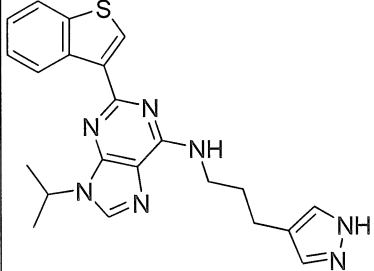
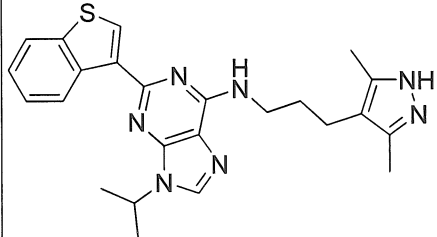
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
31		MS <i>m/z</i> 375,2 (M + 1)	0,66
32		MS <i>m/z</i> 447,2 (M + 1)	5,6
33		MS <i>m/z</i> 405,2 (M + 1)	0,27
34		MS <i>m/z</i> 393,2 (M + 1)	0,16
35		MS <i>m/z</i> 389,2 (M + 1)	0,34

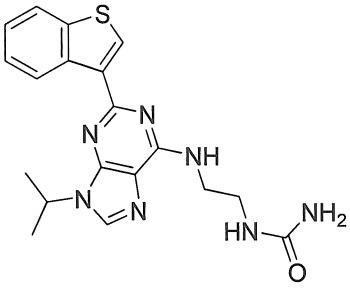
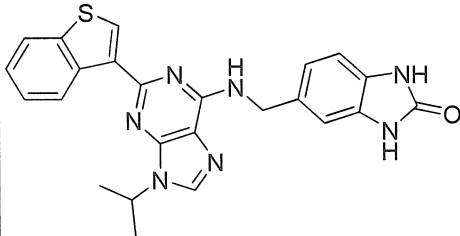
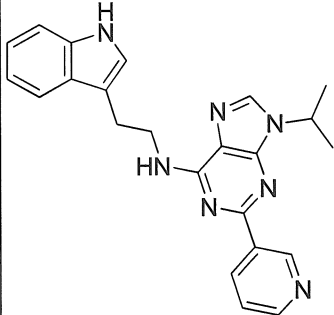
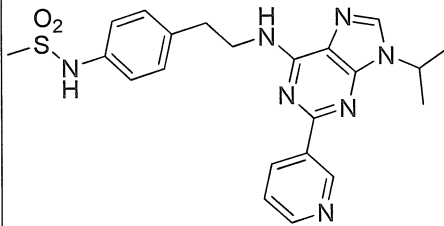
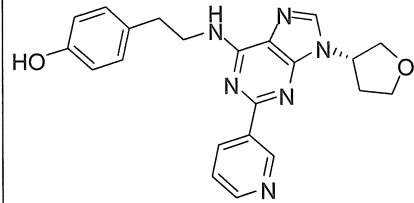
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
37		MS <i>m/z</i> 400,2 (M + 1)	0,024
38		MS <i>m/z</i> 367,2 (M + 1)	1,6
40		MS <i>m/z</i> 364,2 (M + 1)	0,26
42		MS <i>m/z</i> 376,2 (M + 1)	0,64
43		MS <i>m/z</i> 376,2 (M + 1)	2,4

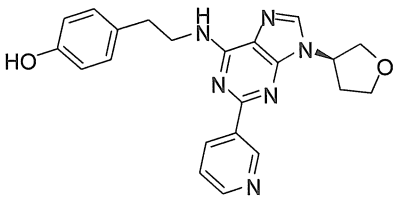
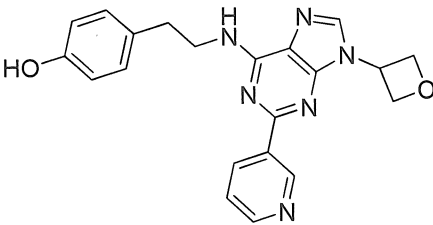
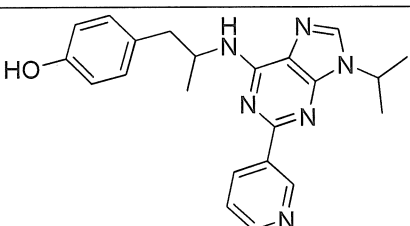
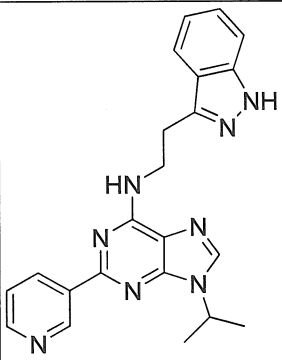
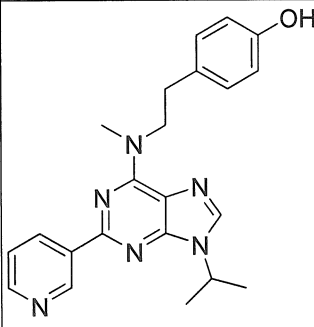
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
44		MS <i>m/z</i> 375,2 (M + 1)	1,7
45		MS <i>m/z</i> 389,2 (M + 1)	0,063
46		MS <i>m/z</i> 453,2 (M + 1)	0,65
48		MS <i>m/z</i> 409,2 (M + 1)	0,51
50		MS <i>m/z</i> 393,2 (M + 1)	0,034

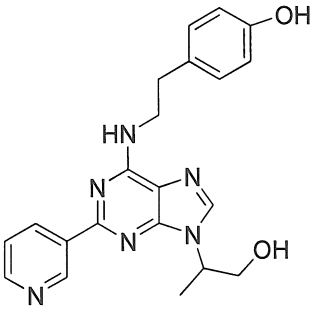
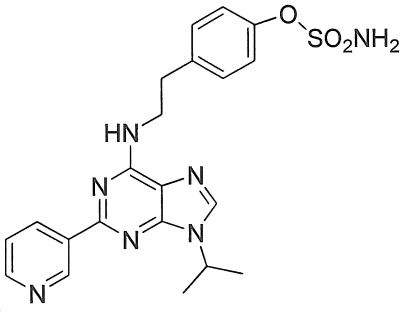
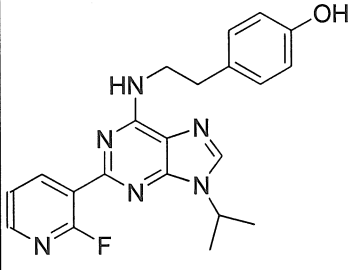
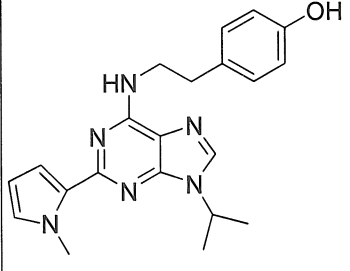
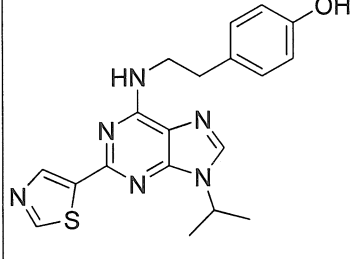
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
52		MS <i>m/z</i> 378,2 (M + 1)	
55		MS <i>m/z</i> 380,2 (M + 1)	1,3
58		MS <i>m/z</i> 394,2 (M + 1)	0,24
60		MS <i>m/z</i> 405,1 (M + 1)	3,2
61		MS <i>m/z</i> 428,1 (M + 1)	0,13

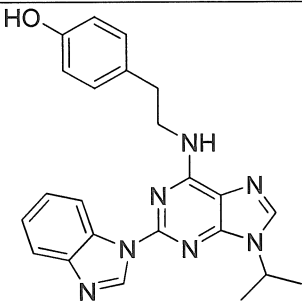
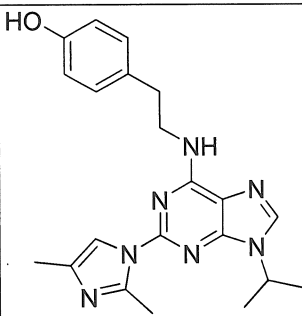
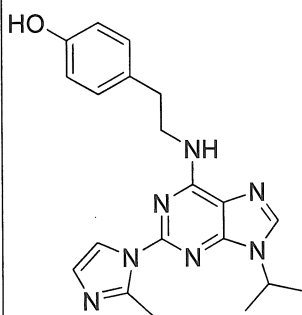
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
62		MS <i>m/z</i> 412,1 (M + 1)	0,72
70		MS <i>m/z</i> 367,2 (M + 1)	2,7
72		MS <i>m/z</i> 375,2 (M + 1)	6,3
73		MS <i>m/z</i> 363,2 (M + 1)	8,2
76		MS <i>m/z</i> 396,2 (M + 1)	6,0

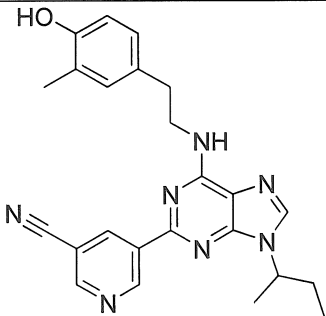
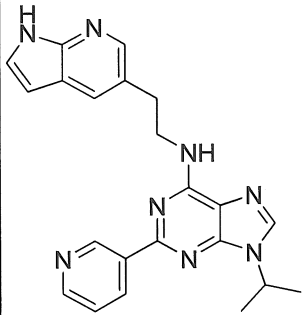
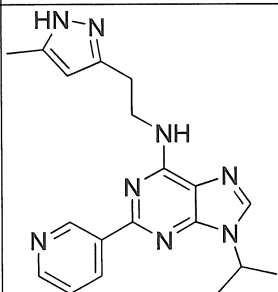
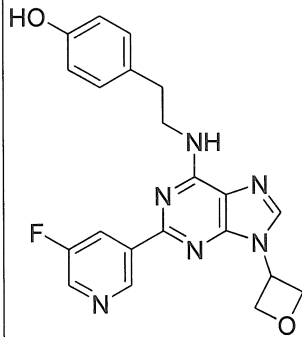
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
81		MS <i>m/z</i> 422,1 (M + 1)	2,7
82		MS <i>m/z</i> 420,1 (M + 1)	7,9
83		MS <i>m/z</i> 430,1 (M + 1)	7,1
84		MS <i>m/z</i> 418,1 (M + 1)	5,4
88		MS <i>m/z</i> 446,10 (M + 1)	2,6

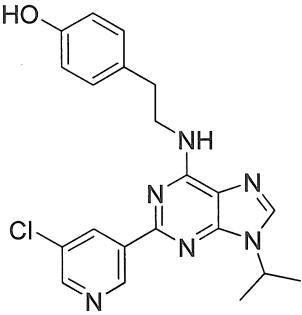
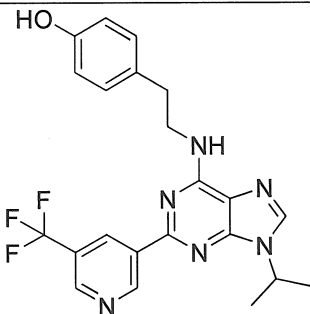
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
89		MS <i>m/z</i> 396,10 (M + 1)	1,4
90		MS <i>m/z</i> 456,2 (M + 1)	3,3
91		MS <i>m/z</i> 398,1 (M + 1)	0,029
92		MS <i>m/z</i> 452,2 (M + 1)	7,1
93S		MS <i>m/z</i> 403,1 (M + 1)	1,1

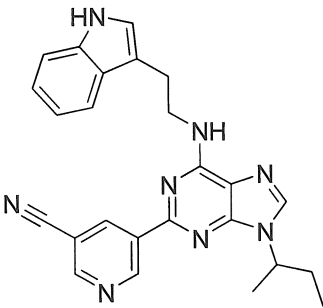
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
93R		MS <i>m/z</i> 403,1 (M + 1)	0,52
94		MS <i>m/z</i> 389,1 (M + 1)	0,97
95		MS <i>m/z</i> 389,1 (M + 1)	2,3
98		MS <i>m/z</i> 399,2 (M + 1)	8,2
99		MS <i>m/z</i> 389,2 (M + 1)	7,5

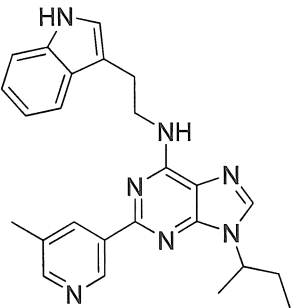
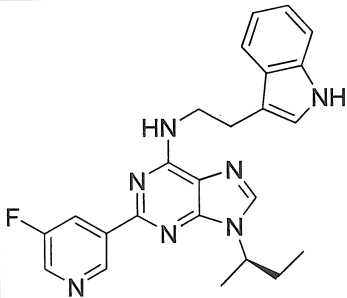
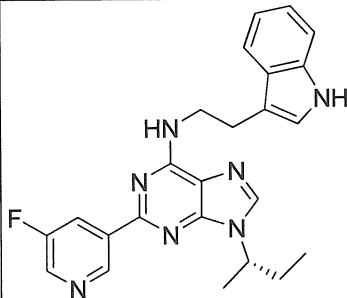
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
113		MS <i>m/z</i> 391,2 (M + 1)	0,54
114		MS <i>m/z</i> 454,1 (M + 1)	1,1
118		MS <i>m/z</i> 393,2 (M + 1)	0,45
119		MS <i>m/z</i> 377,2 (M + 1)	1,4
120		MS <i>m/z</i> 381,2 (M + 1)	1,4

