



(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)



1-0038133

(51)⁷ A61K 31/045; A61K 31/495; A61K
31/53; A61K 31/435

(13) B

(21) 1-2014-04399

(22) 04/06/2013

(86) PCT/KR2013/004932 04/06/2013

(87) WO/2013/183920 A1 12/12/2013

(30) 10-2012-0060314 05/06/2012 KR

(45) 25/01/2024 430

(43) 25/06/2015 327A

(73) SHIN POONG PHARMACEUTICAL CO., LTD. (KR)

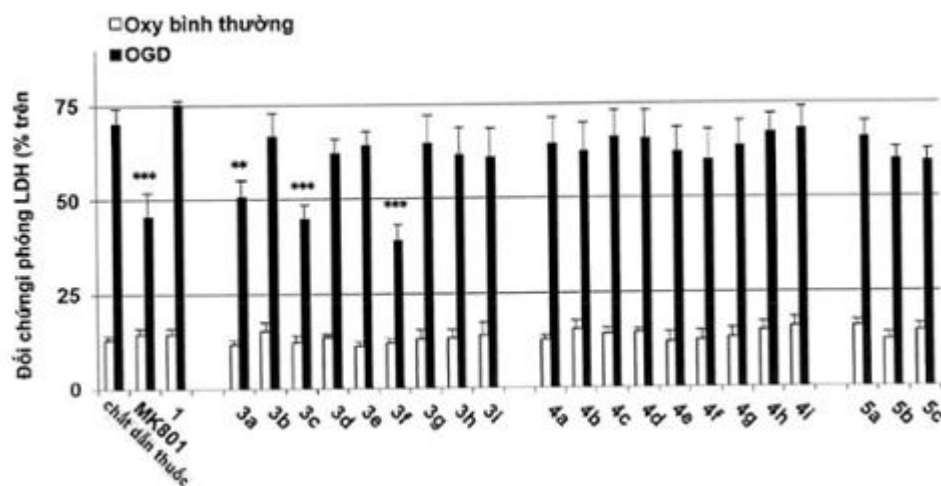
7, Wonsi-ro, Danwon-gu, Ansan-si, Gyeonggi-do, 15610, Republic of Korea

(72) KIM, Won Ki (KR); CHOI, Yongseok (KR); SONG, Sumi (KR).

(74) Công ty TNHH Quốc tế D & N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) HỢP CHẤT VERBENON, DƯỢC PHẨM VÀ THỰC PHẨM CHỨC NĂNG CHỨA
NÓ ĐỂ ĐIỀU TRỊ HOẶC NGĂN NGỪA BỆNH THOÁI HÓA THẦN KINH

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm hoặc thực phẩm chức năng chứa hợp chất verbenon và muối dược dụng của nó đóng vai trò như các hoạt chất để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh thoái hóa thần kinh. Cụ thể hơn là, hợp chất verbenon theo sáng chế làm giảm sự chết tế bào thần kinh và sự mất cân bằng oxy hóa, và có hiệu quả cao trong việc ngăn ngừa tổn thương não do thiếu máu cục bộ và sự di trú của tế bào viêm ở chuột, qua đó đề xuất được phẩm hoặc thực phẩm chức năng có ích trong điều trị bệnh thoái hóa thần kinh.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất verbenon để điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, và cụ thể hơn đề cập đến dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, dược phẩm này chứa hợp chất verbenon hoặc muối của nó, chất này có tác dụng ức chế sự chết tế bào thần kinh gây ra bởi độc tính kích thích, ức chế sự mất cân bằng oxy hóa, và ức chế sự di trú hoặc sự thâm nhiễm của các tế bào viêm nội mạch (ví dụ, đại thực bào và bạch cầu trung tính) vào vùng não bị tổn thương, và sáng chế còn đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh bằng cách sử dụng dược phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh thoái hóa thần kinh là bệnh liên quan đến tuổi tác gây ra bởi sự hoạt động bất thường của các tế bào thần kinh, và mối quan tâm của xã hội về bệnh thoái hóa thần kinh ngày càng gia tăng cùng với sự tăng lên nhanh chóng của dân số già. Bệnh thoái hóa thần kinh được phân loại theo các triệu chứng lâm sàng chính và các vùng não bị ảnh hưởng, bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, đa xơ cứng và xơ cứng cột bên teo cơ.

Bệnh thoái hóa thần kinh được biết là gây ra bởi sự chết của các tế bào thần kinh quan trọng nhất trong việc truyền thông tin trong hệ thần kinh sọ não, bởi khiếm khuyết trong sự hình thành hoặc các chức năng của khớp thần kinh mà truyền thông tin giữa các tế bào thần kinh, và bởi sự khác thường hoặc sụt giảm hoạt động điện của các tế bào thần kinh, nhưng vẫn khó điều trị triệt để, và nguyên nhân của bệnh cũng vẫn chưa rõ ràng.

Với sự phát triển gần đây của ngành sinh học phân tử và tế bào, nguyên nhân của bệnh thoái hóa thần kinh và việc phát triển các tác nhân điều trị chống lại bệnh thoái hóa thần kinh đã được tích cực nghiên cứu. Các nghiên cứu về việc phát triển các tác nhân điều trị chống lại bệnh thoái hóa thần kinh được tập trung chủ yếu vào các hướng sau: (1) kích thích hoạt động tiết axetylcholin; (2) kháng các thụ thể NMDA (N-metyl-D-aspartat); (3) nghiên cứu sinh học phân tử và tế bào về sự chuyển hóa của protein β -amyloid hoặc protein Tau, và phát triển vaccin và kháng thể điều trị kháng lại protein sinh ra β -amyloid như kháng nguyên; (4) cảm ứng sự biểu hiện của yếu tố dinh dưỡng thần kinh; (5) phát triển chất chống oxy hóa có khả năng ức chế tổn thương oxy hóa đối với các tế bào thần kinh do protein gây ra; và (6) phát triển các thuốc kháng viêm có khả năng ức chế phản ứng viêm do sự thâm nhiễm quá mức và hoạt động của các tế bào viêm (Sonkusare et al., *Pharmacological Research*, 51(1), 1-17, 2005; Stanaione et al., *Ann Ist Super Sanita*, 47(1), 49-54, 2011; Halperin et al., *Neurotherapeutics*, 6(1), 128-140, 2009).

Chất ức chế AChE, chất này là tác nhân tiết axetylcholin, ức chế sự phân hủy của ACh và do đó khôi phục hoạt động của chất dẫn truyền thần kinh tiết axetylcholin. Các chất ức chế AChE như tacrine, donepezil, rivastigmin và galantamin đã được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) công nhận và đang được bán trên thị trường.

Báo cáo cho thấy sự mất cân bằng oxy hóa là nguyên nhân chủ yếu của bệnh thoái hóa thần kinh của hệ thần kinh trung tâm, ví dụ như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, và bệnh Huntington (Jin DQ et al., *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 331, 1264-1269; Lim CS et al., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29, 1212-1216, 2006).

Số bệnh nhân mắc các bệnh mạch máu thiếu máu cục bộ (nhồi máu cơ tim, đột quỵ và nghẽn mạch) trên thế giới là 25 triệu người vào năm 2007, và con số này được dự đoán sẽ tiếp tục tăng lên đến 28 triệu người vào năm 2017 (DataMonitor, 2007). Ở hầu

hết các quốc gia thuộc Tổ chức hợp tác và phát triển kinh tế (OECD), các bệnh mạch máu thiếu máu cục bộ là nguyên nhân hàng đầu dẫn đến tử vong (226,6 người trên 100.000 người vào năm 2004), đứng sau là bệnh ung thư (165,6 người). Đột quỵ được chia thành đột quỵ xuất huyết - đặc trưng bởi tổn thương mô não do vỡ mạch máu não, và đột quỵ thiếu máu cục bộ tức là nhồi máu não do tắc dòng chảy của máu vào não. Đột quỵ là căn bệnh có tỷ lệ mắc phải rất cao, đột quỵ cùng với ung thư là nguyên nhân đứng đầu hoặc đứng thứ hai dẫn đến tử vong mỗi năm ở Hàn Quốc (số liệu từ năm 2002 đến 2008 của Cục Thống kê Quốc gia Hàn Quốc), và Hàn Quốc đứng thứ hai trong số các quốc gia thuộc OECD về tỷ lệ tử vong do đột quỵ. Theo báo cáo năm 2008 của Hiệp hội Tim mạch Hoa Kỳ (American Heart Association - AHA), 65,5 tỷ đô la tiêu tốn mỗi năm cho bệnh đột quỵ để điều trị và chăm sóc các bệnh mạch máu thiếu máu cục bộ, nhưng thị trường tác nhân điều trị bệnh đột quỵ chỉ chiếm 1,3 tỷ đô la. Do đó, đã có những nỗ lực tích cực để phát triển các tác nhân điều trị đột quỵ thiếu máu cục bộ, thị trường tiềm năng của các tác nhân điều trị này sẽ có quy mô là 22 tỷ đô-la hoặc nhiều hơn nếu có bất kỳ tác nhân điều trị nào có hiệu quả được kiểm chứng ra mắt thị trường trong một vài năm tới.

Ở Hàn Quốc, đột quỵ là nguyên nhân hàng đầu dẫn đến tử vong, thứ hạng này cao hơn cả ở những nước phát triển mạnh bao gồm Hoa Kỳ, Canada, Úc và các nước tương tự khác. Đột quỵ phá hủy chất lượng cuộc sống bằng cách gây ra tổn thương đến dây thần kinh vận động và các chức năng cảm giác, và sự bất thường trong các chức năng bậc cao hơn như ghi nhớ, nhận thức, vận động và suy luận, và gây ra nhiều nỗi đau về mặt thể xác và tinh thần cho bệnh nhân và gia đình của họ cho đến khi bệnh nhân đó qua đời. Trong những năm gần đây, khi dân số già ngày càng tăng nhanh, tỷ lệ đột quỵ và việc tăng thời gian sống sót sau khi bị đột quỵ trở thành một vấn đề lớn của xã hội. Do đó, cần phải phát triển các thuốc điều trị để làm thuyên giảm các triệu chứng và điều trị bệnh đột quỵ.

Mặc dù ý nghĩa lâm sàng của bệnh đột quỵ và quy mô thị trường lớn như được nêu trên, sự phát triển của các tác nhân điều trị bệnh đột quỵ vẫn không đáng kể, và các

tác nhân điều trị bệnh đột quy được chấp nhận về mặt lâm sàng chỉ bao gồm chất hoạt hóa plasminogen mô (tissue plasminogen activator - t-PA). Đột quy là do nhiều nguyên nhân khác nhau gây ra, và gồm nhiều bệnh lý với các yếu tố bệnh nguyên khác nhau bao gồm nhồi máu não, xuất huyết não, xuất huyết dưới màng nhện và các nguyên nhân tương tự. Ngoài ra, đột quy có thể do nhiều bệnh mạch máu não khác nhau gây ra, bao gồm xơ cứng động mạch, bệnh mạch máu não dạng tinh bột và đứt động mạch chủ, và cũng có thể do chứng nghẽn mạch từ tim do chứng loạn nhịp tim hoặc bệnh động mạch vành gây ra. Nguyên nhân gây ra đột quy rất đa dạng như được mô tả trên đây, nhưng theo quan điểm sinh học tế bào, sự sụt giảm nguồn cung cấp máu và dẫn đến chết tế bào được xem là cơ chế chung. Vì lý do này, việc hiểu cơ chế của sự chết tế bào thần kinh do thiếu máu cục bộ là kỹ thuật cốt lõi để phát triển chiến lược điều trị để ngăn ngừa, kiểm soát và điều trị đột quy.

Ở Hàn Quốc và một số nước khác, nhiều nhóm nghiên cứu đã nỗ lực tìm cách ngăn ngừa các bệnh về não bằng cách nghiên cứu cơ chế của sự chết tế bào thần kinh nêu trên. Trong trường hợp đột quy, tác nhân điều trị đặc hiệu chưa được tìm ra, và nhiều bác sĩ lâm sàng miễn cưỡng dùng t-PA, tác nhân điều trị duy nhất này được sử dụng lâm sàng để làm tan cục huyết khối sinh ra trong mạch máu não, do t-PA có các tác dụng phụ như xuất huyết não. Cho đến nay, nhiều nhóm nghiên cứu đã cố gắng phát triển tác nhân điều trị đột quy dựa trên cả chất đối kháng với thụ thể axit glutamic là chất dẫn truyền thần kinh kích thích, và chất chống oxy hóa, nhưng những cố gắng này của họ đã thất bại do hiệu quả không đáng kể hay độc tính của thuốc.

Thời gian cần thiết để đưa bệnh nhân đột quy đến phòng cấp cứu bệnh viện sau khi bị đột quy thường là vài tiếng hoặc lâu hơn. Trong vài phút đến vài giờ sau khi bị đột quy, các tế bào thần kinh bị tổn thương sơ cấp bởi độc tố thần kinh kích thích gây ra bởi sự giải phóng quá mức axit glutamic, và bị tổn thương thứ cấp do tiếp xúc quá mức với oxy và các gốc nitơ sinh ra theo thời gian. Sau vài chục giờ, các tế bào thần kinh bị tổn

thương liên tục và nghiêm trọng do các phản ứng viêm, và trong trường hợp này, việc dùng thuốc ức chế độc tính thần kinh kích thích là vô nghĩa về mặt lâm sàng.

Như được nêu trên, đột quy không phải là bệnh gây ra bởi một yếu tố đơn nhất, mà là bệnh dẫn đến tổn thương não bởi nhiều con đường và cơ chế gây chết tế bào khác nhau. Trong những năm gần đây, đã có những cố gắng để đạt được hiệu quả điều trị đồng vận chống đột quy bằng cách sử dụng kết hợp các thuốc với các cơ chế khác nhau. Chẳng hạn như, việc dùng aspirin kết hợp với dipyridamol đã cho thấy tiến triển có lợi cho bệnh đột quy hơn là chỉ dùng mỗi aspirin (Chatuvedi S., *Clin Therap*, 30(7), 1196-205, 2008). Ngoài ra, việc kết hợp 17 β -estradiol và t-PA đã kéo dài cửa sổ thời gian điều trị cho các bệnh nhân bị đột quy thiếu máu cục bộ, do 17 β -estradiol làm giảm xuất huyết não do sự tăng biểu hiện của urokinaza gây ra, MMP2 và MMP9 do t-PA gây ra (Liu R. et al., *J Pharmacol Exp Ther*, 332(3), 1006-12, 2010). Việc dùng Memantin (là chất đối kháng thụ thể NMDA) kết hợp với Clenbuterol (là chất đối kháng thụ thể beta 2 beta-adrenalin) đã cho thấy hiệu quả đồng vận trong việc ức chế tổn thương não do thiếu máu cục bộ ở mô hình ổ thiếu máu cục bộ kéo dài. Việc dùng memantin kết hợp với chất phong bế ion canxi Topiramate cũng cho thấy hiệu quả đồng vận trong việc ức chế tổn thương não do sự giảm oxy-huyết gây ra ở chuột sơ sinh (Culmsee C. et al., *Stroke*, 35(5), 1197-202, 2004). Tuy nhiên, những nghiên cứu này chủ yếu nhằm mục đích làm thuyên giảm triệu chứng, và không cho thấy các hiệu quả đồng vận dựa trên các cơ chế bảo vệ mô não.

Để hiểu về tổn thương mô não thiếu máu cục bộ gây ra bởi chứng thiếu máu cục bộ và để phát triển thuốc ức chế tổn thương mô não này, cơ chế và quá trình tổn thương mô não sau khi bị thiếu máu cục bộ cần được hiểu rõ. Nhìn chung, tổn thương hoặc sự chết tế bào não sau khi bị thiếu máu cục bộ là do nhiều yếu tố khác nhau gây ra. Chẳng hạn như, độc tính kích thích, khử cực quanh ổ nhồi máu, sự mất cân bằng oxy hóa và viêm được biết là liên quan tới sự phát triển tổn thương não do thiếu máu cục bộ (Dirnagl

et al., *Trends Neurosci.*, 22, 391-397, 1999). Do đó, điều cốt yếu là phải hiểu được biên độ thời gian rất đa dạng (ví dụ, phát bệnh và kéo dài) và phải phá vỡ đợt bệnh lý của chúng một cách phù hợp.

Sự chết tế bào thần kinh do độc tính kích thích có thể được ức chế bằng chất đối kháng thụ thể glutamat, và các thụ thể ion mà trên đó glutamat hoạt động là AMPA (axit α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-iso-xazolepropionic), kainat và các thụ thể NMDA (N-metyl-D-aspartat). Cụ thể là, nhiều nghiên cứu về sự chết tế bào do hoạt động của thụ thể NMDA đã được tiến hành (Standridge J.B., *Clin. Ther.*, 26(5), 615-630, 2004). Tuy nhiên, bất chấp các nỗ lực này, các thuốc ức chế thụ thể NMDA đã không thành công trong các thử nghiệm lâm sàng, do chúng có tác dụng không đáng kể hoặc có độc tính. Thuốc ức chế thụ thể NMDA MK-801 làm giảm đáng kể tổn thương não do thiếu máu cục bộ, nhưng có bất lợi lớn về cửa sổ thời gian điều trị sơ bộ. MK-801 đã cho thấy tác dụng bảo vệ tế bào thần kinh ở chuột và chuột nhảy chỉ khi nó được dùng trong vòng một giờ sau khi bị thiếu máu cục bộ khu trú (Margaill et al., *J Cereb Blood Flow Metab*, 16, 107-113, 1996; Hatfield RH et al., *Eur J Pharmacol*, 216, 1-7, 1992). MK-801 cũng trì hoãn sự chết tế bào thần kinh sau thiếu máu cục bộ, nhưng không cải thiện sự phục hồi thần kinh hay khả năng sống sót cuối cùng sau vài tuần điều trị (Valtysson J. et al., *Acta Neurochir (Wien)*, 129, 58-63, 1994; Von Lubitz DK et al., *Eur J Pharmacol*, 233, 95-100, 1993). Các thụ thể của axit glutamic dẫn truyền thần kinh kích thích bao gồm thụ thể AMPA và thụ thể NMDA. Các chất đối kháng các thụ thể AMPA không cho thấy các tác dụng bảo vệ đáng kể chống lại khiếm khuyết thần kinh 28 ngày sau MCAO (Colbourne F et al., *Stroke*, 30, 662-668, 1999). Cửa sổ điều trị ngắn và sự thiếu hiệu quả điều trị lâu dài của các chất đối kháng thụ thể NMDA và AMPA chỉ ra rằng các thụ thể này chỉ đóng vai trò thoáng qua trong đợt thiếu máu cục bộ ban đầu. Do đó, các quá trình sinh lý bệnh khác, mà không bị ảnh hưởng bởi các phép điều trị này, được cho là góp phần vào tổn thương não do thiếu máu cục bộ trễ.

