



(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)



1-0038711

(51)^{2020.01} A61K 45/06; A61K 31/4015; A61K 31/437; A61K 31/4545; A61K 31/496; A61P 25/08; A61K 9/48; A61P 25/00; A61P 25/06; A61K 31/381; A61K 31/506 (13) B

(21) 1-2020-02639

(22) 20/01/2015

(62) 1-2016-02289

(86) PCT/EP2015/051029 20/01/2015

(87) WO 2015/110435 30/07/2015

(30) 61/929,795 21/01/2014 US; 14153880.1 04/02/2014 EP; 14153887.6 04/02/2014 EP; 14183324.4 03/09/2014 EP; 14187429.7 02/10/2014 EP; 62/091,668 15/12/2014 US

(45) 26/02/2024 431

(43) 26/10/2020 391A1

(73) JANSSEN PHARMACEUTICA NV (BE)

Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse, Belgium

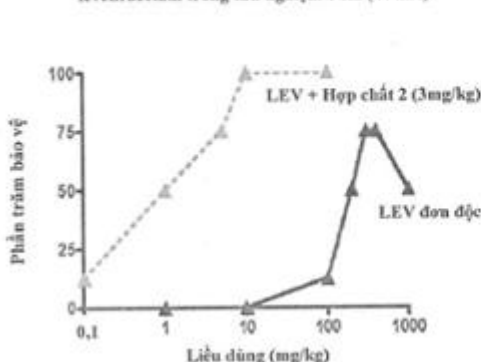
(72) KLEIN, Brian, D. (US); LAVREYSEN, Hilde (BE); PYPE, Stefan, Maria, Christiaan (BE); TWYMAN, Roy, E. (US); VAN OSSELAER, Nancy, Eulalie, Sylvain (BE); WHITE, H., Steven (US); CEUSTERS, Marc, André (BE); CID-NÚÑEZ, José, Maria (ES); TRABANCO-SUÁREZ, Andrés, Avelino (ES); BONE, Roger, Francis (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

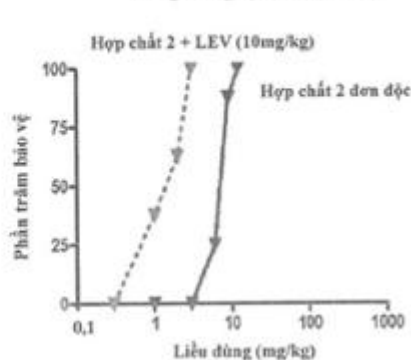
(54) CHẾ PHẨM PHỐI HỢP BAO GỒM CHẤT ĐIỀU BIẾN BIẾN CẦU DƯƠNG HOẶC CHẤT CHỦ VẬN CÓ VỊ TRÍ GẮN KẾT NGUYÊN THỦY KHÔNG BỊ BIẾN CẦU THUỘC PHÂN NHÓM THỤ THỂ GLUTAMAT HƯỚNG CHUYỂN HÓA 2 VÀ PHỐI TỬ PROTEIN TÚI SYNAP-2A (“SV2A”), DƯỢC PHẨM VÀ SẢN PHẨM CHỨA CHÚNG, HỮU ÍCH ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp bao gồm chất điều biến biến cầu dương (“PAM”) thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cầu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, và phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”).

Hợp chất số 2 làm gia tăng công hiệu và hiệu lực của levetiracetam trong thử nghiệm 6 Hz (44 mA)



Levetiracetam làm gia tăng công hiệu của Hợp chất số 2 trong thử nghiệm 6 Hz (44 mA)



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp bao gồm chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dung hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dung hoặc solvat của chúng, và phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh động kinh mô tả tình trạng bệnh lý, trong đó một người có các cơn động kinh tái phát do một quá trình căn bản mạn tính. Bệnh động kinh chỉ là biểu hiện trên lâm sàng, chứ không phải là một loại bệnh đơn nhất, do có nhiều thể và nguyên nhân gây bệnh động kinh. Sử dụng định nghĩa về bệnh động kinh như là hai hoặc nhiều cơn động kinh vô cớ, tỷ lệ bệnh động kinh được ước tính khoảng từ 0,3 đến 0,5% ở các quần thể dân cư khác nhau trên toàn thế giới, với tỷ lệ hiện hành của bệnh động kinh được ước tính là từ 5 đến 10 người trên 1000 người.