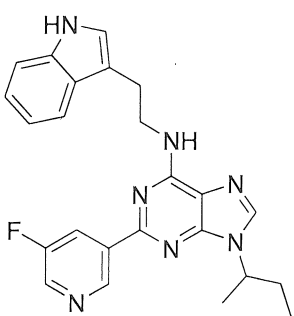
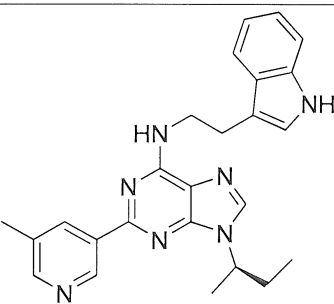
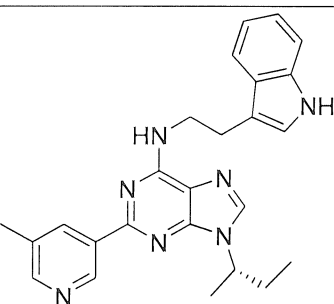
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
121		MS <i>m/z</i> 414,2 (M + 1)	0,086
122		MS <i>m/z</i> 414,2 (M + 1)	0,42
123		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9,21(br, 1H), 8,57 (t, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,23 (d, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,04 (d, 2H), 6,66 (d, 2H), 4,84-4,72 (m, 1H), 3,67 (q, 2H), 2,99 (s, 3H), 2,83 (t, 2H), 1,56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 378,2 (M + 1)	0,066

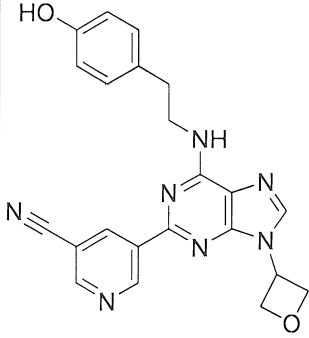
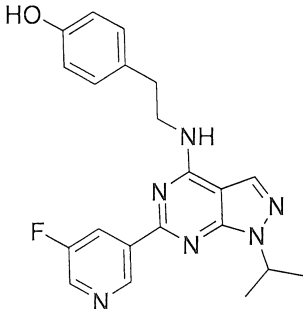
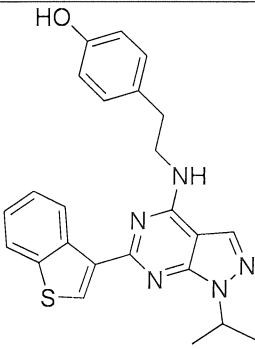
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
124		MS <i>m/z</i> 428,2 (M + 1)	0,003
125		MS <i>m/z</i> 399,2 (M + 1)	
126		MS <i>m/z</i> 363,2 (M + 1)	5,0
127		MS <i>m/z</i> 407,3 (M + 1)	0,47

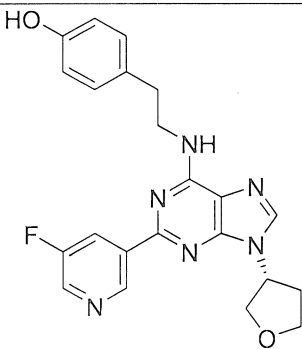
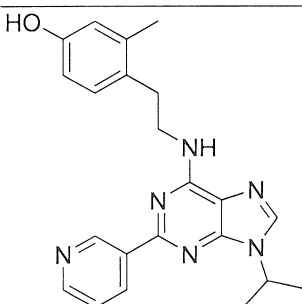
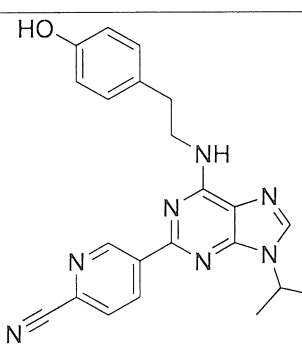
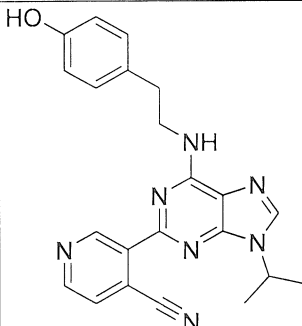
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
128		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9,47 (s, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,04 (t, 1H), 7,10 (d, 2H), 6,69 (d, 2H), 4,91-4,81 (m, 1H), 3,80-3,70 (m, 2H), 2,86 (t, 2H), 1,58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 409,2 (M + 1)	0,019
129		MS <i>m/z</i> 443,2 (M + 1)	0,12

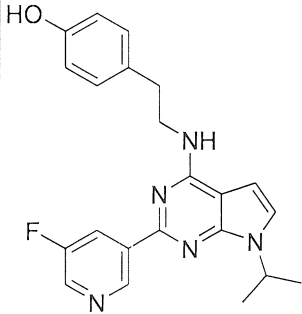
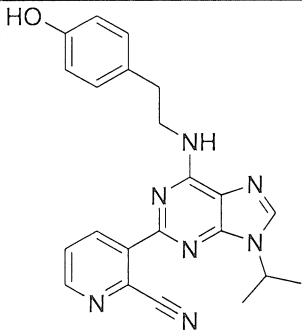
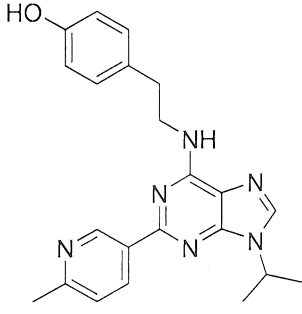
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
130		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,82 (s, 1H), 9,74 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,13 (t, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,06 (t, 1H), 6,99 (t, 1H), 4,72-4,60 (m, 1H), 3,96-3,85 (m, 2H), 3,08 (t, 2H), 2,08-1,88 (m, 2H), 1,58 (d, 3H), 0,77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 437,2 (M + 1)	0,001

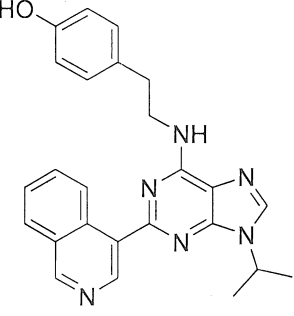
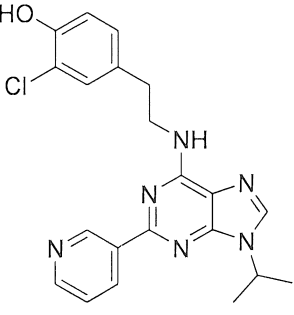
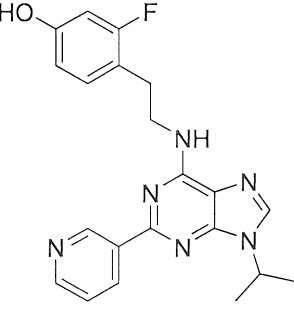
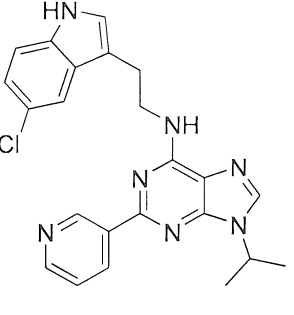
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
131		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,83 (s, 1H), 9,40 (s, 1H), 8,97 (s, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,18 (t, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,06 (t, 1H), 6,97 (t, 1H), 4,72-4,60 (m, 1H), 3,96-3,82 (m, 2H), 3,10 (t, 2H), 2,53 (s, 3H), 2,09-1,89 (m, 2H), 1,58 (d, 3H), 0,77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 426,2 (M + 1)	0,004
132R		MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,001
132S		MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,002

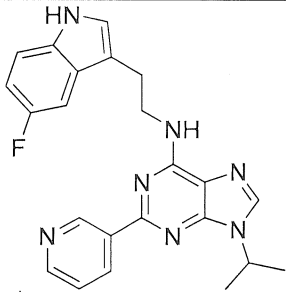
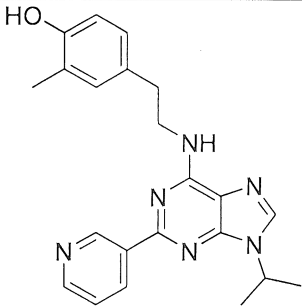
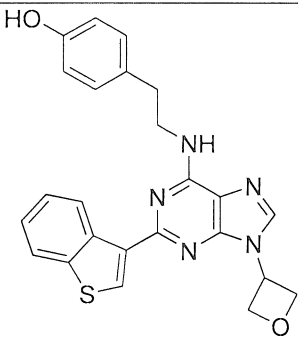
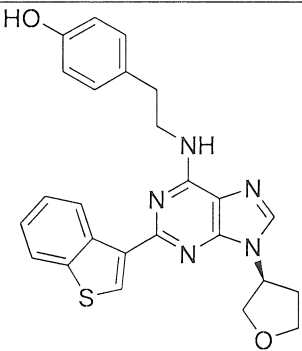
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
132		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,83 (s, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,41 (d, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,09 (t, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,07 (t, 1H), 6,97 (t, 1H), 4,68-4,60 (m, 1H), 3,92-3,84 (m, 2H), 3,08 (t, 2H), 2,08-1,90 (m, 2H), 1,58 (d, 3H), 0,77 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,003
131R		MS <i>m/z</i> 426,2 (M + 1)	0,003
131S		MS <i>m/z</i> 426,2 (M + 1)	0,003

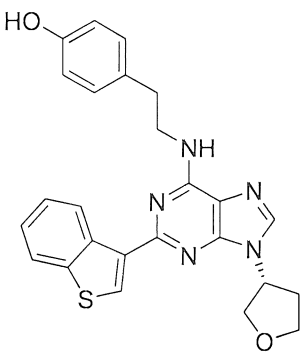
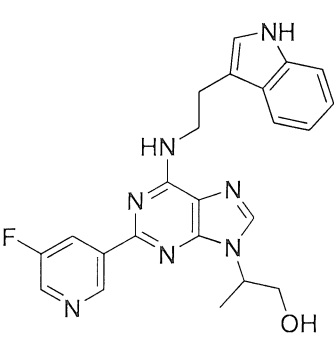
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
133		MS <i>m/z</i> 414,2 (M + 1)	0,18
134		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9,44 (s, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,69 (d, 1H), 8,56 (t, 1H), 8,47 (d, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,09 (d, 2H), 6,69 (d, 2H), 5,17-5,09 (m, 1H), 3,80-3,75 (m, 2H), 2,87 (t, 2H), 1,48 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 393,2 (M + 1)	0,20
135		MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,38

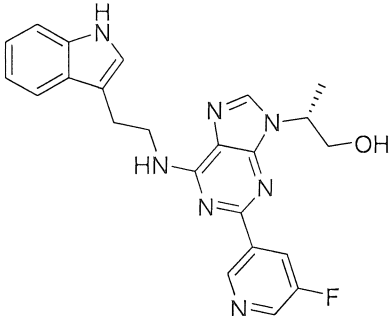
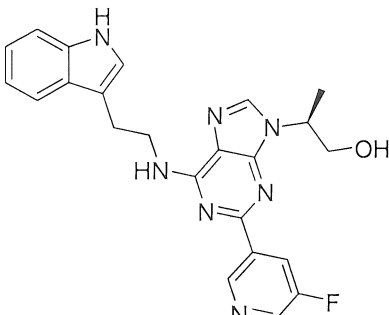
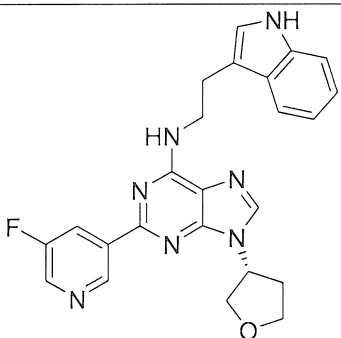
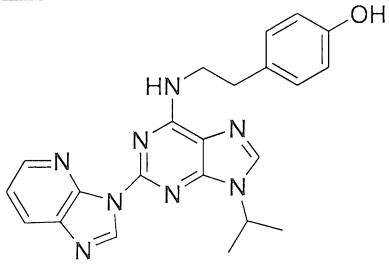
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
137		MS <i>m/z</i> 421,1 (M + 1)	
138		MS <i>m/z</i> 389,2 (M + 1)	0,40
139		MS <i>m/z</i> 400,2 (M + 1)	1,3
140		MS <i>m/z</i> 400,2 (M + 1)	0,091

