



(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)



1-0038541

(51)⁷

C07D 249/04; C07D 401/12; A61K
51/04

(13) **B**

(21) 1-2019-07431

(22) 18/06/2018

(86) PCT/KR2018/006869 18/06/2018

(87) WO 2018/236115 A1 27/12/2018

(30) 10-2017-0077570 19/06/2017 KR; 10-2018-0069590 18/06/2018 KR

(45) 25/01/2024 430

(43) 25/06/2020 387

(73) FUTURECHEM CO., LTD. (KR)

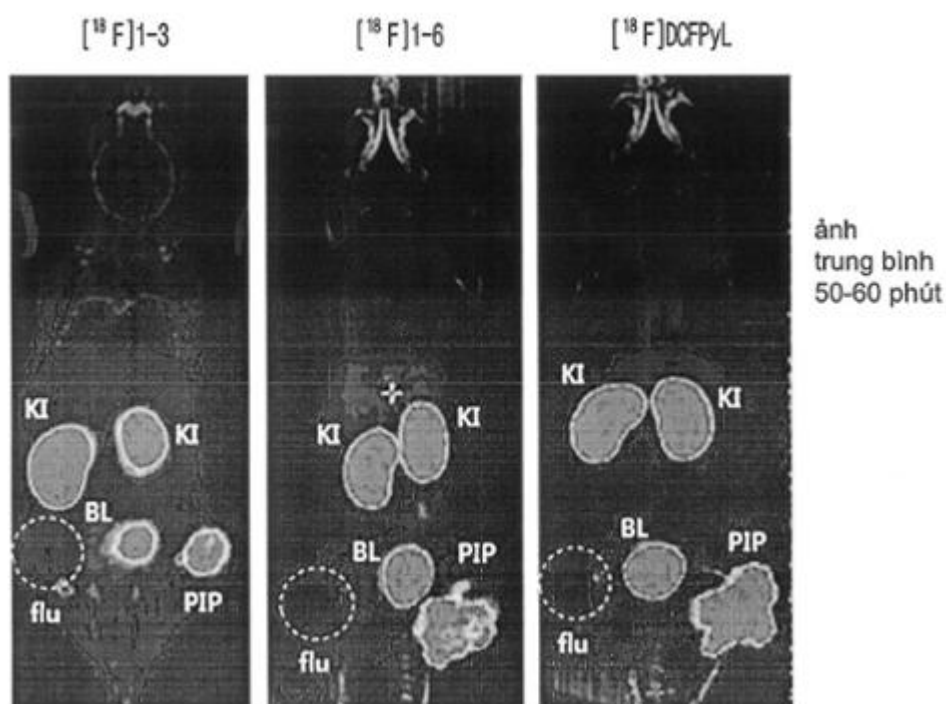
2nd Floor, 21, Yeonmujang 3-gil, Seongdong-gu, Seoul 04782, Korea

(72) CHI, Dae Yoon (KR); LEE, Byoung Se (KR); CHU, So Young (KR); JUNG, Woon Jung (KR); JEONG, Hyeon Jin (KR); KIM, Min Hwan (KR); KIM, Mi Hyun (KR); LEE, Kyo Chul (KR); LEE, Yong Jin (KR); PARK, Ji Ae (KR); YOO, Ran Ji (KR); LIM, Sang Moo (KR).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) HỢP CHẤT ĐƯỢC ĐÁNH DẤU ^{18}F VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất được đánh dấu ^{18}F . Hợp chất này liên kết có chọn lọc với kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) và cho phép thu được hình ảnh về ung thư tuyến tiền liệt rõ ràng trong thời gian ngắn khi được sử dụng trong chụp cắt lớp phát xạ positron (PET).



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất được đánh dấu ^{18}F để chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt và phương pháp sử dụng hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Ung thư tuyến tiền liệt là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong trong số các bệnh ung thư nam ở Hoa Kỳ, đứng thứ năm ở Hàn Quốc và đứng thứ hai trên thế giới. Ung thư tuyến tiền liệt thường phát triển ở nam giới trên 50 tuổi, nhưng số lượng bệnh nhân tăng nhanh theo tuổi tác. Nó thường tiến triển chậm, nhưng khi phát triển thành di căn ác tính thì cực kỳ khó điều trị. Sự di căn thường bắt đầu đến các hạch bạch huyết, xương chậu, đốt sống và bàng quang xung quanh ung thư tuyến tiền liệt và dần dần lan ra khắp cơ thể.

Xét nghiệm kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (xét nghiệm PSA) và kiểm tra trực tràng kỹ thuật số hiện đang được sử dụng chủ yếu để chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt, và siêu âm cắt ngang, CT, MRI và chụp xương toàn thân (WBBS) cũng được sử dụng. Việc sinh thiết để chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt cũng đang được thực hiện. Tuy nhiên, trong hầu hết các trường hợp, độ chính xác chẩn đoán thấp và việc chẩn đoán sớm bệnh khá là khó khăn. Ngoài ra, rất khó để xác định sự di căn và khó phân biệt với các bệnh lành tính như tăng sản tuyến tiền liệt và viêm tuyến tiền liệt.

PET (chụp cắt lớp phát xạ positron - positron emission tomography) là một phương pháp chẩn đoán hình ảnh trên người bằng cách sử dụng đầu dò phân tử nhắm mục tiêu vào cơ chế chuyển hóa hoặc protein đặc trưng cho bệnh. Phương pháp này có lợi thế trong chẩn đoán sớm, đánh giá điều trị và xác nhận di căn/tái phát bằng cách quan sát những thay đổi sinh hóa trong giai đoạn đầu của bệnh bằng cách sử dụng đồng vị phóng xạ thời gian bán hủy ngắn.

[^{18}F] FDG là dược phẩm phóng xạ PET đại diện được sử dụng để chẩn đoán ung thư vì nó có thể quan sát cơ chế chuyển hóa đường tăng cường của các tế bào ung thư. Một ví dụ về kỹ thuật này được bộc lộ trong tài liệu sáng chế 1 bên dưới. Tuy nhiên, trong trường hợp ung thư tuyến tiền liệt, mức độ hấp thu [^{18}F] FDG không cao nên khó sử dụng để chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt. Ngoài ra, hợp chất như [^{18}F] florocholin, [^{11}C] axetat và [^{18}F] FACBC cũng được áp dụng để chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt. Tuy nhiên, khi sử dụng chúng, độ chính xác của việc chẩn đoán không cao, và khó quan sát thấy ung thư tuyến tiền liệt kích thước nhỏ di căn.

Kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSMA) là một loại protein đặc biệt biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư tuyến tiền liệt, và người ta đã biết rằng hợp chất dipeptit dựa trên ure của axit glutamic-ure-lysin (GUL) liên kết rất chọn lọc với protein màng này. Một số hợp chất được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ dựa trên GUL được phát triển dưới dạng thuốc chẩn đoán đặc hiệu cho ung thư tuyến tiền liệt.

Trong số đó, ^{18}F -DCFPyL là một hợp chất Gul được đánh dấu bằng đồng vị ^{18}F và được đánh giá là một trong những chất theo dõi PET tốt nhất cho việc chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt. ^{18}F -DCFPyL có đặc tính ái mỡ tương đối thấp so với hợp chất được phát triển trước đó (^{18}F -DCFBzL), vì vậy nó có đặc tính liên kết không đặc hiệu thấp *in vivo* và nhanh chóng được loại bỏ qua thận.

Gần đây, hợp chất có tên ^{18}F -YC88 được phát triển thêm. Nó là hợp chất có đặc tính ái mỡ thấp hơn so với hợp chất ^{18}F -DCFPyL, khác biệt ở chỗ làm giảm thêm liên kết không đặc hiệu và nhanh chóng bị loại bỏ. Tuy nhiên, hợp chất này có một vấn đề là lực liên kết với protein PSMA giảm khoảng 10 lần so với ^{18}F -DCFPyL và tín hiệu ung thư tuyến tiền liệt giảm đi rất nhiều theo thời gian.

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2016-0085769, Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2011-0038725.

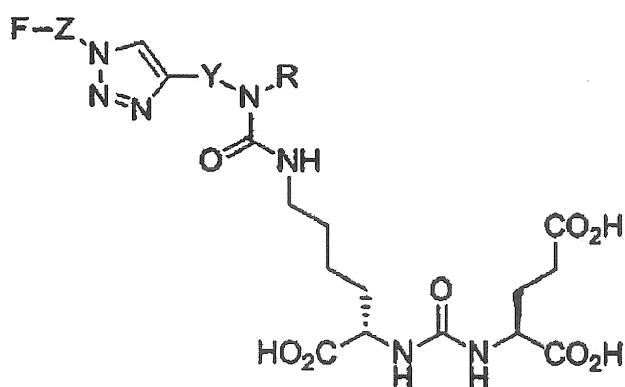
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là cung cấp hợp chất được đánh dấu ^{18}F có khả năng chẩn đoán chính xác ung thư tuyến tiền liệt và phương pháp sử dụng nó.

Mục đích của sáng chế không giới hạn ở mục đích nêu trên. Mục đích của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn từ phần mô tả sau đây và sẽ được hiện thực hóa bằng các đối tượng được mô tả trong phần yêu cầu bảo hộ và các dạng kết hợp của chúng.

Hợp chất theo sáng chế được thể hiện bằng công thức I sau đây.

Công thức I:

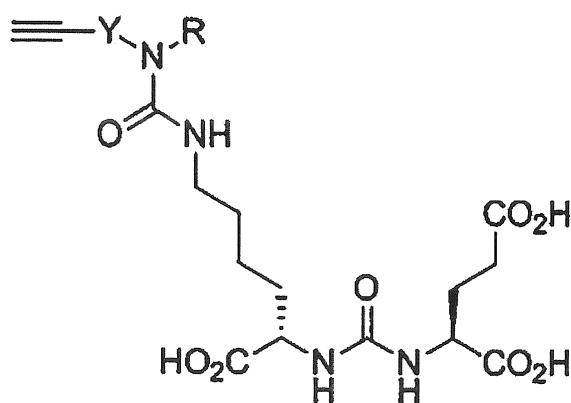


Trong công thức I, Y là $\text{C}_1\text{-C}_5$ alkylen; và Z Là $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2\text{-O-CH}_2)_n\text{-CH}_2-$, trong đó n là số nguyên từ 0 đến 5; R là hydro hoặc $\text{C}_1\text{-C}_2$ alkyl có nhóm thế, trong đó nhóm thế là $\text{C}_6\text{-C}_{12}$ aryl hoặc $\text{C}_4\text{-C}_{10}$ heteroaryl chứa một hoặc nhiều nguyên tố được chọn từ nhóm gồm O, S và N; và F có thể là ^{18}F hoặc ^{19}F .

Y là $\text{C}_1\text{-C}_2$ alkylen và F có thể là ^{18}F .

Hợp chất theo phương án khác của sáng chế được thể hiện bằng công thức II sau đây.

Công thức II:



Trong công thức II, Y là C₁-C₅ alkylen; và R là hydro hoặc C₁-C₂ alkyl có nhóm thế, trong đó nhóm thế là C₆-C₁₂ aryl hoặc C₄-C₁₀ heteroaryl chứa một hoặc nhiều nguyên tố được chọn từ nhóm gồm O, S và N.

Y có thể là C₁-C₂ alkylen.

Dược phẩm để điều trị hoặc chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt theo một phương án khác của sáng chế bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của nó.

Dược phẩm phóng xạ để chẩn đoán hình ảnh ung thư tuyến tiền liệt theo một phương án khác của sáng chế bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của nó.

Việc chẩn đoán hình ảnh có thể bao gồm chụp cắt lớp phát xạ positron (PET).

Hiệu quả của sáng chế

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức I mà liên kết ¹⁸F có tính kỵ nước cao, tính chất dược động học *in vivo* tốt và tính liên kết không đặc hiệu thấp, do đó có thể thu được hình ảnh chụp cắt lớp phát xạ positron (PET) rõ trong khoảng thời gian ngắn.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1A và Fig.1B là các sơ đồ minh họa kết quả TLC phóng xạ theo các bước điều chế hợp chất [¹⁸F] 1-6;

Fig.2 là sơ đồ minh họa kết quả tách HPLC theo các bước điều chế hợp chất [¹⁸F] 1-6;

Fig.3 là sơ đồ minh họa kết quả MicroPET/CT của bệnh ung thư tuyến tiền liệt ở chuột;

Fig.4A đến Fig.44C là các biểu đồ minh họa tỷ lệ hấp thụ của cơ, gan và lá lách so với khối u;

Fig.5A và Fig.5B là các biểu đồ minh họa sự phân bố sinh học vào các cơ quan theo thời gian.

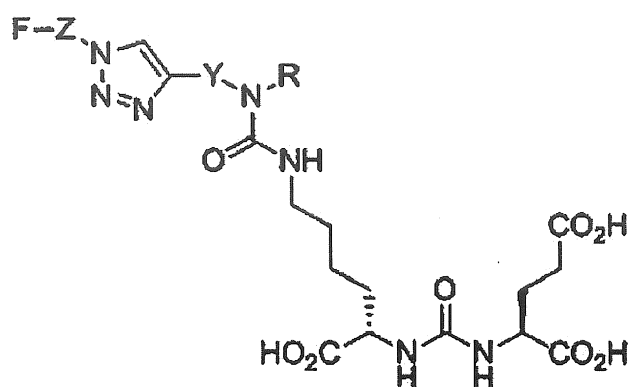
Mô tả chi tiết sáng chế

Các mục đích nêu trên, các mục đích khác, các đặc tính và ưu điểm của sáng chế được hiểu đầy đủ thông qua các ví dụ được ưu tiên sau đây có dựa vào các hình vẽ kèm theo. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ được mô tả ở đây và có thể được thể hiện dưới các hình thức khác. Thay vào đó, các ví dụ được đưa ra ở đây được cung cấp để có thể tạo ra phần mô tả hoàn chỉnh và đầy đủ, và giúp người có kỹ năng trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể hiểu thấu đáo tinh thần của sáng chế.