Như nhiều bệnh suy thoái khác, sự mất cân bằng oxy hóa có ảnh hưởng lớn đến sự chết hoặc mất chức năng tế bào trong đột quy. Do đó, các nghiên cứu về các hiệu quả điều trị của các chất chống oxy hóa đối với bệnh đột quy do thiếu máu cục bộ đã được tích cực tiến hành (Salama M. et al., *Co-Enzyme Q10 to Treat Neurological Disorders: Basic Mechanisms, Clinical Outcomes, and Future Research Direction*, CNS Neurol Disord Drug Targets, 2013; Rodrigo R. et al., *Oxidative Stress and Pathophysiology of Ischemic Stroke: Novel Therapeutic Opportunities*, CNS Neurol Disord Drug Targets, 2013). Ở Nhật Bản, edaravon có cơ chế chính là tác dụng chống oxy hóa được bán trên thị trường như một tác nhân điều trị đột quy (Firuzi O et al., *Curr Med Chem.*, 18(25), 3871-88, 2011; Yoshida H. et al., *CNS Drug Rev.*, 12(1), 9-20. 2006).

Vài giờ sau khi nhiễm độc thần kinh kích thích sau khi thiếu máu cục bộ, phản ứng viêm bắt đầu xảy ra ở vùng não bị tổn thương, và tiếp tục trong vài ngày đến vài tuần, làm tổn thương não nặng thêm. Do đó, trong những năm gần đây, các nỗ lực điều trị đột quy do thiếu máu cục bộ bằng cách sử dụng các tác nhân kháng viêm đã được tích cực thực hiện (Price CJ et al., *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74, 1476-1484, 2003; Salama M, *Co-Enzyme Q10 to Treat Neurological Disorders: Basic Mechanisms, Clinical Outcomes, and Future Research Direction*, CNS Neurol Disord Drug Targets, 2013; Rodrigo R. et al., *Oxidative Stress and Pathophysiology of Ischemic Stroke: Novel Therapeutic Opportunities*, CNS Neurol Disord Drug Targets, 2013). Ngoài ra, báo cáo gần đây cũng cho thấy các tế bào viêm thâm nhiễm từ mạch máu đóng vai trò chính trong việc làm trầm trọng thêm tổn thương não ở bệnh đột quy (Kang GH et al., *J Neurol Sci.*, 15, 318(1-2), 25-30, 2012; Choi IY et al., *Am J Pathol*, 179(4), 2042-52, 2012; Choi YK et al., *Free Radic Res.*, 44(8), 925-35, 2010; Choi IY et al., *Free Radic Res.*, 44(5), 541-51, 2010; Lee JC et al., *Glia*, 50(2), 168-81, 2005). Hơn nữa, báo cáo cho thấy các phản ứng kháng viêm do thụ thể cannabinoid B2 ức chế tổn thương đến mô não thiếu máu cục bộ (Choi IY et al., *Am J Pathol*, 182(3), 928-39, 2013).

Do đó, sự phát triển các thuốc có nhiều hoạt tính bảo vệ tế bào khác nhau được xem là cần thiết cho phép điều trị bệnh đột quy hoàn chỉnh. Nhằm đạt được mục đích này, nghĩa là, nhằm phát triển một loại thuốc điều trị đa hiệu có nhiều cơ chế bảo vệ tế bào khác nhau, các tác giả đã phát triển dẫn xuất của (1*S*)-(-)-verbenon. (1*S*)-(-)-verbenon là pheromon chống kết tụ tự nhiên tạo ra bởi bộ cánh cứng từ tiền chất nhựa cây chủ, alpha-pinen. Các tinh dầu chứa (1*S*)-(-)-verbenon đã được thông báo là thể hiện các hoạt tính sinh học như hoạt tính kháng khuẩn hay hoạt tính trừ sâu (Bernarde WA, *Z Naturforsch C*, 65, 588-93, 2010; Martinez-Velazquez M., *J Med Entomol*, 48, 822-827, 2011). Ngoài ra, công bố đơn quốc tế WO 2000/63159 bộc lộ rằng verbenon [(1*S*, 5*S*)-4,6,6-trimethylbicyclo[3.3.3] hept-3-en-2on) và các dẫn xuất của nó có các hiệu quả kháng viêm ở đường thở.

Tuy nhiên, tài liệu patent trên không bộc lộ hay gợi ý tác dụng của các dẫn xuất verbenon lên việc làm giảm sự chết tế bào thần kinh và sự mất cân bằng oxy hóa, sự ức chế tổn thương não do thiếu máu cục bộ và sự ức chế sự di trú của các tế bào viêm.

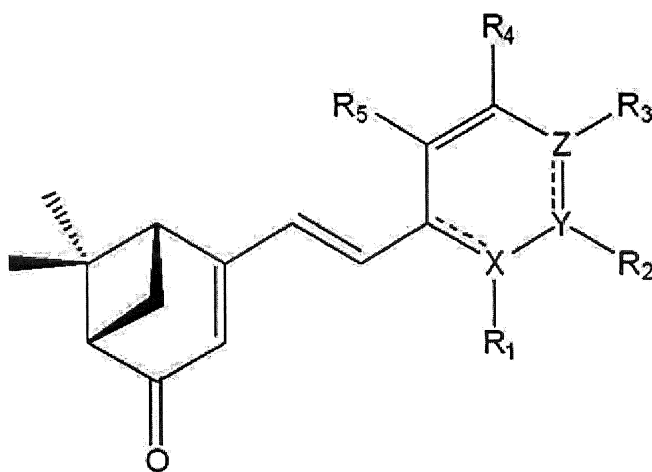
Theo đó, các tác giả đã đo độc tính kích thích gây ra bởi NMDA và sự chết tế bào ở mô hình chuột bị thiếu máu cục bộ và giảm oxy-huyết nhằm kiểm chứng tác dụng của các dẫn xuất verbenon lên việc làm giảm sự chết tế bào thần kinh và sự mất cân bằng oxy hóa và sự ức chế tổn thương não do thiếu máu cục bộ và các phản ứng viêm, và tiến hành thử nghiệm về hoạt tính chống oxy hóa của các dẫn xuất verbenon. Kết quả là, các tác giả đã lần đầu tiên phát hiện ra rằng các dẫn xuất verbenon có ảnh hưởng đến việc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh. Cụ thể hơn là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng các dẫn xuất verbenon theo sáng chế làm giảm sự chết tế bào thần kinh và sự mất cân bằng oxy hóa, và có các tác dụng vượt trội lên sự ức chế tổn thương não do thiếu máu cục bộ và các phản ứng viêm *in vivo*, qua đó hoàn thiện sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất việc sử dụng dẫn xuất verbenon trong việc ngăn ngừa và điều trị bệnh thoái hóa thần kinh.

Nhằm đạt được mục đích này, sáng chế đề xuất được phẩm ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, được phẩm này chứa dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính:

Công thức 1



trong đó mỗi R_1 , R_2 , R_3 , R_4 và R_5 độc lập ít nhất là một gốc được chọn từ nguyên tử hydro, nguyên tử halogen được chọn từ F, Cl, Br và I, nhóm hydroxyl, nhóm ankyl C_1 - C_3 , nhóm alkoxy C_1 - C_3 , nhóm amino, nhóm ankylamin C_1 - C_3 , nhóm ankyldiamin C_1 - C_3 , vòng thơm C_5 - C_8 , mạch vòng C_5 - C_8 , và dị vòng thơm C_5 - C_8 ; mỗi X, Y và Z độc lập là nguyên tử cacbon hoặc ít nhất là một dị nguyên tử được chọn từ nhóm gồm các nguyên tử N, O và S; và  biểu thị liên kết đôi hoặc liên kết đơn.

Theo sáng chế, dẫn xuất verbenon nêu trên có thể có chức năng làm giảm sự chết tế bào thần kinh và sự mất cân bằng oxy hóa, sự ức chế tổn thương não do thiếu máu cục bộ, và sự ức chế sự di trú của các tế bào viêm.

Theo sáng chế, bệnh thoái hóa thần kinh có thể là đột quỵ, liệt, sa sút trí tuệ, bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson hay bệnh Huntington. Cụ thể là, bệnh thoái hóa thần

kinh có thể là đột quy, sa sút trí tuệ do mạch hoặc sa sút trí tuệ loại do bệnh Alzheimer. Cụ thể hơn, bệnh thoái hóa thần kinh có thể là đột quy, và cụ thể hơn nữa là bệnh đột quy do thiếu máu cục bộ.

Theo sáng chế, dược phẩm này còn có thể chứa chất dẫn thuốc, tá dược hoặc chất pha loãng phù hợp thường được dùng trong bào chế dược phẩm.

Theo sáng chế, dược phẩm này có thể được bào chế hoặc được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều loại thuốc được chọn từ nhóm gồm các thuốc phong bế kênh canxi, các chất chống oxy hóa, các chất kháng glutamat, các thuốc chống kết tụ, các thuốc chống tăng huyết áp, các thuốc chống huyết khối, các thuốc kháng histamin, các thuốc kháng viêm, các thuốc chống ung thư và các loại kháng sinh.

Sáng chế cũng đề xuất sử dụng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối dược dụng của nó để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp ngăn ngừa và điều trị bệnh thoái hóa thần kinh bằng cách sử dụng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp ngăn ngừa và điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, phương pháp bao gồm cho đối tượng dùng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng đề xuất thực phẩm chức năng để ngăn ngừa hoặc làm giảm bệnh thoái hóa thần kinh, thực phẩm chức năng này bao gồm dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 làm thành phần hoạt tính.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế lên sự bảo vệ các tế bào thần kinh vỏ não của chuột.

Fig.2 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế chống lại độc tính kích thích gây ra bởi NMDA.

Fig.3 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế lên việc ức chế sự mất cân bằng oxy hóa nội bào.

Fig.4 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế lên việc làm giảm tổn thương do thiếu máu cục bộ, phù não và khiếm khuyết thần kinh trong mô hình ổ thiếu máu não cục bộ *in vivo*.

Fig.5 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế lên sự tăng hoạt tính chống oxy hóa trong mô não bị tổn thương do thiếu máu cục bộ trong mô hình ổ thiếu máu não cục bộ *in vivo*.

Fig.6 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế trong việc ức chế sự di trú và sự thâm nhiễm của các tế bào viêm vào mô não bị tổn thương do thiếu máu cục bộ trong mô hình ổ thiếu máu não cục bộ *in vivo*.

Fig.7 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế trong việc ức chế sự biểu hiện xytokin trong mô não bị tổn thương do thiếu máu cục bộ trong mô hình ổ thiếu máu não cục bộ *in vivo*.

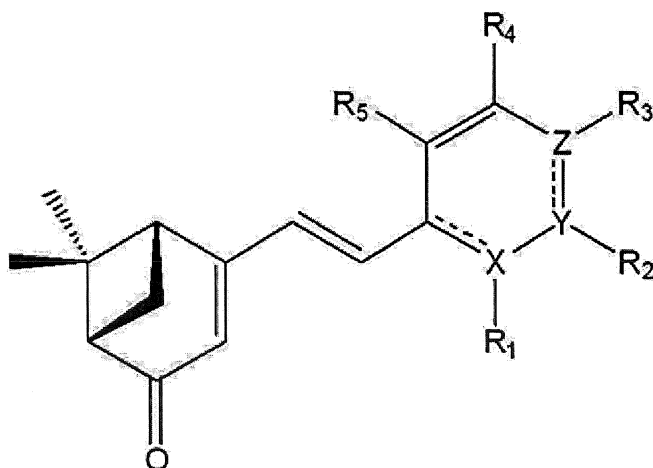
Fig.8 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế trong việc ức chế sự tăng tính thấm của hàng rào máu - não quanh mô não bị tổn thương do thiếu máu cục bộ trong mô hình ổ thiếu máu não cục bộ *in vivo*.

Fig.9 thể hiện tác dụng của các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế lên sự tăng tỷ lệ sống sót lâu dài và khả năng phục hồi thần kinh của chuột có tổn thương do thiếu máu cục bộ trong mô hình ổ thiếu máu não cục bộ *in vivo*.

Fig.10 thể hiện các hợp chất dẫn xuất theo sáng chế không thể hiện sự tăng đáng kể trong khu vực khối tụ máu gây ra bởi máu tự thân trong mô hình đột quy xuất huyết *in vivo*.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến việc sử dụng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1:

Công thức 1

trong đó mỗi R_1 , R_2 , R_3 , R_4 và R_5 độc lập ít nhất là một gốc được chọn từ nguyên tử hydro, nguyên tử halogen được chọn từ F, Cl, Br và I, nhóm hydroxyl, nhóm ankyl C_1 - C_3 , nhóm alkoxy C_1 - C_3 , nhóm amino, nhóm ankylamin C_1 - C_3 , nhóm ankylidiamin C_1 - C_3 , vòng thơm C_5 - C_8 , mạch vòng C_5 - C_8 , và dị vòng thơm C_5 - C_8 ; mỗi X, Y và Z độc lập là một nguyên tử cacbon hoặc ít nhất là một dị nguyên tử được chọn từ nhóm gồm các nguyên tử N, O và S; và  biểu thị liên kết đôi hoặc liên kết đơn.

Trong số các hợp chất thuộc định nghĩa của Công thức 1, tốt hơn là các hợp chất trong đó mỗi R_1 , R_2 , R_3 , R_4 và R_5 độc lập ít nhất là một nhóm được chọn từ nhóm gồm nguyên tử hydro, nguyên tử halogen được chọn từ F, Cl, Br và I, nhóm hydroxyl, nhóm methyl, nhóm etyl, nhóm metoxy, nhóm etoxy, nhóm amino, vòng thơm C_5 - C_6 , mạch vòng C_5 - C_6 , và dị vòng thơm C_5 - C_6 , và tốt hơn nữa ít nhất là một nhóm được chọn từ hydro, nguyên tử halogen được chọn từ F, Cl, Br và I, nhóm hydroxyn, nhóm methyl, nhóm metoxy, nhóm phenyl, nhóm pyrrole, nhóm pyridin; và mỗi X, Y và Z độc lập có một

nguyên tử cacbon hoặc ít nhất là một dị nguyên tử được chọn từ nhóm gồm các nguyên tử N, O và S; và tốt hơn nữa là ít nhất là một nguyên tử được chọn từ nhóm gồm nguyên tử cacbon và nguyên tử N.

Tốt nhất là, hợp chất thuộc nhóm của các hợp chất thuộc định nghĩa của Công thức 1 được chọn từ các hợp chất sau:

(1S,5R)-4-(4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3a);

(1S,5R)-4-(4-hydroxy-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3b);

(1S,5R)-4-(3,4-dihydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3c);

(1S,5R)-4-(3-Brom-4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3d);

(1S,5R)-4-(4-hydroxy-2,6-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3e);

(1S,5R)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3f);

(1S,5R)-4-(3-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3g);

(1S,5R)-4-(2-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3h);

(1S,5R)-4-(2-hydroxy-4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3i);

(1S,5R)-6,6-dimethyl-4-styryl-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4a);

(1S,5R)-4-(4-fluorostyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4b);

(1S,5R)-4-(4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4c);

(1S,5R)-4-(2-(biphenyl-4-yl)vinyl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4d);

(1S,5R)-4-(4-(1H-pyrrol-1-yl)styryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4e);

(1S,5R)-4-(3,4-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4f);

(1S,5R)-4-(3,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4g);

(1S,5R)-4-(2,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4h);

(1S,5R)-4-(5-brom-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(4i);

(1S,5R)-6,6-dimethyl-4-((E)-2-(pyridin-2-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5a);

(1S,5R)-6,6-dimethyl-4-((E)-2-(pyridin-3-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5b); và

(1S,5R)-6,6-dimethyl-4-((E)-2-(pyridin-4-yl)-vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5c).

Các hợp chất mới được biểu diễn bởi Công thức 1 có thể được điều chế dưới dạng muối được dụng hoặc các solvat theo các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực này.

Tốt hơn là, muối được dụng là muối cộng axit được tạo ra với axit tự do được dụng. Muối cộng axit có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp thông thường, ví dụ, bằng cách hòa tan hợp chất trong lượng dung dịch axit dư để tạo ra muối và kết tủa muối này nhờ sử dụng dung môi hữu cơ có thể pha trộn với nước, ví dụ như metanol, etanol, axeton hoặc axetonitril. Hoặc là, muối cộng axit có thể được tạo ra bằng cách nung nóng lượng đẳng mol của hợp chất và một axit trong nước hoặc cồn (ví dụ, glycol monometyl ete), và sau đó làm khô hỗn hợp bằng cách bay hơi hay lọc muối kết tủa bằng cách hút.

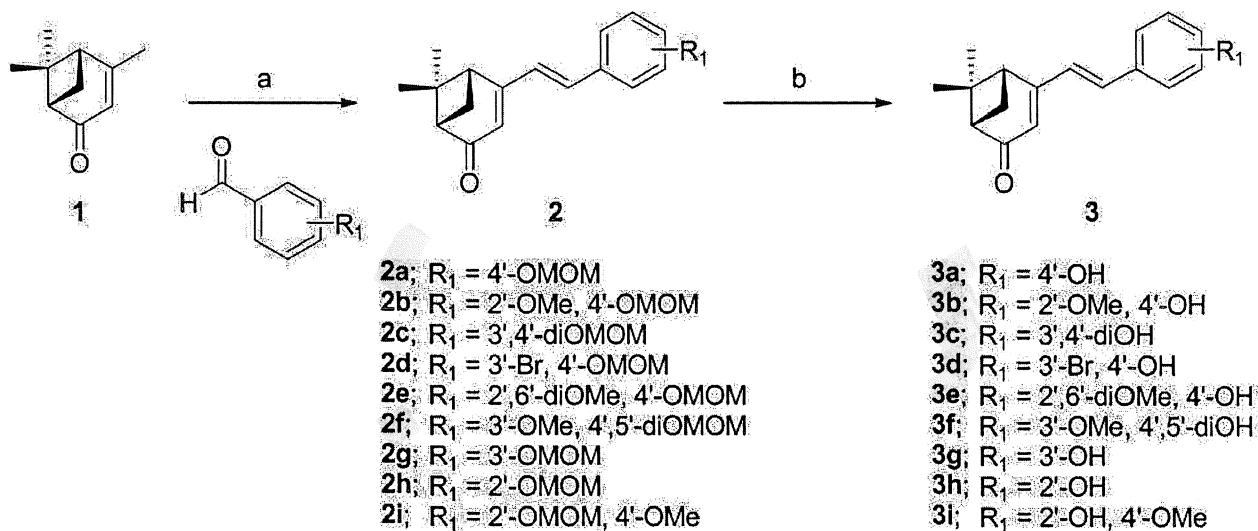
Ở đây, axit tự do có thể là axit vô cơ hoặc axit hữu cơ. Các ví dụ của axit vô cơ bao gồm axit clohydric, axit photphoric, axit sunfuric, axit nitric và axit stannic, và các ví dụ của axit hữu cơ bao gồm axit metan sunfonic, axit p-toluensulfonic, axit axetic, axit trifloaxetic, axit xitric, axit maleic, axit succinic, axit oxalic, axit benzoic, axit tactric, axit fumaric, axit mandelic, axit propionic, axit lactic, axit glycolic, axit glucomic, axit

galacturonic, axit glutamic, axit glutaric, axit glucuronic, axit aspartic, axit ascorbic, axit cacbonic, axit vanilic và axit hydroiodic.