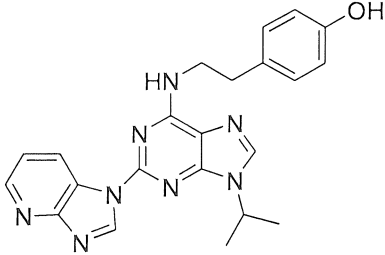
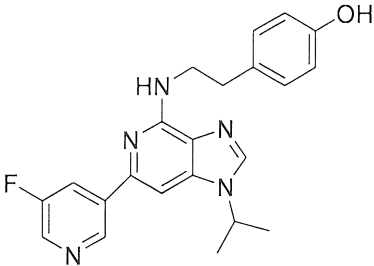
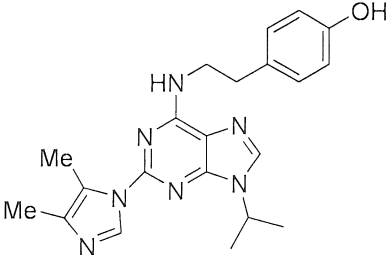
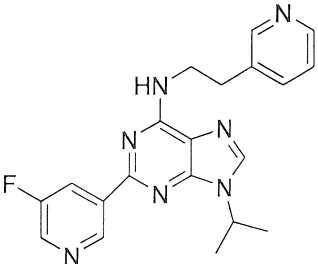
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
141		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9,42 (s, 1H), 8,63 (d, 1H), 8,42 (d, 1H), 7,79 (t, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,09 (d, 2H), 6,70 (d, 2H), 6,61 (d, 1H), 5,08-5,00 (m, 1H), 3,76-3,70 (m, 2H), 2,87 (t, 2H), 1,47 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392,2 (M + 1)	0,16
143		MS <i>m/z</i> 400,2 (M + 1)	4,3
144		MS <i>m/z</i> 389,2 (M + 1)	0,16

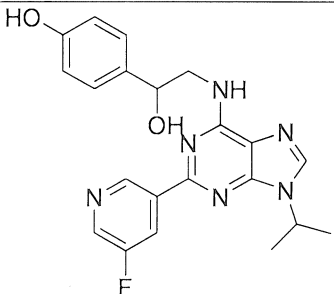
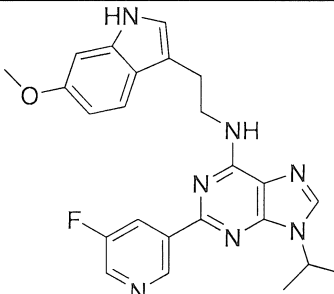
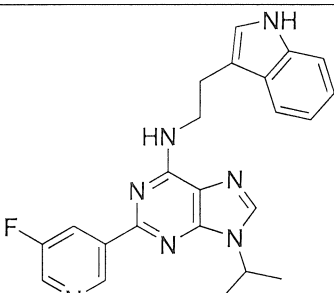
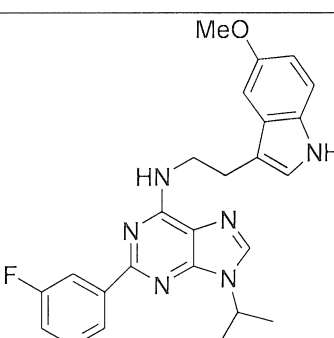
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
145		MS <i>m/z</i> 425,2 (M + 1)	5,4
146		MS <i>m/z</i> 409,1 (M + 1)	0,24
147		MS <i>m/z</i> 393,2 (M + 1)	0,092
148		MS <i>m/z</i> 432,2 (M + 1)	0,75

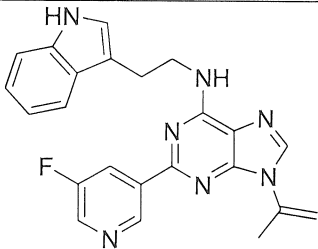
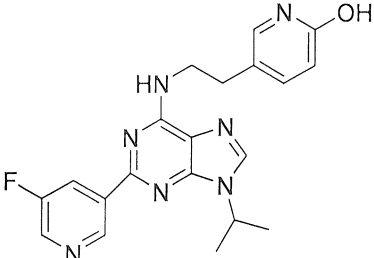
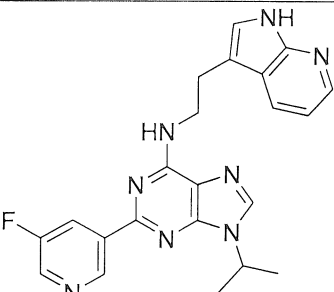
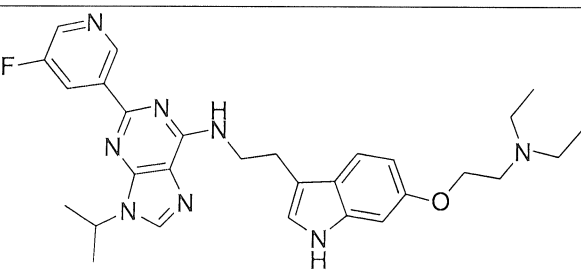
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
149		MS <i>m/z</i> 416,2 (M + 1)	0,52
150		MS <i>m/z</i> 389,2 (M + 1)	0,057
151		MS <i>m/z</i> 444,1 (M + 1)	0,17
152		MS <i>m/z</i> 458,2 (M + 1)	0,35

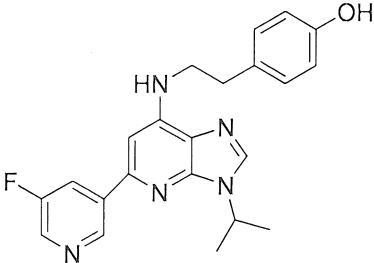
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
153		¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD): δ = 9,14 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 7,96 (d, 1H), 7,44 (t, 1H), 7,15 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 5,46-5,43 (m, 1H), 4,27-3,94 (m, 6H), 2,98 (t, 2H), 2,73-2,64 (m, 1H), 2,46-2,39 (m, 1H); MS <i>m/z</i> 458,2 (M + 1)	0,22
157		¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD): δ = 9,40 (s, 1H), 8,53-8,48 (m, 2H), 8,23 (s, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,08-7,04 (m, 1H), 7,01-6,97 (m, 1H), 4,08-4,03 (m, 3H), 3,94 (dd, 1H), 3,35-3,30 (m, 1H), 3,19 (t, 2H), 1,68 (d, 3H); MS <i>m/z</i> 432,2 (M + 1)	0,005

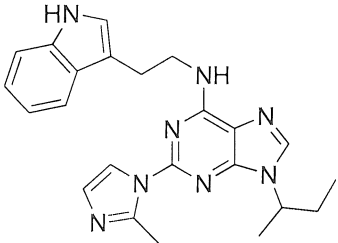
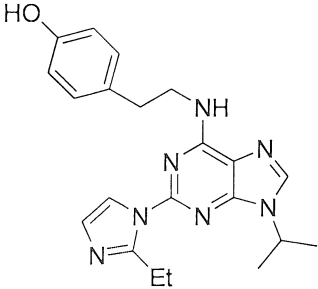
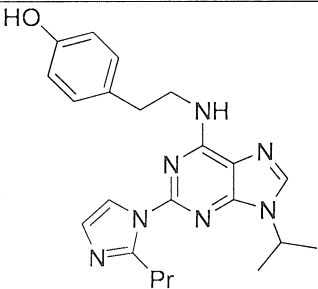
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
157R		MS <i>m/z</i> 432,2 (M + 1).	0,008
157S		MS <i>m/z</i> 432,2 (M + 1)	0,003
158		MS <i>m/z</i> 444,2 (M + 1)	0,012
159		MS <i>m/z</i> 415,2 (M + 1)	0,59

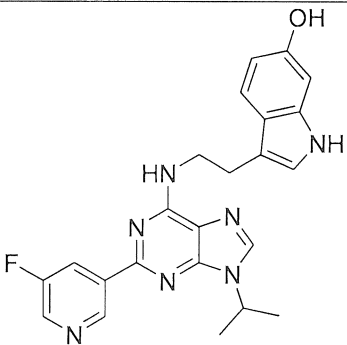
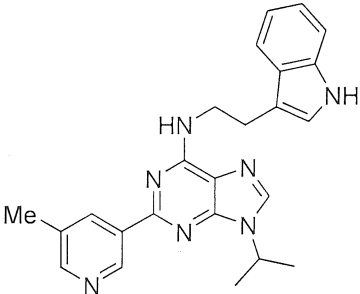
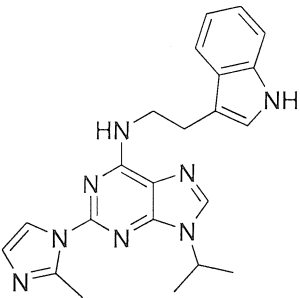
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
160		MS <i>m/z</i> 415,2 (M + 1)	1,9
161		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9,11 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,30 (d, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,09 (d, 2H), 6,69 (d, 2H), 4,88-4,76 (m, 1H), 3,88-3,78 (m, 2H), 2,88 (t, 2H), 1,56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392,2 (M + 1)	0,17
162		MS <i>m/z</i> 392,2 (M + 1)	0,14
166		MS <i>m/z</i> 378,1 (M + 1)	7,5

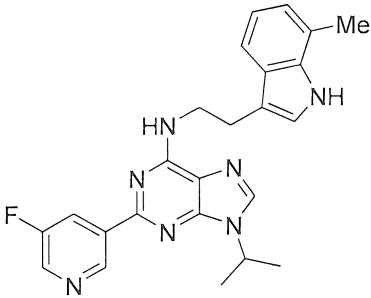
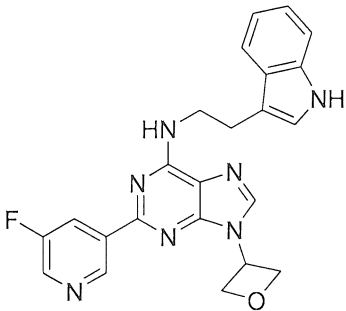
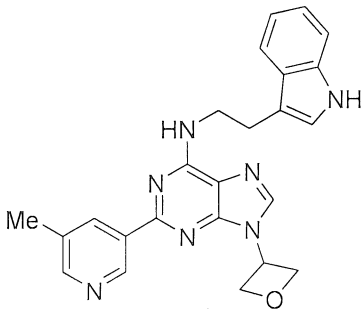
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
167		MS <i>m/z</i> 409,2 (M + 1)	0,29
169		MS <i>m/z</i> 446,2 (M + 1)	0,044
170		MS <i>m/z</i> 416,2 (M + 1)	0,006
172		MS <i>m/z</i> 446,2 (M + 1)	0,42

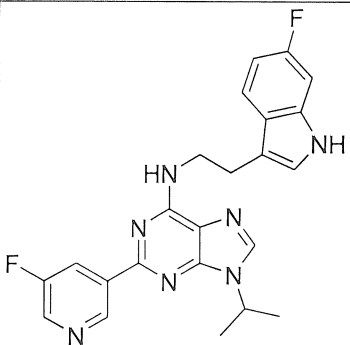
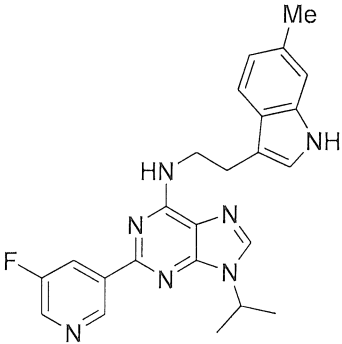
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
173		MS <i>m/z</i> 414,1 (M + 1)	0,012
174		MS <i>m/z</i> 394,2 (M + 1)	2,2
175		MS <i>m/z</i> 417,2 (M + 1)	0,42
176		MS <i>m/z</i> 531,3 (M + 1)	1,1

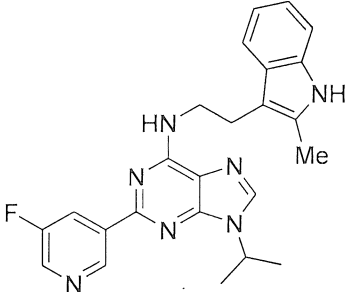
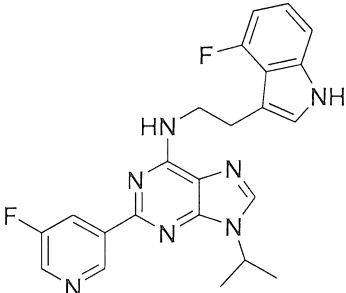
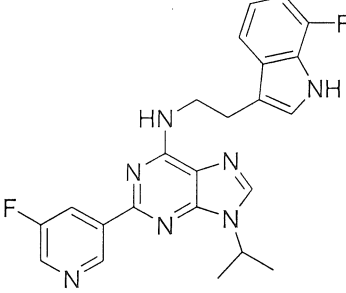
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
177		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 9.18 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.57 (d, 1H), 8.29 (d, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.11 (d, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.79 (t, 1H), 6.95 (d, 2H), 4.92-4.84 (m, 1H), 3.72-3.62 (m, 2H), 2.83 (t, 2H), 1.56 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 392,2 (M + 1)	0,14