Sau đây, hợp chất được thể hiện bằng công thức I của sáng chế được mô tả chi tiết.

Sáng chế bao gồm hợp chất được thể hiện bằng công thức I sau đây.

Công thức I:



Trong công thức I:

Y là C₁-C₅ alkylen;

Z là -CH₂-(CH₂-O-CH₂)_n-CH₂-, trong đó n là số nguyên từ 0 đến 5;

R là hydro hoặc C₁-C₂ alkyl có nhóm thế, trong đó nhóm thế là C₆-C₁₂ aryl hoặc C₄-C₁₀ heteroaryl chứa một hoặc nhiều nguyên tố được chọn từ nhóm gồm O, S và N; và

F có thể là ¹⁸F hoặc ¹⁹F.

Cụ thể hơn, Y là C₁-C₂ alkylen;

Z là -CH₂-(CH₂-O-CH₂)_n-CH₂-, trong đó n là số nguyên từ 0 đến 5;

R là hydro hoặc C₁-C₂ alkyl có nhóm thế, trong đó nhóm thế là C₆-C₁₂ aryl hoặc C₄-C₁₀ heteroaryl chứa một hoặc nhiều nguyên tố được chọn từ nhóm gồm O, S và N; và

F có thể là ^{18}F .

Các phối tử của công thức I của sáng chế có thể được liên kết bổ sung với protein PSMA thông qua các liên kết ái mỡ vì về mặt cấu trúc chúng có thể liên kết với các nhóm aryl thơm. Ngoài ra, nhóm triazol trong mạch bên mà ^{18}F được liên kết vào có thể làm tăng tính phân cực của hợp chất để giảm việc liên kết không đặc hiệu *in vivo*.

Hợp chất trên được đánh dấu bằng flo-18 của sáng chế có thể có khả năng liên kết tuyệt vời với protein PSMA và đồng thời có các đặc tính dược động học tuyệt vời.

Sáng chế đề xuất được phẩm để điều trị hoặc chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối được dùng làm thành phần hoạt tính.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp sử dụng được phẩm phóng xạ dùng để chẩn đoán cho đối tượng cần theo dõi điều trị hoặc chẩn đoán hình ảnh ung thư tuyến tiền liệt. Được phẩm phóng xạ để chẩn đoán hình ảnh này có thể bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối được dùng của nó làm thành phần hoạt chất. Ở đây, việc chẩn đoán hình ảnh có thể bao gồm chụp cộng hưởng từ (MRI) hoặc chụp cắt lớp phát xạ positron (PET), và tốt hơn là có thể được thực hiện bằng chụp cắt lớp phát xạ positron (PET).

Trong hợp chất được mô tả ở trên, phối tử phóng xạ được hấp thu vào các mô ung thư tuyến tiền liệt biểu hiện PSMA và có thể được loại bỏ ở các cơ quan khác, do đó có thể thu được hình ảnh PET rõ trong một thời gian ngắn.

Sau đây, hợp chất được thể hiện bằng công thức II của sáng chế được mô tả chi tiết.

Sáng chế bao gồm hợp chất được thể hiện bằng công thức II sau đây.

Công thức II:

và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng diclorometan. Dung môi hữu cơ thu được được làm khô trên natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (7% metanol/diclorometan). Kết quả là, thu được hợp chất 3 dưới dạng chất rắn màu trắng (18,0g, 97%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,53 (s, 9H), 7,29 (brs, 1H), 7,34 (dd, $J = 4,8$, 1,6 Hz, 2H), 8,44 (dd, $J = 4,8$, 1,6 Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 28,2, 81,6, 112,3, 145,8, 150,4, 152,0; MS (ESI) m/z 193 $[\text{MH}]^-$

Ví dụ 1-2: Điều chế hợp chất 4 (bước 2)

Hợp chất 3 (18,0g, 93mmol) tổng hợp được ở bước 1 ở trên được hòa tan trong diimetylformamit (DMF, 400ml), và natri hydrua (7,4g, 900mmol) được bổ sung vào ở 0°C . Propazyl bromua được thêm từ từ vào đó, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Metanol (50ml) được thêm vào ở 0°C , sau đó khuấy trong 30 phút. Nước được thêm vào và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng etyl axetat. Dung môi hữu cơ thu được được rửa bằng dung dịch amoni clorua ba lần, làm khô bằng natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (5% metanol/diclorometan). Kết quả là, thu được hợp chất 4 dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (13,4g, 62%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,53 (s, 9H), 2,31 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H), 4,43 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H), 7,38 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 8,54 (m, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 28,1, 38,5, 72,4, 79,1, 82,7, 118,0, 149,2, 150,2, 152,6; MS (ESI) m/z 233 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 1-3: Điều chế hợp chất 5 (bước 3)

Dioxan (75mL) chứa HCl 4N được thêm vào hợp chất 4 (13,0g, 56mmol) được tổng hợp ở bước 2 ở trên, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ. Dung dịch nước natri hydroxit 2N (500ml) được thêm vào và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng diclorometan. Dung môi hữu cơ thu được được làm khô trên natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (60% etyl axetat/diclorometan, NH silica gel). Kết quả là, thu được hợp chất thứ 5 dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (6,8g, 92%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 2,27 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H), 3,97 (dd, $J = 6,0, 2,4$ Hz, 2H), 4,66 (brs, 1H), 6,53 (dd, $J = 4,8, 1,6$ Hz, 2H), 8,26 (d, $J = 4,4, 1,6$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 32,4, 72,0, 79,4, 108,1, 150,1, 152,3; MS (ESI) m/z 133 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 2: Điều chế amin 8 (N-propazyl, N-(pyridin-4-yl metyl) amin)

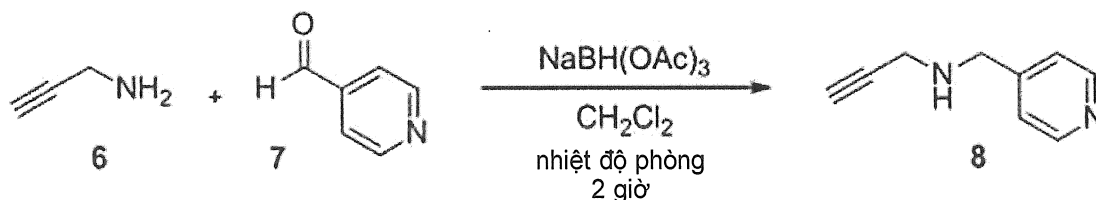
4-Pyridincarboxyaldehyt (7,05mL, 4,7mmol) được hòa tan trong diclorometan (10mL), được bổ sung propazyl amin (0,31mL, 5,6mmol). Natri triaxetoxylborohydrua (1,5g, 7,05mmol) được thêm từ từ vào đó, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Nước được thêm vào và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng diclorometan. Dung môi hữu cơ thu được được làm khô trên natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (2% metanol/diclorometan). Kết quả là, thu được hợp chất 8 dưới dạng chất lỏng màu đỏ tươi (315mg, 46%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 2,28 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,45 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H), 3,93 (s, 2H), 4,24 (brs, 1H), 7,32 (dd, $J = 5,2, 0,8$ Hz, 2H), 8,57 (dd, $J = 5,2, 0,8$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 37,4, 50,8, 72,1, 81,3, 123,3, 148,8, 149,4; MS (ESI) m/z 147 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 2 dưới đây.

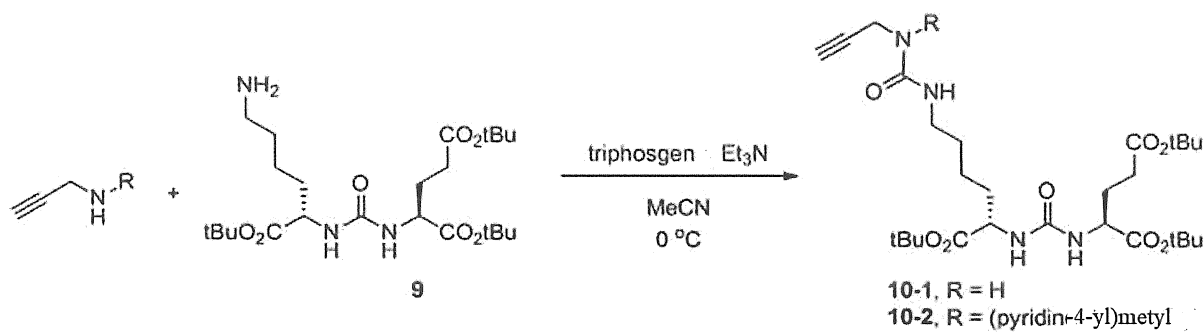
Sơ đồ phản ứng 2:



Ví dụ 3: Điều chế hợp chất N-propazyl amin-ure-GUL

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 3 dưới đây.

Sơ đồ phản ứng 3:



Ví dụ 3-1: Điều chế hợp chất 10-1

Triphosgen (107mg, 0,36mmol) được hòa tan trong axetonitril (5,0mL), trong đó glutamat-ure-lysin (9, 500mg, 1,03mmol) được hòa tan trong axetonitril (10mL) được thêm từ từ vào ở 0°C. Triethylamin (0,50mL, 3,61mmol) được thêm vào sau đó, sau đó khuấy trong 30 phút. Propazyl amin (0,072mL, 1,13mmol) được bổ sung tại 0°C. 15 phút sau, hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ và sau đó cô đặc dưới áp suất giảm. Nước được thêm vào và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng etyl axetat. Dung môi hữu cơ thu được được làm khô trên natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (2% metanol/diclorometan). Kết quả là, thu được hợp chất 10-1 dưới dạng chất rắn màu trắng (492mg, 84%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,25-1,30 (m, 2H), 1,44 (s, 18H), 1,48 (s, 9H), 1,51-1,60 (m, 3H), 1,67-1,76 (m, 1H), 1,80-1,90 (m, 1H), 2,05-2,13 (m, 1H), 2,18 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H), 2,29-2,40 (m, 2H), 3,06-3,12 (m, 1H), 3,30-3,36 (m, 1H), 3,95-4,06 (m, 2H), 4,08-4,14 (m, 1H), 4,36 (sext, $J = 4,4$ Hz, 1H), 5,64 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,69 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 5,89 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 6,11 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 23,4, 27,7, 27,8, 27,9, 28,0, 29,6, 29,7, 31,7, 32,1, 39,4, 53,3, 54,2, 70,5, 80,7, 81,4, 81,5, 83,1, 158, 0, 158,2, 172,0, 172,3, 174,6; MS (ESI) m/z 569 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 3-2: Điều chế hợp chất 10-2

Hợp chất 10-2 thu được theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ 3-1 dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (270mg, 66%) ngoại trừ triphosgen (64mg, 0,211mmol) hòa tan trong axetonitril (3,0mL), glutamat-ure-lysin (9, 300mg,

0,62mmol) hòa tan trong axetonitril (6mL), triethylamin (0,02mL, 2,17mmol) và hợp chất 8 (100mg, 0,68mmol) được tổng hợp trong ví dụ 2 được sử dụng.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,22-1,30 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,45 (s, 18H), 1,48-1,54 (m, 2H), 1,59-1,64 (m, 1H), 1,71-1,77 (m, 1H), 1,79-1,88 (m, 2H), 2,03-2,09 (m, 1H), 2,27-2,32 (m, 1H), 2,35 (t, $J = 2,2$ Hz, 1H), 3,24 (sept, $J = 6,2$ Hz, 2H), 4,07 (t, $J = 2,4$ Hz, 2H), 4,27-4,35 (m, 2H), 4,60 (dd, $J = 20,4, 17,2$ Hz, 2H), 4,92 (s, 1H), 5,24 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,44 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,24 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 8,60 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 22,3, 27,9, 28,0, 28,1, 28,4, 29,4, 31,6, 32,4, 36,8, 40,7, 49,6, 53,0, 53,3, 73,4, 78,8, 80,5, 81,7, 82,0, 122,3, 147,0, 150,2, 157,0, 157,7, 172,3, 172,4, 172,5; MS (ESI) m/z 660 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 3-3: Điều chế hợp chất 10-3

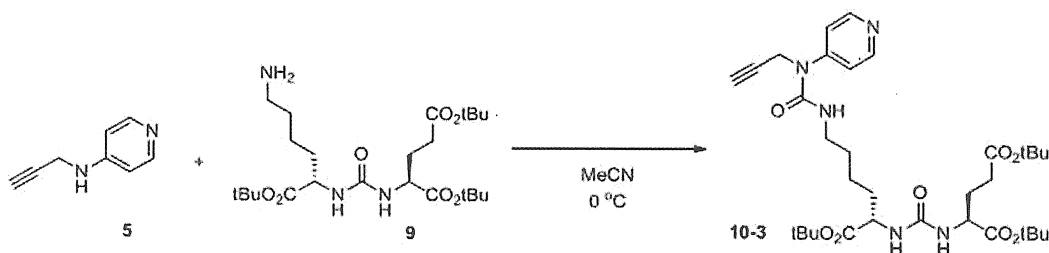
Hợp chất 5 (200mg, 1,51mmol) được tổng hợp trong ví dụ 1-3 được hòa tan trong axetonitril (5,0 ml), và 4-nitrophenyl cloroformat (305mg, 1,51mmol) hòa tan trong axetonitril (5,0 mL) được thêm từ từ ở 0°C , triethyl amin (0,50mL, 3,61mmol) được thêm vào sau đó, sau đó khuấy trong 30 phút, glutamat-ure-lysin (9, 886mg, 1,82mmol) hòa tan trong axetonitril (10mL) được thêm từ từ vào ở 0°C và sau đó diisopropylamin (0,324mL, 1,82mmol) cũng được bổ sung, 15 phút sau, hỗn hợp được khuấy ở 100°C trong 12 giờ, sau khi làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ phòng, nước được thêm vào và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng etyl axetat, dung môi hữu cơ thu được được thử trên natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (5% metanol/diclorometan), Kết quả là, thu được hợp chất 10-3 dưới dạng chất lỏng không màu (836mg, 86%).