Ngoài ra, muối kim loại được dùng có thể được điều chế bằng cách sử dụng bazơ. Có thể thu được muối kim loại kiềm hoặc muối kim loại kiềm thổ, ví dụ, bằng cách hòa tan hợp chất trong lượng dư dung dịch hydroxit kim loại kiềm hoặc hydroxit kim loại kiềm thổ, lọc muối không hòa tan, và sau đó làm khô phần lọc được bằng cách bay hơi. Các muối kim loại như natri, kali hay canxi đều là được dùng. Ngoài ra, cũng có thể thu được các muối bạc tương ứng từ phản ứng của muối kim loại kiềm hoặc muối kim loại kiềm thổ với muối bạc thích hợp (ví dụ, nitrat bạc).

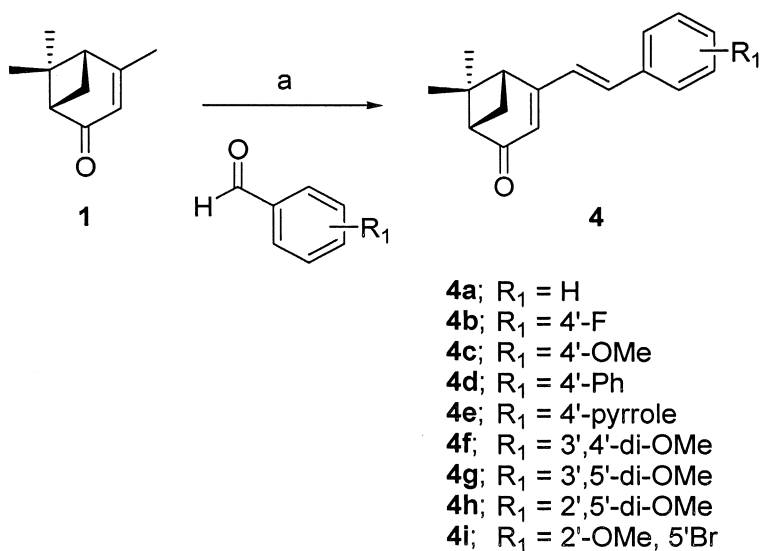
Trừ khi được chỉ định khác trong bản mô tả này, các muối được dùng của các hợp chất có công thức cấu tạo 1 bao gồm các muối của nhóm axit hoặc bazơ có thể có trong các hợp chất có Công thức 1. Chẳng hạn như, các muối được dùng bao gồm muối natri, canxi và kali thuộc nhóm hydroxyl, và các muối được dùng khác thuộc nhóm amini, bao gồm hydrobromua, sulfat, hydro sulfat, photphat, hydro photphat, dihydro photphat, axetat, succinat, citrat, tetrat, lactat, mandelat, metansulfonat (mesylate và paratoluensulfonat (tosylat)). Các muối có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp điều chế muối đã biết trong lĩnh vực này.

Các hợp chất có Công thức 1 có thể được điều chế bằng các phương pháp tổng hợp đã biết trong lĩnh vực này, và có thể được tổng hợp bằng các phương pháp hóa học thể hiện trong sơ đồ phản ứng dưới đây, nhưng bị không bị giới hạn ở đó.

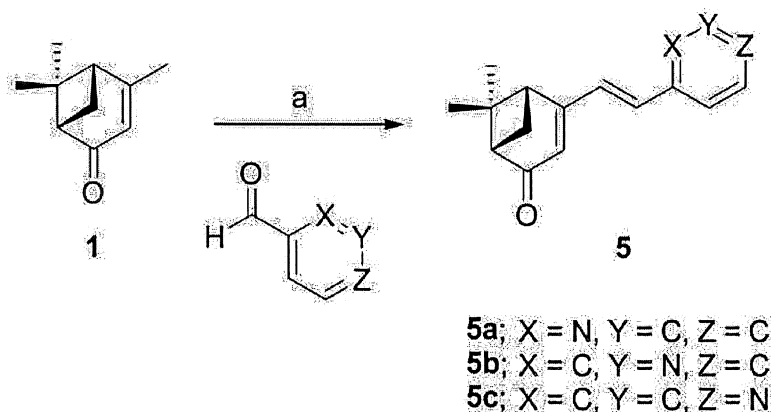
Sơ đồ phản ứng 1

^aPhản ứng và điều kiện: a) KOH, MeOH, 60 °C, 6 h; b) 10% HCl, MeOH, rt, 24 h.

(1*S*)-(-)-verbenon (1) có bán trên thị trường có thể được cô được ngưng tụ với các dẫn xuất benzandehyt (2*a-i*) có nhóm hydroxystyryl với sự có mặt của bazơ, và sau đó được khử nhóm bảo vệ bằng axit, nhờ đó nhiều dẫn xuất verbenon khác nhau (3*a-i*) có nhóm thế alkoxy hoặc bromo hoặc nhóm chức phenolic.

Sơ đồ phản ứng 2

^a Phản ứng và điều kiện: a) KOH, MeOH, 60 °C, 6 h.

Sơ đồ phản ứng 3

^aPhản ứng và điều kiện: a) NaOMe, MeOH, 60 °C, 6 h.

Trong một phương pháp tổng hợp dẫn xuất khác, (1*S*)-(-)-verbenon (**1**) có bán trên thị trường có thể được đưa vào quy trình tương tự với quy trình trên Sơ đồ phản ứng 1 nhằm đưa nhóm styryl vào các dẫn xuất có nhiều nhóm chức khác nhau, qua đó điều chế nhiều dẫn xuất verbenon khác nhau (**4a-i**, **5a-c**) có vòng thơm.

Theo sáng chế, tác dụng mới của các dẫn xuất verbenon lên việc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh được phân tích. Kết quả là, phát hiện ra rằng các dẫn xuất verbenon đã ức chế độc tính kích thích gây ra bởi NMDA và sự mất cân bằng oxy hóa nội bào, làm tăng hoạt tính chống oxy hóa, ức chế sự di trú và thâm nhiễm của các tế bào viêm, và ức chế biểu hiện xytokin. Kết quả của phân tích được mô tả chi tiết trong các Ví dụ sau đây.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất được phẩm để ngăn ngừa và điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, được phẩm này chứa dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính, và phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị

bệnh thoái hóa thần kinh bằng cách sử dụng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp để ngăn ngừa và điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, phương pháp này bao gồm việc cho một đối tượng dùng dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó. Ở đây, việc dùng thuốc có thể được thực hiện *in vivo* hoặc *in vitro*.

Theo sáng chế, bệnh thoái hóa thần kinh có thể được chọn từ nhóm gồm đột quy, liệt, sa sút trí tuệ, bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, đa xơ cứng và xơ cứng cột bên teo cơ. Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “bệnh thoái hóa thần kinh” có nghĩa là bệnh bất kỳ gây ra bởi sự chết tế bào thần kinh quan trọng nhất trong việc truyền thông tin trong hệ thần kinh sọ não, bởi khiếm khuyết trong sự hình thành hoặc các chức năng của khớp thần kinh truyền thông tin giữa các tế bào thần kinh, và bởi sự khác thường hoặc sụt giảm hoạt động điện của các tế bào thần kinh.

Theo sáng chế, bệnh thoái hóa thần kinh thường là đột quy, và cụ thể là bệnh đột quy do thiếu máu cục bộ.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng bằng nhiều con đường khác nhau, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đường miệng, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong động mạch, trong tủy sống, trong màng cứng, trong tâm vị, qua chân bì, dưới da, trong màng bụng, trong mũi, trong dạ dày – ruột, khu trú, dưới lưỡi và qua trực tràng. Tốt hơn là, dược phẩm theo sáng chế được dùng theo đường miệng hoặc ngoài đường ruột. Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “ngoài đường ruột” bao gồm tiêm dưới da, trong da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong khớp, trong hoạt dịch, trong xương ức, nội tủy mạc, nội thương tổn và nội hộp sọ hoặc các phương pháp truyền. Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được dùng dưới dạng thuốc đạn qua đường trực tràng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng theo đường miệng dưới mọi hình thức liều lượng chấp nhận được, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, viên nang, viên nén,

và dung dịch và huyền phù trong nước. Trong trường hợp uống viên nén qua đường miệng, các chất dẫn thuốc thường được sử dụng bao gồm lactoza và tinh bột ngô. Các chất bôi trơn, như magie stearat, cũng thường được thêm vào. Trường hợp dùng dạng viên nang theo đường miệng, các chất pha loãng hữu hiệu bao gồm lactoza và tinh bột ngô khô. Khi các huyền phù trong nước được dùng theo đường miệng, hoạt chất được kết hợp với các chất nhũ hóa và huyền phù hóa. Nếu được như mong đợi, các chất tạo vị ngọt và/hoặc tạo hương vị và/hoặc tạo màu nhất định có thể được thêm vào.

Mức độ liều lượng của dược phẩm theo sáng chế sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, bao gồm hoạt tính của hợp chất đặc hiệu được sử dụng, tuổi tác, cân nặng, tình trạng sức khỏe nói chung, giới tính, chế độ ăn uống, thời gian dùng thuốc, đường dùng thuốc, tốc độ bài tiết, sự kết hợp thuốc và mức độ nghiêm trọng của bệnh cụ thể cần được ngăn ngừa hoặc điều trị. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế dưới dạng viên thuốc, viên nén bọc đường, viên nang, dịch lỏng, dạng gel, siro, huyền phù đặc hoặc dịch huyền phù.

Theo sáng chế, dược phẩm có thể được bào chế hoặc sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm gồm các thuốc phong bế kênh canxi, các chất chống oxy hóa, các chất kháng glutamat, các thuốc chống kết tụ, các thuốc chống tăng huyết áp, các tác nhân chống huyết khối, các tác nhân kháng histamin, các tác nhân kháng viêm, các tác nhân chống ung thư và các loại kháng sinh.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, phương pháp bao gồm cho một đối tượng dùng dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, dược phẩm này chứa dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối dược dụng của nó, làm thành phần hoạt tính.

Dược phẩm và phương pháp ngăn ngừa và điều trị theo sáng chế có thể được sử dụng một cách có lợi, vì chúng sử dụng dẫn xuất của verbenon có nguồn gốc từ vật chất

tự nhiên có hoạt tính vượt trội trong việc ức chế sự chết tế bào thần kinh và sự mất cân bằng oxy hóa và gây ra ít độc tính và tác dụng phụ hơn.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất thực phẩm chức năng hoặc chất phụ gia thực phẩm có tác dụng ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh thoái hóa thần kinh và bao gồm dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính.

Thực phẩm chức năng chứa hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong nhiều ứng dụng, bao gồm thuốc, thực phẩm hoặc đồ uống để ngăn ngừa sự viêm. Các ví dụ của thực phẩm chức năng theo sáng chế bao gồm nhiều loại thực phẩm, kẹo, sôcôla, đồ uống, kẹo gôm, trà, phức hệ vitamin, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, và các loại tương tự khác, và chúng có thể được sử dụng dưới dạng thuốc bột, cốm, viên nén, viên nang hoặc đồ uống.

Dẫn xuất verbenon chứa trong thực phẩm chức năng theo sáng chế làm thành phần hoạt tính có tác dụng vượt trội trong việc bảo vệ các tế bào thần kinh, ức chế sự mất cân bằng oxy hóa và ức chế sự biểu hiện xytokin, như được chứng minh một cách rõ ràng từ các kết quả phân tích các cơ chế sinh học như được mô tả sau đây. Do đó, hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này là việc sử dụng dẫn xuất verbenon trong các thực phẩm thể hiện các tác dụng vượt trội.

Dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế theo phương pháp thông thường. Chẳng hạn như, nó có thể được bào chế dưới dạng thuốc bột, cốm, viên nén, viên nang, huyền phù, nhũ tương, siro, dạng phun và các dạng tương tự để dùng theo đường miệng, các chất để dùng theo đường bên ngoài là thuốc đạn, và các dung dịch tiêm vô trùng. Các chất dẫn thuốc, tá dược và chất pha loãng có thể được chứa trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, gôm acacia, anginat, gelatin, canxi photphat, canxi silicat, xenluloza, metyl xenluloza, xenluloza vi tinh, polyvinylpyrrolidon, nước,

metylhydroxybenzoat, propylhydroxybenzoat, magie stearat và dầu khoáng. Dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế được bào chế bằng cách sử dụng chất pha loãng hoặc tá dược thường được sử dụng, chẳng hạn như các chất làm đầy, chất độn, chất gắn kết, chất làm ẩm, chất gây vỡ hoặc chất hoạt động bề mặt. Các dạng bào chế rắn để dùng theo đường miệng bao gồm viên nén, viên hoàn, thuốc bột, cốm, viên nang, v.v.. Các dạng bào chế rắn như thế được bào chế bằng cách trộn hợp chất theo sáng chế với ít nhất một tá dược, như là bông, tinh bột, canxi cacbonat, sucroza, lactoza, gelatin, v.v.. Ngoài các tá dược đơn giản, các chất làm trơn như magie stearat, bột talc, v.v. cũng có thể được thêm vào. Các dạng bào chế lỏng để dùng theo đường miệng, chẳng hạn như huyền phù, dung dịch uống, nhũ tương, siro, v.v. cũng có thể chứa các chất pha loãng đơn giản, ví dụ như nước và paraffin lỏng, cũng như nhiều tá dược khác ví dụ như chất làm ẩm, chất tạo vị ngọt, chất thơm, chất bảo quản, v.v.. Các dạng bào chế để dùng ngoài đường ruột bao gồm các dung dịch nước vô trùng, dung môi khô, huyền phù, nhũ tương, chất làm khô lạnh, thuốc đạn, v.v.. Các dung môi khô và huyền phù có thể được điều chế bằng cách sử dụng glycol propylen, glycol polyetylen, các loại dầu thực vật như dầu ôliu, hoặc các ete có thể tiêu hóa được như etyloeat. Với vai trò là chất nền cho thuốc đạn, Witepsol, Macrogol, Tween 61, cacao béo, laurin béo, glyxerogelatin, v.v. cũng có thể được sử dụng.

Liều dùng thích hợp của hợp chất theo sáng chế có thể được lựa chọn phù hợp tùy thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, bao gồm tình trạng bệnh lý và cân nặng của bệnh nhân, mức độ nghiêm trọng của bệnh, loại thuốc, đường dùng và giai đoạn dùng thuốc, và có thể được xác định phù hợp bởi chuyên gia trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, nhằm đạt được hiệu quả mong muốn, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng với liều hằng ngày từ 0,01mg/kg đến 10g/kg, và tốt hơn là từ 1mg/kg đến 1g/kg. Hợp chất này có thể được dùng một liều một ngày hoặc nhiều liều một ngày. Liều dùng không nhằm hạn chế sáng chế theo bất kỳ phương diện nào.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất thực phẩm chức năng để ngăn ngừa hoặc cải thiện bệnh thoái hóa thần kinh, thực phẩm này bao gồm dẫn xuất verbenon có công thức cấu tạo 1 hoặc muối được dụng của nó, làm thành phần hoạt tính.

Thực phẩm chức năng này bao gồm hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong nhiều ứng dụng khác nhau, bao gồm thuốc, thực phẩm và đồ uống để ngăn ngừa và cải thiện bệnh thoái hóa thần kinh. Các ví dụ của thực phẩm chức năng theo sáng chế bao gồm nhiều loại thực phẩm, đồ uống, kẹo gôm, trà, phức hệ vitamin, thực phẩm bảo vệ sức khỏe và các loại tương tự, và nó có thể được sử dụng dưới dạng thuốc bột, cốm, viên nén, viên nang hoặc thuốc uống.

Các ví dụ của các thực phẩm mà hợp chất theo sáng chế có thể được thêm vào bao gồm nhiều loại kẹo, đồ uống, kẹo gôm, trà, phức hệ vitamin, hoặc thực phẩm bảo vệ sức khỏe và các loại tương tự.

Hợp chất theo sáng chế có thể được thêm vào thực phẩm hoặc đồ uống để ngăn ngừa và cải thiện bệnh thoái hóa thần kinh. Về hàm lượng của hợp chất này trong thực phẩm hoặc đồ uống, nhìn chung hợp chất theo sáng chế có thể được thêm vào một lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 15% khối lượng trên tổng khối lượng thực phẩm chức năng theo sáng chế, và hợp chất theo sáng chế có thể được thêm vào một lượng nằm trong khoảng từ 0,02 đến 10g, và tốt hơn là 0,3 đến 1g, trên 100ml chế phẩm đồ uống chức năng theo sáng chế.

Miễn là chế phẩm đồ uống chức năng theo sáng chế chứa hợp chất này làm thành phần thiết yếu, thì không có giới hạn cụ thể trong các thành phần chất lỏng khác của chế phẩm đồ uống, và chế phẩm này có thể còn bao gồm một hoặc nhiều phụ gia, chẳng hạn như các chất tạo mùi thơm hoặc carbohydrat tự nhiên, các chất này thường được sử dụng trong các loại đồ uống. Các ví dụ của carbohydrat phục vụ mục đích này bao gồm các loại đường thông thường như monosacarit, ví dụ, glucoza, fructoza và các loại đường tương tự; disacarit, ví dụ, maltoza, sucroza và các loại đường tương tự; và polysacarit, ví

dụ, dextrin, xyclodextrin và các loại đường tương tự, và đường có gốc rượu như xylitol, sorbitol, erythritol và các loại đường tương tự. Ngoài những chất đã nêu trên, với vai trò là chất tạo hương vị, các chất tạo hương vị tự nhiên (hợp chất thaumatin, stevia, ví dụ, Rebaudioside A, glyxyrinzin và các chất tương tự), và các chất tạo hương vị tổng hợp (sacarit, aspartam và các chất tương tự) có thể được sử dụng một cách có lợi. Hàm lượng carbohydrat trong dược phẩm theo sáng chế là nằm trong khoảng 1 đến 20g, và tốt hơn là nằm trong khoảng 5 đến 12g, trên 100ml dược phẩm.

Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế còn có thể chứa nhiều chất dinh dưỡng, vitamin, khoáng chất (chất điện phân), gia vị (gia vị nhân tạo và gia vị tự nhiên), chất tạo màu và chất cải thiện (phomat, sôcôla và các chất tương tự), axit pectic và các muối của nó, axit alginic và các muối của nó, các axit hữu cơ, các chất cô đặc keo bảo vệ, chất kiểm soát độ pH, chất ổn định, chất bảo quản, glyxerin, cồn, các chất cacbonat được sử dụng trong các đồ uống có ga, và các chất tương tự. Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế còn có thể chứa thịt quả để điều chế các loại nước ép trái cây tự nhiên, nước ép trái cây và nước rau. Các chất phụ gia này có thể được sử dụng độc lập hoặc kết hợp với nhau. Mặc dù hàm lượng của các chất phụ gia này trong dược phẩm theo sáng chế không đặc biệt quan trọng đối với sáng chế, nhưng nó thường chiếm một khoảng 0 đến 20 phần trên 100 phần trọng lượng của dược phẩm theo sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế bao gồm hợp chất với lượng từ 0,01 đến 99% khối lượng trên tổng khối lượng dược phẩm. Tuy nhiên, dược phẩm theo sáng chế không bị giới hạn ở đó, mà có thể biến đổi tùy thuộc vào tình trạng bệnh lý của bệnh nhân, loại bệnh và mức độ tiến triển của bệnh.

Dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế còn có thể bao gồm chất dẫn thuốc, tá dược hoặc chất pha loãng phù hợp, các chất này thường được sử dụng trong điều chế dược phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn có dựa vào các ví dụ. Tuy nhiên, hiển nhiên là đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này thì những ví dụ này chỉ phục vụ mục đích minh họa và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Điều chế các dẫn xuất verbenon

Các chất phản ứng và dụng cụ

Loại chất phản ứng (1S)-(-)-verbenon, các andehyt, metylclometylete (MOM-Cl), diisopropyletylamin (DIPEA), kali hydroxit (KOH), and natri metoxit (NaOCH₃) được mua trên thị trường. Tất cả các chất phản ứng và dung môi được mua có độ tinh khiết cao, và được sử dụng trực tiếp mà không cần tinh chế thêm, trừ diclometan được cất với canxi hydroxit. Trừ khi có quy định khác, phản ứng được thực hiện trong bình chân không được làm khô dưới ngọn lửa trong điều kiện trong bầu khí nitơ khô. Phép sắc ký lớp mỏng (thin-layer chromatography - TLC) được thực hiện bằng cách sử dụng gel silic oxit Merck 60 F₂₅₄, hiển thị dưới ánh sáng tử ngoại, và phép sắc ký cột được thực hiện bằng cách sử dụng gel silic oxit (*E. Merck silica gel*, 70-230, 230-400 mesh). Phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR được đo bằng thiết bị (Varian) ở 500 MHz, và sự chuyển vị hóa học được thông báo bằng ppm từ tetrametysilan (TMS) dưới dạng nội chuẩn (CDCl₃: *d* 7,26 ppm), và hằng số ghép được ghi lại bằng Hertz. Độ bội được ghi lại bằng cách sử dụng các chữ viết tắt sau: mức đơn (s), mức đôi (d), mức đôi của mức đôi (dd), mức đôi của mức đôi của mức đôi (ddd), mức ba (t), mức ba của mức đôi (td), mức đôi của mức ba (dt), mức bốn (q), mức bội (m), và mức rộng (br). Phổ khối độ phân giải cao (high-resolution mass spectra - HRMS) được ghi lại bằng dụng cụ (phổ kế vi khối Q-TOF nước), và phép xoay quang được đo bằng dụng cụ (phân cực kế JASCO kiểu IP-2000) ở 589nm. Tất cả các hợp chất được đo bằng pha ngược HPLC trong điều kiện sau đây, và độ tinh khiết của nó lớn hơn 95%: Phương pháp 1 (Dung môi A: nước, Dung môi B: axetonitril), tốc độ chảy: 0,2ml/phút; 90% của B trong 20 phút; Phương pháp 2 (Dung môi A: nước, Dung môi B:

axetonitril), tốc độ chảy: 0,1ml/min: Từ 40% của B đến 100% trong 40 phút. Huyết thanh bào thai bò (fetal bovine serum - FBS) được sử dụng được mua từ công ty (Hyclone, Logan, UT), và môi trường Neurobasal (neurobasal medium - NBM) và chất bổ sung B27 sử dụng được mua từ công ty (Invitrogen, Carlsbad, CA). Ngoài ra, tất cả các hóa chất và chất phản ứng được sử dụng được mua từ công ty (Sigma–Aldrich, St. Louis, MO).

Ví dụ 1-1: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(4-(metoxymetoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (hợp chất 2a)

Để thu được dien từ (1*S*)-(-)-verbenon bằng cách ngưng tụ andol, (1*S*)-(-)-verbenon **1** (200mg, 1.33mmol) và 4-(metoxymetoxystyryl)benzaldehyt (332mg, 2.00mmol) được khuấy trong MeOH (7mL), và được xử lý bằng KOH (149mg, 2,66mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60°C trong 6 tiếng, và được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng. Một lượng nước nhỏ được thêm vào hỗn hợp, hỗn hợp này sau đó được để ở nhiệt độ trong phòng trong 24 tiếng. Sau đó, hỗn hợp được cô dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm màu vàng, sản phẩm này sau đó được lọc bằng sắc ký cột gel silic oxit, qua đó thu được (1*S*,5*R*)-4-(4-(metoxymetoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **2a**) là chất rắn màu vàng (353mg, hiệu suất 89%). Hợp chất thu được được dùng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 88-90 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -211,6° (*c*1.0, MeOH);

¹H-NMR (CDCl₃, 500MHz): δ 7,45(d, *J*= 8,80 Hz, 2 H), 7,04 (d, *J*= 8,80 Hz, 2 H), 6,81-6,92 (m, 2 H), 5,90 (s, 1 H), 5,20 (s, 2 H), 3,48 (s, 3 H), 3,03-3,17 (m, 1 H), 2,91 (dt, *J*= 9,48, 5,53 Hz, 1 H), 2,72 (t, *J*= 5,62 Hz, 1 H), 2,12 (d, *J*= 9,29 Hz, 1 H), 1,58 (s, 3 H), 1,01 (s, 3 H);

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 75MHz); δ 204,25, 164,57, 158,00, 134,51, 129,75, 128,73, 125,62, 121,83, 116,44, 94,171, 58,09, 56,09, 52,78, 43,59, 39,98, 26,72, 22,10

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (M-H) 253,1229, trị số đo được 253,1221

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 100,0% (t_R = 3,67 phút).

Ví dụ 1-2: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(3-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 2f)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1*S*,5*R*)-4-(3-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **2f**) thể hiện các tính chất sau đây được điều chế (hiệu suất 90%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

^1H -

NMR(CDCl_3 , 500MHz); δ 6,94(d, J =1,96Hz, 1H), 6,84(s, 2H), 6,78(d, J =1,71Hz, 1H), 5,92(s, 1H), 5,22(s, 2H), 5,15(s, 2H), 3,89(s, 3H), 3,60(s, 3H), 3,52(s, 3H), 3,09(t, J =5,75Hz, 1H), 2,90(dt, J =9,48, 5,53Hz, 1H), 2,72(td, J =5,75, 1,47Hz, 1H), 2,10(d, J =9,29Hz, 1H), 1,57(s, 3H), 1,00(s, 3H);

^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75MHz); δ 203,92, 164,02, 153,63, 151,19, 136,64, 134,76, 132,10, 126,91, 122,43, 108,91, 104,88, 98,37, 95,33, 58,19, 57,11, 56,07, 52,70, 43,78, 39,93, 26,70, 22,11.

Ví dụ 1-3: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3a)

Đề thu được điện từ (1*S*)-(-)-verbenon bằng cách ngưng tụ andol, HCl 10% được nhỏ từng giọt vào dung dịch đã được khuấy của hợp chất **2a** (200mg, 0,67mmol) trong MeOH (3mL), và hỗn hợp phản ứng được để qua đêm đến khi kết thúc phản ứng. Sau đó, dung dịch NaHCO_3 bão hòa được thêm vào hỗn hợp phản ứng, hỗn hợp này sau đó được chiết bằng etyl axetat và làm khô bằng MgSO_4 khan. Chất còn lại được lọc bằng sắc ký cột để thu được (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on

(hợp chất **3a**) là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau. Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây (162mg, hiệu suất 95%).

mp 88-90 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ -211,6° (c1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz); δ 7,40(d, J = 8,56 Hz, 2 H), 6,78-6,92 (m, 4 H), 6,45 (br. s., 1 H), 5,91 (s, 1 H), 3,12 (t, J = 5,75 Hz, 1 H), 2,88-2,95 (m, 1 H), 2,74 (t, J = 5,62 Hz, 1 H), 2,13 (d, J = 9,29 Hz, 1 H), 1,58 (s, 3 H), 1,02 (s, 3 H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz); δ 205,14, 165,56, 157,32, 135,24, 129,13, 128,51, 124,89, 121,29, 116,00, 58,10, 53,22, 43,86, 40,23, 26,79, 22,15;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (M-H) 253,1229, trị số đo được 253,1221;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 100,0% (t_R =3,67 phút).

Ví dụ 1-4: Điều chế (1S,5R)-4-(4-hydroxy-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3b)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1S,5R)-4-(4-hydroxy-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (**3b**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 97%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 78-80 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -140,0° (c1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz); δ 7,45 (d, J = 8,07 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 16,63 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 16,38 Hz, 1H), 6,42-6,48 (m, 2H), 5,88 (s, 1H), 3,86 (s, 3H) 5,64 (br. s., 1H), 3,16 (t, J = 5,75 Hz, 1H), 2,91 (dt, J = 9,35, 5,59 Hz, 1H), 2,72 (td, J = 5,60 Hz, 1H), 2,12 (d, J = 9,29 Hz, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz) ; δ 205,53, 166,76, 159,17, 158,94, 130,48, 128,48, 124,75, 120,62, 117,50, 108,19, 99,19, 58,10, 55,53, 53,25, 43,87, 40,33, 26,80, 22,16;

HRMS: trị số tính được $C_{18}H_{20}O_3$ (M+H) 285,1491, trị số đo được 285,1480;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 99,4% ($t_R=3,80$ phút).

Ví dụ 1-5: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxystyryl)-6,6-dimethylxyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3c)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (**3c**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 84%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 68-70 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -208,6° (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz); δ 7,13 (s, 1H), 6,70-6,96 (m, 4H), 5,92 (s, 1H), 3,12 (t, $J=5,50\text{Hz}$, 1H), 2,86-2,95 (m, 1H), 2,71-2,81 (m, 1H), 2,14 (d, $J=9,54\text{Hz}$, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,00 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz) ; δ 206,39, 166,93, 146,23, 144,51, 136,47, 128,75, 124,62, 121,91, 120,72, 115,38, 113,17, 60,55, 58,04, 53,84, 44,01, 40,55, 26,78, 22,12;

HRMS: trị số tính được $C_{17}H_{18}O_3$ (M-H) 269,1178, trị số đo được 269,1169;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 100% ($t_R=3,47$ phút).

Ví dụ 1-6: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(3-brom-4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylxyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3d)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(3-brom-4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **3d**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 95%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 238-240 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -181,4° (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500MHz); δ 7,75 (d, $J=2,20\text{Hz}$, 1H), 7,45 (dd, $J=1,96$, 8,56Hz, 1H), 7,02 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 6,97 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 6,92 (d, $J=8,56\text{Hz}$, 1H), 5,90 (s, 1H), 3,24 (t, $J=5,99\text{Hz}$, 1H), 2,97 (td, $J=5,59$, 9,35Hz, 1H), 2,62 (dt, $J=1,50$, 6,00Hz, 1H), 2,05 (d, $J=9,54\text{Hz}$, 1H), 1,60 (s, 3H), 0,98 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 75MHz): δ 203,02, 165,13, 155,42, 134,47, 132,29, 129,42, 128,79, 125,75, 121,59, 117,11, 110,36, 58,16, 52,33, 43,30, 26,83, 22,43;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrO}_2$ (M+H) 333,0490, trị số đo được 333,0479;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 98,9% ($t_R=3,91$ phút).

Ví dụ 1-7: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2,6-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylxyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3e)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2,6-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **3e**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 94%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 216-218 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -175,4° (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500MHz); δ 7,28 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 7,23 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 6,12 (s, 2H), 5,73 (s, 1H), 3,80 (s, 6H), 3,10 (t, $J=5,38\text{Hz}$, 1H), 2,89 (td, $J=5,50$, 9,05Hz, 1H), 2,53 (t, $J=5,50\text{Hz}$, 1H), 1,93 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,53 (s, 3H), 0,91 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 75MHz): δ 202,56, 166,66, 160,48, 160,27, 126,68, 126,11, 119,22, 104,67, 92,17, 57,50, 55,71, 55,67, 51,67, 42,59, 26,42, 21,96;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_4$ (M+H) 315,1596, trị số đo được 315,1583;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 99,3% ($t_R=3,70$ phút).

Ví dụ 1-8: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3f)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **3f**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 92%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 168-170 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -158,8000° (c1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500MHz) δ 6,78-6,82(m, 3H), 6,64(d, $J=1,47\text{Hz}$, 1H), 5,82-6,01(m, 3H), 3,92(s, 3H), 3,10(t, $J=5,62\text{Hz}$, 1H), 2,91(dt, $J=9,35, 5,59\text{Hz}$, 1H), 2,74(td, $J=5,69, 1,59\text{Hz}$, 1H), 2,12(d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 2,04(s, 2H), 1,58(s, 3H), 1,01(s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 75MHz); δ 204,92, 165,07, 147,23, 144,24, 135,54, 134,13, 128,07, 125,50, 121,62, 108,63, 58,08, 56,25, 53,12, 43,75, 40,18, 26,78, 22,16;

HRMS: trị số tính được C₁₈H₂₀O₄ (M+H) 301,1440, trị số đo được 301,1453;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 100% (t_R=3,46 phút).

Ví dụ 1-9: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(3-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3g)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(3-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **3g**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 98%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 106-108 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -176,6° (c1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500MHz); δ 7,21-7,26 (m, 1H), 7,01-7,05 (m, 2H), 6,92 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 6,88 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 6,83-6,86 (m, 1H), 6,46 (s, 1H), 5,96 (s, 1H),

3,11 (t, $J=5,75\text{Hz}$, 1H), 2,93 (td, $J=5,53, 9,48\text{Hz}$, 1H), 2,77 (dt, $J=1,59, 5,69\text{Hz}$, 1H), 2,14 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,01 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 75\text{MHz})$; δ 205,19, 165,18, 156,53, 137,42, 135,36, 130,03, 127,44, 122,37, 120,19, 116,68, 113,65, 58,17, 53,39, 43,89, 40,28, 26,77, 22,14;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (M-H) 253,1229, trị số đo được 253,1228;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 2) 99,3% ($t_R=3,73$ phút).

Ví dụ 1-10: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3h)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **3h**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 100%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 140-142 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -296,6° (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 500\text{MHz})$; δ 7,56 (dd, $J=1,59, 7,70\text{Hz}$, 1H), 7,42 (d, $J=16,14\text{Hz}$, 1H), 7,15 (dd, $J=1,59, 15,53\text{Hz}$, 1H), 7,13 (d, $J=16,38\text{Hz}$, 1H), 6,80-6,87 (m, 2H), 5,89 (s, 1H), 3,25 (t, $J=5,87\text{Hz}$, 1H), 2,99 (dt, $J=5,53, 9,48\text{Hz}$, 1H), 2,65 (td, $J=1,71, 5,75\text{Hz}$, 1H), 2,08 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,61 (s, 3H), 1,01 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CD}_3\text{OD}, 75\text{MHz})$; δ 207,46, 169,09, 157,56, 133,10, 131,67, 128,67, 127,63, 124,55, 122,03, 121,07, 117,05, 59,62, 54,52, 45,29, 41,45, 27,19, 22,58;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2$ (M-H) 253,1229, trị số đo được 253,1218;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 99,4% ($t_R=3,80$ phút).

Ví dụ 1-11: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxy-4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 3i)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **3a**, (1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxy-4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **3i**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 96%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -91,8° (c1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500MHz); δ 8,46 (br.s., 1H), 7,37 (d, $J=8,56\text{Hz}$, 1H), 7,23 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 7,17 (d, $J=16,00\text{Hz}$, 1H), 6,42-6,55 (m, 2H), 6,04 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,20 (t, $J=5,38\text{Hz}$, 1H), 2,88-2,98 (m, 1H), 2,76 (t, $J=5,14\text{Hz}$, 1H), 2,17 (d, $J=9,54\text{Hz}$, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,05 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 75MHz); δ 206,56, 167,94, 161,72, 156,99, 132,26, 130,09, 125,37, 119,93, 116,29, 106,90, 101,73, 57,96, 55,28, 53,74, 43,85, 40,60, 26,76, 22,13;

HRMS: trị số tính được C₁₈H₂₀O₃ (M+H) 285,1491, trị số đo được 285,1494;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 99,2% (t_R=3,75min).

Ví dụ 1-12: Điều chế (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-styrylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4a)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-styrylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4a**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 92%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -91,8° (c1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃, 500MHz); δ 7,50 (d, $J=7,09\text{Hz}$, 2H), 7,35-7,40 (m, 2H), 7,33 (d, $J=7,34\text{Hz}$, 1H), 6,97 (d, $J=16,00\text{Hz}$, 1H), 6,92 (d, $J=16,00\text{Hz}$, 1H), 5,94 (s, 1H), 3,12 (td, $J=1,47, 5,87\text{Hz}$, 1H), 2,93 (dt, $J=5,62, 9,54\text{Hz}$, 1H), 2,74 (td, $J=1,71, 5,75\text{Hz}$, 1H), 2,13 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃, 75MHz); δ 204,13, 164,23, 135,99, 134,96, 129,15, 128,88, 127,42, 127,35, 122,66, 58,23, 52,87, 43,76, 40,03, 26,78, 22,16;

HRMS: trị số tính được $C_{17}H_{18}O$ (M+H)239,1436, trị số đo được 239,1426;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)95,0%(t_R =4,82 phút).

Ví dụ 1-13: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(4-flostyryl)-6,6-dimethylxyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4b)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1*S*,5*R*)-4-(4-flostyryl)-6,6-dimethylxyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4b**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 92%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -33,2° (c 1,0, MeOH);

1H -NMR($CDCl_3$, 500MHz); δ 7,46-7,51 (m, 2H), 7,04-7,09 (m, 2H), 6,90 (d, J =17,00Hz, 1H), 6,86 (d, J =16,50Hz, 1H), 5,93 (s, 1H), 3,10 (td, J =1,35, 5,81Hz, 1H), 2,92 (dt, J =5,62, 9,29Hz, 1H), 2,74 (td, J =1,71, 5,75Hz, 1H), 2,12 (d, J =9,29Hz, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

^{13}C -NMR($CDCl_3$, 75MHz); δ 204,04, 164,03, 162,13, 133,62, 132,21, 129,04, 127,15, 122,61, 116,02, 58,17, 52,83, 43,72, 39,99, 26,73, 22,12;

HRMS: trị số tính được $C_{17}H_{17}FO$ (M+H)257,1342, trị số đo được 257,1343;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)90,6%(t_R =4,52 phút).

Ví dụ 1-14: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4c)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1*S*,5*R*)-4-(4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4c**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 90%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 138-140 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -172,0° (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 ,500MHz); δ 7,46 (d, $J=8,80\text{Hz}$, 2H), 6,91 (d, $J=9,05\text{Hz}$, 2H), 6,90(d, $J=15,90\text{Hz}$, 1H), 6,84 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 5,90 (s, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,12 (td, $J=1,35$, 5,81 Hz, 1H), 2,92 (dt, $J=5,53$, 9,48Hz, 1H), 2,73 (td, $J=1,71$, 5,75Hz, 1H), 2,13 (d, $J=9,54\text{Hz}$, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,03 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 ,75MHz); δ 204,17, 164,63, 160,50, 134,64, 128,83, 128,78, 125,25, 121,66, 114,35, 58,17, 55,34, 52,74, 43,76, 39,99, 26,76, 22,15;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ (M+H)269,1542, trị số đo được 269,1549;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)100%($t_R=4,58$ phút).

Ví dụ 1-15: Điều chế (1S,5R)-4-(2-(biphenyl-4-yl)vinyl)-6,6-dimethylxyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4d)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1S,5R)-4-(2-(biphenyl-4-yl)vinyl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4d**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 92%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 148-150 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -152,4° (c 1,0,MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 ,500MHz); δ 7,55-7,65 (m, 6H), 7,45 (t, $J=7,58\text{Hz}$, 2H), 7,34-7,39 (m, 1H), 7,01 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 6,96 (d, $J=16,50\text{Hz}$, 1H), 5,95 (s, 1H), 3,14 (t, $J=5,75\text{Hz}$, 1H), 2,94 (dt, $J=5,50$, 9,54Hz, 1H), 2,75 (t, $J=5,62\text{Hz}$, 1H), 2,14 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,60 (s, 3H), 1,03 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 ,75MHz); δ 204,12, 164,23, 141,86, 140,23, 134,99, 134,50, 128,87, 127,84, 127,69, 127,51, 127,38, 126,94, 122,65, 58,24, 52,86, 43,77, 40,02, 26,79, 22,18;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}$ (M+H)315,1749, trị số đo được 315,1737;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)100%($t_R=6,35$ phút).