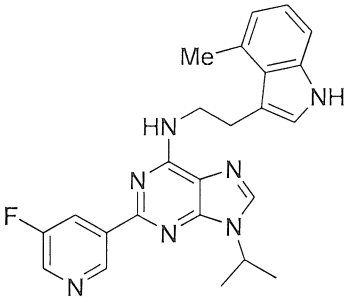
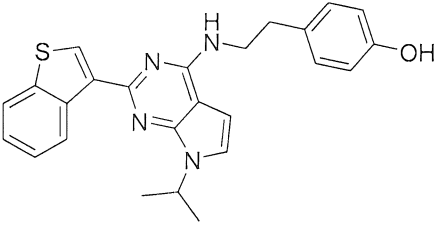
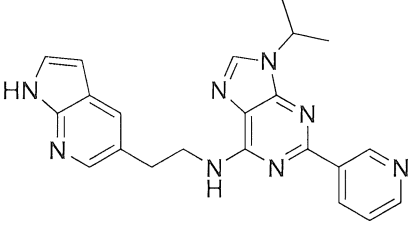
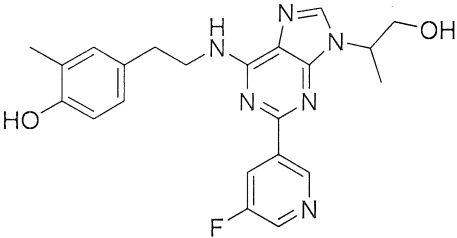
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
178		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,83 (s, 1H), 8,67 (t, 1H), 8,37 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,06 (t, 1H), 6,96 (t, 1H), 4,60-4,48 (m, 1H), 3,86-3,76 (m, 2H), 3,06 (t, 2H), 2,96 (s, 3H), 2,05-1,85 (m, 2H), 1,56 (d, 3H), 0,76 (t, 3H); MS <i>m/z</i> 415,2 (M + 1)	0,003
180		MS <i>m/z</i> 392,2 (M + 1)	0,13
181		MS <i>m/z</i> 406,2 (M + 1)	2,5

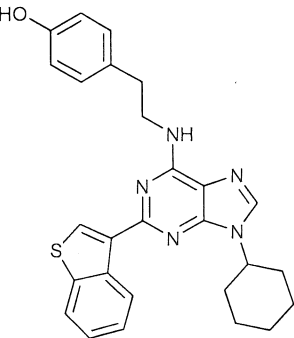
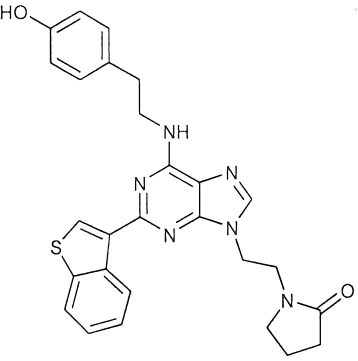
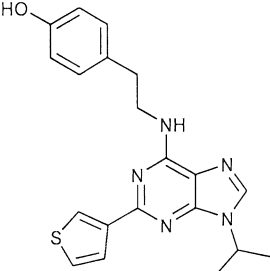
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
182		MS <i>m/z</i> 432,2 (M + 1)	5,1
183		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,84 (s, 1H), 9,37 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,01 (t, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,23 (m, 1H), 7,07 (t, 1H), 6,98 (t, 1H), 4,89-4,83 (m, 1H), 3,95-3,85 (m, 2H), 3,09 (t, 2H), 2,41 (s, 3H), 1,58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 412,2 (M + 1)	0,01
184		MS <i>m/z</i> 401,2 (M + 1)	0,008

Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
185		MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,024
186		MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,007
187		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,84 (s, 1H), 9,38 (s, 1H), 8,49 (m, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,10 (t, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,07 (t, 1H), 6,98 (t, 1H), 5,85-5,78 (m, 1H), 5,17 (t, 2H), 5,03 (t, 2H), 3,84-3,84 (m, 2H), 3,09 (t, 2H), 2,40 (s, 3H); MS <i>m/z</i> 426,2 (M + 1)	0,034

Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
188		MS <i>m/z</i> 434,2 (M + 1)	0,005
189		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,65 (s, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,68 (m, 1H), 8,41 (d, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,08 (t, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,12 (m, 2H), 6,81 (d, 1H), 4,90-4,81 (m, 1H), 3,93-3,80 (m, 2H), 3,05 (t, 2H), 2,38 (s, 3H), 1,58 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 432,0 (M + 1)	0,026

Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
190		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,71 (s, 1H), 9,42 (s, 1H), 8,67 (d, 1H), 8,38 (dd, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,05 (t, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,21 (d, 1H), 6,98 (t, 1H), 6,93 (t, 1H), 4,92-4,83 (m, 1H), 3,78-3,71 (m, 2H), 2,99 (t, 2H), 2,33 (s, 3H), 1,59 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,005
195		HPLC-MS calculated MS <i>m/z</i> 434,2 (M + 1)	0,003
196		MS <i>m/z</i> 434,2 (M + 1)	0,002

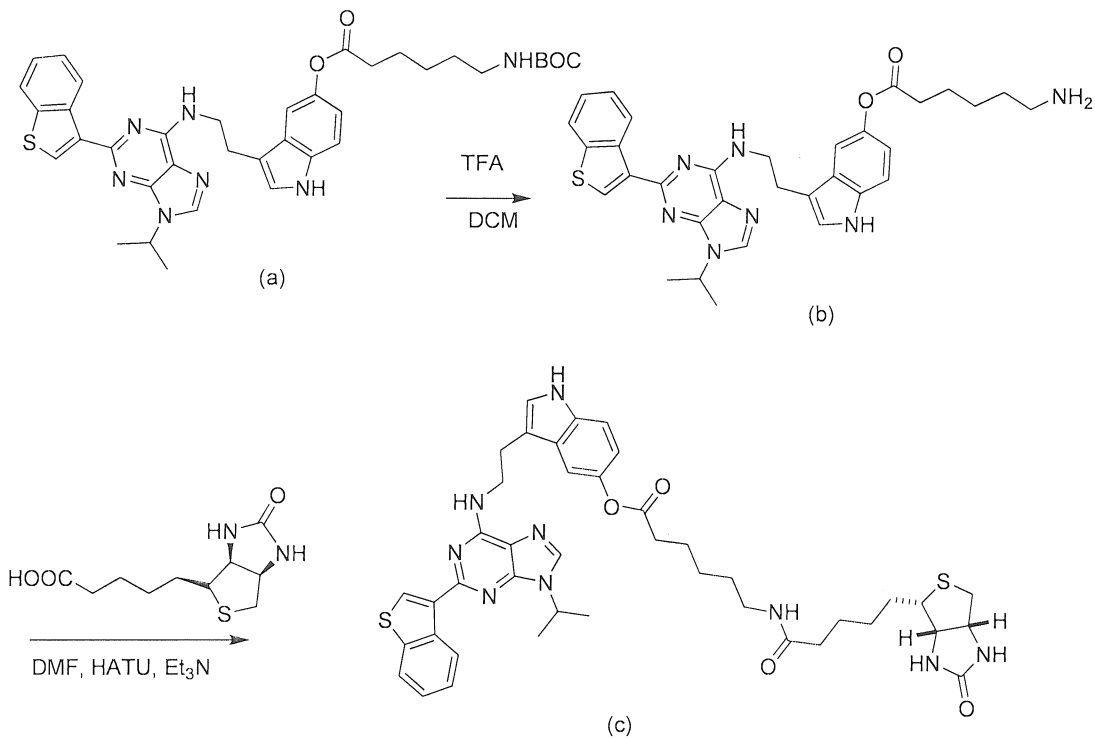
Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
197		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,79 (s, 1H), 9,37 (s, 1H), 8,64 (d, 1H), 8,39 (d, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,06 (t, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,13 (d, 1H), 6,90 (t, 1H), 6,69 (d, 1H), 4,90-4,83 (m, 1H), 3,83-3,87 (m, 2H), 3,24 (t, 2H), 2,65 (s, 3H), 1,57 (d, 6H); MS <i>m/z</i> 430,2 (M + 1)	0,011
198		MS <i>m/z</i> 429,1 (M + 1)	1,1
199		MS <i>m/z</i> 399,2 (M + 1)	1,6
200		MS <i>m/z</i> 423,2 (M + 1)	0,001

Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý ¹ H NMR và/hoặc MS	EC ₅₀ (%CD34+) μM
201			
202			
203			

Các hợp chất dò ái lực có liên quan đến các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được điều chế, như được mô tả trong các ví dụ sau,

Ví dụ 210

3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl
6-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)hexanoat



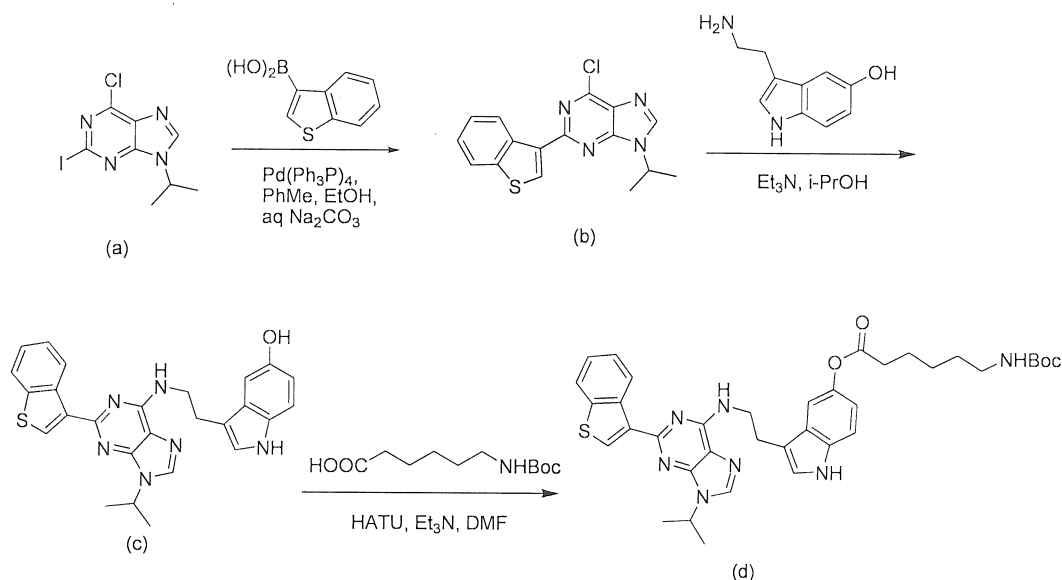
Tổng hợp 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-aminohexanoat (e): Bổ sung vào dung dịch chứa 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoat (a) (80 mg, 0,117mmol) trong DCM (20mL) TFA (5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc. dung dịch nước natri carbonat được bổ sung vào và hỗn hợp này được chiết bằng DCM. Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc để thu được sản phẩm dưới dạng dầu. MS m/z 582,2 (M + 1).

Tổng hợp 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)hexanoat: Bổ sung vào dung dịch chứa (+)-biotin (35mg, 0,14mmol) và Et₃N (36mg, 0,35mmol) trong DMF (1mL) HATU (90mg, 0,24mmol). Hỗn hợp này được khuấy trong 10 phút, và sau đó được bổ sung vào dung dịch chứa 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-aminohexanoat (b) (68mg, 0,12mmol) trong DMF (1mL). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ trong phòng và sau đó được cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC đảo pha (cột C₁₈, rửa giải bằng

MeOH-H₂O 0,05% TFA) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục. Ví dụ 210 thể hiện trị số EC₅₀ trong thử nghiệm %CD34+ là 2,1 μM.

Ví dụ 211

3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoat



Tổng hợp 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-clo-9-isopropyl-9H-purin (b): Sau quy trình của Ví dụ 15d, 6-clo-2-iodo-9-isopropyl-9H-purin (3,31g, 0,0103mol) được cho phản ứng với axit benzo[b]thiophen-3-ylboronic. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (20 đến 50% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS m/z 329,0 (M + 1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 9,15 (d, 1H), 8,85 (s, 2H), 8,17 (d, 1H), 7,62 (t, 1H), 7,53 (t, 1H), 5,06 (m, 1H), 1,71 (d, 6H).