^1H NM (400 MHz, CDCl_3) δ 1,27-1,37 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,45 (s, 18H), 1,50-1,55 (m, 2H), 1,59-1,65 (m, 1H), 1,72-1,88 (m, 2H), 2,01-2,10 (m, 1H), 2,27-2,34 (m, 1H), 2,35 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H), 2,16 (q, $J = 6,7$ Hz, 2H), 4,25-4,34 (m, 2H), 4,50 (ddd, $J = 25,2, 18,0, 2,4$ Hz, 2H), 5,21 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,50 (s, 1H), 7,32 (dd, $J = 4,8, 1,6$ Hz, 2H), 8,59 (d, $J = 6,4$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 22,4, 27,9, 28,0, 28,1, 28,3, 29,4, 31,6, 32,4, 38,2, 40,7, 52,9, 53,3, 72,9, 79,3, 80,5, 81,6, 82,0, 119,5, 149,6, 151,2, 155,3, 157,1, 172,3, 172,4, 172,5; MS (ESI) m/z 646 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 4 dưới đây.

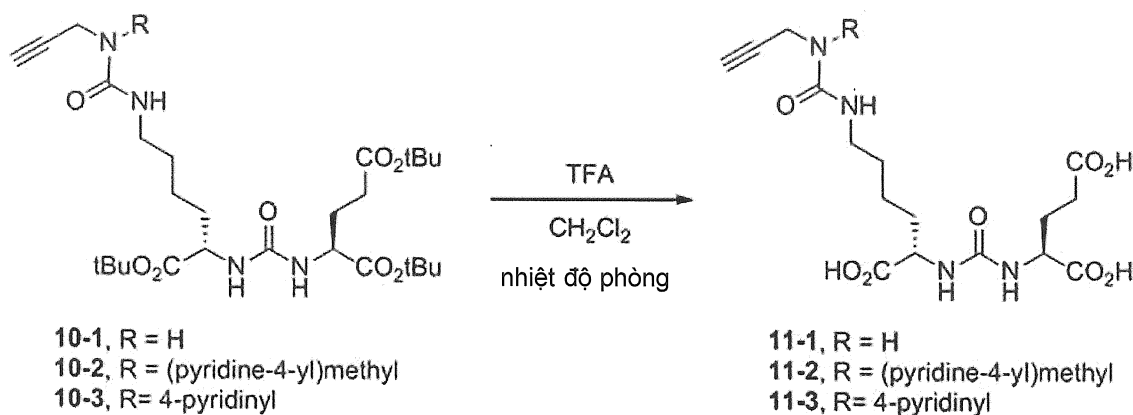
Sơ đồ phản ứng 4:



Ví dụ 4: Khử nhóm bảo vệ của hợp chất 10

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 5 dưới đây.

Sơ đồ phản ứng 5:



Ví dụ 4-1: Điều chế hợp chất 11-1

Hợp chất 10-1 (450mg, 0,79mmol) được tổng hợp trong ví dụ 3-1 được hòa tan trong axit trifloroaxetic 60%/diclorometan (2mL), sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, chất phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký lỏng hiệu suất cao (HPLC), Kết quả là, thu được hợp chất 11-1 dưới dạng chất rắn màu trắng (280mg, 88%).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,24-1,29 (m, 2H), 1,32-1,39 (m, 2H), 1,46-1,55 (m, 1H), 1,60-1,67 (m, 1H), 1,68-1,77 (m, 1H), 1,84-1,92 (m, 1H), 2,24

(td, $J = 7,8, 2,6$ Hz, 2H), 2,96 (q, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,01 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H), 3,77 (dd, $J = 5,6, 2,4$, 2H), 4,05 (sext, $J = 7,6$ Hz, 2H), 5,98 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 6,13 (t, $J = 5,6$, 1H), 6,31 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 12,43 (brs, 3H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 21,4, 25,6, 27,8, 28,5, 29,3, 29,9, 38,7, 52,0, 52,6, 70,5, 80,4, 118,2, 158,3, 159,2, 175,6, 176,4 ; MS (ESI) m/z 399 $[\text{MH}]^-$.

Ví dụ 4-2: Điều chế hợp chất 11-2

Hợp chất 10-2 (460mg, 0,70mmol) được tổng hợp trong ví dụ 3-2 được hòa tan trong axit trifloroaxetic 60%/diclorometan (2ml), tiếp theo là khuấy ở nhiệt độ phòng trong vòng 4 giờ, chất phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). . Kết quả là, thu được 11- 2 dưới dạng chất rắn màu trắng (289mg, 84%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,10-1,18 (m, 2H), 1,29-1,36 (m, 2H), 1,44-1,52 (m, 1H), 1,56-1,63 (m, 1H), 1,71 -1,80 (m, 1H), 1,91-1,99 (m, 1H), 2,28 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,56 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,03 (td, $J = 6,6, 2,0$ Hz, 2H), 3,89 (dd, $J = 8,6, 5,0$ Hz, 1H), 3,98 (dd, $J = 8,6, 5,0$ Hz, 1H), 4,06 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H), 4,72 (s, 2H), 7,78 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 8,55 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,3, 27,3, 28,7, 30,6, 31,3, 37,7, 40,2, 50,9, 53,9, 54,3, 74,0, 78,6, 124,8, 140, 9, 158,7, 158,8, 159,2, 160,3, 178,0, 178,6; MS (ESI) m/z 492 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 4-3: Điều chế hợp chất 11-3

Hợp chất 10-3 (650mg, 1,01mmol) được tổng hợp trong ví dụ 3-3 được hòa tan trong axit trifloroaxetic 60%/diclorometan (3 ml), tiếp theo là khuấy ở nhiệt độ phòng trong vòng 4 giờ, chất phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Kết quả là, thu được hợp chất 11-3 dưới dạng chất rắn màu trắng (390mg, 81%).

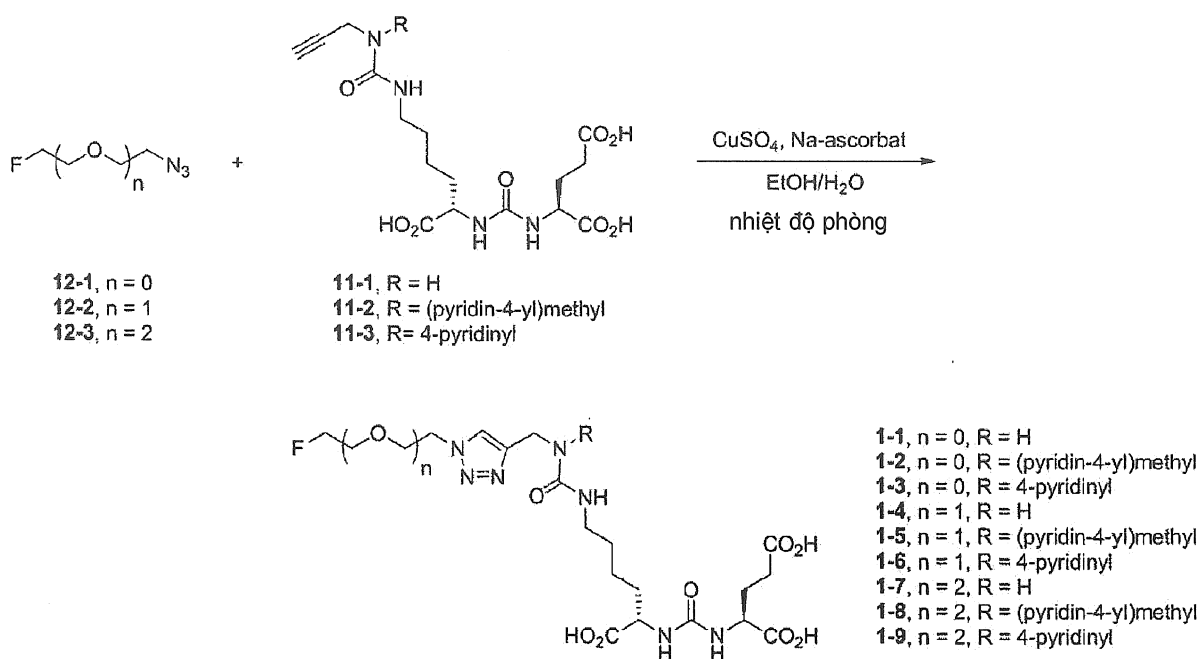
^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,21-1,26 (m, 2H), 1,38-1,43 (m, 2H), 1,46-1,53 (m, 1H), 1,58-1,67 (m, 1H), 1,69 -1,74 (m, 1H), 1,84-1,93 (m, 1H), 2,22 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,61 (t, $J = 0,8$ Hz, 1H), 3,12 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,92 (q, $J = 6,5$ Hz, 2H), 4,45 (s, 2H), 7,44 (d, $J = 6,4$ Hz, 2H), 8,27 (d, $J = 4,0$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,4, 27,1, 27,7, 30,5, 31,2, 37,9, 40,6, 53,6, 54,1, 74,8, 76,5, 114,5, 140,7, 156,1, 156,2, 159,0, 177,7, 177,9, 178,4; MS (ESI) m/z 478 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5: Điều chế hợp chất flo-triazol-ure-GUL thông qua hóa học kết hợp các phân tử nhỏ (Hóa học Click)

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 6 dưới đây.

Sơ đồ phản ứng 6:



Ví dụ 5-1: Điều chế hợp chất 1-1

2-Fluoroethyl toluensulfonat ($\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$, 82mg, 0,38mmol) được hòa tan trong diimetylformamit (0,2mL), và natri azit (73mg, 1,13mmol) được thêm vào, tiếp theo khuấy ở 60°C cho 12 giờ để tổng hợp fluoroethylazit (12-1), dung dịch phản ứng được lọc và rửa bằng etanol (0,3mL), Dung dịch nước (0,5mL) trong đó hợp chất 11-1 (30mg, 0,075mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-1 được hòa tan được thêm vào dịch lọc, dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0,046mL, 0,023mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,076mL, 0,038mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa sạch nước. Sau đó, dịch lọc được tách ra bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-1 dưới dạng chất rắn màu trắng (7mg, 19%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,17-1,28 (m, 2H), 1,30-1,37 (m, 2H), 1,50-1,59 (m, 1H), 1,64-1,72 (m, 1H), 1,77-1,87 (m, 1H), 1,98-2,05 (m, 1H), 2,36 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,96 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 4,03 (dd, $J = 8,4, 4,8$ Hz, 1H), 4,11 (dd, $J = 8,8, 5,6$ Hz, 1H), 4,24 (s, 2H), 4,56-4,57 (m, 1H), 4,65-4,68 (m, 2H), 4,75 (t, $J = 4,6$ Hz, 1H), 7,79 (s, 1H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,0, 26,1, 28,5, 29,9, 30,4, 34,9, 39,4, 50,7 (d, $J = 19$ Hz), 52,5, 53,1, 81,9 (d, $J = 168$ Hz), 124,0, 146,2, 159,5, 160,2, 176,2, 177,1, 177,2; MS (ESI) m/z 488 $[\text{MH}]^-$.

Ví dụ 5-2: Điều chế hợp chất 1-2

2-Floroethyl toluensulfonat ($\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$, 89mg, 0,41mmol) được hòa tan trong diimetylformamit (0,2mL), và natri azit (79mg, 1,22mmol) được bổ sung, tiếp theo là khuấy ở 60°C cho 12 giờ để tổng hợp floroethylazit (12-1). Dung dịch phản ứng được lọc và rửa bằng etanol (0,3mL). Dung dịch nước (0,5mL) trong đó hợp chất 11-2 (40mg, 0,081mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-2 được hòa tan được thêm vào dịch lọc. Dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0,049mL, 0,024mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,081mL, 0,041mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa sạch nước. Sau đó, dịch lọc được tách ra bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-2 dưới dạng chất rắn màu trắng (33mg, 70%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,21-1,34 (m, 2H), 1,41-1,50 (m, 2H), 1,59-1,68 (m, 1H), 1,71-1,80 (m, 1H), 1,86-1,96 (m, 1H), 2,08-2,16 (m, 1H), 2,45 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,16 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 4,09 (dd, $J = 8,4, 5,2$ Hz, 1H), 4,21 (dd, $J = 8,8, 5,6$ Hz, 1H), 4,63-4,70 (m, 6H), 4,84 (s, 2H), 7,72 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 7,93 (s, 1H), 8,60 (d, $J = 6,8, 1,2$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,1, 26,0, 28,5, 29,9, 30,4, 40,0, 42,6, 50,5, 50,6 (d, $J = 19$ Hz), 81,9 (d, $J = 168$ Hz), 124,6, 124,7, 140,6, 143,5, 159,0, 159,2, 160,6, 176,1, 177,0, 177,1; MS (ESI) m/z 581 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5-3: Điều chế hợp chất 1-3

2-Floroethyl toluensulfonat ($\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$, 91mg, 0,42mmol) được hòa tan trong DMF (0,2mL), và NaN (82mg, 1,26mmol) được thêm vào, tiếp theo là khuấy

ở 60°C trong 12 giờ để tổng hợp floreoethylazit (12-1), Dung dịch phản ứng được lọc và rửa bằng etanol (0,3mL). Dung dịch nước (0,5mL) trong đó hợp chất 11-3 (40mg, 0,084mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-3 được hòa tan vào dịch lọc. Dung dịch nước CuSO₄.5H₂O (0,5M, 0,050mL, 0,025mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,084mL, 0,042mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa sạch bằng nước. Sau đó, dịch lọc được tách ra bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-3 dưới dạng chất rắn màu trắng (27mg, 57%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 1,15-1,24 (m, 2H), 1,36-1,43 (m, 2H), 1,49-1,58 (m, 1H), 1,63-1,72 (m, 1H), 1,75 -1,84 (m, 1H), 1,96-2,05 (m, 1H), 2,34 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,15 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 4,01 (dd, *J* = 8,8, 5,2 Hz, 1H), 4,10 (dd, *J* = 9,0, 5,0 Hz, 1H), 4,55-4,61 (m, 3H), 4,73 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 7,47 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,92 (s, 1H), 8,27 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H);

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) δ 22,2, 26,1, 27,5, 29,9, 30,4, 40,4, 43,2, 50,7 (d, *J* = 19 Hz), 52,4, 53,0, 81,9 (d, *J* = 168 Hz), 114,4, 124,7, 140,7, 142,3, 156,4, 156,8, 159,2, 176,1, 176,9, 177,1; MS (ESI) *m/z* 567 [M + H]⁺.