Bước căn bản trong việc đánh giá và kiểm soát bệnh nhân bị động kinh là xác định thể loại cơn động kinh đã mắc. Đặc điểm chính phân biệt các thể loại cơn động kinh là liệu hoạt động động kinh là từng phần (đồng nghĩa với cơn động kinh cục bộ) hay toàn thể.

Các cơn động kinh cục bộ là các cơn động kinh trong đó hoạt động động kinh giới hạn ở các khu vực riêng rẽ của vỏ não. Nếu hoàn toàn tỉnh táo trong cơn động kinh, các biểu hiện lâm sàng được coi tương đối đơn giản và cơn động kinh này được gọi là cơn động kinh từng phần-đơn giản. Nếu không tỉnh táo, cơn động kinh này được gọi là cơn động kinh từng phần-phức tạp. Một phân nhóm bổ sung quan trọng bao gồm các cơn

động kinh mà bắt đầu như các cơn động kinh cục bộ và sau đó lan rộng toàn bộ vỏ não, các cơn động kinh này được gọi là các cơn động kinh cục bộ bị toàn thể hoá thứ phát.

Các cơn động kinh toàn thể liên quan đến các vùng khuếch tán của não hoạt động đồng thời theo cách đối xứng hai bên. Các cơn động kinh vắng ý thức hoặc cơn bé đặc trưng bởi mất ý thức đột ngột trong thời gian rất ngắn nhưng không kèm theo mất kiểm soát tư thế. Các cơn động kinh vắng ý thức không điển hình bao gồm thời gian mất ý thức kéo dài hơn, khởi phát và hết cơn không quá đột ngột, và nhiều dấu hiệu vận động rõ rệt hơn có thể bao gồm các dấu hiệu cục bộ hoặc một bên. Các cơn động kinh co cứng-co giật toàn thể hoặc các cơn động kinh cơn lớn, thể loại chính của các cơn động kinh toàn thể, đặc trưng bởi khởi phát đột ngột, không có dấu hiệu báo trước. Pha ban đầu của cơn động kinh thường là co cứng các cơ bắp, hô hấp suy giảm, gia tăng đáng kể trương lực giao cảm dẫn đến gia tăng nhịp tim, huyết áp, và kích cỡ đồng tử. Sau 10-20 giây, pha co cứng của cơn động kinh thường tiến triển thành pha co giật, do các kỳ giãn cơ chồng lên kỳ co cơ trương lực. Các kỳ giãn cơ gia tăng tiến triển cho đến kết thúc pha đột quy, thường kéo dài ít hơn 1 phút. Pha sau đột quy đặc trưng bởi việc không có đáp ứng, mềm nhũn cơ bắp và tăng tiết nước bọt quá mức có thể gây thở lợc xọc và tắc đường khí đạo một phần. Các cơn động kinh mất trương lực đặc trưng bởi mất đột ngột trương lực cơ tư thế kéo dài 1-2 giây. Có giảm thiểu ý thức trong thời gian ngắn, nhưng thường không bị lẫn lộn sau cơn đột quy. Các cơn động kinh giật cơ đặc trưng bởi co cơ đột ngột và trong thời gian ngắn mà có thể ở một phần của cơ thể hoặc toàn bộ cơ thể.

Protein túi synap 2A (“SV2A”) đã được xác định là đích chống co giật phổ rộng trên các mô hình bệnh động kinh từng phần hoặc toàn thể. Các nghiên cứu tiến hành trên các mô hình động vật và mô của người gợi ý là thay đổi việc biểu hiện SV2A có vai trò trong bệnh động kinh (để tham khảo xem tài liệu, ví dụ: (a) “Synaptic Vesicle Protein 2A: basic facts and role in synaptic function” European Journal of Neuroscience 2013, các trang 1-11 của Mendoza-Torreblanca và các đồng tác giả; (b) “Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs”. của Kaminski RM, và các đồng tác giả trong: Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. Tái bản lần thứ 4. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information của Noebels JL, Avoli M,

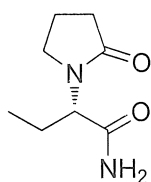
Rogawski MA, và các đồng tác giả biên tập (Mỹ); 2012. Tham khảo từ: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/>).