Tổng hợp 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-ol (c): Sau quy trình của Ví dụ 15e, 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-clo-9-isopropyl-9H-purin (b) (80mg, 0,243mmol) được cho phản ứng với serotonin. Hỗn hợp phản ứng này được cô đặc, sau đó dung dịch nước natri bicarbonat được bổ sung vào. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat. Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (0 đến 5% MeOH trong chất rửa giải DCM) để thu

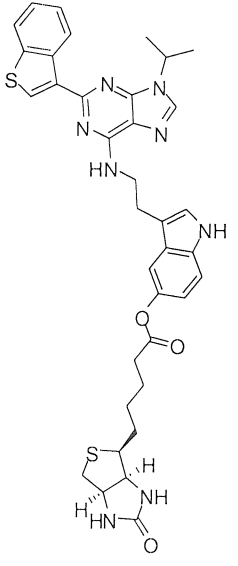
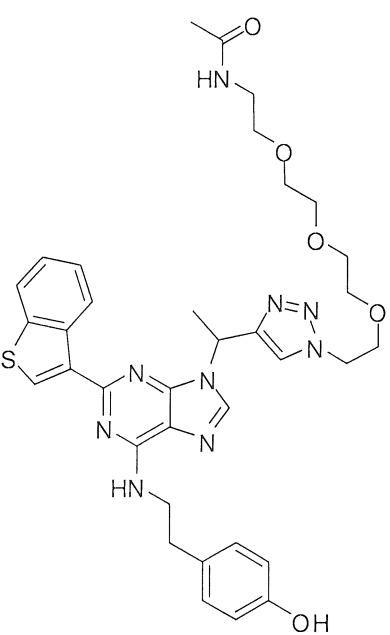
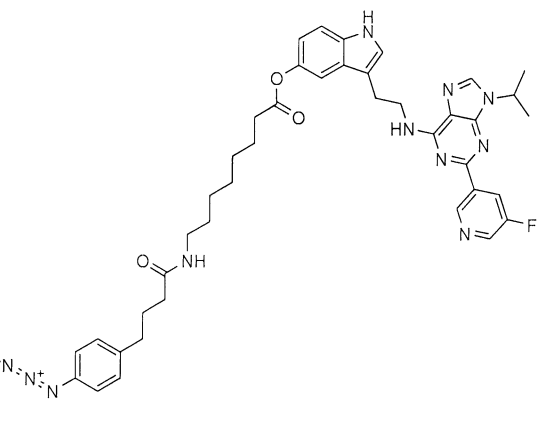
được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS m/z 469,2 (M + 1).

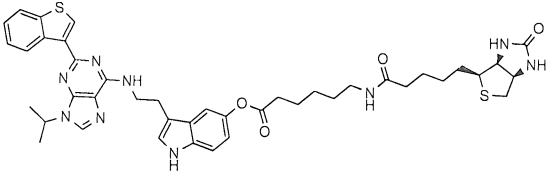
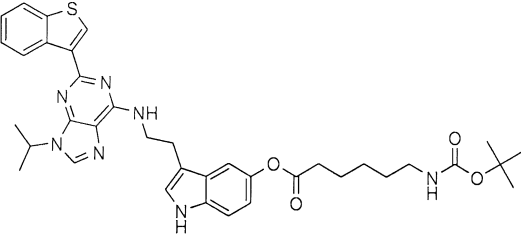
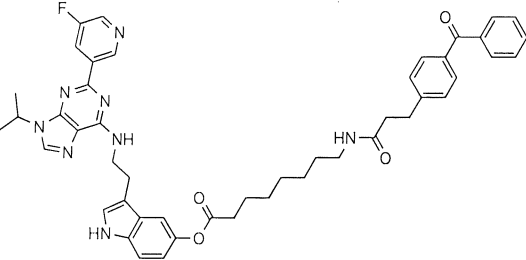
Tổng hợp 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-yl 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoat (d): Bổ sung vào dung dịch chứa 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-5-ol (55,5mg, 0,119mmol) và axit 6-(tert-butoxycarbonylamino)hexanoic (30mg, 0,113mmol) trong DMF (3ml) Et₃N (24mg, 0,237mmol) và HATU (90mg, 0,237mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ, và sau đó được cô đặc. Nước được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng ethyl axetat. Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, làm khô trên natri sulfat, và cô đặc. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên silica gel (0 đến 5% MeOH trong chất rửa giải DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng đục.

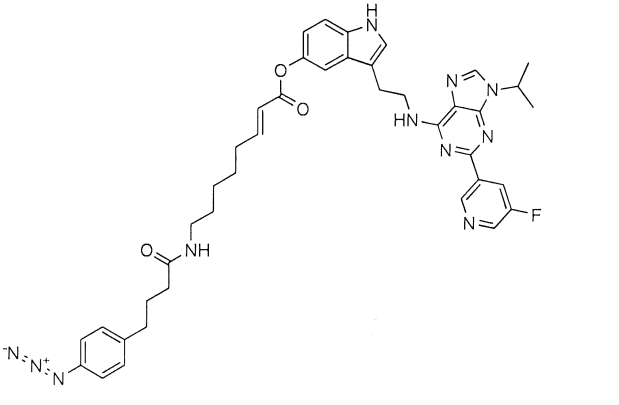
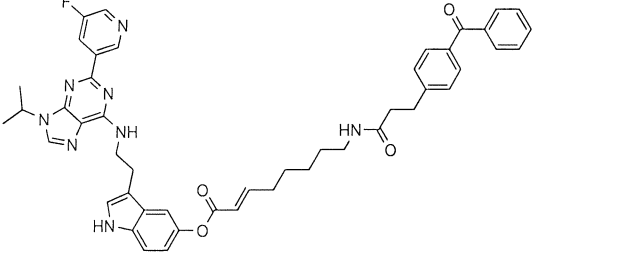
Bằng cách lặp lại các tiến trình đã mô tả trong các ví dụ nêu trên, sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp, các hợp chất dò ái lực tiếp theo, như được xác định trong Bảng 2, thu được:

Bảng 2

Thứ tự ví dụ	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý
		¹ H NMR và/hoặc MS

26		HRMS (EI) m/z 695,2585 (M + 1)
29		HRMS (EI) m/z 700,3027 (M + 1)
209		MS m/z 760,4 (M + 1)

210		¹ H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 10,95 (s, 1H), 9,17 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,06 (d, 1H), 7,94 (bs, 1H), 7,77 (t, 1H), 7,39-7,48 (m, 2H), 7,28-7,34 (m, 3H), 6,79 (dd, 1H), 6,42 (bs, 1H), 4,85-4,93 (m, 1H), 4,24-4,28 (m, 1H), 4,07-4,10 (m, 1H), 3,88-3,92 (m, 2H), 3,01-3,11 (m, 5H), 2,77 (dd, 1H), 2,53-2,57 (m, 1H), 2,00 (t, 2H), 1,63 (d, 6H), 1,23-1,60 (m, 12H); MS m/z 808,3 (M + 1)
211		MS m/z 682,2 (M + 1).
212		MS m/z 809,4 (M + 1)

213		MS m/z 758,4 (M + 1)
214		MS m/z 807,4 (M + 1)

Thử nghiệm

Các thử nghiệm sau được sử dụng để đánh giá hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế tạo thuận lợi cho việc tăng số lượng tế bào mầm tạo máu (HSC).

Các tế bào mầm tạo máu CD34⁺ sơ cấp của người trưởng thành được nuôi cấy và được sàng lọc để nhận dạng các hợp chất theo sáng chế mà tạo thuận lợi cho việc tăng số lượng HSC. Các tế bào này được phân tích về sự có mặt của các kiểu hình mong muốn (biểu hiện CD34). Các hợp chất theo sáng chế thúc đẩy sự biểu hiện HSC theo cách phụ thuộc liều.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường StemSpan SFEM là môi trường không chứa huyết thanh (StemCell Technologies, Vancouver, BC) được bổ sung các xytokin tái tổ hợp của người sau: thrombopoietin, interleukin-6, phối tử Flt-3, và yếu tố tế bào mầm (tất cả do R&D Systems, Minneapolis, MN cung cấp), với nồng độ từng chất là 50ng/mL, với chất dẫn (DMSO) hoặc hợp chất theo sáng chế.

Nuôi cấy tế bào người: G-CSF sắc tố trắng máu ngoại vi tươi được huy động từ người cho bình thường, các tế bào CD34⁺ từ tủy xương người trưởng thành và các tế bào CD34⁺ máu dây rốn người trữ lạnh được mua từ AllCells (Berkeley, CA). Các tế

bào CD34⁺ người được làm giàu từ G-CSF sắc tố trắng máu ngoại vi được huy động bằng cách phân loại tế bào có băng từ tính (MACS, Direct CD34 Progenitor Cell Isolation Kit, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) và trữ lạnh. Độ tinh khiết của tế bào CD34⁺, được kiểm tra bằng bào kế kiểu dòng, là cao hơn 90%. Sau khi làm tan băng, mức độ sống của tế bào được kiểm tra bằng phương pháp loại trừ xanh trypan là cao hơn 70%. Các tế bào được thawed được ly tâm và tạo huyền phù lại bằng môi trường StemSpan trước khi được chia thành các phần nhỏ để nuôi cấy ngay. Các tế bào này được nuôi cấy trong đĩa với nồng độ 10⁴ tế bào/mL trong đĩa 384 lỗ (Greiner Bio-One, Monroe, North Carolina) với 50µL môi trường trong một lỗ trong 7 ngày. Sau mỗi 7 ngày, các tế bào này được chuyển sang các đĩa lớn hơn và môi trường tươi được bổ sung vào để giữ nồng độ tế bào nằm trong khoảng từ 10⁴ đến 5 × 10⁵ tế bào/mL. Các tế bào này được nuôi cấy ở 37°C trong 5% CO₂. Để ghép, các tế bào được nuôi cấy trong các bình 75cm² trước khi các tế bào được ghép vào chuột. Ở nồng độ 1 µmol, 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1), 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 2, bảng 1), và N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin (hợp chất 9, bảng 1) mỗi chất làm tăng số tế bào CD34⁺CD45RA⁻ thu được 1000 mPB CD34⁺ HSCs sau 21 ngày lên hơn 10 lần so với chất dẫn. Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm về định dạng phản ứng liều (1nM đến 10µM) để xác định nồng độ hữu hiệu tạo ra tác dụng mong muốn ở 50% số tế bào (EC₅₀). Các hợp chất theo sáng chế làm tăng tổng số và/hoặc tỷ lệ phần trăm tế bào CD34⁺ với EC₅₀ nhỏ hơn 10 µM. Các kết quả được thể hiện trên bảng 1 và các ví dụ nêu trên.

Thử nghiệm đơn vị tạo khuẩn lạc trong nuôi cấy (Colony-Forming Units in Culture - CFU-C): Các tế bào đơn nhân với nồng độ 1000 tế bào/ mL đối với giống nuôi cấy máu dây rốn 5 tuần và mPB 3 tuần và 100 tế bào/mL đối với giống nuôi cấy CB 3 tuần và mPB 1 tuần được bổ sung vào môi trường MethoCult SF H4436, môi trường methylxenluloza không chứa huyết thanh chứa methylxenluloza trong MDM của hãng Iscove, albumin huyết thanh bò, 2-mercaptoetanol, L-glutamin, transferin người (được bão hòa sắt), insulin người tái tổ hợp, và xytokin người tái tổ hợp: yếu tố tế bào mầm, GM-CSF, IL-3, IL-6, G-CSF, và erythropoietin (StemCell Technologies). Môi

trường MethoCult được bổ sung các xytokin người tái tổ hợp sau: thrombopoietin, và phối tử Flt-3 (R&D Systems), mỗi chất có nồng độ cuối là 50ng/mL. Sau khi khuấy, hỗn hợp này được chia vào 3 đĩa kích thước 35mm. Các đĩa này được ủ trong 14 ngày ở nhiệt độ 37°C trong khí quyển ẩm chứa 5% CO₂ trong không khí. Cuối giai đoạn ủ, các khuẩn lạc tủy bào và hồng cầu được đếm dưới kính hiển vi ngược với độ phóng đại 40X. Lượng CFU-C của giống nuôi cấy được làm tăng số lượng được tính như sau: số khuẩn lạc được tính điểm trong ba đĩa $\times$ tổng số tế bào đơn nhân / số tế bào đưa vào. Cho đến 1 tuần, tổng số tế bào đơn nhân được xác định bằng cách lấy số tế bào trong một ml nhân với thể tích môi trường nuôi cấy. Từ tuần 1 trở đi, số lần cấy chuyển cũng được lưu ý. Các giống nuôi cấy được xử lý bằng 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) với nồng độ 1 μ mol, làm tăng số tế bào tạo khuẩn lạc lên trên 10 lần sau 21 ngày của giống nuôi cấy tế bào mPB CD34+ so với chất dẫn. Bằng cách sử dụng 1×10^3 tế bào CB CD34+ được xử lý bằng 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) với nồng độ 1 μ mol thu được từ giống nuôi cấy 5 tuần có số đơn vị tạo khuẩn lạc tăng > 10 lần so với đối chứng. Các tế bào được xử lý bằng 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) tạo ra nhiều khuẩn lạc hỗn hợp với khuẩn lạc hồng cầu tăng > 10 lần, khuẩn lạc bạch cầu hạt/đại thực bào tăng > 10 lần, và khuẩn lạc đại thực bào tăng > 10 lần. Các tế bào được xử lý bằng 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) cũng tạo ra các khuẩn lạc bạch cầu hạt/hồng cầu/bạch cầu đơn nhân to/đại thực bào hỗn hợp mà không quan sát thấy trong số các khuẩn lạc thu được từ các giống nuôi cấy không được xử lý.