Ví dụ 5-4: Điều chế hợp chất 1-4

Dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất 11-1 (40mg, 0,10mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-1 trong nước (0,5mL) được thêm vào etanol (0,5mL) trong đó etan 1-azido-2-(2-floroetoxy) (12-2, 16mg, 0,12mmol) được hòa tan. Dung dịch nước CuSO₄.5H₂O (0,5M, 0,060mL, 0,030mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,100mL, 0,050mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng nước. Sau đó, dịch lọc được tách ra bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-4 dưới dạng chất rắn màu trắng (20mg, 38%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 1,14-1,22 (m, 2H), 1,24-1,32 (m, 2H), 1,45-1,54 (m, 1H), 1,59-1,66 (m, 1H), 1,72 -1,82 (m, 1H), 1,93-2,02 (m, 1H), 2,31 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,91 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 3,51 (td, *J* = 4,0, 0,8 Hz, 1H), 3,58 (td, *J* = 4,0, 0,8 Hz, 1H), 3,81 (t, *J* = 4,8 Hz, 2 H), 3,98 (dd, *J* = 8,8, 4,8 Hz, 1H), 4,06 (dd,

$J = 9,2, 5,2$ Hz, 1H), 4,20 (s, 2H), 4,28 (td, $J = 4,0, 0,8$ Hz, 1H), 4,39 (td, $J = 4,0, 0,8$ Hz, 1H), 4,45 (t, $J = 4,68$ Hz, 2H), 7,78 (s, 1H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,0, 26,0, 28,4, 29,9, 30,4, 34,7, 39,4, 50,3, 52,4, 53,0, 68,6, 69,7 (d, $J = 18$ Hz), 83,1 (d, $J = 162$ Hz), 124,3, 145,8, 159,2, 160,1, 176,1, 177,0, 177,1; MS (ESI) m/z 534 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5-5: Điều chế hợp chất 1-5

Dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất 11-2 (40mg, 0,081mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-2 trong nước (0,5mL) được thêm vào ethanol (0,5mL) trong đó etan 1-azido-2-(2-floroetoxy) (12-2, 13mg, 0,097mmol) được hòa tan. Dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0,049mL, 0,024mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,081mL, 0,041mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng nước. Sau đó, dịch lọc được phân tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-5 dưới dạng chất rắn màu trắng (37mg, 72%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,16-1,23 (m, 2H), 1,33-1,40 (m, 2H), 1,52-1,60 (m, 1H), 1,63-1,70 (m, 1H), 1,81 -1,88 (m, 1H), 2,00-2,07 (m, 1H), 2,38 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 3,07 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,57 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,65 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,83 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 4,02 (d, $J = 8,4, 5,2$ Hz, 1H), 4,14 (d, $J = 9,0, 5,0$ Hz, 1H), 4,34 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 4,45-4,49 (m, 3H), 4,59 (s, 2H), 4,75 (s, 2H), 7,69 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H), 7,86 (s, 1H), 8,55 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,2, 26,2, 28,6, 29,9, 30,5, 40,1, 42,7, 49,9, 50,6, 52,5, 53,2, 68,7, 69,7 (d, $J = 19$ Hz), 83,2 (d, $J = 163$ Hz), 124,7, 124,9, 140,7, 143,5, 159,1, 159,2, 160,7, 176,1, 177,0, 177,1; MS (ESI) m/z 625 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5-6: Điều chế hợp chất 1-6

Dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất 11-3 (40mg, 0,084mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-3 trong nước (0,5mL) được thêm vào ethanol (0,5mL) trong đó etan 1-azido-2-(2-floroetoxy) (12-2, 13mg, 0,10mmol) được hòa tan. Dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0,050mL, 0,025mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,084mL, 0,042mmol) được thêm vào từng phần,

sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng nước. Sau đó, dịch lọc được tách ra bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-6 thu được dưới dạng chất rắn màu trắng (38mg, 75%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,20-1,28 (m, 2H), 1,40-1,47 (m, 2H), 1,54-1,62 (m, 1H), 1,66-1,74 (m, 1H), 1,77-1,86 (m, 1H), 1,98-2,08 (m, 1H), 2,36 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 3,17 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,52 (t, $J = 3,8$ Hz, 1H), 3,60 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,83 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 4,05 (d, $J = 8,8, 4,8$ Hz, 1H), 4,12 (d, $J = 9,2, 5,2$ Hz, 1H), 4,28 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 4,40 (t, $J = 3,8$ Hz, 1H), 4,48 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 7,48 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,90 (s, 1H), 8,28 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,3, 26,2, 27,6, 29,9, 30,5, 40,5, 43,3, 50,0, 52,5, 53,1, 68,7, 69,7 (d, $J = 19$ Hz), 83,1 (d, $J = 163$ Hz), 114,4, 124,7, 140,7, 142,1, 156,4, 156,8, 159,2, 176,1, 176,9, 177,1; MS (ESI) m/z 611 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5-7: Điều chế hợp chất 1-7

Dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất 11-1 (40mg, 0,10mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-1 trong nước (0,5mL) được thêm vào etanol (0,5mL) trong đó 1-azido-2-(2-(2-fluoroetoxy) etoxy) etan (12-3, 21mg, 0,12mmol) được hòa tan. Dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0,060mL, 0,030mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,100mL, 0,050mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng nước. Sau đó, dịch lọc được phân tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-3 thu được dưới dạng chất rắn màu trắng (50mg, 77%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,16-1,26 (m, 2H), 1,28-1,36 (m, 2H), 1,49-1,58 (m, 1H), 1,63-1,71 (m, 1H), 1,76-1,85 (m, 1H), 1,97-2,06 (m, 1H), 2,35 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,94 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,49-3,50 (m, 5H), 3,57 (td, $J = 4,0, 1,2$ Hz, 1H), 3,81 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H), 4,02 (dd, $J = 8,8, 4,8$ Hz, 1H), 4,10 (dd, $J = 9,0, 5,4$ Hz, 1H), 4,24 (s, 2H), 4,34 (td, $J = 4,4, 1,2$ Hz, 1H), 4,45-4,49 (m, 3H), 7,84 (s, 1H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,0, 26,1, 28,4, 29,9, 30,4, 34,6, 39,4, 50,5, 52,4, 53,0, 68,4, 69,3, 69,4, 69,7 (d, $J = 19$ Hz), 83,1 (d, $J = 163$ Hz), 124,5, 145,5, 159,2, 160,1, 176,2, 177,0, 177,1; MS (ESI) m/z 578 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5-8: Điều chế hợp chất 1-8

Dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất 11-2 (40mg, 0,081mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-2 trong nước (0,5mL) được thêm vào ethanol (0,5mL) trong đó 1-azido-2-(2-(2- fluoroetoxy) etoxy) etan (12-3, 17mg, 0,097mmol) được hòa tan. Dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0, 049mL, 0,024mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,081mL, 0,041mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng nước. Sau đó, dịch lọc được tách ra bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-8 dưới dạng chất rắn màu trắng (47mg, 87%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,13-1,25 (m, 2H), 1,36 (quint, $J = 7,0\text{Hz}$, 2H), 1,50-1,60 (m, 1H), 1,63-1,72 (m, 1H), 1,79-1,88 (m, 1H), 2,00-2,09 (m, 1H), 2,38 (t, $J = 7,2\text{ Hz}$, 2H), 3,07 (t, $J = 6,8\text{ Hz}$, 2H), 3,52 (s, 4H), 3,54 (t, $J = 4,0\text{ Hz}$, 1H), 3,62 (t, $J = 4,0\text{ Hz}$, 1H), 3,80 (t, $J = 5,2\text{ Hz}$, 2H), 4,02 (dd, $J = 8,6, 5,4\text{ Hz}$, 1H), 4,14 (dd, $J = 9,0, 5,0\text{ Hz}$, 1H), 4,38 (t, $J = 4,0\text{ Hz}$, 1H), 4,46-4,51 (m, 3H), 4,58 (s, 2H), 4,75 (s, 2H), 7,70 (d, $J = 6,4\text{ Hz}$, 2H), 7,88 (s, 1H), 8,55 (d, $J = 6,8\text{ Hz}$, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,2, 26,2, 28,6, 30,0, 30,5, 40,1, 42,7, 50,0, 50,6, 52,5, 53,2, 68,6, 69,4, 69,5, 69,7 (d, $J = 19\text{Hz}$), 83,3 (d, $J = 162\text{Hz}$), 124,7, 124,9, 140,8, 143,5, 159,1, 159,2, 160,7, 176,1, 177,0, 177,1; MS (ESI) m/z 669 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 5-9: Điều chế hợp chất 1-9

Dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất 11-3 (40mg, 0,084mmol) được tổng hợp trong ví dụ 4-3 trong nước (0,5mL) được thêm vào ethanol (0,5mL) trong đó 1-azido-2-(2-(2- fluoroetoxy) etoxy) etan (12-3, 18mg, 0,10mmol) được hòa tan. Dung dịch nước $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,5M, 0,050mL, 0,025mmol) và dung dịch nước natri ascorbat (0,5M, 0,084mL, 0,042mmol) được thêm vào từng phần, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và rửa bằng nước. Sau đó, dịch lọc được phân tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất 1-9 dưới dạng chất rắn màu trắng (30mg, 55%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 1,15-1,22 (m, 2H), 1,35-1,40 (m, 2H), 1,47-1,56 (m, 1H), 1,61-1,68 (m, 1H), 1,72 -1,81 (m, 1H), 1,93-2,03 (m, 1H), 2,31 (t, J

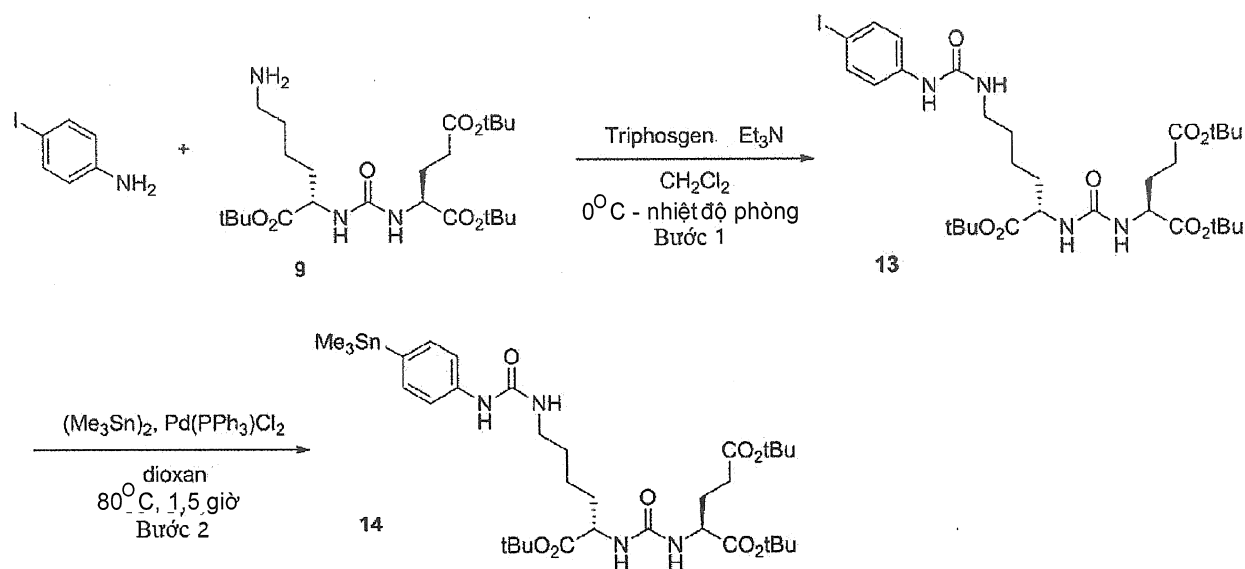
= 7,2 Hz, 2H), 3,12 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,43 (s, 4H), 3,46 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,54 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,75 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H), 3,99 (dd, $J = 8,8, 5,2$ Hz, 1H), 4,07 (dd, $J = 9,2, 5,2$ Hz, 1H), 4,30 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 4,41-4,44 (m, 3H), 5,00 (s, 2H), 7,43 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,87 (s, 1H), 8,24 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H);

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 22,2, 26,1, 27,5, 29,9, 30,4, 40,4, 43,2, 50,0, 52,4, 53,0, 68,6, 69,3, 69,4, 69,7 (d, $J = 18$ Hz), 83,1 (d, $J = 162$ Hz), 114,3, 124,6, 140,6, 142,0, 156,3, 156,8, 159,2, 176,1, 176,9, 177,1; MS (ESI) m/z 655 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 6: Tổng hợp ^{125}I -MIP1095

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 7 dưới đây.