Ví dụ 1-16: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(4-(1*H*-pyrrol-1-yl)styryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4e)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1*S*,5*R*)-4-(4-(1*H*-pyrrol-1-yl)styryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4e**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 41%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 146-148 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -142,4° (c1,0,MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃,500MHz); δ 7,55(d, J =8,56Hz, 2H), 7,39 (d, J =8,56Hz, 2H), 7,12 (t, J =2,20Hz, 2H), 6,95(d, J =16,00Hz, 1H), 6,91 (d, J =16,00Hz, 1H), 6,36 (t, J =2,20Hz, 2H), 5,94 (s, 1H), 3,12 (t, J =5,75Hz, 1H), 2,93 (td, J =5,59, 9,35Hz, 1H), 2,74 (dt, J =1,71, 5,75Hz, 1H), 2,13(d, J =9,29Hz, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,03 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃,75MHz); δ 203,97, 164,03, 140,92, 133,78, 133,21, 128,57, 127,14, 122,61, 120,25, 118,95, 110,94, 58,19, 25,79, 43,72, 39,97, 26,75, 22,14;

HRMS: trị số tính được C₂₁H₂₁NO (M+H)304,1701, trị số đo được 304,1691;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)94,7%(t_R =5,10 phút).

Ví dụ 1-17: Điều chế (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4f)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4f**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 92%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -111,2° (c1,0,MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃,500MHz); δ 7,02-7,09 (m, 2H), 6,89 (d, J =16,00Hz, 1H), 6,86 (d, J =7,00Hz, 1H), 6,83 (d, J =16,50Hz, 1H), 5,91 (s, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 3,11 (t,

$J=5,75\text{Hz}$, 1H), 2,91 (dtd, $J=1,47$, 5,56, 9,41Hz, 1H), 2,72 (tt, $J=1,74$, 5,72Hz, 1H), 2,11 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 75\text{MHz})$; δ 204,03, 164,46, 150,28, 149,30, 134,89, 129,10, 125,42, 121,75, 111,24, 109,29, 58,19, 55,94, 52,69, 43,82, 39,96, 26,76, 22,15;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (M+H)299,1647, trị số đo được 299,1657;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 2)97,9%($t_R=9,19$ phút).

Ví dụ 1-18: Điều chế (1S,5R)-4-(3,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4g)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1S,5R)-4-(3,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4g**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 90%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}-94,2^\circ$ (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 500\text{MHz})$; δ 6,93 (d, $J=16,00\text{Hz}$, 1H), 6,85 (d, $J=16,00\text{Hz}$, 1H), 6,65 (d, $J=2,20\text{Hz}$, 2H), 6,45 (t, $J=2,20\text{Hz}$, 1H), 5,94 (s, 1H), 3,82 (s, 6H), 3,10 (t, $J=5,75\text{Hz}$, 1H), 2,92 (dt, $J=5,62$, 9,54Hz, 1H), 2,74 (td, $J=1,59$, 5,69Hz, 1H), 2,12 (d, $J=9,29\text{Hz}$, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3, 75\text{MHz})$; δ 204,04, 163,03, 161,03, 137,88, 134,93, 127,83, 122,81, 105,32, 101,51, 58,19, 55,40, 52,82, 43,73, 39,99, 26,73, 22,12;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_3$ (M+H)299,1647, trị số đo được 299,1662;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)100%($t_R=4,58$ phút).

Ví dụ 1-19: Điều chế (1S,5R)-4-(2,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4h)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1S,5R)-4-(2,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất

4h) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 93%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -94,8° (c1,0,MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃,500MHz); δ 7,29 (d, J =16,38Hz, 1H), 7,11 (d, J =2,69Hz, 1H), 6,95 (d, J =16,14Hz, 1H), 6,81-6,88 (m, 2H), 5,92 (s, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,16 (dt, J =1,50, 6,00Hz, 1H), 2,91 (td, J =5,62, 9,29Hz, 1H), 2,72 (dt, J =1,71, 5,75Hz, 1H), 2,11 (d, J =9,29Hz, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃,75MHz); δ 204,16, 164,83, 153,74, 152,04, 129,50, 127,74, 125,62, 122,37, 115,85, 112,34, 111,85, 58,24, 56,13, 52,76, 43,76, 40,03, 26,76, 22,15;

HRMS: trị số tính được C₁₉H₂₂O₃ (M+H)299,1647, trị số đo được 299,1650;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1)96,4%(t_R=4,69 phút).

Ví dụ 1-20: Điều chế (1S,5R)-4-(5-brom-2-metoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 4i)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp điều chế hợp chất **2a**, (1S,5R)-4-(5-brom-2-metoxystyryl)-6,6-dimetylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **4i**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 97%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -71,6° (c1,0,MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃,500MHz); δ 7,66 (s, 1H), 7,36 (dd, J =2,45, 8,80Hz, 1H), 7,20 (d, J =16,38Hz, 1H), 6,95(d, J =16,14Hz, 1H), 6,77 (d, J =8,80Hz, 1H), 5,93 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,12 (t, J =5,62Hz, 1H), 2,91 (dt, J =5,35, 9,60Hz, 1H), 2,73 (t, J =5,14Hz, 1H), 2,11 (d, J =9,29Hz, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,01 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃,75MHz); δ 203,97, 164,31, 156,40, 132,53, 129,53, 128,69, 128,09, 127,04, 122,89, 113,28, 112,75, 58,22, 55,77, 52,76, 43,71, 39,98, 26,73, 22,11;

HRMS: trị số tính được C₁₈H₁₉BrO₂ (M+H)347,0647, trị số đo được 347,0651;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 99,0% ($t_R=6,23$ phút).

Ví dụ 1-21: Điều chế (1*S*,5*R*)-6,6-dimetyl-4-((*E*)-2-(pyridin-2-yl)vinyl)bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 5a)

Đề thu được điện từ (1*S*)-(-)-verbenon bằng cách cô đặc andol, (1*S*)-(-)-verbenon 1 (200mg, 1,33mmol) và 2-pyridincacboxaldehyt (171mg, 1,60mmol) được khuấy trong MeOH (7mL), và được xử lý bằng NaOCH₃ (25% khối lượng dung dịch trong MeOH). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60°C trong 6 giờ, và được làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng. Một lượng nước nhỏ được thêm vào hỗn hợp, hỗn hợp này sau đó được để ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Tiếp theo, hỗn hợp được cô dưới áp suất quy đổi, và được lọc bằng sắc ký cột, từ đó thu được (1*S*,5*R*)-6,6-dimetyl-4-((*E*)-2-(pyridin-2-yl)vinyl)bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 5a) là chất dịch màu vàng thể hiện các tính chất sau (258mg, hiệu suất 81%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20} -102,0000^\circ$ ($c1,0$, MeOH);

¹H-

NMR(CDCl₃, 500MHz); δ 8,60(dd, $J=4,77,0,61$ Hz, 1H), 7,67(td, $J=7,70,1,71$ Hz, 1H), 7,45(d, $J=15,90$ Hz, 1H), 7,39(d, $J=7,83$ Hz, 1H), 7,19(ddd, $J=7,52,4,83,0,86$ Hz, 1H), 6,96(d, $J=15,89$ Hz, 1H), 6,02(s, 1H), 3,08-3,14(m, 1H), 2,87-

2,95(m, 1H), 2,73(td, $J=5,69,1,59$ Hz, 1H), 2,11(d, $J=9,29$ Hz, 1H), 1,57(s, 3H), 1,00(s, 3H);

¹³C-NMR (CDCl₃, 75MHz); δ 203,92, 163,51, 154,33, 149,96, 136,65, 133,90, 131,15, 124,29, 123,13, 58,27, 52,90, 43,86, 39,97, 26,71, 22,12;

HRMS: trị số tính được C₁₆H₁₇NO (M+H) 240,1388, trị số đo được 240,1392;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 98,4% ($t_R=4,28$ phút).

Ví dụ 1-22: Điều chế (1*S*,5*R*)-6,6-dimetyl-4-((*E*)-2-(pyridin-3-yl)vinyl)bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 5b)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự với phương pháp điều chế hợp chất **5a**, (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-3-yl)vinyl)bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **5b**) thu được là chất rắn màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 77%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

mp 102-104 °C;

$[\alpha]_D^{20}$ -204,0°(c1,0,MeOH); $[A]_D^{20}$ -204,0° (c 1,0, MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz); δ 8,70 (d, J = 1,96Hz, 1H), 8,54 (dd, J = 1,22, 4,65Hz, 1H), 7,85 (td, J = 1,86, 8,01Hz, 1H), 7,31 (dd, J = 4,77, 7,95Hz, 1H), 7,02 (d, J = 16,00Hz, 1H), 6,91 (d, J = 16,00Hz, 1H), 5,97 (s, 1H), 3,12 (dt, J = 1,10, 5,81Hz, 1H), 2,94 (td, J = 5,62, 9,54Hz, 1H), 2,76 (dt, J = 1,71, 5,75Hz, 1H), 2,13 (d, J = 9,54Hz, 1H), 1,60 (s, 3H), 1,03 (s, 3H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75MHz); δ 203,72, 163,28, 149,82, 149,35, 133,12, 131,73, 130,98, 129,34, 123,61, 58,23, 52,84, 43,64, 39,96, 26,72, 22,13;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}$ ($\text{M}+\text{H}$) 240,1388, trị số đo được 240,1397;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 98,7%(t_R = 3,89 phút).

Ví dụ 1-23: Điều chế (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-4-yl)vinyl)bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất 5c)

Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự với phương pháp điều chế hợp chất **5a**, (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-4-yl)vinyl)bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (hợp chất **5c**) thu được là chất gel màu vàng thể hiện các tính chất sau (hiệu suất: 80%). Hợp chất thu được được sử dụng làm mẫu trong các Ví dụ Thực nghiệm dưới đây.

$[\alpha]_D^{20}$ -152,0°(c1,0,MeOH);

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500MHz); δ 8,62 (d, J =5,87Hz, 2H), 7,35 (d, J =5,87Hz, 2H), 7,13 (d, J =16,14Hz, 1H), 6,84 (d, J =16,14Hz, 1H), 6,01 (s, 1H), 3,10 (t, J =5,87Hz, 1H), 2,95 (td, J =5,62, 9,54Hz, 1H), 2,77 (dt, J =1,59, 5,69Hz, 1H), 2,13 (d, J =9,54Hz, 1H), 1,60 (s, 3H), 1,02 (s, 3H);

^{13}C -NMR(CDCl_3 , 75MHz); δ 203,57, 162,78, 150,42, 143,12, 131,89, 131,57, 124,62, 121,23, 58,24, 52,90, 43,68, 39,95, 26,70, 22,11;

HRMS: trị số tính được $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}$ (M+H) 240,1338, trị số đo được 240,1378;

Kết quả phân tích HPLC: (phương pháp 1) 98,4% (t_R = 4,29 phút).

Ví dụ 2: Tác dụng của dẫn xuất verbenon lên độc tính kích thích, hoạt tính chống oxy hóa và ồ thiếu máu não cục bộ

Chuẩn bị động vật thí nghiệm

Chuột SD (Sprague-Dawley) (260-270g, đực) được mua từ phòng thí nghiệm Charles River (Seoul, Korea) và được làm cho thích nghi với môi trường trong chu kỳ 12 giờ sáng/12 giờ tối trước khi tiến hành thí nghiệm. Những con vật này được cho uống nước *theo nhu cầu*, và thí nghiệm được thực hiện dưới sự phê chuẩn của, Hướng dẫn Chăm sóc và Sử dụng Động vật Thí nghiệm của Viện nghiên cứu Sức khỏe Quốc gia và Ủy ban Sử dụng & Chăm sóc Động vật thí nghiệm Đại học Hàn Quốc,.

Phân tích thống kê

Số liệu được biểu diễn bằng các giá trị trung bình $\pm$ sai số chuẩn của giá trị trung bình (Standard Error of the Mean - S.E.M), và phân tích thống kê được thực hiện bằng cách phân tích một chiều phương sai (ANOVA) và kiểm định Bonferroni trong Post Hoc. $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa. Trước phân tích ANOVA, trị số P của kiểm định Levene cho đẳng thức của các phương sai được xác định ($P < 0,05$). Nếu cần thiết, số liệu còn được phân tích bằng kiểm định Kruskal-Wallis, kế tiếp là kiểm định Mann-Whitney.

Ví dụ 2-1: Tác dụng của dẫn xuất verbenon lên độc tính kích thích

Để kiểm chứng tác dụng của các mẫu thu được từ các Ví dụ nêu trên lên độc tính kích thích, thí nghiệm sau đây được thực hiện theo phương pháp được bộc lộ trong tài liệu (Ju C. et al., *BBRC*, 431(3), 484-489, 2013).

(1) Nuôi cấy các tế bào thần kinh vỏ não

Các tế bào thần kinh vỏ não (5×10^5 cells/ml) được phân lập từ bào thai chuột SD (16 đến 17 ngày). Cụ thể là, vỏ não đã được cắt ra, và các tế bào được phân lập từ mô bằng cách nghiền nhỏ lặp đi lặp lại nhờ sử dụng pipet Pasteur trong dung dịch đệm (Dung dịch muối cân bằng Hanks, Hanks' Balanced Salt Solution - HBSS). Huyền phù tế bào ($1,8 \times 10^3$ tế bào/mm²) được phân tán trên đĩa Petri đã được xử lý trước bằng poly-D-lysin (100mg/ml)/laminin (4mg/ml). Các tế bào được đặt trong môi trường NBم chứa FBS 10%, và được nuôi cấy trong bầu khí quyển có 96% không khí/5% khí CO₂ ở nhiệt độ 37°C. Sau khi nuôi cấy 15 đến 16 ngày, thử nghiệm được thực hiện.

(2) Tái oxy hóa sau khi lấy đi oxy-glucosa (Oxygen-Glucose Deprivation - OGD)

Để gây ra các triệu chứng thiếu máu cục bộ - thiếu oxy *in vitro*, các tế bào được ủ được đặt trong buồng thiếu oxy huyết (áp lực oxy riêng phần <2 mmHg). Các tế bào được ủ với môi trường DMEM không chứa glucosa trong khi được sục bằng hỗn hợp khí kỵ khí (95% N₂ và 5% CO₂) trong 30 phút để loại bỏ oxy dư, và được ủ ở 37°C trong 90 phút để lấy đi oxy. Sau 90 phút, dung dịch tiếp xúc được thay thế bằng môi trường DMEM chứa 25mmol/L glucosa để dừng phản ứng OGD, và các tế bào được khôi phục lại trạng thái oxy bình thường. Các tế bào đối chứng không được tiếp xúc với OGD được ủ trong môi trường DMEM chứa glucosa (25mmol/L) được cung cấp hỗn hợp khí hiếu khí (95% không khí và 5% CO₂). Các tế bào được xử lý bằng mỗi mẫu 30 phút trước và trong toàn bộ thời gian OGD/tái oxy hóa.

(3) Đo độc tính kích thích gây ra bởi NMDA (N-methyl-D-aspartat)

Sau khi ủ trên đĩa trong 15 đến 18 ngày, các tế bào thần kinh vỏ não được cho tiếp xúc với NMDA (100 mM) trong dung dịch (dung dịch muối cân bằng Earle không chứa Mg²⁺ (Earle's balanced salt solution - EBSS); chứa 1,8mM CaCl₂ và 10mM glyxin) trong 10 phút. Sau đó, các tế bào này được rửa bằng dung dịch EBSS chứa MgSO₄, và

được ủ trong môi trường DMEM chứa glucoza 25mmol/L trong nồi ủ 5% CO₂ ở nhiệt độ 37°C. 30 phút trước khi xử lý bằng NMDA, các tế bào được xử lý bằng mỗi mẫu (10mM).

(4) Đo tổn thương tế bào hoặc sự chết tế bào

Để đo tổn thương tế bào hoặc sự chết tế bào, lượng LDH giải phóng vào môi trường được đo bằng cách sử dụng kit đo khả năng sống của tế bào (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Khả năng sống của tế bào được thể hiện dưới dạng phần trăm LDH so với với tổng mức LDH tế bào đo được trong các mẻ nuôi cấy cùng loại được phân giải bằng cách đông cứng – giải đông sau thử nghiệm.

Độc tính kích thích là yếu tố chính trong sự chết tế bào thần kinh gây ra bởi thiếu máu cục bộ, đặc biệt là thiếu máu não cục bộ sớm. OGD là mô hình thử nghiệm mô phỏng sự gián đoạn đột ngột của nguồn cung cấp máu và sự tiêu thụ năng lượng trong thiếu máu cục bộ. Tổn thương tế bào gây ra bởi OGD và tổn thương màng tế bào và tổn thương thần kinh có thể được đánh giá bằng cách đo sự giải phóng protein như LDH vào môi trường. Kết quả là, quan sát thấy rằng các hợp chất (3a, 3c và 3f) làm giảm một cách đáng kể tổn thương tế bào thần kinh, so với MK801 (chất đối kháng thụ thể NMDA đã biết), và không thể hiện tính độc tế bào (Fig.1). Độc tính kích thích gây ra bởi sự kích thích quá mức của thụ thể NMDA là yếu tố chính liên quan tới tổn thương thần kinh trong quá trình OGD/R và tổn thương não do thiếu máu cục bộ do sản sinh đồng thời các gốc tự do dẫn đến sự mất cân bằng oxy hóa. Các kết quả của thử nghiệm này chỉ ra rằng các hợp chất (3a, 3c, 3f, 3i và 5a) theo sáng chế làm giảm một cách đáng kể tổn thương tế bào thần kinh gây ra bởi NMDA trong các tế bào thần kinh vỏ não nuôi cấy, mặc dù các hoạt tính của nó thấp hơn các hoạt tính chống độc tính kích thích của MK-801 (Fig.2). Điều này đưa ra giả thuyết rằng sự ức chế độc tính kích thích tế bào thần kinh gây ra bởi NMDA của các hợp chất theo sáng chế góp phần vào hoạt tính chống thiếu máu cục bộ.