Thử nghiệm tế bào tạo vùng giống sỏi (Cobblestone area-forming cell - CAFC): các tế bào liên kết FBMD-1 được giữ trong bình 25-cm² và được trypsin hóa sau 1/3 hợp dòng. Do dòng tế bào không biến đổi này lão hóa, và do đó, dần dần mất khả năng hỗ trợ sự sinh trưởng CAFC của nó ở giai đoạn sau, tất cả các tế bào tiếp liệu được sử dụng dưới lần cấy chuyển 20. Để hỗ trợ sự sinh trưởng CAFC trong các đĩa 96 lỗ, 1×10^3 tế bào liên kết được cấy trong mỗi lỗ. Các giống nuôi cấy được giữ trong môi trường Iscove được bổ sung 10% huyết thanh bào thai bê (fetal calf serum -

FCS), 2,5% huyết thanh ngựa (horse serum - HS), 1% L-glutamin, 1% penixilin-streptomycin, và 1×10^{-5} M hydrocortison ở nhiệt độ 37°C trong khí quyển ẩm chứa 5% CO₂ trong không khí. Sau khi đạt đến hợp dòng, các lớp tế bào liên kết được ủ với các HSC CD34⁺ đã được nuôi cấy trong 5 ngày với chất dẫn hoặc hợp chất theo sáng chế. Các MNC được bổ sung vào 8 dung dịch pha loãng 1:3 theo dãy (bắt đầu với 25.000 tế bào/lỗ), với 10 lỗ cho mỗi liều tế bào. Các dung dịch pha loãng trong các lỗ có ít nhất một dòng tạo máu pha tối (vùng giống sỏi) của ít nhất năm tế bào dưới lớp tế bào liên kết được xác định vào tuần 4. Ở nồng độ thử nghiệm 1 μ mol, 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1), kích thích sự tăng số lượng tế bào tạo vùng cobblestone thu được từ các HSC mPB CD34⁺ sau 5 ngày nuôi cấy lên trên 2 lần, so với các giống nuôi cấy đối chứng chỉ được xử lý bằng DMSO.

Phân tích kháng nguyên bề mặt: Các tế bào được rửa bằng môi trường nhuộm (dung dịch muối được cân bằng Hanks chứa FBS (2%) và EDTA (2mM)) và nhuộm (ở nhiệt độ 4°C trong 30 phút) bằng kháng thể liên hợp chính được chỉ định. Các tế bào được rửa bằng dung dịch đệm đã mô tả và phân tích bằng cách sử dụng bào kế kiểu dòng BD LSR II (Becton Dickinson, San Jose, CA). Các tế bào được chuyển qua với tốc độ không quá 1000 tế bào/giây bằng cách sử dụng tia laze argon 488nm và HeNe 633nm làm nguồn sáng kích thích. Độ phát xạ của 10⁴ tế bào đo được bằng cách sử dụng bộ khuếch đại logarit và phân tích bằng cách sử dụng phần mềm FlowJo (TreeStar Inc. Ashland, OR). Các tế bào được nhuộm bằng kháng thể đối chứng isotyp liên hợp chính được sử dụng để xác định huỳnh quang nền.

Xác định các tiểu quần thể tế bào CD34⁺: Tỷ lệ phần trăm các tiểu quần thể tế bào CD34⁺ được xác định từ các phần phân ước chứa giống nuôi cấy tế bào. Các tế bào được nhuộm bằng kháng thể APC kháng Thy1.1, kháng thể PerCP kháng CD34, kháng thể PECy7 kháng CD45RA, kháng thể FITC kháng CD38, và kháng thể PE kháng CD133 để xác định các tế bào CD34⁺Thy1.1⁺, CD34⁺CD45RA⁻, CD34⁺CD38⁻, CD133⁺CD38⁻ và CD34⁺CD133⁺. Các kháng thể kháng CD34, CD38, Thy1.1 và CD45RA được mua từ hãng Becton Dickinson và các kháng thể kháng CD133 được mua từ hãng Miltenyi Biotec. Kết quả phân tích FACS các tiểu quần thể này được thể

hiện bằng tỷ lệ phần trăm quần thể tổng. Số lượng tuyệt đối của mỗi quần thể tế bào trong môi trường nuôi cấy được tính bằng tổng số tế bào nhân với tỷ lệ phần trăm của mỗi quần thể. Bắt đầu bằng tế bào CB CD34⁺, sau 5 tuần, tổng số tế bào trong môi trường nuôi cấy tăng trung bình hơn 2 lần đối với các tế bào được xử lý bằng 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) 1 μ mol so với giống nuôi cấy đối chứng. Quan trọng hơn, >50% tế bào được nuôi cấy bằng 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) là CD34⁺ so với < 10% tế bào được nuôi cấy bằng chất dẫn dẫn đến sự tăng số lượng tế bào CD34⁺ hơn 10 lần so với đối chứng và tăng hơn 10,000 lần so với tế bào đầu vào. Ngoài ra, sự có mặt của 1 μ mol hợp chất 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất 1, bảng 1; ví dụ 1) làm tăng cả tỷ lệ phần trăm và tổng số tiểu quần thể CD34⁺, CD34⁺CD45RA⁻, CD34⁺CD38⁻, CD133⁺CD38⁻, và CD34⁺CD133⁺ dẫn đến sự tăng chung hơn 30 lần đối với từng tiểu quần thể.

Ghép tế bào CD34⁺ người vào chuột NOD.CB17-Prkdc^{scid} (NOD/SCID): Để đánh giá khả năng tái tạo quần thể *in vivo* của các tế bào CD34⁺ và thể hệ con được nuôi cấy của chúng, tế bào CD34⁺ không được nuôi cấy hoặc các thể hệ con của tế bào CD34⁺ được nuôi cấy sau 4 ngày (mPB) hoặc 21 ngày (CB) bằng chất dẫn hoặc hợp chất thử nghiệm được tiêm trong tĩnh mạch qua đường sau nhĩ cầu vào chuột NOD/SCID (đối với thử nghiệm mPB HSC) hoặc chuột NOD/SCIDgc/- (đối với thử nghiệm CB HSC) 8 đến 10 tuần tuổi được chiếu xạ dưới mức gây chết. Để kiểm tra, máu cấy ghép được rút hằng tuần theo đường sau nhĩ cầu và xử lý bằng dung dịch phân giải hồng cầu (Qiagen, Valencia, CA) để loại bỏ các tế bào hồng cầu, rửa bằng môi trường nhuộm, và phân tích bằng bào kế kiểu dòng. Mức độ ghép được đo bằng cách phát hiện các tế bào CD45⁺ kháng người trong máu. Chuột được giết sau 10 tuần ghép; BM được thu thập từ cả xương đùi và xương chày. Các tế bào BM được rửa bằng môi trường nhuộm và nhuộm bằng kháng thể kháng người. Sau khi ủ, huyền phù này được xử lý bằng dung dịch phân giải hồng cầu (Qiagen, Valencia, CA) để loại bỏ các tế bào hồng cầu, rửa bằng môi trường nhuộm, và phân tích bằng bào kế kiểu dòng, như được mô tả trên đây. Cả HSC thu được từ mPB và CB được nuôi cấy với 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol (hợp chất

1, bảng 1; ví dụ 1) ở nồng độ 1 μ mol làm tăng đáng kể về mặt thống kê tỷ lệ phần trăm tế bào người sau khi ghép 10 tuần.

Nhận dạng đích

Để nhận dạng cơ chế mà hợp chất theo sáng chế làm tăng số lượng HSC ở trạng thái không được biệt hóa, việc xác định profin dịch mã toàn hệ gen được thực hiện đối với tế bào CD34⁺ thu được từ mPB được xử lý trong 24 giờ bằng hợp chất theo ví dụ 1 và chất tương tự kém hoạt động hơn (khoảng 20 lần) của hợp chất theo ví dụ 1 (2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(3-(3,5-dimetyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin). Trong số >50.000 tập hợp mẫu dò được phân tích, chỉ có 5 gen được điều chỉnh theo hướng tăng hơn 3 lần khi xử lý bằng hợp chất theo Ví dụ 1 và hầu hết cũng được cảm ứng đến một số mức bởi chất tương tự ít hoạt động hơn. Ngoài ra, 5 gen được điều chỉnh theo hướng giảm >70% khi xử lý bằng 1 μ M hợp chất Ví dụ 1. Tất cả các gen đều được điều chỉnh giảm theo cách phụ thuộc liều và không gen nào bị ảnh hưởng đáng kể bởi chất tương tự ít hoạt động hơn. Hai gen bị ức chế nhiều nhất bởi việc xử lý bằng hợp chất Ví dụ 1 (xytocom P450 1B1 [CYP1B1] và chất ức chế thụ thể aryl hydrocarbon [AHR]) được điều chỉnh bằng cách phiên mã bởi thụ thể aryl hydrocarbon (AHR). Do đó, các hợp chất theo sáng chế có thể đã hoạt động như chất đối kháng của sự phát tín hiệu AHR.

Hơn nữa, khả năng phong bế sự biểu hiện ARN thông tin CYP1B1 bằng qPCR ở các tế bào CD34⁺ thu được từ mPB qua trung gian 2,3,7,8-tetraclobenzo-p-dioxin (TCDD, dioxin) của hợp chất Ví dụ 1 được xác định. Việc xử lý bằng TCDD (3nM) làm tăng mức ARN thông tin CYP1B1 4,5 lần so với đối chứng chất dẫn (0,01% toluen). Sự gia tăng này bị ức chế bởi hợp chất Ví dụ 1 theo cách phụ thuộc liều, điều này cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có thể đối kháng sự phát tín hiệu AHR. Để xác định các ảnh hưởng của hợp chất Ví dụ 1 trong việc phiên mã AHR, khả năng ức chế thử nghiệm gen thông báo luxiferaza phụ thuộc AHR được cảm ứng bằng dioxin của hợp chất Ví dụ 1 được thử nghiệm. Việc bổ sung hợp chất Ví dụ 1 (1 μ M) hoàn toàn ức chế sự phiên mã phụ thuộc AHR được cảm ứng bằng dioxin khi được sử dụng trên các tế bào biểu hiện AHR người. Việc chuẩn độ hợp chất Ví dụ 1 cho thấy EC₅₀ là 127nM, điều này chứng tỏ rằng hợp chất Ví dụ 1 là chất đối kháng AHR có

tiềm năng. Thú vị là, hợp chất Ví dụ 1 chỉ ức chế yếu sự phiên mã được cảm ứng bằng dioxin ở các tế bào chuột và không có hoạt tính trên tế bào chuột cống, điều này cho thấy rằng hợp chất Ví dụ 1 ưu tiên ức chế AHR người. Điều này có liên quan đến sự mất hoạt tính của hợp chất Ví dụ 1 trên HSC chuột, và có thể giải thích sự chọn lọc loài của hợp chất Ví dụ 1. Cuối cùng, hợp chất Ví dụ 1 chỉ có hoạt tính chủ vận yếu trên các tế bào chuột hoặc chuột cống, và không cảm ứng sự phiên mã phụ thuộc AHR ở các tế bào người.

Để tìm hiểu thêm về vai trò của sự phát tín hiệu AHR ở các HSC, hai chất đối kháng AHR khác (alpha-naphthoflavon và CH-223191) được thử nghiệm. Cả hai hợp chất này đều gây ra sự tăng số lượng tế bào CD34⁺ phụ thuộc liều khi được nuôi cấy với tế bào CD34⁺ thu được từ mPB trong 7 ngày: việc bổ sung 1 μ M CH223191 làm tăng số lượng tế bào CD34⁺ lên 2,2 lần; 0,75 μ M α -naphthoflavon làm tăng số lượng tế bào CD34⁺ lên 1,9 lần trong khi đó 0,75 μ M hợp chất Ví dụ 1 làm tăng tổng số tế bào CD34⁺ lên 3,4 lần. Để thể hiện vai trò của AHR trong sự tăng số lượng HSC do hợp chất Ví dụ 1 gây ra, các HSC CD34⁺ thu được từ CB được xử lý bằng các hạt lentivirus chứa AHR hướng đích shRNA đồng biểu hiện GFP hoặc virus đối chứng. Sau khi tải nạp 48 giờ, các tế bào CD34⁺GFP⁺ được tinh chế bằng cách phân loại tế bào và các mức AHR được xác định bằng qPCR. Cả hai shRNA hướng đích AHR làm giảm mức biểu hiện AHR sau khi tải nạp (81% với sh111 và 51% với sh242). Sự giảm này không có ở các tế bào thiếu GFP hoặc các tế bào được tải nạp bằng virus đối chứng. Các tế bào CD34⁺ thu được từ CB có mức biểu hiện AHR giảm thể hiện kiểu hình tương tự như các tế bào được xử lý bằng hợp chất Ví dụ 1 với mức biểu hiện CD34⁺ được duy trì. Những dữ liệu này thể hiện rằng sự ức chế hoạt tính của AHR bởi hợp chất theo sáng chế là đủ để kích thích sự tăng số lượng HSC.

Phương pháp tăng số lượng HSC từ máu dây rốn trẻ sơ sinh

Môi trường nuôi cấy được sử dụng là môi trường StemSpan SFEM (StemCell Technologies, Cat. #09650) được bổ sung các xytokin người tái tổ hợp sau: TPO, IL6, Flt3 ligand, và SCF ở nồng độ cuối của mỗi chất là 50ng/mL. Môi trường nuôi cấy được pha chế tươi vào ngày sử dụng.