Sơ đồ phản ứng 7:



Ví dụ 6-1: Điều chế hợp chất 13 (bước 1)

Triphosgen (21mg, 0,071mmol) được hòa tan trong diclorometan (5ml), và 4 iodoanilin (45mg, 0,205mmol) hòa tan trong diclorometan (5ml) được thêm từ từ vào ở 0°C . Trietylamin (0,57mL, 0,410mmol) được thêm vào sau đó, sau đó khuấy trong 30 phút. Glutamat-ure-lysin (9, 100mg, 0,205mmol) hòa tan trong diclorometan (10mL) được thêm từ từ vào ở 0°C . Trietylamin (0,57mL, 0,410mmol) cũng được thêm vào đó, 15 phút sau, hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Hỗn hợp được cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng

sắc ký cột (2% metanol/diclorometan). Kết quả là, thu được hợp chất 13 dưới dạng chất lỏng màu trắng (66mg, 44%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,20-1,27 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,40 (s, 9H), 1,44 (s, 9H), 1,47-1,57 (m, 2H), 1,71-1,81 (m, 2H), 1,83-1,91 (m, 1H), 2,03-2,11 (m, 1H), 2,37 (sext, $J = 8,2\text{Hz}$, 2H), 3,01-3,07 (m, 1H), 3,51 -3,56 (m, 1H), 3,97-4,01 (m, 1H), 4,26-4,32 (m, 1H), 5,75 (d, $J = 7,2\text{ Hz}$, 1H), 6,31 (q, $J = 3,4\text{ Hz}$, 1H), 6,40 (d, $J = 8,0\text{ Hz}$, 1H), 7,27 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 2H), 7,52 (d, $J = 8,8\text{ Hz}$, 2H), 7,90 (s, 1H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 24,5, 27,1, 27,8, 27,9, 28,0, 29,6, 31,7, 32,0, 39,1, 53,8, 54,9, 81,0, 81,8, 83,6, 83,7, 120,2, 137,5, 140,2, 155,6, 158,5, 171,8, 172,0, 175,3; MS (ESI) m/z 733 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ví dụ 6-2: Điều chế hợp chất 14 (bước 2)

Hợp chất 13 (50mg, 0,068mmol) được tổng hợp ở bước 1 ở trên được hòa tan trong 1,4-Dioxan (1,0mL), trong đó hexametylditin (0,043mL, 0,206mmol) và bsi (triphenylphosphin) paladi (II), 0,005mmol) được thêm vào từng phần, tiếp theo là khuấy ở 110°C cho 1,5 giờ. Sau khi làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ phòng, dung dịch nước kali florua (50mL) được thêm vào và hợp chất hữu cơ được chiết ba lần bằng etyl axetat. Dung môi hữu cơ thu được được làm khô trên natri sulfat khan, cô đặc dưới áp suất giảm và được tinh chế bằng sắc ký cột (triethylamin: etyl axetat: n-hexan, 1:40:59). Kết quả là, thu được hợp chất 14 dưới dạng chất rắn màu trắng (28mg, 53%).

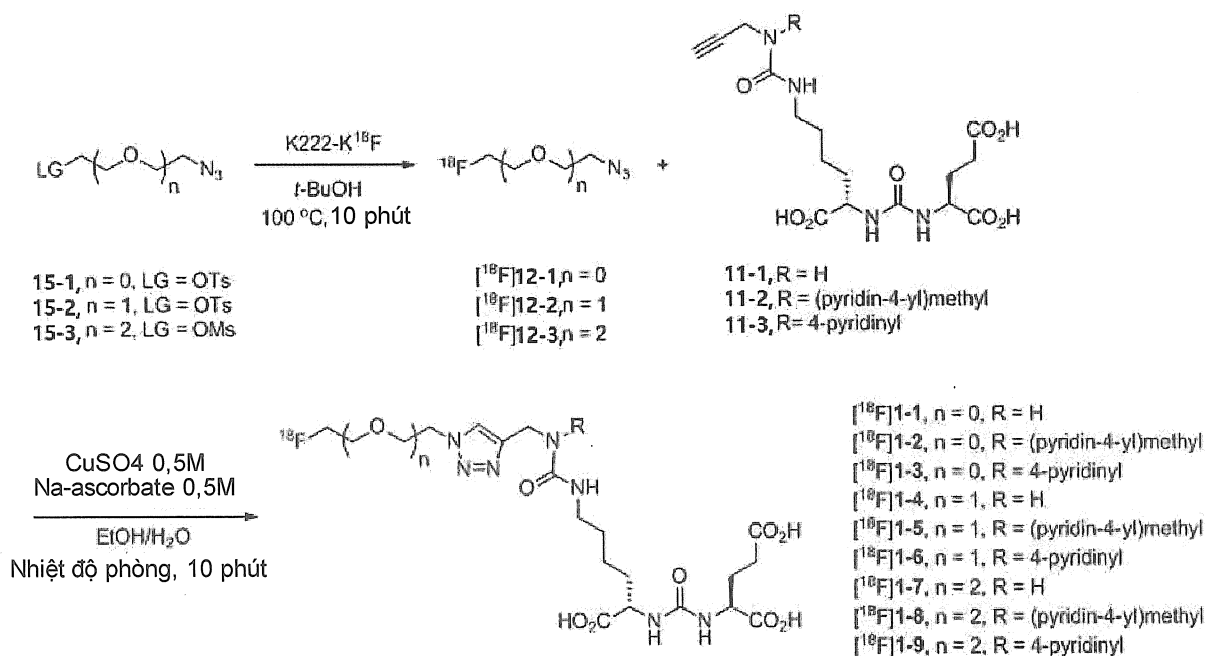
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0,25 (s, 9H), 1,22-1,29 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,41 (s, 9H), 1,43 (s, 9H), 1,48 -1,59 (m, 2H), 1,72-1,78 (m, 1H), 1,81-1,91 (m, 1H), 2,05-2,13 (m, 2H), 2,34-2,43 (m, 2H), 3,04-3,09 (m, 1H), 3,51-3,55 (m, 1H), 4,04 (pent, $J = 4,9\text{ Hz}$, 1H), 4,33 (sext, $J = 4,5\text{ Hz}$, 1H), 5,73 (d, $J = 6,8\text{ Hz}$, 1H), 6,23 (br s, 1H), 6,32 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$, 1H), 7,35 (d, $J = 8,0\text{ Hz}$, 2H), 7,43 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$, 2H), 7,73 (s, 1H);

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 9,5, 24,2, 27,4, 27,8, 27,9, 28,0, 29,7, 31,8, 32,1, 39,1, 53,7, 54,7, 80,9, 81,7, 83,5, 118,4, 133,6, 136,2, 140,4, 155,9, 158,3, 171,9, 172,2, 175,1; MS (ESI) m/z 771 $[\text{M} + 2\text{H}]^+$.

Ví dụ 7: Điều chế hợp chất được đánh dấu ^{18}F ($[^{18}\text{F}]1$)

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 8 dưới đây.

Sơ đồ phản ứng 8:



Ví dụ 7-1: Điều chế hợp chất $[^{18}\text{F}]1\text{-}1$

Nước cất (3mL) được đổ vào chromafix[®] (HCO_3), cho qua chảy dung dịch nước florua $[^{18}\text{F}]$ (508mCi), và sau đó ethanol (1mL) được đổ vào. Kryptofix222-Kali metansulfonat (10mg) được hòa tan trong ethanol (1mL), chromafix[®] được cho chảy qua, và dung môi được loại bỏ bằng cách thổi nitơ vào dung dịch ở 100°C , 2-azidoethyl 4-toluensulfonat 15-1(1,2mg) được hòa tan trong t-butanol (500 μL), được đặt trong bình phản ứng chứa $[^{18}\text{F}]$ florua, sau đó là phản ứng ở 100°C trong 10 phút (điều chế $[^{18}\text{F}]12\text{-}1$). Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng. Sau đó, 150 μL (137mCi) hỗn hợp phản ứng được đặt vào bình phản ứng khác, trong đó ethanol (150 μL), dung dịch nước chứa hợp chất 11-1 (1mg) hòa tan (100 μL), CuSO_4 0,5M (5 μL) và natri ascorbat 0,5M (10 μL) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất $[^{18}\text{F}]1\text{-}1$ (55,3mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 70 phút; tốc độ dòng, 4 mL/phút; UV, 230 nm; thời gian lưu, 15-20 phút.

Ví dụ 7-2: Điều chế hợp chất [^{18}F] 1-2

150 μL (122mCi) t-butanol chứa [^{18}F] 12-1 được điều chế trong ví dụ 7-1 được hòa tan trong đó được đặt vào bình phản ứng khác, trong đó thêm theo thứ tự ethanol (150 μL), dung dịch nước (100 μL) có chứa hợp chất 11-2(1,5mg) hòa tan, CuSO_4 0,5M (5 μL) và natri ascorbat 0,5M (10 μL) vào, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng thu được, lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [^{18}F] 1-2 (39mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA) 50 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 230nm; thời gian lưu, 17-20 phút.

Ví dụ 7-3: Điều chế hợp chất [^{18}F] 1-3

200 μL (120mCi) t-butanol chứa [^{18}F] 12-1 được điều chế trong ví dụ 7-1 được hòa tan trong đó được đặt vào bình phản ứng khác, trong đó ethanol (150 μL), dung dịch nước (100 μL) có chứa hợp chất 11-3(1,5mg) hòa tan, CuSO_4 0,5M (5 μL) và natri ascorbat 0,5M (10 μL) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [^{18}F] 1-3 (19,9mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 90 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 230nm; thời gian lưu, 14-16 phút.

Ví dụ 7-4: Điều chế hợp chất [^{18}F] 1-4

Nước cất (3mL) được rót vào chromafix[®] (HCO_3), được cho chảy qua dung dịch nước florua [^{18}F] (493mCi), và sau đó ethanol (1mL) được rót vào, krytofix222-kali metansulfonat (10mg) được hòa tan trong ethanol (1mL), chromafix[®] được cho chảy qua đó, và dung môi được loại bỏ bằng cách thổi nitơ vào dung dịch ở 100°C, 2-(2-Azidoetoxy) etyl metansulfonat 15-2(2,2mg) được

hòa tan trong t-butanol (500 μ L), được đặt trong bình phản ứng chứa [18 F] florua, sau đó là phản ứng ở 100°C trong 10 phút (điều chế [18 F] 12-2). Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng. Sau đó, 150 μ L (81,3mCi) hỗn hợp phản ứng được đặt vào bình phản ứng khác, trong đó ethanol (150 μ L), dung dịch nước chứa hợp chất 11-1 (2mg) hòa tan (100 μ L), CuSO₄ 0,5M (5 μ L) và natri ascorbat 0,5M (10 μ L) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [18 F] 1-4 (16,8mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 70 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu, 26-29 phút.

Ví dụ 7-5: Điều chế hợp chất [18 F] 1-5

150 μ L (88,4mCi) t-butanol chứa 12-2 [18 F] được điều chế trong ví dụ 7-4 được hòa tan trong đó được đặt trong bình phản ứng khác, trong đó hợp chất 11-2 (1,5mg) hòa tan trong nước cất (100 μ L), CuSO₄ 0,5M (5 μ L) và natri ascorbat 0,5M (10 μ L) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [18 F] 1-5 (26,5mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 50 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu: 29 phút.

Ví dụ 7-6: Điều chế hợp chất [18 F] 1-6

100 μ L (88,0mCi) t-butanol chứa [18 F] 12-2 được điều chế trong ví dụ 7-4 được hòa tan trong đó được đặt trong bình phản ứng khác, trong đó hợp chất 11-3 (2mg) hòa tan trong nước cất (100 μ L), CuSO₄ 0,5M (5 μ L) và natri ascorbat 0,5M (10 μ L) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [18 F] 1-6 (16,1mCi).

Fig.1A, Fig.1B và Fig.2 là các biểu đồ minh họa kết quả tách bằng TLC phóng xạ và HPLC theo các bước điều chế hợp chất [18 F] 1-6.

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10 mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 50 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu, 27 phút.

Ví dụ 7-7: Điều chế hợp chất [^{18}F] 1-7

Nước cất (3mL) được rót vào Chromafix[®] (HCO_3^-), cho chảy qua dung dịch nước florua [^{18}F] (574mCi), và sau đó etanol (1mL) được rót vào, Kryptofix222-Kali metansulfonat (10mg) được hòa tan trong etanol (1mL), Chromafix[®] được cho chảy qua, và dung môi được loại bỏ bằng cách thổi nitơ vào dung dịch ở 100°C, 2-(2-(2-Azidoetoxy) ethyl) ethyl metansulfonat 15-3(2,7mg) được hòa tan trong t-butanol (500μL), được đặt trong bình phản ứng chứa [^{18}F] florua, sau đó thực hiện phản ứng ở 100°C trong 10 phút (điều chế [^{18}F] 12-3), Sau khi hoàn thành các phản ứng, dung môi được loại bỏ bằng cách nhẹ nhàng thổi khí nitơ vào dung dịch ở 100°C, và sau đó hỗn hợp phản ứng được hòa tan trong etanol (300μL), 100μL (87mCi) dung dịch etanol chứa [^{18}F] 12-3 hòa tan được đặt trong một bình phản ứng khác, trong đó nước cất (100μL) có chứa hợp chất 11-1 (2mg) hòa tan, CuSO_4 0,5M (5μL) và natri ascorbat 0,5M (10μL) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [^{18}F] 1-7 (31,2mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 50 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu, 29 phút.

Ví dụ 7-8: Điều chế hợp chất [^{18}F] 1-8

100μL (87mCi) dung dịch etanol (100μL) chứa [^{18}F] 12-3 được điều chế trong ví dụ 7-7 được hòa tan trong đó được đặt trong bình phản ứng khác, trong đó hợp chất 11-2 (1,5mg) hòa tan trong nước cất (100μL), CuSO_4 0,5M (5μL) và natri ascorbat 0,5M (10μL) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [^{18}F] 1-8 (26,5mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 50 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu, 27 phút.

Ví dụ 7-9: Điều chế hợp chất [^{18}F] 1-9

100 μL (89mCi) dung dịch ethanol (100 μL) chứa [^{18}F] 12-3 được điều chế trong ví dụ 7-7 được hòa tan trong đó được đặt trong bình phản ứng khác, trong đó hợp chất 11-3(2mg) hòa tan trong nước cất (100 μL), CuSO_4 0,5M (5 μL) và natri ascorbat 0,5M (10 μL) được thêm vào theo thứ tự nêu trên, sau đó cho phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được lọc và tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [^{18}F] 1-9 (18,9mCi).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10mm); pha động, 5-30% axetonitril/nước (0,1% TFA), 50 phút; tốc độ dòng, 4mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu, 27,5 phút.