Vai trò chính xác của SV2A hiện vẫn chưa rõ, nhưng các nghiên cứu gợi ý là những thay đổi trong việc biểu hiện của SV2A có ảnh hưởng đến chức năng synap (“Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A” PLoS One 2011, Volume 6 (12), e29560 của Nowack và các đồng tác giả). Cũng có tác giả gợi ý là SV2A có vai trò then chốt trong quá trình xuất bào và tham gia vào dẫn truyền thần kinh (“Abnormal neurotransmission in mice lacking synaptic vesicle protein 2A (SV2A)” Proc Nat Acad Sci USA 1999, 96, các trang 15268-15273 của Crowder và các đồng tác giả) và các nghiên cứu ở chuột đã làm bất hoạt gen gợi ý là không có SV2A dẫn đến mất cân bằng giữa dẫn truyền thần kinh qua thụ thể glutamat và GABA (“Altered balance between excitatory and inhibitory inputs onto CA pyramidal neurons from SV2A-deficient but not SV2B-deficient mice” J Neurosci Res 2012, 90, các trang 2317-2327 của van Vliet và các đồng tác giả). Giảm biểu hiện của SV2A có thể là hậu quả của hoạt động của cơn động kinh và có thể liên quan đến tiến triển của bệnh động kinh (“Decreased expression of synaptic vesicle protein 2A, the binding site for levetiracetam, during epileptogenesis and chronic epilepsy” Epilepsia 2009, 50, các trang 422-433 của van Vliet và các đồng tác giả; “Down-regulation of synaptic vesicle protein 2A in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy” J Mol Neurosci 2009, 39, các trang 354-359 của Feng và các đồng tác giả; “Expression patterns of synaptic vesicle protein 2A in focal cortical dysplasia and TSC-cortical tubers” Epilepsia 2009, 50, các trang 1409-1418 của Toering và các đồng tác giả) và gây cơn động kinh ở các bệnh nhân có khối u não (“Expression of synaptic vesicle protein 2A in epilepsy-associated brain tumors and in the peritumoral cortex” Neuro-Oncology 2010, 12, các trang 265-273 của de Groot và các đồng tác giả).

Các phối tử SV2A bao gồm levetiracetam (“The synaptic vesicle SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam” Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2004, Vol. 101, các trang 9861-9866 của Lynch và các đồng tác giả), brivaracetam và seletracetam (“Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs” của Kaminski RM, và các đồng tác giả trong: Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet].

tái bản lần thứ 4. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012, của Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, và các đồng tác giả biên tập. Có sẵn ở: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/>; “Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A” PLoSone December 2011, Vol. 6(12), e29560 của Nowack và các đồng tác giả).

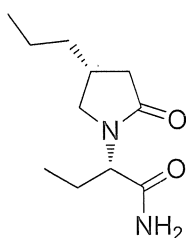
Levetiracetam, (-)-(S)- α -ethyl-2-oxo-1-pyrrolidin axetamit hoặc (S)-2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)butanamit,