Ví dụ 2-2: Hoạt tính chống oxy hóa của dẫn xuất verbenon

Nhằm kiểm chứng hoạt tính chống oxy hóa trực tiếp của các mẫu thu được trong các Ví dụ nêu trên, thử nghiệm sau đây được thực hiện theo phương pháp bộc lộ trong tài liệu (Ju c. et al., *BBRC*, 431(3), 484-489, 2013 ; Huang D. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1841-1856, 2005,)

(1) Đo mức nội bào (huỳnh quang DCF) của các dạng oxy hoạt hóa (reactive oxygen species - ROS)

Nhằm kiểm chứng hoạt tính lọc sạch gốc trực tiếp của các mẫu, 1 giờ sau khi tái oxy hóa, các tế bào được nhuộm bằng mẫu dò huỳnh quang H₂DCF-DA (2,7-dihydroicloflorescein diacetat), mẫu dò này được sử dụng rộng rãi để đo sự mất cân bằng oxy hóa nội bào. 2 giờ sau, các tế bào được rửa trong dung dịch đệm EBSS (chứa 25mM glucoza, 1,8mM CaCl₂, 1,2mM MgSO₄ và 2,5 mM probenexit (pH7,4)), và huỳnh quang của DCF được đo bằng máy đọc vi đĩa huỳnh quang (SpectraMax GeminiEM; Ex = 485nm, Em = 530nm) hoặc kính hiển vi huỳnh quang (DM IL HC Fluo, Leica, Wetzlar, Đức) có trang bị máy ảnh kỹ thuật số (DFC420C, Leica, Wetzlar, Đức). Cường độ huỳnh quang được bù bằng sự tự phát huỳnh quang (tức là, huỳnh quang của các tế bào không được nạp bằng H₂DCF-DA).

Các kết quả của thử nghiệm này chỉ ra rằng các hợp chất 3c và 3f làm giảm sự mất cân bằng oxy hóa nội bào gây ra bởi OGD (Fig.3).

(2) Đo khả năng lọc sạch các gốc nitơ (thử nghiệm DPPH)

Các mẫu được trộn với DPPH (23,6µg/ml, trong etanol), và được ủ trong bóng tối ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút. Sự hấp thu DPPH giảm bởi mỗi mẫu được đo ở bước sóng 517nm. Vitamin C (Sigma–Aldrich, St. Louis, MO) được sử dụng làm đối chứng, và trị số ức chế DPPH (%) được tính bằng cách sử dụng phương trình sau đây:

Phương trình 1

$$\text{Hoạt tính lọc sạch (\%)} = [\text{Abs}_{\text{max(Vit.C)}} - \text{Abs}_{\text{sample}}] / [\text{Abs}_{\text{max(Vit.C)}} - \text{Abs}_{\text{min(Vit.C)}}] \times 100,$$

(3) Đo khả năng hấp thu gốc oxy (oxygen radical absorbance capacity - ORAC)

Thử nghiệm ORAC được thực hiện như được bộc lộ trong tài liệu (Huang, D. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 53,1841-56, 2005).

AAPH (60mM) và floresxein (50nM) được chuẩn bị trong dung dịch đệm (dung dịch đệm photphat 75mM, pH7,4) mà không có mẫu hoặc mẫu chuẩn (Trolox). Mỗi mẫu và mẫu chuẩn được huyền phù trong dung dịch chứa 7% RMCD (beta-xyclodextrin được methyl hóa ngẫu nhiên) trong axeton 50%. RMCD được sử dụng để làm tăng độ hòa tan của các mẫu tan trong dầu. Mỗi mẫu được trộn đủ với dung dịch floresxein (66nM, 190 μ l) bằng cách lắc trong 5 giây. Sau khi ủ ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút, AAPH (500mM, 30 μ l) được nhanh chóng thêm vào mỗi mẫu, và sự sụt giảm huỳnh quang được đo bằng máy đọc vi đĩa huỳnh quang (Ex = 485nm, Em = 530nm; SpectraMax GeminiEM, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) ở nhiệt độ 37°C ở các khoảng cách thời gian 5 phút trong 9 giờ. Để định lượng hoạt tính lọc sạch các gốc peroxy, AUC (diện-tích-dưới-đường-cong - area-under-the-curve) được tính theo phương trình 2 sau đây, và AUC thực được tính theo phương trình 3 sau đây, và TE (đương lượng trolox - trolox equivalents) của mỗi mẫu được tính theo phương trình 4 sau đây dựa trên đường cong chuẩn của AUC thực được vẽ đồ thị theo sự gia tăng nồng độ trolox.

Phương trình 2

$$AUC = (0,5 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + f_3/f_0 + \dots + f_{n-2}/f_0 + f_{n-1}/f_0 + f_n/f_0) \times 5,$$

trong đó f_0 là huỳnh quang thứ nhất ở 0 phút và thời gian I .

Phương trình 3

$$\text{Lưới AUC} = AUC_{\text{mẫu}} - AUC_{\text{mẫu trắng}}.$$

Phương trình 4

$$TE (\text{đương lượng trolox}) \text{ của mỗi mẫu} = [AUC_{\text{thực mẫu ở 25mM}}] / [AUC_{\text{thực trolox ở 25mM}}].$$

Hoạt tính chống oxy hóa của dẫn xuất verbenon theo sáng chế được đo bằng hai phản ứng hóa học khác nhau sau đây: (1) thử nghiệm dựa trên chuyển electron đơn tức là thử nghiệm 2,2-di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl [DPPH], thử nghiệm này đo sự gia tăng DPPH hoạt động như chất sinh gốc tự do và mẫu dò sự kết thúc; và (2) thử nghiệm chuyển nguyên tử hydro tức là thử nghiệm khả năng hấp thu gốc oxy [ORAC], thử nghiệm này đo động năng phản ứng cạnh tranh của chất tạo gốc peroxy (AAPH; 2,2'-azobis-(2-metylpropionamit)-dihydroclorua) và mẫu dò hoạt động như chất chống oxy hóa đối với mẫu dò huỳnh quang oxy hóa được (florescein).

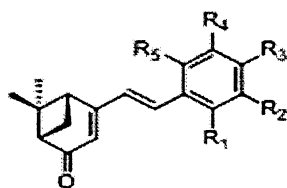
Các kết quả của thử nghiệm này chỉ ra rằng, trong thử nghiệm DPPH, hầu hết các dẫn xuất styryl (**3a-f**, và **3h-i**) có nhóm phenol thể hiện hoạt tính lọc sạch mạnh và trực tiếp chống lại sự tương tác của DPPH đến các gốc tự do nitơ hữu cơ (xem Bảng 1). Trong số đó, các hợp chất **3c** và **3f** thể hiện hoạt tính lọc sạch mạnh hơn so với vitamin C ở cùng nồng độ. Trong thử nghiệm ORAC, cho thấy hợp chất (**4e**) có nhóm pyrrol và tất cả các hợp chất (**3a-i**) có nhóm phenol đều thể hiện hoạt tính lọc sạch gốc peroxy mạnh so với trolox (xem Bảng 1 và 2). Ngoài ra, phát hiện ra rằng việc đưa nhóm hydroxyl vào các vị trí meta- và para- của nhóm phenyl làm tăng hoạt tính lọc sạch gốc tự do của mỗi hợp chất.

Bảng 1

Công thức 2						Thử nghiệm DPPH	Thử nghiệm ORAC	
Mã	Sản phẩm					% ức chế ^a	Lưới AUC ^b	TE ₂₅ ^b
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅			
3a	H	H	OH	H	H	19,11 ± 0,67	153,98 ± 1,68	3,43 ± 0,04
3b	OCH ₃	H	OH	H	H	38,13 ± 5,62	106,48 ±	2,37 ± 0,04

							1,89	
3c	H	OH	OH	H	H	91,62 ± 3,27	131,29 ± 11,97	3,11 ± 0,11
3d	H	Br	OH	H	H	29,45 ± 2,41	168,12 ± 5,24	3,74 ± 0,12
3e	OCH ₃	H	OH	H	OCH ₃	55,80 ± 7,52	166,26 ± 6,05	3,70 ± 0,13
3f	H	OH	OH	OCH ₃	H	83,64 ± 6,19	99,06 ± 37,80	2,83 ± 0,22
3g	H	OH	H	H	H	ND	73,74 ± 3,86	1,64 ± 0,09
3h	OH	H	H	H	H	4,64 ± 0,60	98,77 ± 2,53	2,20 ± 0,06
3i	OH	H	OCH ₃	H	H	51,21 ± 3,83	136,87 ± 3,24	3,05 ± 0,07
4a	H	H	H	H	H	ND	27,73 ± 0,74	0,61 ± 0,01
4b	H	H	F	H	H	ND	26,15 ± 1,26	0,62 ± 0,02
4c	H	H	OCH ₃	H	H	ND	38,06 ± 2,00	0,79 ± 0,01
4d	H	H	Ph	H	H	ND	26,75 ± 1,27	0,56 ± 0,01
4e	H	H	Pyrrol	H	H	ND	98,31 ± 0,48	2,19 ± 0,01
4f	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	ND	39,35 ± 1,67	0,88 ± 0,04
4g	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	ND	45,28 ± 0,62	1,01 ± 0,01
4h	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	ND	32,44 ± 1,54	0,72 ± 0,03
4i	OCH ₃	H	H	Br	H	ND	32,96 ± 1,03	0,73 ± 0,02

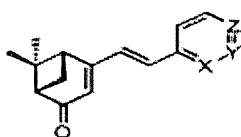
Công thức 2



[Bảng 2]

Công thức 3						Thử nghiệm DPPH	Thử nghiệm ORAC	
Mã	Sản phẩm					% ức chế ^a	Net AUC ^b	TE ₂₅ ^b
		X	Y	Z				
5a		N	C	C		ND	23,51 ± 0,79	0,52 ± 0,02
5b		C	N	C		ND	22,93 ± 0,61	0,51 ± 0,01
5c		C	C	N		ND	22,51 ± 0,34	0,50 ± 0,01

Công thức 3



Ví dụ 2-3: Thí nghiệm trên mô hình ổ thiếu máu não cục bộ

Nhằm kiểm chứng tác dụng của các mẫu thu được trong các Ví dụ nêu trên lên ổ thiếu máu não cục bộ, thí nghiệm sau đây được thực hiện theo phương pháp bộc lộ trong tài liệu (Belayev L. et al., *Stroke*, 27, 1616-1622, 1996; thảo luận 1623).

(1) Mô hình ổ thiếu máu não cục bộ

Chuột được gây mê bằng isofluran 3,0% trong hỗn hợp N₂O và O₂ (70:30 v/v) qua mặt nạ và được duy trì trong isofluran 2%. Trong suốt thời gian thí nghiệm, nhiệt độ cơ thể được kiểm soát và giữ ở 37°C ± 0,3°C bằng cách sử dụng nhiệt kế trực tràng và miếng dán nhiệt cho đến khi con vật được hồi phục hoàn toàn khỏi sự gây mê sau phẫu thuật. Ổ thiếu máu não cục bộ được tạo ra bằng cách làm tắc động mạch não giữa MCAO qua nội mạch bên phải. Vấn đề là, chỉ khâu phẫu thuật nylon sợi đơn 3-0 được làm cùn bằng nhiệt (Ethicon Johnson & Johnson, Brussels, Bỉ) được lồng vào lòng ống của mỏm động mạch cảnh ngoài bên phải và đưa sâu 17,5mm vào động mạch cảnh nội để bịt lỗ hở của MCAO. Chỉ khâu này được lấy ra sau 1,5 giờ để con vật hồi phục. Các con vật đối chứng cũng trải qua quy trình phẫu thuật tương tự, ngoại trừ MCAO. Các trị số sinh lý học được đo 15 phút trước MCAO và 15 phút sau tái tưới máu, và huyết áp trung bình

được theo dõi trong 5 phút bằng cách sử dụng máy phân tích huyết áp (MicroMed, Louisville, KY), và glucoza được theo dõi bằng cách sử dụng máy phân tích (Ciba Corning Diagnostics Corp., Medfield, MA). Mẫu 5% (hợp chất 3f) được hòa tan trong DMSO, được pha loãng bằng 10% cremophore và dung dịch muối vô trùng, và cho chuột dùng trong màng bụng từ 2 giờ sau khi gây MCAO (100 mg/kg).

(2) Đo thể tích ổ nhồi máu

Chuột được gây mê bằng cloral hydrat 3,5% (5ml/kg, tiêm trong màng bụng) và bị chặt đầu. Các lát cắt hình vòng của não (2mm) thu được bằng cách sử dụng khuôn (khuôn não chuột, Ted Pella, Redding, CA) được nhuộm màu bằng triphenyltetrazolium clorua 2% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút, được cố định bằng paraformaldehyt 4% (pH 7,4), rồi sau đó được bảo quản cryo trong dung dịch đệm photphat chứa 30% sucroza ở nhiệt độ 4°C trong 2 ngày. Diện tích mặt cắt ngang của vùng nhồi máu giữa các vị trí thóp +4mm (đằng trước) và -6mm (đằng sau) được xác định bằng phần mềm phân tích (chương trình phân tích ảnh OPTIMAS5,1, BioScanInc. Edmonds, WA). Kích thước ổ nhồi máu não được đo thủ công bằng cách phác vẽ phác thảo các đường biên của các khu vực nhồi máu. Tổng thể tích nhồi máu (mm³) được tính theo phương trình 5 sau đây như được bộc lộ trong tài liệu (*J Neurosci Methods* (1998) 84:9-16; *J Cereb Blood Flow Metab* (1990) 10:290-293), và được bù cho chứng phù não. Chứng phù não được xác định bởi số phần trăm tăng lên của vùng bán cầu cùng bên/đối bên như được thể hiện trong phương trình 6 say đây. Tất cả các phép đo được thực hiện theo cách mù đôi.

Phương trình 5

Tổng thể tích nhồi máu (mm³) = thể tích cùng bên (IVd) thu được bằng phép đo trực tiếp x [(thể tích đối bên (Vc))/ thể tích cùng bên (Vl)]

Phương trình 6

Thể tích phù (%) = [(thể tích cùng bên (V_I) – thể tích đối bên (V_C))/ thể tích đối bên (V_C)] $\times$ 100,

Sau đó, các mô được làm đông lạnh, cắt thành các lát cắt hình vòng 10 hoặc 30 μ m và bảo quản ở nhiệt độ -20°C .

(3) Đo tổn thất thần kinh

Tổn thất thần kinh được đo ở 24 giờ sau thiếu máu cục bộ, và được đánh giá trên thang 4 điểm như được bộc lộ trong tài liệu (0: không có tổn thất thần kinh, 1: móng vuốt bị cong, 2: móng vuốt cong, giảm sức chịu đựng đối với lực đẩy bên, và không quay, 3: tương tự như 2, nhưng quay).

(4) Nhuộm hóa mô miễn dịch cho mô não

Các lát cắt mô não được chuẩn bị như đã mô tả trên đây được xử lý bằng dung dịch đệm chứa 5% huyết thanh ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ để ức chế liên kết kháng thể không đặc hiệu. Các kháng thể sơ cấp được pha loãng đến nồng độ thích hợp (kháng thể MPO và ED-1-kháng-thể, tỷ lệ 1:100; kháng thể Nitotiroxin, 1:50; IL-1a, IL-1b, các kháng thể TNF-a, tỷ lệ 1:100) được thêm vào các lát cắt mô, các lát cắt này sau đó được nhuộm màu qua đêm ở 4°C . Kháng thể sơ cấp không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa, và sau đó các lát cắt mô được nhuộm bằng các kháng thể thứ cấp gắn nhãn huỳnh quang ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Kháng thể thứ cấp không liên kết được loại bỏ bằng cách rửa, và sau đó nhân tế bào được nhuộm màu bằng thuốc nhuộm Hoechst 33258 trong 20 phút, sau đó được rửa. Các lát cắt mô được đặt trên bản kính, và sau đó được quan sát bằng kính hiển vi huỳnh quang đồng tụ (Zeiss LSM510; Zeiss, Oberkochen, Germany).

(5) Thử nghiệm về tính thấm hàng rào máu – não

Thuốc nhuộm màu (thuốc nhuộm xanh Evans, 2%) liên kết với huyết thanh albumin ngay sau khi tiêm trong tĩnh mạch và được chuyển thành chất có khối lượng phân tử cao không có khả năng đi qua hàng rào máu – não bình thường, nhưng trong mô

não chuột bị thiếu máu não cục bộ, tính thấm của xanh Evans tăng lên do sự phá hủy hàng rào máu – não, và do đó lượng nhuộm bằng xanh Evans tăng lên. Tim của những con chuột có ổ thiếu máu não cục bộ được tạo ra như đã mô tả trên đây được làm ngập bằng 200ml dung dịch muối sinh lý. Mô não được tách ra, cân và giữ trong chất phản ứng (axit tricloaxetic, 60%) ở nhiệt độ 4°C trong 24 giờ. Mô được nghiền, và ly tâm ở tốc độ 10,000 vòng/phút trong 15 phút, và phần nổi được thu lại. Khả năng hấp thu xanh Evans trong mô não được đo ở 610nm và tính như lượng thuốc nhuộm trên gam của mô.

(6) Thí nghiệm về tỷ lệ sống sót lâu dài

Đối với những con chuột có ổ thiếu máu não cục bộ được gây ra như mô tả trên đây, tỷ lệ sống sót và khiếm khuyết thần kinh được đo suốt 3 tuần trong các điều kiện tương tự như trước khi tiến hành phẫu thuật.

(7) Mô hình động vật bị đột quy do thiếu máu cục bộ do tắc mạch

Các con chuột (nặng từ 270 đến 300g) được gây mê bằng isofluran 3,0% trong hỗn hợp khí 70% N₂O/30% O₂ (70:30 v/v) và được duy trì trong isofluran 3%. Nhiệt kế trực tràng được lồng vào trong chuột, và nhiệt độ cơ thể chuột được giữ ở 37,0~37,9°C bằng cách sử dụng miếng dán nhiệt tự động được kết nối với nhiệt kế. Đường ở giữa cổ bị rạch, động mạch cảnh chung (common carotid artery – CCA) bên phải, động mạch cảnh ngoại (external carotid artery - ECA) bên phải và động mạch cảnh nội bên phải (internal carotid artery - ICA) được tách ra, và động mạch cảnh ngoại và động mạch cảnh chung được bó lại. Động mạch cảnh ngoại được siết chặt tạm thời bằng cách sử dụng kẹp vi mạch cong. Các nhánh bắt nguồn từ động mạch cảnh ngoại và động mạch cảnh nội bị rạch, và vật nghiền mạch 35mm được tiêm vào động mạch cảnh nội bằng ống tiêm Hamilton 100ul bằng cách sử dụng ống thông PE-50 cải biến (đường kính ngoài: 0,58mm; đường kính trong: 0,3mm phù hợp để tiêm nội mạch). Kẹp vi mạch được tháo ra, và ống thông được đưa sâu 16-17mm một cách thận trọng vào trong động mạch cảnh nội và đến tới điểm ứng với khoảng 2mm từ điểm đầu của động mạch cảnh giữa. Vật

ngheñ mạch của ống thông được tiêm vào trong động mạch cảnh nội (10ul). 5 phút sau khi tiêm vật ngheñ mạch, ống thông được tháo ra. Nhánh động mạch cảnh nội được bó lại, và vết rạch được khâu lại, và sau đó các con chuột được để đứng cho đến khi hồi phục khỏi sự gây mê. Vật ngheñ mạch được dùng trong thử nghiệm này được tạo ra bằng cách tiêm nhanh máu động mạch đùi (lấy từ chuột cho máu) vào ống PE-50 và để yên máu ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ và ở 4°C trong 22 giờ để tạo ra cục ngheñ. Trước thử nghiệm, ống được cắt, và cục ngheñ được chuyển đến ống thông PE-50 cải biến qua ống PE-10 bằng cách sử dụng ống tiêm 1ml chứa dung dịch muối có mũi kim 23G.