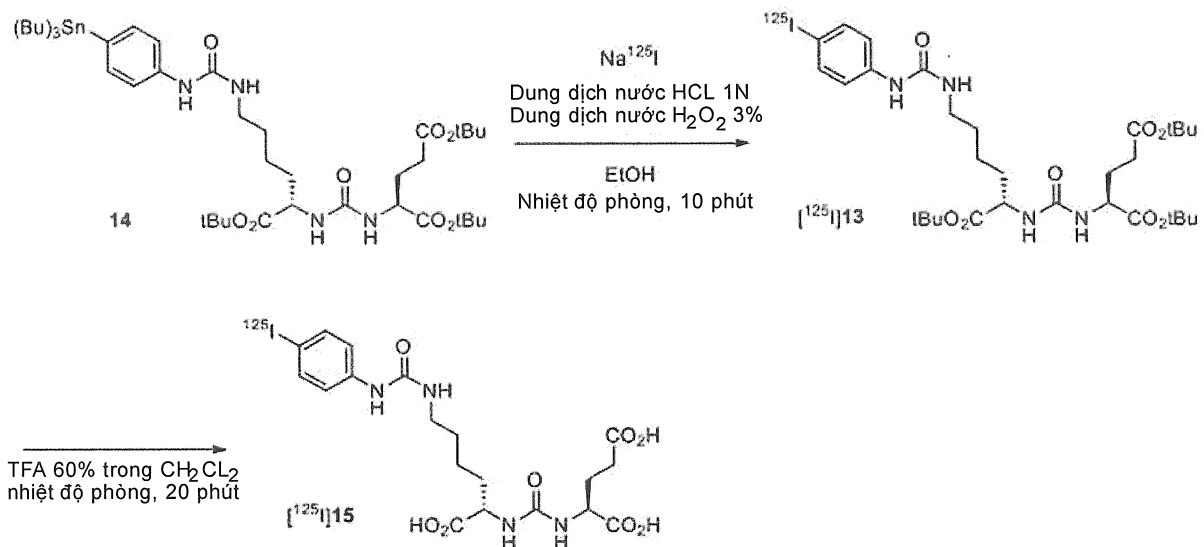
Ví dụ so sánh 1: Điều chế hợp chất [^{125}I] 15 ([^{125}I] MIP-1095)

Hợp chất 14 (0,1mg) được tổng hợp trong ví dụ 6-2 được hòa tan trong ethanol (250 μL), được thêm vào dung dịch nước iodua [^{125}I] (4,6mCi, 50 μL), sau đó được khuấy. Dung dịch nước HCl 1N (100 μL) và H_2O_2 3% được thêm vào sau đó, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Dung dịch natri thiosulfat 0,1M (200 μL) và nước cất (18mL) được thêm vào, hỗn hợp phản ứng được đưa qua C-18 Sep-Pak, sau đó rửa bằng nước cất (20mL). Axetonitril (2,0mL) được đổ vào C-18 Sep-Pak, và sau đó axetonitril được loại bỏ bằng cách thổi nitơ vào dung dịch. Diclorometan (0,2mL) và axit trifloroacetic (0,8mL) được thêm vào sau đó, sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Dung môi phản ứng được loại bỏ bằng cách thổi nitơ vào dung dịch. Nước cất (2mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được phân tách bằng HPLC. Kết quả là, thu được hợp chất [^{125}I] 15 (1,1mCi, 24%).

Điều kiện HPLC: Cột, XTerra MS C18 (250mm x 10 mm); pha động, 30% axetonitril/nước (0,1% TFA); tốc độ dòng, 5mL/phút; UV, 254nm; thời gian lưu, 10,4 phút.

Quy trình phản ứng dạng sơ đồ của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ phản ứng 9 dưới đây.

Sơ đồ phản ứng 9



Ví dụ tham khảo 1: Chuẩn bị nguyên liệu

Dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt người (22RV1) được sử dụng ở đây được mua từ Bộ sưu tập chủng giống vi sinh vật kiểu Mỹ (American Type Culture Collection - ATCC). PC3 PIP (PSMA⁺) và PC3 Flu (PSMA⁻) là các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt ở người được cung cấp bởi tiến sĩ Martin G. Pomper (Trường Y khoa Johns Hopkins, Baltimore, MD). Các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt của người này được giữ trong môi trường RPMI1640 bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) và 1% kháng sinh/chất kháng nấm. Trong khi nuôi cấy các dòng tế bào PC3 PIP (PSMA⁺) và PC3 (PSMA⁻), bổ sung puromyxin ở nồng độ 2 $\mu\text{g/mL}$.

Chuột đực trụi lông 6 tuần tuổi (Narabio, Seoul, Hàn Quốc) được sử dụng làm động vật thí nghiệm.

Ví dụ thí nghiệm 1: Đo khả năng liên kết

Để xác nhận khả năng liên kết của hợp chất được đánh dấu ^{18}F thu được trong ví dụ 7 và $[^{125}\text{I}]15$ thu được trong ví dụ so sánh 1 của sáng chế với dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt, thí nghiệm sau đây được thực hiện.

RPMI1640 bổ sung 1% BSA (albumin huyết thanh bò) được sử dụng làm dung dịch đệm.

[125 I] 15 (0,1nM) được thêm vào bình chứa 22RV1 tế bào (5×10^4), các hợp chất từ [18 F] 1-1 đến [18 F] 1-9 được nạp vào 9 ở nồng độ ($1,00 \times 10^{-4}$ đến $1,00 \times 10^{-12}$ M), tiếp theo là khuấy ở 37°C trong 2 giờ. Sau khi hoàn thành việc khuấy, bình này được rửa ba lần bằng 2ml dung dịch PBS, và sau đó hoạt tính phóng xạ còn lại và nồng độ ức chế 50% (phương pháp hồi quy không tuyến tính) được đo bằng máy đếm tai gama (2480 WIZARD2 Gamma Counter PerkinElmer Co., MA) và GraphPad Prism (Phần mềm GraphPad, Inc., CA).

Bảng 1 thể hiện kết quả đo.

Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 1, giá trị IC_{50} của [18 F] 1-6 (ví dụ 7-6) trong đó pyridin được liên kết trực tiếp với nhóm chức ure là tốt nhất (5,08), giá trị IC_{50} [^{18}F] 1-3 (ví dụ 7-3) không có pyridin thấp hơn 70 lần và giá trị IC_{50} của [^{18}F] 1-9 (ví dụ 7-9) trong đó metylpyridin được liên kết thấp hơn 40 lần. Do đó, xác nhận rằng pyridin của ([^{18}F] 1-6 (ví dụ 7-6) tạo thành liên kết ái mỡ cao với protein PSMA.

Ví dụ 7-4 đến ví dụ 7-6 được so sánh. Do đó, đã xác nhận được rằng khoảng cách giữa nhóm triazol và đồng vị ^{18}F càng dài thì giá trị IC_{50} càng tốt.

Do đó, đã phát hiện thấy rằng [^{18}F] 1-6 (ví dụ 7-6) có pyridin liên kết trực tiếp với ure và có nhóm trietylen glycol ở giữa đồng vị ^{18}F và nhóm triazol liên kết mạnh nhất với protein PSMA.

Giá trị IC_{50} của [^{18}F] DCFPyL (ví dụ so sánh 1) là 30,71. Do đó, [^{18}F] 1-6 (ví dụ 7-6) của sáng chế được xác nhận là có khả năng liên kết cao hơn khoảng 6 lần.

Bảng 1

Hợp chất	IC_{50} (trung bình $\pm$ SD, nM)
Ví dụ so sánh 1	$30,71 \pm 10,18$
Ví dụ 7-1	$635,13 \pm 262,66$
Ví dụ 7-2	$65,34 \pm 39,08$
Ví dụ 7-3	$391,00 \pm 227,94$
Ví dụ 7-4	$56,99 \pm 33,02$
Ví dụ 7-5	11,80
Ví dụ 7-6	$5,08 \pm 2,57$

Ví dụ 7-7	64,62 ± 38,44
Ví dụ 7-8	284,10 ± 115,70
Ví dụ 7-9	235,63 ± 190,70

Ví dụ thí nghiệm 2: Đo mức độ hấp thu vào tế bào

Để xác nhận các đặc tính hấp thu vào tế bào của hợp chất được đánh dấu ^{18}F thu được trong ví dụ 7 và $[^{125}\text{I}]$ 15 thu được trong ví dụ so sánh 1 của sáng chế với dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt, thí nghiệm sau đây được thực hiện.

3,7 MBq (100 μCi) của ví dụ 7-3, ví dụ 7-6 và ví dụ so sánh 1 được thêm vào PIP PC-3 (1X10⁶/1mL), được rửa hai lần mỗi lần bằng 2 ml dung dịch PBS sau 30, 60, và 120 phút. Sau đó, protein màng và protein tế bào chất được tách ra bằng cách sử dụng bộ tách chiết protein Mem-PER Plus và bộ tách chiết nhân và tế bào chất NE-PER (ThermoFisher Khoa học). Tỷ lệ hấp thu (%) được xác nhận bằng cách tính tỷ lệ hoạt tính phóng xạ trong protein tế bào chất so với tổng hoạt tính phóng xạ.

Bảng 2 cho thấy tỷ lệ hấp thu vào tế bào.

Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 2, đã xác nhận rằng ba hợp chất được hấp thu tốt trong các tế bào ung thư tuyến tiền liệt mà không có sự chênh lệch đáng kể và quá trình hấp thu gần như hoàn tất trong 30 phút đầu tiên mà không có bất kỳ thay đổi nào theo thời gian.

Bảng 2:

Phân loại	Thời gian (phút)	Tỷ lệ hấp thu % (trung bình ± SD)
Ví dụ 7-3	30	94,24 ± 0,80
	60	92,33 ± 1,89
	120	85,77 ± 6,12
	240	95,47 ± 1,52
Ví dụ 7-6	30	93,30 ± 2,11
	60	91,89 ± 5,76
	120	94,77 ± 2,92
	240	96,32 ± 1,08
Ví dụ so sánh 1	30	91,27 ± 4,03
	60	86,91 ± 8,13
	120	94,31 ± 2,94
	240	95,01 ± 2,58

Ví dụ thí nghiệm 3: Đo MicroPET/CT ở chuột được cấy ghép các dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt

Để xác nhận đặc tính liên kết của hợp chất được đánh dấu ^{18}F thu được trong ví dụ 7 và [^{125}I] 15 thu được trong ví dụ so sánh 1 của sáng chế với kháng thể màng tế bào đặc hiệu tuyến tiền liệt, thí nghiệm sau đây được thực hiện.

Mô hình khối u được chuẩn bị bằng cách tiêm dưới da tế bào PIP PSMA⁺ PC-3 (dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt ở người) vào chân sau bên phải của chuột trụi lông và tiêm dưới da tế bào PSMA⁻ PC-3 Flu vào chân sau bên trái của chuột để làm đối chứng. Ngoài ra, mỗi hợp chất của ví dụ 7-3 và ví dụ 7-6 được tiêm tĩnh mạch với nồng độ từ 5,5 đến 7,4 MBq (200 μL) và hình ảnh PET/CT thu được bằng cách sử dụng nano/PET PET/CT dùng cho động vật nhỏ (Mediso, Budapest, Hungary) trong 60 phút. Kết quả hình ảnh PET/CT thu được được phân tích định lượng bằng phần mềm InterViewTM FUSION (Mediso). Ví dụ so sánh 1 được sử dụng làm hợp chất đối chứng.

Fig.3 là sơ đồ minh họa kết quả MicroPET/CT của chuột ung thư tuyến tiền liệt. Fig.4A đến Fig.4C là các biểu đồ minh họa tỷ lệ hấp thụ vào cơ, gan và lá lách so với khối u.

Như được thể hiện trên Fig.3, đã xác nhận rằng hợp chất của ví dụ 7-3, ví dụ 7-6 và ví dụ so sánh 1 được đào thải nhanh qua thận và bàng quang và chúng liên kết có chọn lọc với các khối u PIP PSMA⁺ PC-3. Như được thể hiện trên Fig.4A đến Fig.4C, đã xác nhận được rằng hợp chất của ví dụ 7-3 cho thấy tỷ lệ hấp thụ vào khối u/cơ tương đối cao hơn (tỷ lệ khối u so với cơ bắp) và tỷ lệ hấp thụ vào khối u/gan (tỷ lệ khối u với gan) so với hợp chất của ví dụ 7-6 và ví dụ so sánh 1.

Ví dụ thí nghiệm 4: Thử nghiệm phân bố sinh học trên mô hình chuột bị ung thư tuyến tiền liệt

Để xác nhận sự phân bố sinh học của hợp chất ^{18}F thu được trong ví dụ 7 và [^{125}I] 15 thu được trong ví dụ so sánh 1 của sáng chế trên mô hình chuột bị ung thư tuyến tiền liệt, thí nghiệm sau đây được thực hiện.

Mô hình khối u được chuẩn bị bằng cách tiêm dưới da tế bào PIP PSMA⁺ PC-3 tiêm (dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt ở người) vào chân sau bên phải của chuột trụi lông (6 tuần tuổi, 20-25g) và tiêm dưới da tế bào PSMA⁻ PC-3 Flu vào chân sau bên trái của chuột trụi lông làm đối chứng. Hợp chất của ví dụ 7-3 và ví dụ 7-6 được tổng hợp, được tiêm vào tĩnh mạch đuôi chuột với liều 3,7 MBq (100 μ Ci), tương ứng. Mỗi cơ quan (máu, cơ, mỡ, tim, phổi, gan, lá lách, dạ dày, ruột, thận, xương và khối u) được tách sau 30 phút, 1 giờ, 2 giờ và 4 giờ sau đó và hoạt tính phóng xạ của chúng được đo bằng cách sử dụng máy đếm tia gamma.

Bảng 3 và Bảng 4 cho thấy mức độ hoạt tính phóng xạ của hợp chất của ví dụ 7-3 và ví dụ 7-6 trong mỗi cơ quan. Fig.5A và Fig.5B là các biểu đồ minh họa sự phân bố sinh học của cơ quan theo thời gian.

Kết quả là, như được thể hiện trong bảng 3 và 4 và Fig.5A và Fig.5B, tỷ lệ hấp thụ vào khối u (% ID/g) đã tăng lên hơn 10%, 30 phút sau khi tiêm hợp chất của các ví dụ 7-3 và 7-6. Ngoài ra, hợp chất của ví dụ 7-3 được xác nhận là có tỷ lệ hấp thụ vào mô khối u PSMA (PC-3 Flu) cao hơn so với khối u PSMA⁺ (PC-3 PIP) và tốc độ hấp thụ vào mô bình thường vượt trội so với khối u.