Pha loãng hợp chất trong môi trường: thể đặc 10.000x của hợp chất theo sáng chế được sử dụng để pha loãng. Việc bổ sung hợp chất vào môi trường nuôi cấy diễn ra theo 2 bước. Bước thứ nhất là pha loãng 1:100 (10 μ L thể đặc 10.000x vào 990 μ L môi trường nuôi cấy đầy đủ (chứa các xytokin) trong ống effendorf dung tích 1,5mL [USA Scientific, Cat #1615-5500]) để tạo ra dung dịch 100x chứa hợp chất trong môi trường nuôi cấy. Bước thứ hai là pha loãng 1:100 vào môi trường nuôi cấy mà sẽ được sử dụng để bắt đầu nuôi cấy tế bào. Thể tích nuôi cấy thay đổi phụ thuộc vào số tế bào CD34⁺ máu dây rốn (cord blood - CB) đầu vào. Ví dụ, 1x10⁶ tế bào CD34⁺ CB được cấy vào 20mL môi trường (5x10⁴ tế bào/mL). Trong trường hợp này, 200 μ L dung dịch 100x chứa hợp chất Ví dụ 1 được bổ sung vào 20mL môi trường trong bình nón 50mL (Becton Dickinson, Cat #352098) để đạt được nồng độ cuối (xem Bảng 3).

Bắt đầu nuôi cấy tế bào: các tế bào CD34⁺ Cb người được sử dụng để thử nghiệm tăng số lượng *ex vivo*. Sau khi làm tan băng, mức độ sống của tế bào, kiểm tra được bằng phương pháp loại trừ xanh trypan, là cao hơn 50%. Các tế bào được làm tan băng được pha loãng 5 lần bằng môi trường nuôi cấy (không chứa xytokin hoặc hợp chất theo sáng chế như hợp chất Ví dụ 1) và ly tâm với vận tốc 300g ở 25°C trong 8 phút. Sau khi hút bỏ dịch nổi, phần kết viên được tạo huyền phù lại trong một thể tích môi trường nuôi cấy thích hợp (5 x 10⁴ tế bào/mL, bảng 3) trước khi được tiêm (kim chuẩn 22, sản phẩm của Air-Tite; xi lanh 20mL, BD cat # 309661) vào các túi AFC (xem Bảng 5) để nuôi cấy ngay. Các tế bào được nuôi cấy ở 37°C trong 5% CO₂.

Bổ sung môi trường vào giống nuôi cấy tế bào: đối với các thể tích môi trường không quá 80mL quy trình trên đây (pha loãng hợp chất vào môi trường) được sử dụng. Đối với các thể tích môi trường lớn hơn 80mL bước pha loãng đầu tiên 1:100 được tiến hành trong bình nón 10mL (Corning, Cat #430052, Bảng 4). Bước thứ hai là pha loãng 1:100 vào môi trường nuôi cấy, trong dụng cụ chứa vô trùng, (BD Falcon, Cat #354015) được bổ sung vào túi AFC (kim chuẩn 22, sản phẩm của Air-Tite; xi lanh 60mL, BD cat # 309653).

Bảng 3. Ví dụ 1 pha loãng để tăng số lượng tế bào CD34⁺ máu dây rốn đầu vào

Số lượng tế bào CD34 ⁺	Thể tích nuôi cấy	Thể tích 100x Ví dụ	Thể tích 100x ví dụ 1 để điều	Thể tích 10.000x
-----------------------------------	-------------------	---------------------	-------------------------------	------------------

máu dây rốn (x 10 ⁶)	đầu vào (mL)	1 (μL) cần đến	chế (mL)	ví dụ 1 cần đến (μL)
0.25	5	50	1	10
0,50	10	100	1	10
0,75	15	150	1	10
1,00	20	200	1	10
1,25	25	250	1	10
1,50	30	300	1	10
1,75	35	350	1	10
2,00	40	400	1	10
2,50	50	500	1	10
3,00	60	600	1	10
4,00	80	800	1	10

Bảng 4. Ví dụ 1 pha loãng để bổ sung phương tiện để tăng số lượng tế bào CD34+ máu dây rốn

Thể tích phương tiện để bổ sung (mL)	Thể tích 100x ví dụ 1 (μL) cần đến	Thể tích 100x ví dụ 1 để điều chế (mL)	Thể tích 10.000x ví dụ 1 cần đến (μL)
10.00	100	1	10
20,00	200	1	10
30,00	300	1	10
40,00	400	1	10
50,00	500	1	10

60,00	600	1	10
70,00	700	1	10
80,00	800	1	10
100,00	1.000	5	50
120,00	1.200	5	50
160,00	1.600	5	50
250,00	2.500	5	50
500,00	5.000	10	100
750,00	7.500	10	100
1.000,00	10.000	10	100

Bảng 5. Thể tích hạn chế đối với các túi American Floseal Corporation.

Mã túi AFC	Thể tích cho sự tăng tối ưu (mL)	Thể tích lớn nhất của túi (mL)
1PF-0007	7	7
2PF-0032	32	32
2PF-0072	71	130
2PF-0118	118	245
2PF-0197	179	580
2PF-0225	225	665
2PF-0270	270	960
2PF-750C	750	

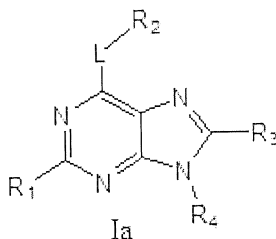
Quy trình tương tự có thể được sử dụng bắt đầu từ các tế bào máu ngoại vi được huy động thu được từ bệnh nhân để tự ghép.

Chế phẩm chứa quần thể tế bào với các HSC được tăng số lượng thích hợp để sử dụng trong tĩnh mạch bằng cách truyền cũng có thể được bào chế. Để chuẩn bị tế bào cho việc truyền, các tế bào được nuôi cấy được kết viên bằng cách ly tâm trong 10 phút ở 300g và tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm truyền chứa 5% HSA (Baxter) với nồng độ nằm trong khoảng từ 10^6 đến 10^8 tế bào/ml.

Cần hiểu rằng các ví dụ và phương án được mô tả ở đây chỉ nhằm mục đích minh họa và các biến thể hoặc thay đổi khác nhau của chúng sẽ được chuyên gia trong lĩnh vực này nhận thấy và thuộc phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức Ia:



trong đó:

L được chọn từ $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_{2-3}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{NR}_{5b}-$, $-\text{NR}_{5a}(\text{CH}_2)_2\text{S}-$, $-\text{NR}_{5a}\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-$ và $-\text{NR}_{5a}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$; trong đó R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$;

R_1 được chọn từ thiophenyl, furanyl, 1H-benzoimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrololyl và thiazolyl; trong đó thiophenyl, furanyl, 1H-benzoimidazolyl, isoquinolinyl, 1H-imidazopyridinyl, benzothiophenyl, pyrimidinyl, pyridinyl, 1H-imidazolyl, pyrazinyl, pyridazinyl, 1H-pyrololyl hoặc thiazolyl của R_1 có thể tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ xyano, hydroxy, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$, $\text{C}_{1-4}\text{alkoxy}$, halo, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ được thế halo, $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_{8a}$, và $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{8a}$; trong đó R_{8a} được chọn từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$;

R_2 được chọn từ $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}_{6a}\text{R}_{6b}$, $-\text{NR}_{6a}\text{C}(\text{O})\text{NR}_{6b}\text{R}_{6c}$, phenyl, 1H-pyrolopyridin-3-yl, 1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzoimidazolyl và 1H-indazolyl; trong đó R_{6a} , R_{6b} và R_{6c} độc lập được chọn từ hydro và $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$; và phenyl, 1H-pyrolopyridin-3-yl, 1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indolyl, thiophenyl, pyridinyl, 1H-1,2,4-triazolyl, 2-oxoimidazolidinyl, 1H-pyrazolyl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzoimidazolyl hoặc 1H-indazolyl của R_2 tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ hydroxy, halo, metyl, metoxy, amino, -

$O(CH_2)_2NR_{7a}R_{7b}, -OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ và $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; trong đó R_{7a} và R_{7b} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$;

R_3 được chọn từ hydro, $C_{1-4}alkyl$ và biphenyl; và

R_4 được chọn từ $C_{1-10}alkyl$, prop-1-en-2-yl, xyclohexyl, xyclopropyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, và benzyl; trong đó alkyl, xyclopropyl, xyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, tetrahydro-2H-pyran-3-yl, tetrahydro-2H-pyran-4-yl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl, hoặc benzyl, có thể tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ hydroxy, $C_{1-4}alkyl$ và $C_{1-4}alkyl$ được thế halo;

hoặc muối của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

R_1 được chọn từ thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl và thiazol-5-yl; trong đó thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, 1H-benzo[d]imidazol-1-yl, isoquinolin-4-yl, 1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl hoặc thiazol-5-yl nói trên của R_1 có thể tùy ý được thế bởi từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ xyano, hydroxy, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, halo, $C_{1-4}alkyl$ được thế halo, $-S(O)_{0-2}R_{8a}$ and $-C(O)OR_{8a}$; trong đó R_{8a} được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$;

R_2 được chọn từ $-NR_{6a}C(O)NR_{6b}R_{6c}$, phenyl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl và 1H-indazol-3-yl; trong đó R_{6a} , R_{6b} và R_{6c} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$; phenyl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-yl, 1H-pyrol[2,3-b]pyridin-5-yl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl,

2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl hoặc 1H-indazol-3-yl của R_2 này được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ hydroxy, halo, metyl, metoxy, amino, $-OS(O)_2NR_{7a}R_{7b}$ và $-NR_{7a}S(O)_2R_{7b}$; trong đó R_{7a} và R_{7b} được chọn một cách độc lập từ hydro và C_{1-4} alkyl; và

R_4 được chọn từ isopropyl, metyl, etyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, xyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, nonan-2-yl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl và benzyl; trong đó xyclohexyl, 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)etyl, oxetan-3-yl, benzhydryl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl hoặc benzyl này có thể được tùy ý thế bằng từ 1 đến 3 gốc được chọn một cách độc lập từ C_{1-4} alkyl và C_{1-4} alkyl được thế halo.

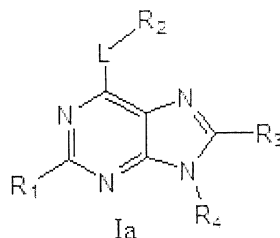
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó L được chọn từ $-NH(CH_2)_{2-3}-$, $-NH(CH_2)_2NH-$, $-NH(CH_2)_2S-$, $-NHCH(CH_3)CH_2-$ and $-NHCH_2CH(OH)-$.

4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó L được chọn từ $-NH(CH_2)_2-$.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó R_2 được chọn từ phenyl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, và 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl; trong đó phenyl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-3-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, hoặc 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl này của R_2 được tùy ý thế bằng hydroxy, metoxy, metyl, halo, và amino.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó R_3 được chọn từ hydro, metyl và biphenyl; và R_4 được chọn từ isopropyl, metyl, etyl, prop-1-en-2-yl, isobutyl, xyclohexyl, sec-butyl, (S)-sec-butyl, (R)-sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, (S)-1-hydroxypropan-2-yl, (R)-1-hydroxypropan-2-yl, và nonan-2-yl.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức Ia:



trong đó:

L là $-\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$;

R_1 được chọn từ thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl và thiazol-5-yl; trong đó

thiophen-2-yl, thiophen-3-yl, furan-3-yl, benzo[b]thiophen-3-yl, pyrimidin-5-yl, pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, 1H-imidazol-1-yl, pyrazin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridazin-4-yl, 1H-pyrol-2-yl hoặc thiazol-5-yl của R_1 có thể tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ xyano, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, halo, C_{1-4} alkyl được thế bằng halo, $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_{8a}$ và $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{8a}$; trong đó R_{8a} được chọn từ hydro và C_{1-4} alkyl;

R_2 được chọn từ phenyl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl; trong đó

phenyl, 1H-indol-3-yl, thiophen-3-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, 1H-1,2,4-triazol-5-yl, 2-oxoimidazolidin-1-yl, 1H-pyrazol-3-yl, 1H-pyrazol-4-yl, hoặc 2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl của R_2 tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ hydroxy, halo, metoxy, amino, $-\text{OS}(\text{O})_2\text{NR}_{7a}\text{R}_{7b}$ và $-\text{NR}_{7a}\text{S}(\text{O})_2\text{R}_{7b}$; trong đó R_{7a} và R_{7b} độc lập được chọn từ hydro và C_{1-4} alkyl;

R_3 được chọn từ hydro, C_{1-4} alkyl và biphenyl; và

R_4 được chọn từ isopropyl, isobutyl, sec-butyl, 1-hydroxypropan-2-yl, oxetan-3-yl, benzhydryl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl và benzyl; trong đó

oxetan-3-yl, benzhydryl, phenyl, tetrahydrofuran-3-yl hoặc benzyl có thể tùy ý được thế bằng 1 đến 3 gốc độc lập được chọn từ C₁₋₄alkyl và C₁₋₄alkyl được thế bằng halo.