Các kết quả của thí nghiệm chỉ ra rằng, trong mô hình chuột bị thiếu máu cục bộ thoáng qua, việc điều trị hậu thiếu máu cục bộ bằng mẫu 3f (50mg/kg) (tiêm trong màng bụng; dùng hai lần (tức là, 2 giờ và 7 giờ sau nhồi máu não)) làm giảm đáng kể tổn thương do thiếu máu cục bộ, phù não và khiếm khuyết thần kinh (Fig.4). Ngoài ra, khi hoạt tính chống oxy hóa trong mô được đo bằng nhuộm hóa mô miễn dịch đối với nitotiroxin trong các lát cắt mô não thu được từ những con chuột được dùng các mẫu này, thấy rằng hoạt tính chống oxy hóa trong mô não của nhóm được điều trị bằng mẫu tăng lên đáng kể (Fig.5)

Trong khi đó, khi sự thâm nhiễm của các tế bào viêm vào trong các khu vực nhồi máu não và các khu vực não bị tổn thương được kiểm tra bằng nhuộm hóa mô miễn dịch, quan sát thấy rằng sự di trú của bạch cầu trung tính/bạch cầu đơn nhân được nhuộm bằng kháng thể MPO và tế bào thần kinh đệm/đại thực bào được nhuộm bằng kháng thể ED-1 đã được ức chế đáng kể (Fig.6). Ngoài ra, đã phát hiện ra rằng các mức biểu hiện của xytokin (chẳng hạn như IL-1 alpha, IL-1 beta, and TNF-alpha, được biết là đóng vai trò quan trọng trong tổn thương do thiếu máu cục bộ) ở mô được giảm đáng kể trong nhóm được dùng các mẫu (Fig.7). Hơn nữa, đã phát hiện ra rằng các hợp chất theo sáng chế làm giảm đáng kể tính thấm của hàng rào máu – não mà đã tăng lên do tổn thương do thiếu

máu cục bộ (Fig.8). Ngoài ra, khi quan sát các tác dụng của các mẫu (các hợp chất) theo sáng chế lên tỷ lệ sống sót lâu dài và sự phục hồi thần kinh trong hơn 3 tuần sau khi cho các mô hình chuột được gây thiếu máu cục bộ tạm thời dùng các mẫu, đã phát hiện ra rằng tỷ lệ sống sót lâu dài và sự phục hồi thần kinh của những con chuột được cho dùng các mẫu đã tăng lên đáng kể (Fig.9). Trong trường hợp đột quỵ do thiếu máu cục bộ, việc chảy máu nhiều hơn do thuốc (ví dụ, tPA) thường xuyên xảy ra, việc này có thể làm tăng các tác dụng lâm sàng không mong muốn (ví dụ, gây chết hoặc tiến triển bệnh xấu) cho bệnh nhân. Tuy nhiên, các mẫu theo sáng chế không ảnh hưởng đáng kể đến kích thước của tổn thương não trong mô hình chuột *in vivo* có bệnh đột quỵ do tắc mạch gây ra bởi máu tự thân, điều này gợi ý rằng các mẫu theo sáng chế có ít khả năng gây ra các tác dụng phụ như thế (Fig.10).

Dưới đây, ví dụ về các dạng bào chế của hợp chất chứa hợp chất theo sáng chế sẽ được mô tả, tuy nhiên các dạng bào chế ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Công thức ví dụ 1: Bào chế thuốc bột

Hợp chất 3f	200 mg
Lactosa	100 mg
Bột talc	10 mg

Các hợp chất trên được trộn với nhau và nạp vào gói kín khí để tạo ra dạng bào chế thuốc bột.

Công thức ví dụ 2: Bào chế viên nén

Hợp chất 3c	200 mg
Tinh bột ngô	100 mg
Lactosa	100 mg
Magie stearat	2 mg

Các hợp chất trên được trộn với nhau, và sau đó nén thành viên nén theo phương pháp thông thường, qua đó tạo ra dạng bào chế viên nén.

Công thức ví dụ 3: Bào chế viên nang

RW	200 mg
----	--------

Tinh thể xenluloza	3 mg
Lactosa	14,8 mg
Magie stearat	0,2 mg

Theo phương pháp bào chế viên nang thông thường, các thành phần trên được trộn với nhau và nạp vào viên nang gelatin, qua đó tạo ra dạng bào chế viên nang.

Công thức ví dụ 4: Bào chế dung dịch tiêm được

Hợp chất 4e	200 mg
Manitol	180 mg
Nước cất vô trùng tiêm được	2974 mg
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	26 mg

Theo phương pháp bào chế dung dịch tiêm được thông thường, hỗn hợp của các thành phần trên được đổ vào mỗi ống tiêm (2 Ml).

Công thức ví dụ 5: Bào chế dạng bào chế lỏng

Hợp chất 5a	200 mg
Đường đồng phân hóa	10 g
Manitol	5 g
Nước tinh khiết	Theo đơn thuốc

Theo phương pháp bào chế dạng bào chế lỏng thông thường, mỗi thành phần trên được hòa tan trong nước tinh khiết, và hương vị chanh được thêm vào. Sau đó, nước tinh khiết được thêm vào hỗn hợp để tổng thể tích lên đến 100ml, và dung dịch được đổ vào chai màu nâu và được khử trùng, qua đó tạo ra dạng bào chế lỏng.

Công thức ví dụ 6: Bào chế thực phẩm chức năng

Hợp chất 3a	1000 mg
Hỗn hợp vitamin	Lượng đủ
Vitamin A axetat	70 µg
Vitamin E	1,0 mg
Vitamin B1	0,13 mg
Vitamin B2	0,15 mg
Vitamin B6	0,5 mg
Vitamin B12	0,2 µg
Vitamin C	10 mg
Biotin	10 µg
Amit của axit nicotinic	1,7 mg
Axit folic	50 µg

Canxi phantotenat	0,5 mg
Hỗn hợp khoáng chất	Lượng đủ
Sắt sunfat	1,75 mg
Oxit kẽm	0,82 mg
Magie cacbonat	25,3 mg
Kali photphat monoaxit	15 mg
Canxi photphat diaxit	55 mg
Kali xitrat	90 mg
Canxi cacbonat	100 mg
Magie clorua	24,8 mg

Hàm lượng của các thành phần trong mỗi hỗn hợp vitamin và khoáng chất là hàm lượng tương đối phù hợp với thực phẩm chức năng, nhưng có thể được thay đổi thành trị số bất kỳ khác. Theo phương pháp bào chế thực phẩm chức năng thông thường, các thành phần trên được trộn với nhau, và sau đó được tạo hạt, và các hạt cốm này có thể được sử dụng trong bào chế thực phẩm chức năng theo phương pháp thông thường.

Công thức ví dụ 7: Bào chế đồ uống chức năng

Hợp chất 3f	1000 mg
Axit xitric	1000 mg
Oligosacarit	100 g
Mật cô đặc	2 g
Taurin	1 g
Nước tinh khiết	Đến 900 ml

Theo phương pháp bào chế đồ uống chức năng thông thường, các thành phần trên được trộn với nhau, và sau đó được khuấy và đun ở nhiệt độ 85°C trong 1 giờ. Sau đó, dung dịch được lọc, đổ vào bình vô trùng 2ℓ, niêm phong, bảo quản lạnh, và sau đó được sử dụng trong bào chế đồ uống chức năng theo sáng chế.

Tỷ lệ thành phần nêu trên tương đối thích hợp cho các đồ uống được ưa chuộng, nhưng có thể thay đổi theo sở thích của từng địa phương và từng nhóm người chẳng hạn như thứ bậc của người tiêu dùng, nước tiêu thụ, mục đích sử dụng và những yếu tố tương tự.

Mặc dù sáng chế được mô tả chi tiết có dựa vào các đặc điểm cụ thể, hiển nhiên là đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này thì bản mô tả trên chỉ dành cho

phương án ưu tiên và không hạn chế phạm vi của sáng chế. Do đó, phạm vi thực tế của sáng chế sẽ được xác định bằng bộ yêu cầu bảo hộ đính kèm và dạng tương đương của nó.

Khả năng áp dụng công nghiệp

Như được nêu trên, dược phẩm chứa dẫn xuất verbenon làm thành phần hoạt tính thể hiện các tác dụng lên việc bảo vệ các tế bào thần kinh, ức chế độc tính kích thích gây ra bởi NMDA, ức chế sự mất cân bằng oxy hóa nội bào, và ức chế sự di trú của các tế bào viêm, so với dược phẩm thông thường. Do đó, nó có tác dụng điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, đặc biệt là tổn thương do thiếu máu não cục bộ. Thêm vào đó, nó cũng có thể được sử dụng trong các thực phẩm chức năng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm để ngăn ngừa và điều trị bệnh thoái hóa thần kinh, trong đó được phẩm này chứa hợp chất được chọn từ nhóm gồm có các hợp chất sau, làm thành phần hoạt tính:

- (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (3a);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3b);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (3c);
 (1*S*,5*R*)-4-(3-bromo-4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (3d);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2,6-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3e);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3f);
 (1*S*,5*R*)-4-(3-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (3g);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxy-4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3i);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-flostyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (4b);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-(biphenyl-4-yl)vinyl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4d);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-(1H-pyrrol-1-yl)styryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4e);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4f);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4g);
 (1*S*,5*R*)-4-(2,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4h);
 (1*S*,5*R*)-4-(5-bromo-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4i);
 (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((E)-2-(pyridin-2-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (5a);
 (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((E)-2-(pyridin-3-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (5b); và

(1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-4-yl)-vinyl)-bixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (5c);

và muối được dụng của chúng.

2. Được phẩm theo điểm 1, trong đó được phẩm này chứa (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3f) hoặc muối được dụng của nó.

3. Thực phẩm chức năng để ngăn ngừa hoặc cải thiện bệnh thoái hóa thần kinh, trong đó thực phẩm này chứa hợp chất được chọn từ nhóm gồm có các hợp chất sau, làm thành phần hoạt tính:

- (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3a);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3b);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3c);
 (1*S*,5*R*)-4-(3-bromo-4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3d);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2,6-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3e);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3f);
 (1*S*,5*R*)-4-(3-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3g);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxy-4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3i);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-flostyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4b);
 (1*S*,5*R*)-4-(2-(biphenyl-4-yl)vinyl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4d);
 (1*S*,5*R*)-4-(4-(1*H*-pyrrol-1-yl)styryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4e);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4f);
 (1*S*,5*R*)-4-(3,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4g);
 (1*S*,5*R*)-4-(2,5-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbixyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (4h);

(1*S*,5*R*)-4-(5-bromo-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on
(4i);

(1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-2-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5a);

(1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-3-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5b); và

(1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-4-yl)-vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5c);

và muối được dụng của chúng.

4. Thực phẩm chức năng theo điểm 3, trong đó thực phẩm này chứa hợp chất
(1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on (3f)
hoặc muối được dụng của nó.

5. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

(1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (3a);
(1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2-metoxystyryl)-6,6-dimethylbi xyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(3b);

(1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (3c);
(1*S*,5*R*)-4-(3-bromo-4-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on
(3d);

(1*S*,5*R*)-4-(4-hydroxy-2,6-dimetoxystyryl)-6,6-dimethylbi xyclo[3.1.1]hept-3-en-2-
on (3e);

(1*S*,5*R*)-4-(3,4-dihydroxy-5-metoxystyryl)-6,6-dimethylbi xyclo[3.1.1]hept-3-en-2-
on (3f);

(1*S*,5*R*)-4-(3-hydroxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (3g);
(1*S*,5*R*)-4-(2-hydroxy-4-metoxystyryl)-6,6-dimethylbi xyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(3i);

(1*S*,5*R*)-4-(4-fluorostyryl)-6,6-dimethylbicyclo[3.1.1] hept-3-en-2-on (4b);
(1*S*,5*R*)-4-(2-(biphenyl-4-yl)vinyl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on
(4d);

- (1*S*,5*R*)-4-(4-(1*H*-pyrrol-1-yl)styryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on
(4e);
- (1*S*,5*R*)-4-(3,4-dimethoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4f);
- (1*S*,5*R*)-4-(3,5-dimethoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4g);
- (1*S*,5*R*)-4-(2,5-dimethoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on (4h);
- (1*S*,5*R*)-4-(5-bromo-2-methoxystyryl)-6,6-dimethylbicyclo [3.1.1]hept-3-en-2-on
(4i);
- (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-2-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5a);
- (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-3-yl)vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5b); và
- (1*S*,5*R*)-6,6-dimethyl-4-((*E*)-2-(pyridin-4-yl)-vinyl)-bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-on
(5c).

FIG.1

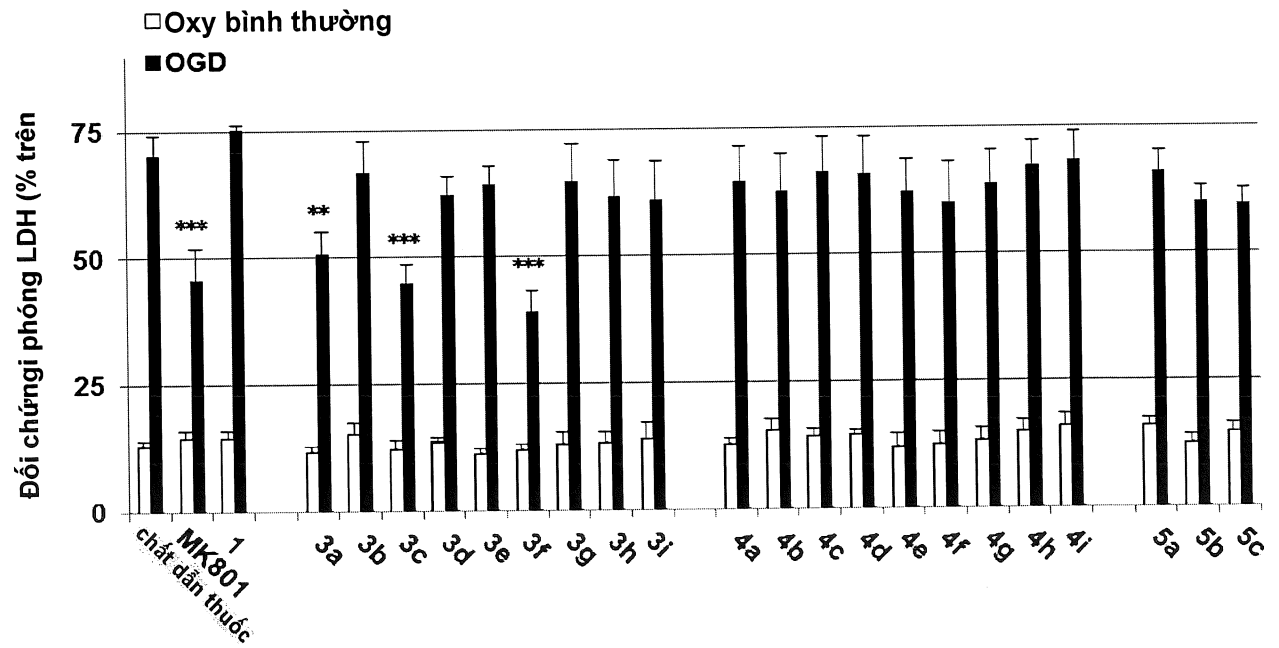


FIG.2

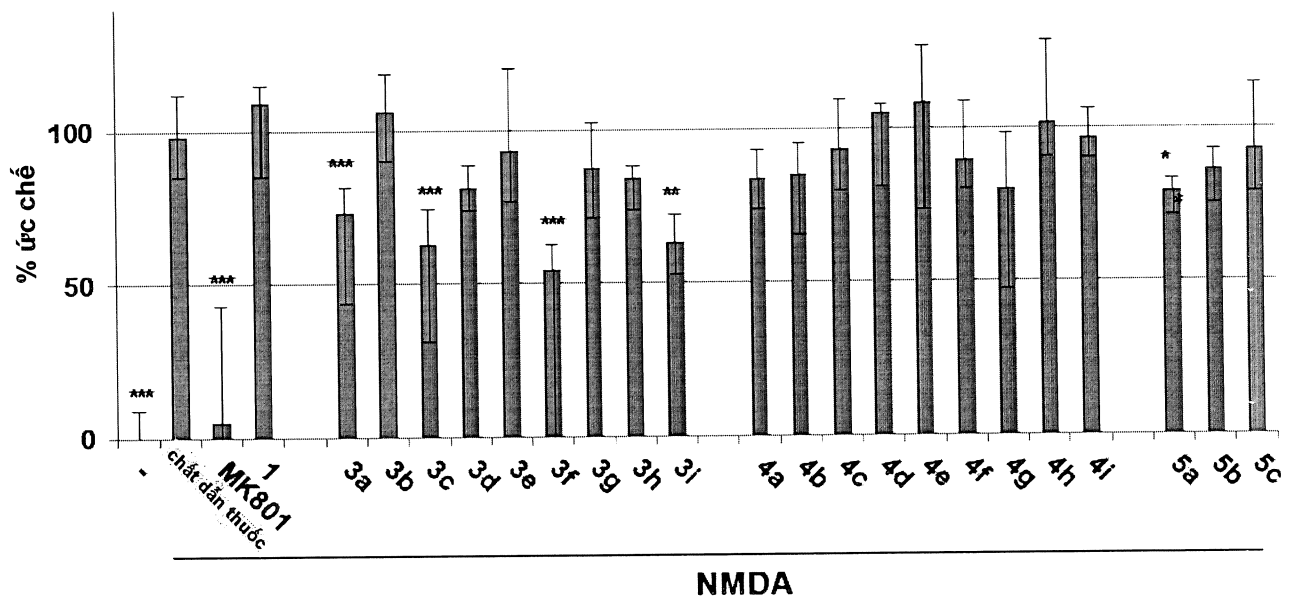


FIG.3

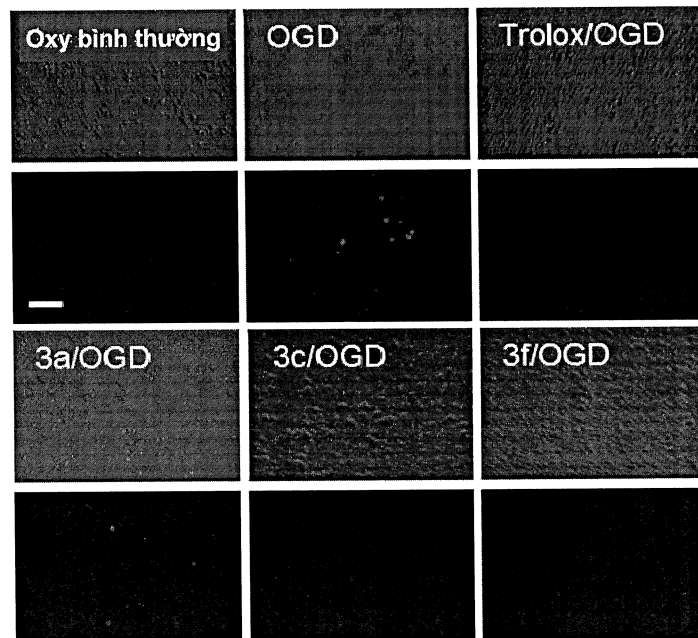
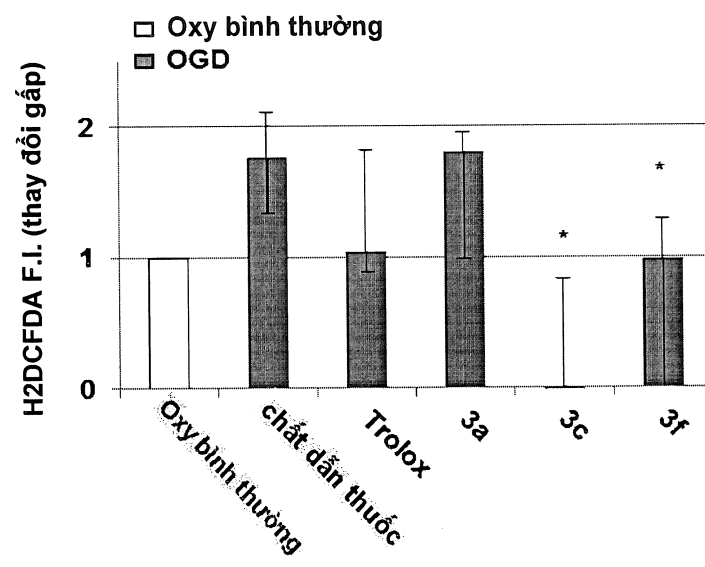
A**B**