Bảng 3

Thời gian (giờ)	PIP/Flu	PIP vào cơ	PIP vào máu	PIP vào lá lách	PIP vào gan
0,5	40,59 $\pm$ 9,85	47,39 $\pm$ 38,05	35,64 $\pm$ 25,01	7,74 $\pm$ 6,03	17,35 $\pm$ 4,34
1	103,45 $\pm$ 9,73	86,15 $\pm$ 29,07	98,69 $\pm$ 30,64	13,77 $\pm$ 5,53	15,92 $\pm$ 1,95
2	176,33 $\pm$ 65,83	334,14 $\pm$ 260,49	487,24 $\pm$ 354,87	58,80 $\pm$ 53,63	18,47 $\pm$ 7,63
4	232,60 $\pm$ 71,80	533,90 $\pm$ 188,93	766,82 $\pm$ 331,65	128,24 $\pm$ 95,38	20,93 $\pm$ 7,40

Bảng 4

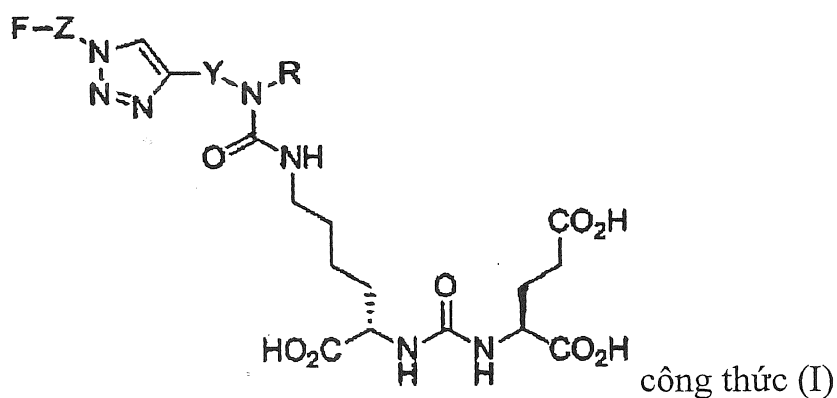
Thời gian (giờ)	PIP/Flu	PIP vào cơ	PIP vào máu	PIP vào lá lách	PIP vào gan
0,5	16,00 $\pm$ 5,68	13,00 $\pm$ 4,97	14,05 $\pm$ 3,61	7,31 $\pm$ 3,34	5,64 $\pm$ 6,10
1	23,08 $\pm$ 14,91	20,11 $\pm$ 14,99	30,30 $\pm$ 17,05	12,46 $\pm$ 16,18	9,93 $\pm$ 13,26
2	33,32 $\pm$ 14,64	38,11 $\pm$ 14,83	36,90 $\pm$ 9,52	25,98 $\pm$ 8,66	13,71 $\pm$ 12,60

4	$35,69 \pm 11,64$	$45,39 \pm 22,54$	$42,90 \pm 18,49$	$32,51 \pm 10,12$	$19,77 \pm 11,81$
---	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------	-------------------

Sáng chế đã được mô tả chi tiết bằng các phương án ở trên. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở các phương án này và có thể được thay đổi rất nhiều mà không vượt ra ngoài phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



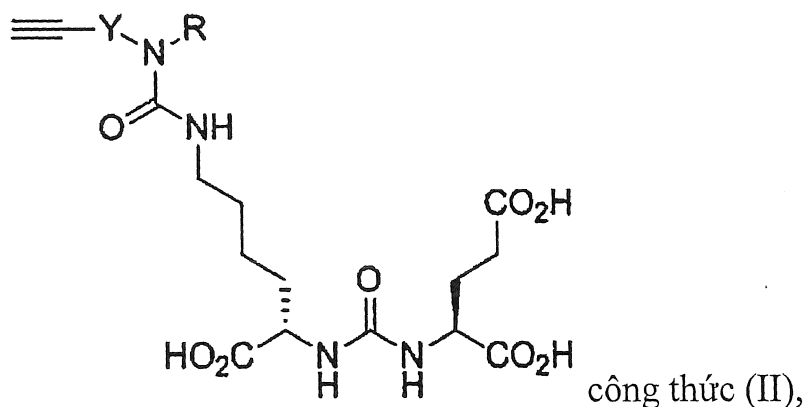
trong đó, Y là C₁-C₅ alkylen; Z là -CH₂-(CH₂-O-CH₂)_n-CH₂-, trong đó n là số nguyên từ 0 đến 5;

R là hydro hoặc C₁-C₂ alkyl có nhóm thế, trong đó nhóm thế là C₆-C₁₂ aryl hoặc C₄-C₁₀ heteroaryl chứa một hoặc nhiều nguyên tố được chọn từ nhóm gồm O, S và N; và

F là ¹⁸F hoặc ¹⁹F.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó Y là C₁-C₂ alkylen và F là ¹⁸F.

3. Hợp chất có công thức (II):



trong đó, Y là C₁-C₅ alkylen; và R là hydro hoặc C₁-C₂ alkyl có nhóm thế, trong đó nhóm thế là C₆-C₁₂ aryl hoặc C₄-C₁₀ heteroaryl chứa một hoặc nhiều nguyên tố được chọn từ nhóm gồm O, S và N.

4. Hợp chất theo điểm 3, trong đó Y là C_1 - C_2 alkylen.
5. Dược phẩm để điều trị hoặc chẩn đoán ung thư tuyến tiền liệt bao gồm hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính.
6. Dược phẩm phóng xạ để chẩn đoán hình ảnh ung thư tuyến tiền liệt bao gồm hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính.
7. Dược phẩm phóng xạ theo điểm 6, trong đó việc chẩn đoán hình ảnh bao gồm chụp cộng hưởng từ (magnetic resonance imaging - MRI) hoặc chụp cắt lớp phát xạ positron (position emission tomography - PET).

1/9

Reg	(mm) Bắt đầu	(mm) Dừng lại	(mm) Tâm	RF	Vùng Số đếm	Vùng vùng CPM	% tổng cộng	% ROI
Rgn 1	4,6	44,3	29,1	0,146	29964,0	59928,0	5,60	6,45
Rgn 2	85,0	119,4	101,0	0,505	434521,0	869042,0	81,18	93,55
2 đỉnh					464485,0	926970,0	86,77	100,00

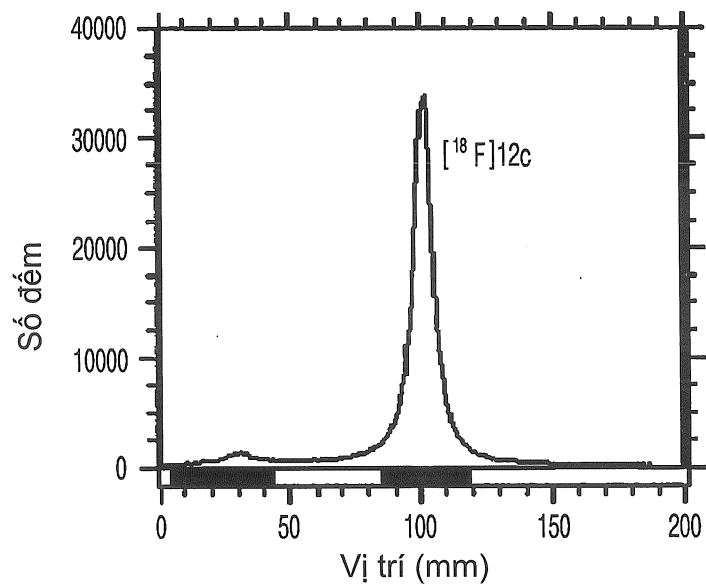


Fig.1A

2/9

Reg	(mm) Bắt đầu	(mm) Dừng lại	(mm) Tâm	RF	Vùng Số đếm	Vùng vùng CPM	% tổng cộng	% ROI
Rgn 1	11,7	42,6	27,1	0,135	344997,0	689994,0	89,31	97,69
Rgn 2	84,1	102,6	91,5	0,457	8159,0	16318,0	2,11	2,31
2 đỉnh					353156,0	706312,0	91,42	100,00