là thuốc động kinh. Thuốc này không có hoạt tính trên các mô hình cấp tính truyền thống (các thử nghiệm cơn động kinh do sốc điện tối đa và pentylentetrazol) nhưng đã xác định là có tác dụng mạnh trên các mô hình bệnh động kinh mạn tính và trên các mô hình di truyền của bệnh động kinh toàn thể. Thuốc này đã chứng tỏ có khoảng an toàn cao so với các thuốc động kinh khác (“Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs” *Epilepsia* 2001, 42 (Supplement 4), các trang 13-18 của Klitgaard). Thuốc này được bán trên thị trường dưới nhãn hiệu Keppra®, ở dạng viên nén, dung dịch uống, và dạng cô đặc pha thành dung dịch tiêm truyền. Keppra® đã được cho phép lưu hành ở Châu Âu ở dạng liệu pháp đơn thuốc ở các bệnh nhân > 16 tuổi mới được chẩn đoán mắc bệnh động kinh, nhằm điều trị các cơn động kinh (cơn co giật) khởi phát- từng phần kèm theo hoặc không kèm theo toàn thể hoá thứ phát và dưới dạng liệu pháp bổ trợ để sử dụng với các thuốc động kinh khác nhằm điều trị các cơn động kinh khởi phát- từng phần kèm theo hoặc không kèm theo toàn thể hoá ở các bệnh nhân ≥ 1 tháng tuổi; cơn động kinh giật cơ ở các bệnh nhân ≥ 12 tuổi kèm theo bệnh động kinh giật cơ ở thanh thiếu niên; và cơn động kinh co cứng-co giật toàn thể nguyên phát ở các bệnh nhân ≥ 12 tuổi bị bệnh động kinh toàn thể tự phát (www.ema.europa.eu). Keppra® cũng đã được cho phép lưu hành ở Mỹ dưới dạng liệu pháp bổ trợ để điều trị cơn động kinh khởi phát- từng phần ở các bệnh nhân ≥ 1 tháng tuổi; các cơn động kinh giật cơ ở bệnh nhân ≥ 12 tuổi bị bệnh động kinh giật cơ ở thanh thiếu niên; và các cơn

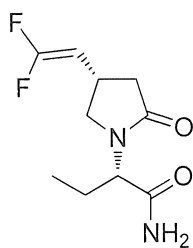
động kinh co cứng-co giật toàn thể nguyên phát ở các bệnh nhân ≥ 6 tuổi bị bệnh động kinh toàn thể tự phát. Keppra XR®, cũng có sẵn dưới dạng viên nén giải phóng kéo dài, đã được cho phép lưu hành ở Mỹ để điều trị hỗ trợ các cơn động kinh khởi phát từng phần ở các bệnh nhân ≥ 16 tuổi và bị bệnh động kinh (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>).

Brivaracetam, chất đồng đẳng 4-n-propyl của levetiracetam, (2S)-2-[(4R)-oxo-4-propyl-pyrrolidin-1-yl]butanamit,



đang ở giai đoạn thử nghiệm lâm sàng và được khảo sát dưới dạng liệu pháp đơn thuốc cho các cơn động kinh khởi phát- từng phần và đau dây thần kinh sau bệnh ecpet và dưới dạng liệu pháp hỗ trợ cho các cơn động kinh khởi phát- từng phần dai dẳng, bệnh Unverricht-Lundborg ở thanh thiếu niên và người trưởng thành và trong bệnh động kinh nhạy cảm ánh sáng (www.clinicaltrials.gov).

Seletracetam, (2S)-2-[(4S)-4-(2,2,-diflovinyl)-2-oxo-pyrrolidin-1-yl]butanamit,



NH₂ đã được thử nghiệm trong các thử nghiệm lâm sàng.

Quy trình để điều chế ba hợp chất này là đã biết trong tài liệu chuyên ngành. Ví dụ, quy trình điều chế Levetiracetam được bộc lộ, ví dụ, trong EP 0 162 036 và trong GB 2 225 322. Quy trình để điều chế Brivaracetam được bộc lộ, ví dụ, trong WO 01/62726. Quy trình để điều chế Seletracetam là đã biết, ví dụ, theo WO2005/121082. Quy trình điều chế khác của ba hợp chất này được bộc lộ trong EP1806339.

Các thuốc động kinh đã xác định là hữu ích trong các chứng rối loạn thần kinh và bệnh tâm thần, bao gồm cơn đau thần kinh, bệnh nhức nửa đầu, chứng run vô căn và trong trường hợp lo lắng, tâm thần phân liệt và chứng rối loạn lưỡng cực (“Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders. Relations between mechanisms of action and clinical efficacy” *CNS Drugs* 2008, Vol. 22(1), các trang 27-47 của Landmarck; “Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms” *Trends in Pharmacological Sciences* 2007, Vol. 28(4), các trang 188-195 của Calabresi và các đồng tác giả; “The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions” *Nat Med* 2004, Vol. 10, các trang 685-692 của Rogawski và Löscher).