FIG.4

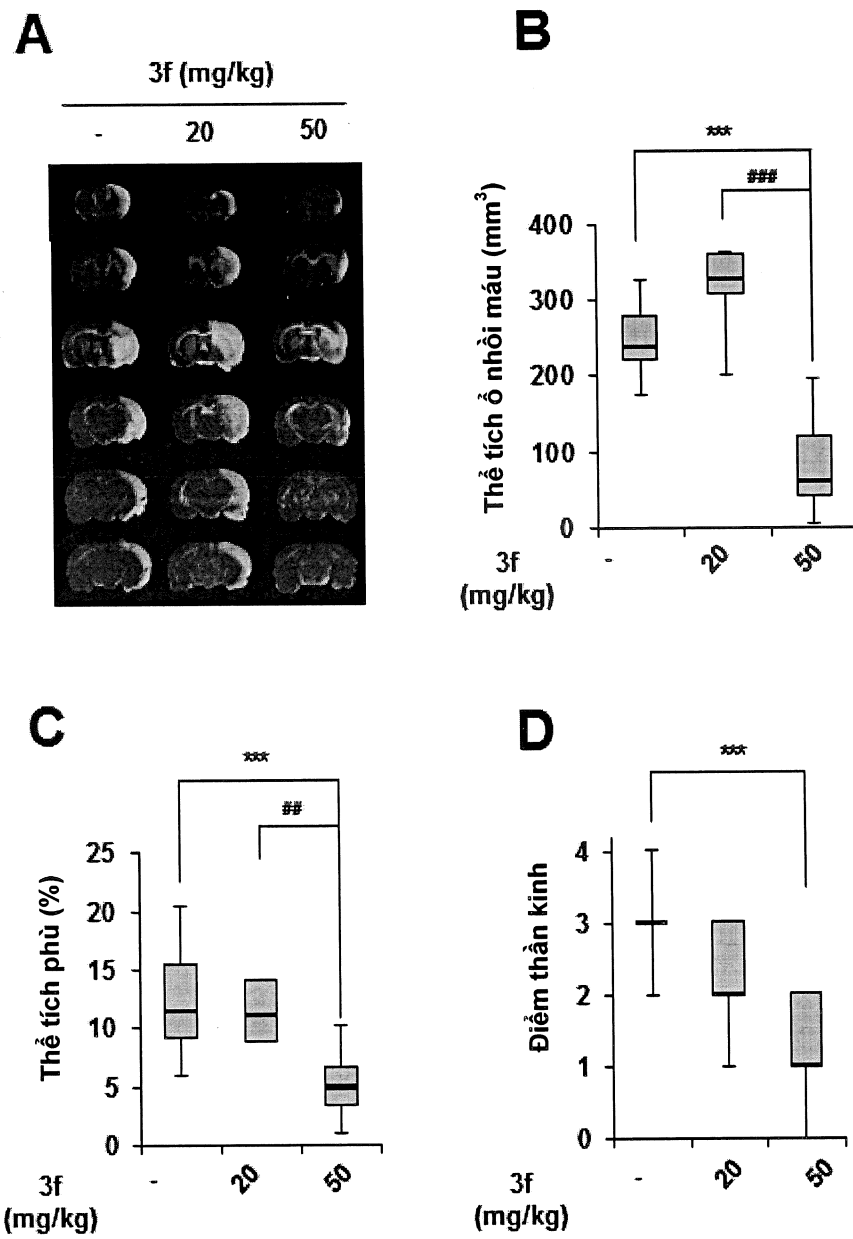


FIG.5

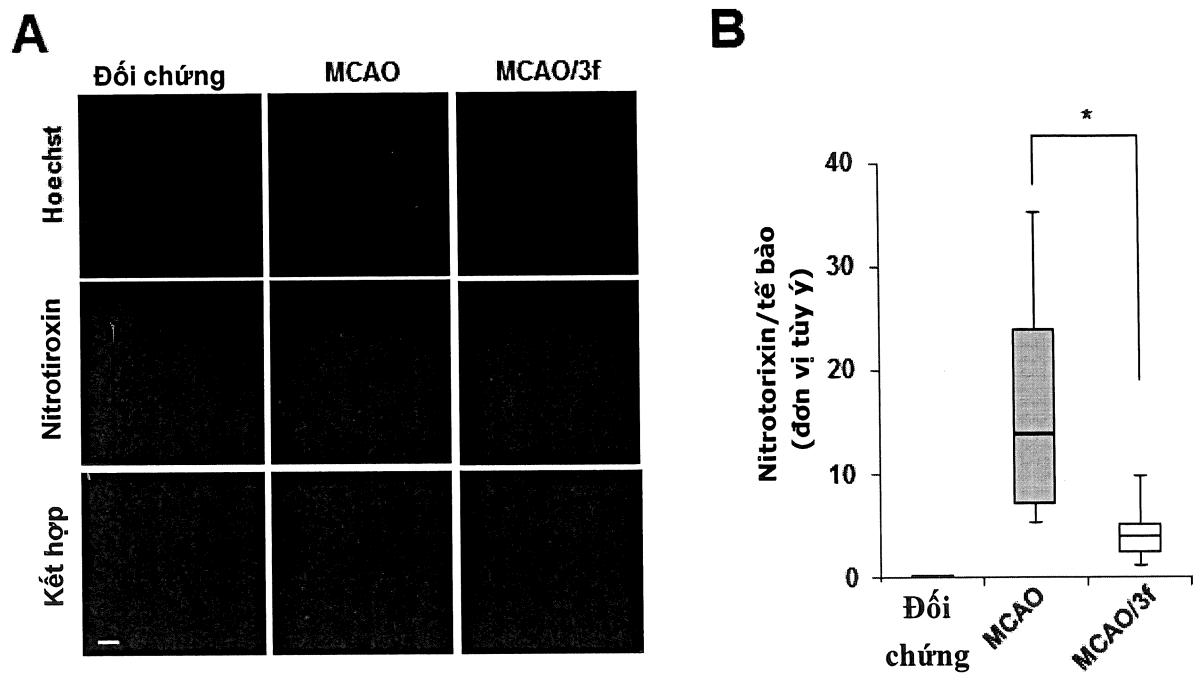


FIG.6

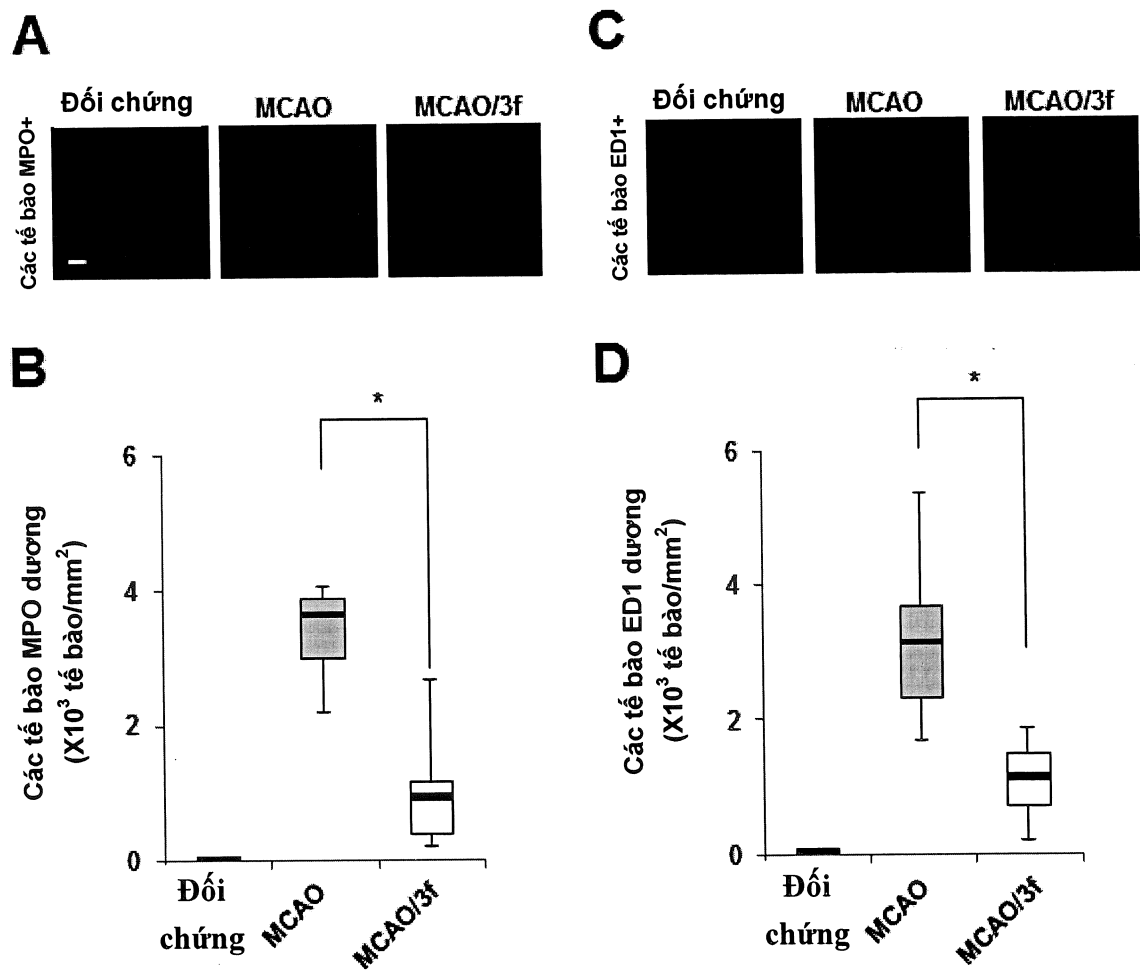


FIG.7

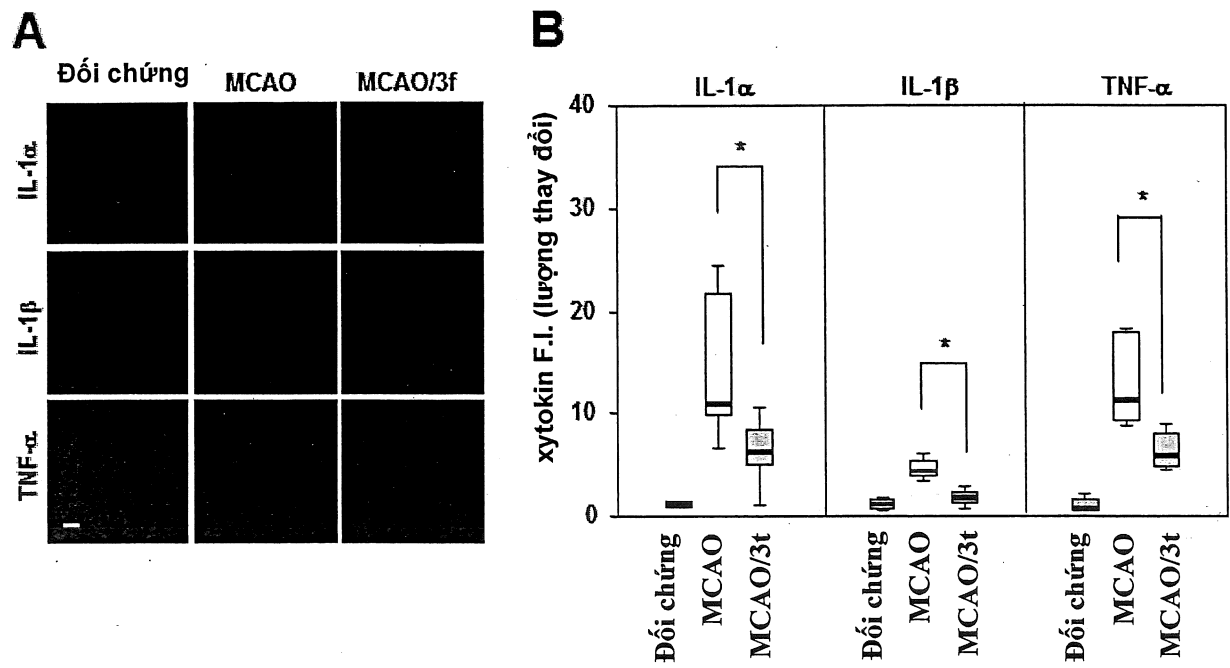


FIG.8

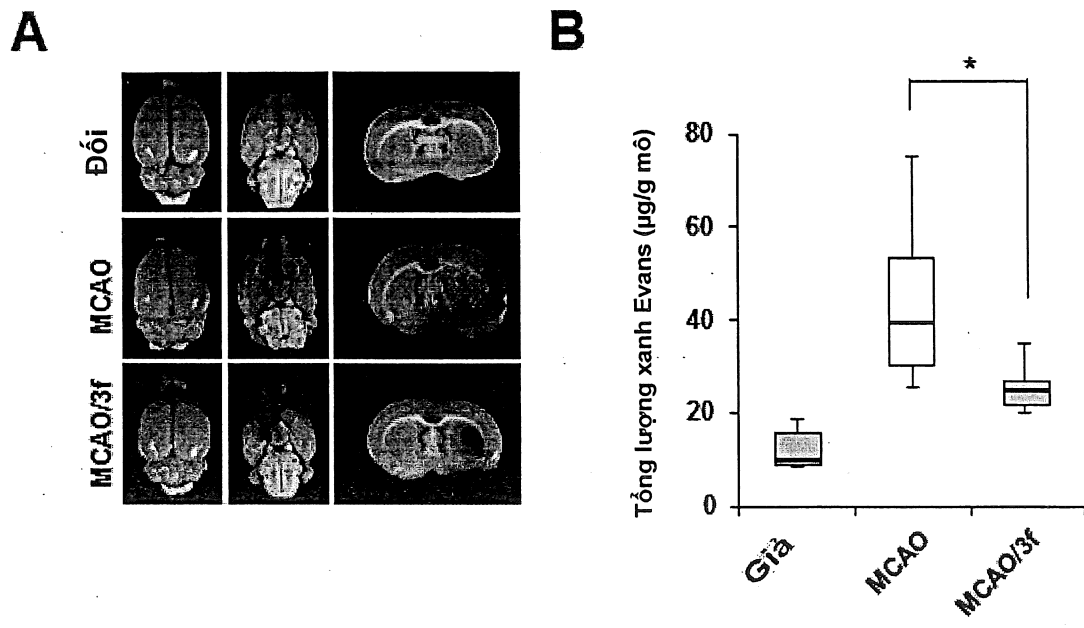


FIG.9

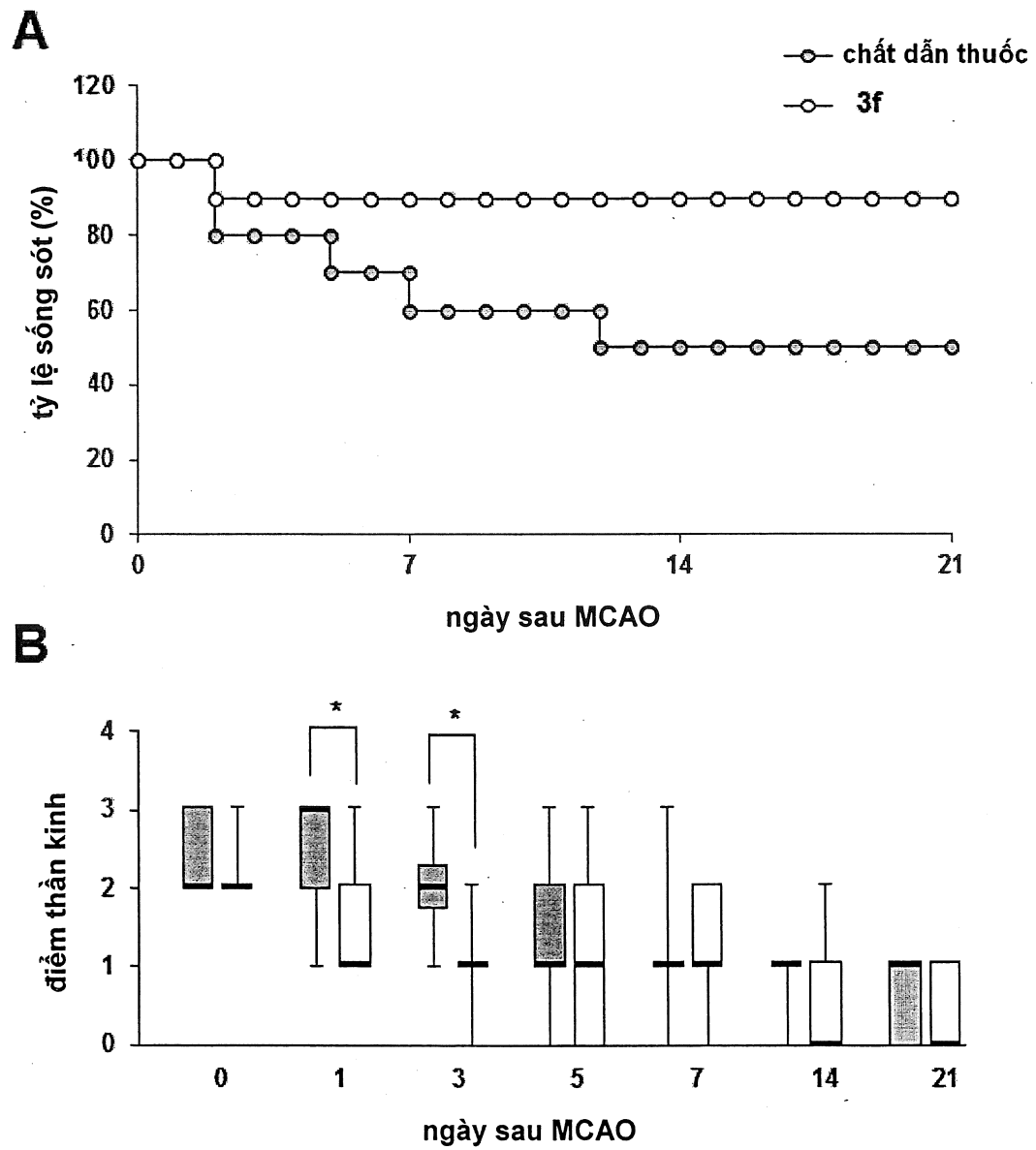


FIG.10

chất dẫn thuốc

3f