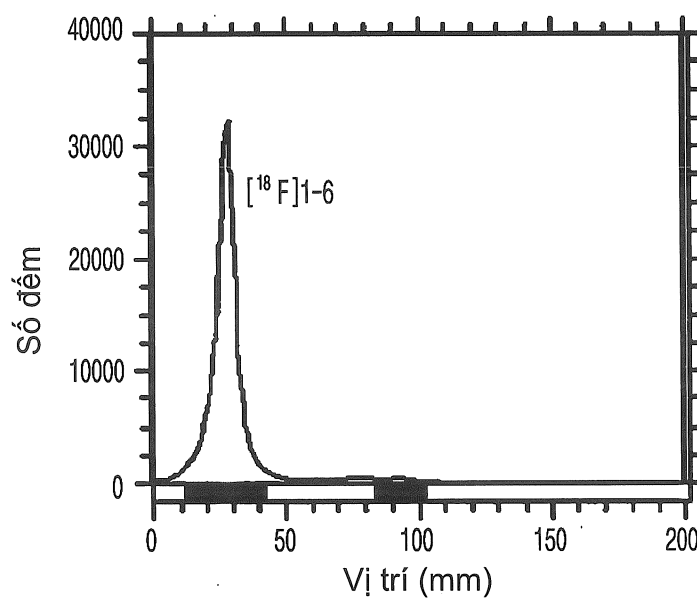


Fig.1B

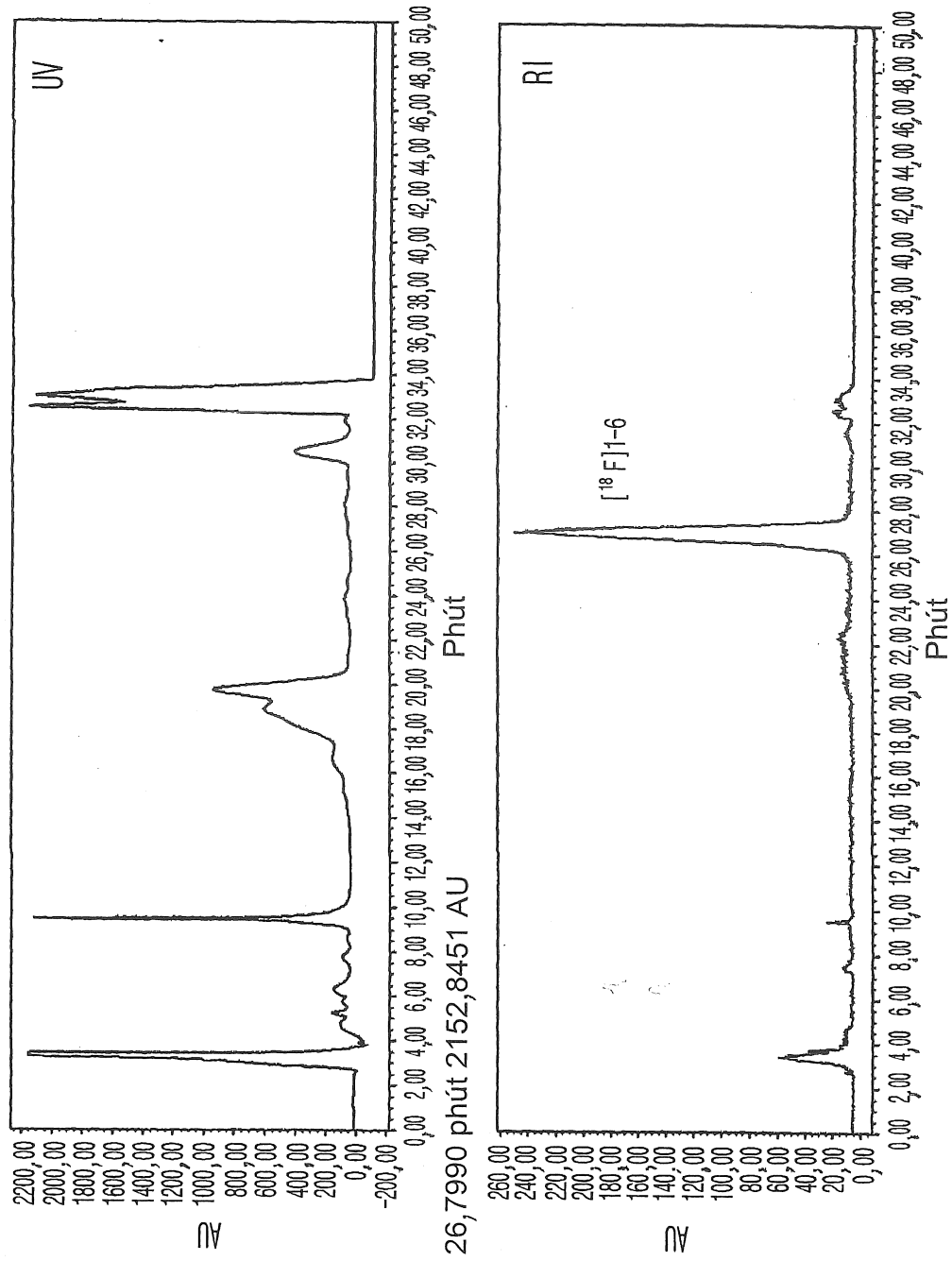


Fig.2

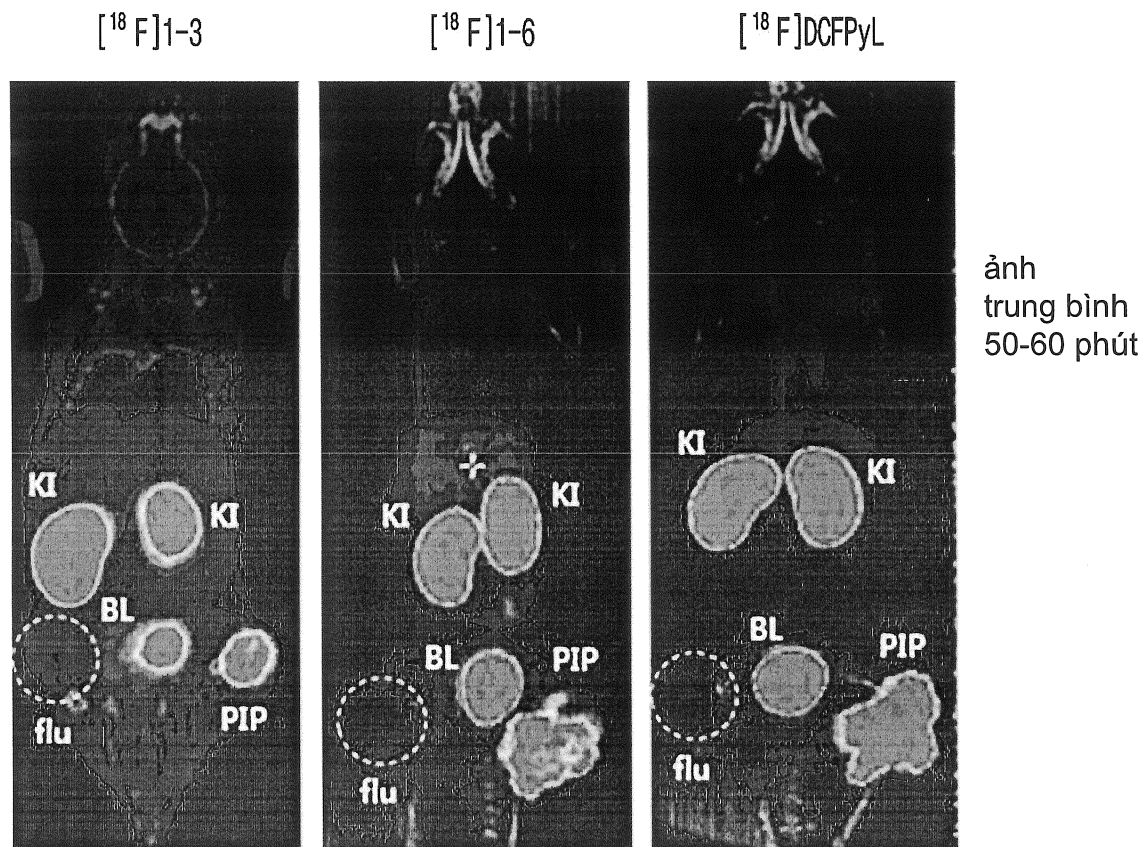
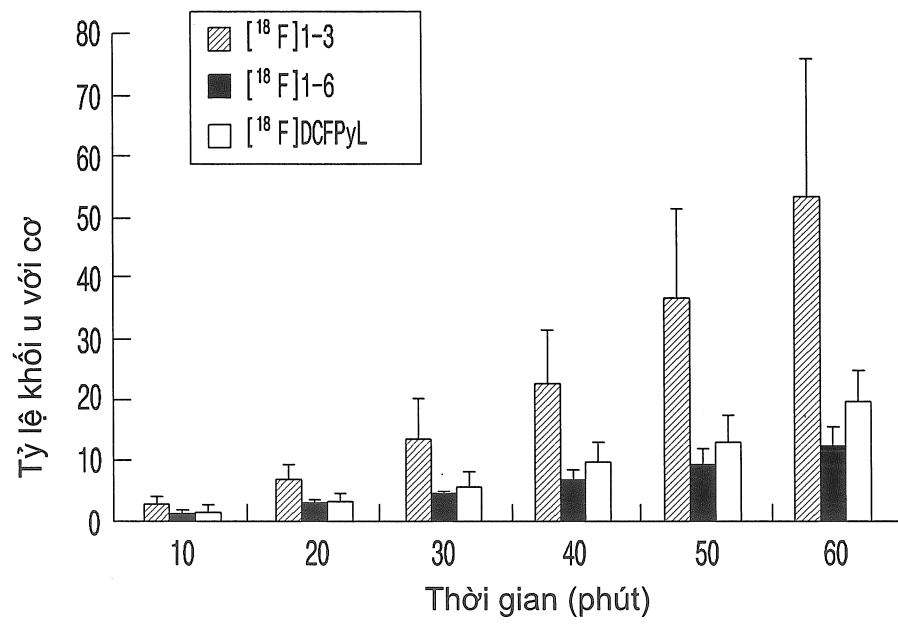
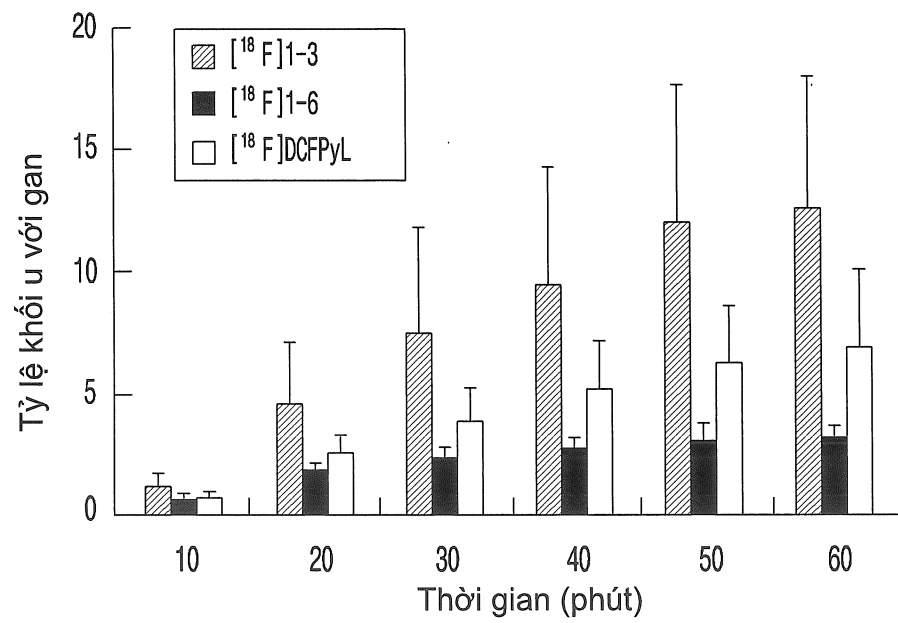


Fig.3

5/9

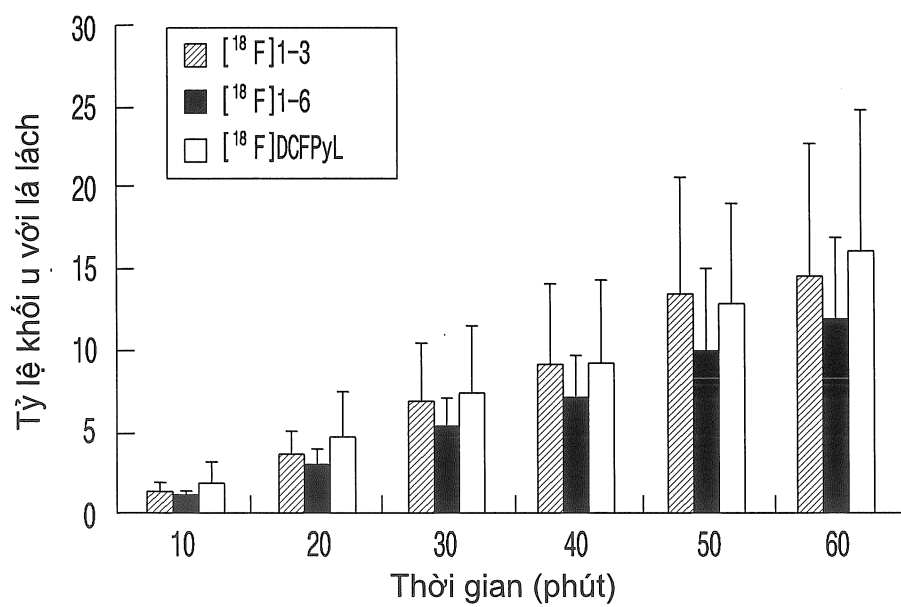
**Fig.4A**

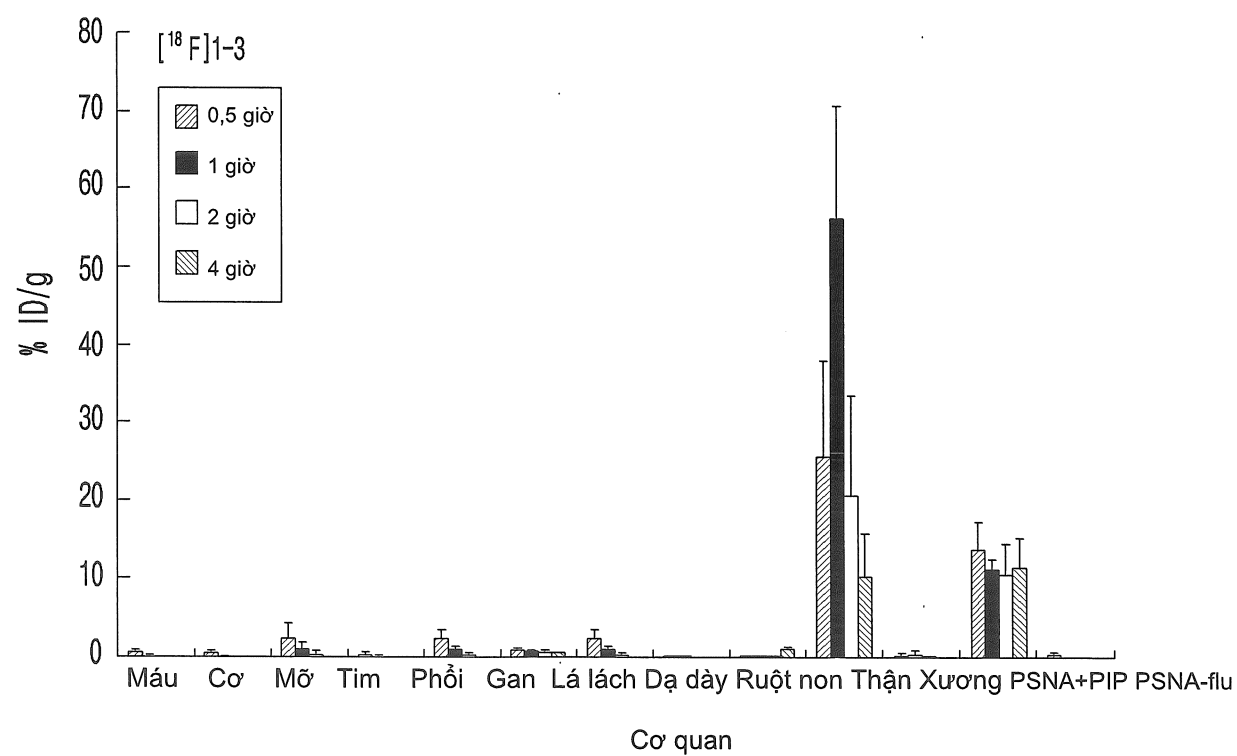
6/9

**Fig.4B**

7/9

Tỷ lệ khối u với lá lách

**Fig.4C**

**Fig.5A**

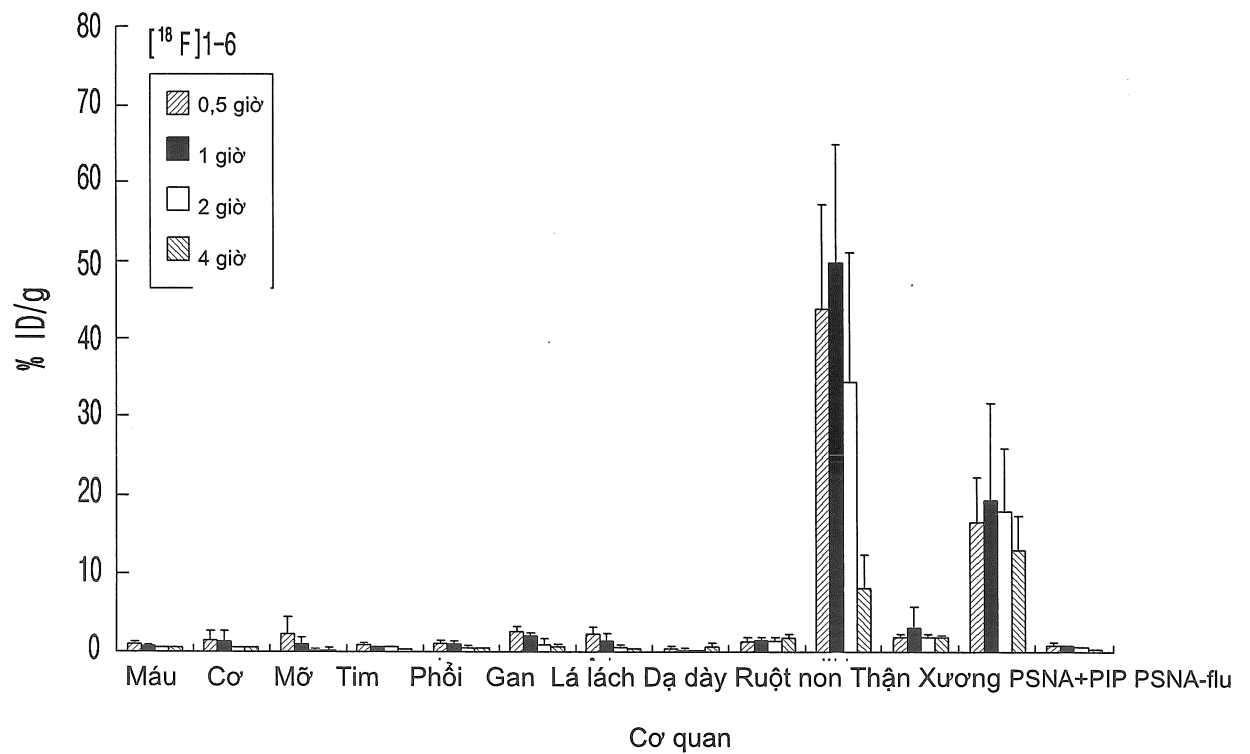


Fig.5B