8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:

- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(9-benzhydryl-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-(triflometyl)benzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isobutyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-metyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(4-metylbenzyl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;
- 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(thiophen-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;
- 3-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-flophenetyl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;
- N-(4-aminophenetyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;
- 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrimidin-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(2-(furan-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-N-(4-flophenetyl)-9-phenyl-9H-purin-6-amin;

4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(nonan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-sec-butyl-9H-purin-6-amin;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 ethyl 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinat;
 4-(2-((9-isopropyl-2-(5-metoxypyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)amino)ethyl)phenol;
 4-(2-(2-(6-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(4-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitril;
 4-(2-(2-(1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridazin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyrazin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(methylsulfonyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(2-(4-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-((9-isopropyl-2-(4-methylthiophen-3-yl)-9H-purin-6-yl)amino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-metoxyphenol;
 N-[2-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 N-[2-(5-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 1-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)imidazolidin-2-on;
 N-(2-{[9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)pyridin-2-amin;

9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 N-{2-[(3-methyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)sulfanyl]ethyl}-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 1-(2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)imidazolidin-2-on;
 N-[2-(5-amino-1H-1,2,4-triazol-3-yl)ethyl]-2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin;
 N-(2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)pyridin-2-amin;
 2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-N-[3-(1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9H-purin-6-amin;
 2-(1-benzothiophen-3-yl)-N-[3-(3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)propyl]-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-amin;
 (2-{[2-(1-benzothiophen-3-yl)-9-(propan-2-yl)-9H-purin-6-yl]amino}ethyl)ure;
 N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-9-(propan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 N-(4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl)metan-sulfonamit;
 4-(2-(2-(pyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)propyl)phenol;
 4-(2-(9-(oxetan-3-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 N-(2-(1H-indazol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 4-(2-((9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-yl)(methylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenyl sulfamat;
 4-(2-(2-(2-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(1-methyl-1H-pyrol-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(9-isopropyl-2-(thiazol-5-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(2-(1H-benzo[d]imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(2-(2,4-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(9-isopropyl-2-(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

5-(9-sec-butyl-6-(4-hydroxy-3-methylphenethylamino)-9H-purin-2-yl)nicotinonitril;

N-(2-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

9-isopropyl-N-(2-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)ethyl)-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(2-(5-clopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(9-isopropyl-2-(5-(triflometyl)pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

5-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-9-sec-butyl-9H-purin-2-yl)nicotinonitril;

N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

(R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

(S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

(R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

(S)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-2-yl)nicotinonitril;

(R)-4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-3-methylphenol;

5-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitril;

3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)isonicotinonitril;
 3-(6-(4-hydroxyphenethylamino)-9-isopropyl-9H-purin-2-yl)picolinonitril;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(6-methylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(isoquinolin-4-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 2-clo-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 3-flo-4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 N-(2-(5-clo-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 N-(2-(5-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 4-(2-(9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol;
 4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 (S)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 (R)-4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol;
 (R)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol;
 (S)-2-(6-(2-(1H-indol-3-yl)ethylamino)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9H-purin-9-yl)propan-1-ol;
 (R)-N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-9H-purin-6-amin;
 4-(2-(2-(1H-imidazo[4,5-b]pyridin-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
 4-(2-(2-(4,5-dimethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

- 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(pyridin-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;
- 4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)-1-hydroxyethyl)phenol;
- 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-metox-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;
- 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(5-metox-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(prop-1-en-2-yl)-9H-purin-6-amin;
- 5-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)pyridin-2-ol;
- N-(2-(1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;
- N-(2-(6-(2-(diethylamino)etox)-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-sec-butyl-2-(2-metyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amin;
- 4-(2-(2-(2-ethyl-1H-imidazol-1-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 4-(2-(9-isopropyl-2-(2-propyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;
- 3-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-1H-indol-6-ol;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(5-metylpyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(2-metyl-1H-imidazol-1-yl)-9H-purin-6-amin;
- 2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(7-metyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;
- N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amin;

N-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-methylpyridin-3-yl)-9-(oxetan-3-yl)-9H-purin-6-amin;

N-(2-(6-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;

2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(6-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;

2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(2-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;

N-(2-(4-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;

N-(2-(7-flo-1H-indol-3-yl)ethyl)-2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-9H-purin-6-amin;

2-(5-flopyridin-3-yl)-9-isopropyl-N-(2-(4-methyl-1H-indol-3-yl)ethyl)-9H-purin-6-amin;

N-(2-(1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-5-yl)ethyl)-9-isopropyl-2-(pyridin-3-yl)-9H-purin-6-amin;

4-(2-(2-(5-flopyridin-3-yl)-9-(1-hydroxypropan-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)-2-methylphenol;

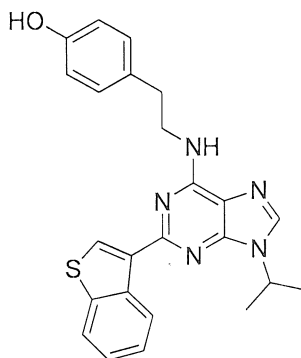
4-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-9-xyclohexyl-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol;

4-(2-(9-isopropyl-2-(thiophen-3-yl)-9H-purin-6-ylamino)ethyl)phenol; và

1-(2-(2-(benzo[b]thiophen-3-yl)-6-(4-hydroxyphenetyl-amino)-9H-purin-9-yl)ethyl)pyrrolidin-2-on;

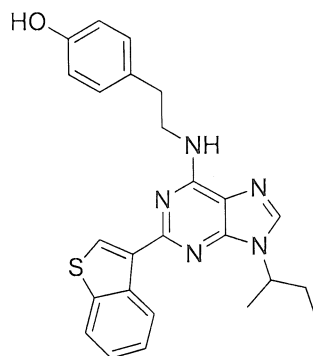
hoặc muối của chúng.

9. Hợp chất có công thức:



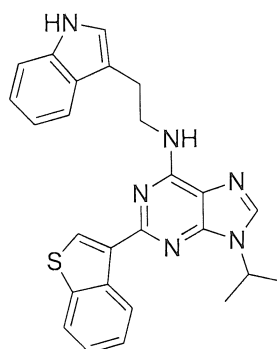
hoặc muối của nó.

10. Hợp chất có công thức:



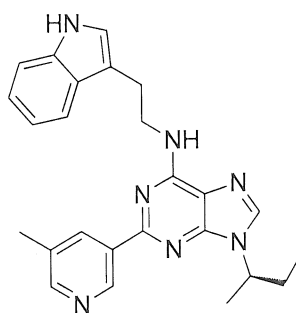
hoặc muối của nó.

11. Hợp chất có công thức:



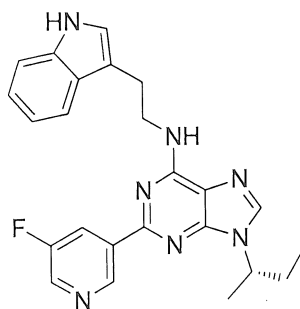
hoặc muối của nó.

12. Hợp chất có công thức:



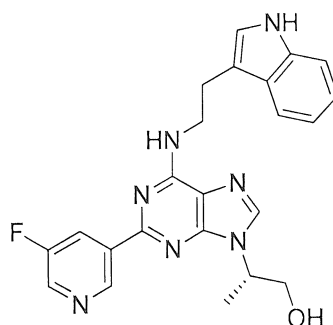
hoặc muối của nó.

13. Hợp chất có công thức:



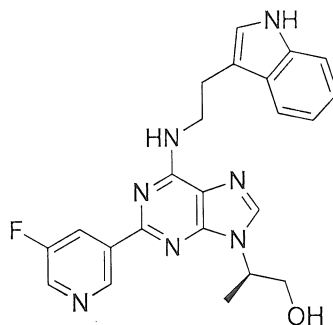
hoặc muối của nó.

14. Hợp chất có công thức:



hoặc muối của nó.

15. Hợp chất có công thức:



hoặc muối của nó.

16. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ống bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 8, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

17. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 9, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

18. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 10, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

19. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 11, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

20. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 12, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

21. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 13, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

22. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 14, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.

23. Phương pháp làm tăng số lượng tế bào mầm và tế bào thể hệ ông bà trong ống nghiệm hoặc ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho các tế bào mầm tiếp xúc với hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.
24. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 16 đến 23, trong đó các tế bào mầm thu được từ con người.
25. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 16 đến 23, trong đó các tế bào mầm thu được từ tủy xương.
26. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 16 đến 23, trong đó các tế bào mầm thu được máu dây rốn.
27. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 24 đến 26, trong đó các tế bào mầm là tế bào mầm tạo máu.
28. Phương pháp làm gia tăng số lượng tế bào mầm tạo máu ngoài cơ thể, trong đó phương pháp này bao gồm bước (a) tạo ra quần thể tế bào ban đầu chứa các tế bào mầm tạo máu và (b) nuôi cấy quần thể tế bào ban đầu này ngoài cơ thể với sự có mặt của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 dưới các điều kiện thích hợp để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu, trong đó hợp chất này có khả năng đối kháng hoạt tính và/hoặc mức biểu hiện thụ thể aryl hydrocarbon và/hoặc chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon.
29. Phương pháp theo điểm 28, trong đó chất tác động xuôi dòng của con đường thụ thể aryl hydrocarbon được chọn từ Cyp1B1, Cyp1A1, Beta catenin, AHRR, STAT5 và STAT1.
30. Phương pháp theo điểm 28 hoặc 29, trong đó quần thể tế bào ban đầu được làm giàu trong tế bào CD34+.
31. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 30, trong đó quần thể tế bào ban đầu thu được từ các tế bào máu dây rốn.
32. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 31, trong đó quần thể tế bào ban đầu thu được từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn.

33. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 30, trong đó quần thể tế bào ban đầu thu được từ các tế bào máu ngoại vi được huy động.
34. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 30, trong đó quần thể tế bào ban đầu chủ yếu chứa các tế bào CD34+ được tinh chế từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn.
35. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 30, trong đó quần thể tế bào ban đầu chủ yếu chứa các tế bào CD34+ được tinh chế từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn bằng cách sử dụng cột sắc ký ái lực hoặc các hạt có từ tính chứa các mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên CD34.
36. Phương pháp theo điểm 33, trong đó các tế bào máu ngoại vi được huy động thu được từ đối tượng động vật có vú.
37. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 30, trong đó các điều kiện để tăng số lượng tế bào mầm tạo máu bao gồm nuôi cấy quần thể tế bào ban đầu với sự có mặt đủ lượng IL6, Flt3-L, TPO và SCF và hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15.
38. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 36, trong đó hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1pM đến 100μM.
39. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 36, trong đó hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ nằm trong khoảng từ 100pM đến 1μM.
40. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 39, trong đó quần thể tế bào ban đầu chủ yếu chứa các tế bào CD34+ được tinh chế từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, và quần thể tế bào ban đầu được nuôi cấy với sự có mặt của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 trong khoảng thời gian từ 3 ngày đến 90 ngày.
41. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 39, trong đó quần thể tế bào ban đầu chủ yếu chứa các tế bào CD34+ được tinh chế từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, và quần thể tế bào ban đầu được nuôi cấy với sự có mặt của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 trong khoảng thời gian từ 7 ngày đến 35 ngày.

42. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 39, trong đó quần thể tế bào ban đầu được nuôi cấy với sự có mặt của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 trong thời gian đủ để tăng số lượng tế bào CD34+ từ 10 đến 50000 lần.
43. Kit để làm gia tăng số lượng tế bào mầm tạo máu, chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15 và bản hướng dẫn sử dụng trong phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 42, và, tùy ý, một hoặc nhiều chất sau: các xytokin, các yếu tố sinh trưởng và môi trường sinh trưởng của tế bào.
44. Kit theo điểm 43, trong đó một hoặc nhiều xytokin hoặc các yếu tố sinh trưởng này được chọn từ nhóm bao gồm IL6, Flt3-L, SCF và TPO.
45. Quần thể tế bào chứa các tế bào mầm tạo máu được làm gia tăng thu được bằng phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm 28 đến 42.
46. Chế phẩm chứa quần thể tế bào theo điểm 45 được tái lơ lửng trong môi trường được dụng thích hợp để sử dụng cho vật chủ là động vật có vú.
47. Chế phẩm chứa quần thể tế bào có các tế bào mầm tạo máu được làm gia tăng và hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 15.
48. Chế phẩm theo điểm 47, trong đó quần thể tế bào chứa tế bào mầm tạo máu được làm gia tăng thu được từ một hoặc hai đơn vị máu dây rốn, trong đó chế phẩm này chứa tổng lượng tế bào gồm ít nhất 10^5 tế bào, và trong đó từ 20 đến 100% tổng số tế bào là tế bào CD34+.
49. Chế phẩm theo điểm 48, trong đó chế phẩm này chứa từ 0,1% đến 40% tổng số tế bào biểu hiện CD34 và dấu chuẩn Thy1; từ 20 đến 80% tổng số tế bào biểu hiện CD34 và dấu chuẩn CD45RA; từ 10 đến 95% số tế bào là CD38+; và từ 5 đến 70% số tế bào là CD133+.