Levetiracetam đã xác định là hữu hiệu hoặc có tiềm năng hữu hiệu trong phổ rộng các chứng rối loạn thần kinh tâm thần bao gồm các chứng rối loạn tâm trạng (“Potential of levetiracetam in mood disorders: a preliminary review” *CNS Drugs* 2006, Vol. 20, các trang 969-979 của Muralidharan và Bhagwagar; “The role of anticonvulsant drugs in anxiety disorders: a critical review of the evidence” *J Clin Psychopharmacol* 2007, Vol. 27, các trang 263-272 của Mula và các đồng tác giả), các chứng rối loạn lo lắng (“Levetiracetam as adjunctive therapy for refractory anxiety disorders” *J Clin Psychiatry* 2007, Vol. 68, các trang 1010-1013 của Kinrys và các đồng tác giả; “Levetiracetam in social phobia: a placebo controlled pilot study” *J Psychopharmacol* 2005, Vol. 19, các trang 551-553 của Zhang và các đồng tác giả; “Levetiracetam for treatment-refractory posttraumatic stress disorder” *J Clin Psychiatry* 2006, Vol. 67, các trang 211-214 của Kinrys và các đồng tác giả), cơn đau (“Specific effect of levetiracetam in experimental human pain models” *Eur J Pain* 2006, Vol. 10, các trang 193-198 của Enggaard và các đồng tác giả; “Levetiracetam as an adjunctive analgesic in neoplastic plexopathies: case series và commentary” *J Pain Palliative Care Pharmacother* 2005, Vol. 19, các trang 35-43 của Dunteman; “Levetiracetam in the treatment of neuropathic pain: three case studies” *Clin J Pain* 2004, Vol. 20, các trang 33-36 của Price), các chứng rối loạn vận động (“The effect of levetiracetam on essential tremor” *Neurology* 2005, Vol. 64, các trang 1078-1080 của Bushara và các đồng tác giả; “Levetiracetam as a treatment for tardive dyskinesia: a case report” *Neurology* 2003, Vol. 61, các trang 419 của McGavin và các đồng tác giả; “Effects of levetiracetam

on tardive dyskinesia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study” J Clin Psychiatry 2008, Vol. 69, các trang 546-554 của Woods và các đồng tác giả; “Treatment of tardive dyskinesia with levetiracetam in a transplant patient” Acta Neurol Scand 2008, Vol. 117, các trang 351-353 của Zivkovic và các đồng tác giả; “Dramatic response to levetiracetam in post-ischaemic Holmes’ tremor” J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007, Vol. 78, các trang 438-439 của Striano và các đồng tác giả) và thuốc này được nghi ngờ có tác dụng tiềm năng có lợi cho chức năng nhận thức (“Levetiracetam: An improvement of attention and of oral fluency in patients with partial epilepsy” Epilepsy Research 2006, Vol. 68, các trang 181-188 của Piazzini và các đồng tác giả; “Levetiracetam improves verbal memory in high-grade glioma patients” Neuro-oncology 2013, Vol. 15(2), các trang 216-223 của de Groot và các đồng tác giả; “Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnesic mild cognitive impairment” Neuron 2012, Vol. 74, các trang 467-474 của Bakker và các đồng tác giả; đề tham khảo: “The cognitive impact of antiepileptic drugs” Ther Adv Neurol Disord 2011, Vol. 4(6), các trang 385-407 của Eddy và các đồng tác giả và các tài liệu trích dẫn trong đó; “Levetiracetam in the treatment of childhood epilepsy” Neuropsychiatric Disease and Treatment 2007, Vol. 3(4), các trang 409-421 của Wheless), và các triệu chứng hành vi trong bệnh sa sút trí tuệ (“The efficacy and safety of newer anticonvulsants in patients with dementia” Drugs Aging 2012, Vol. 29(8), các trang 627-637 của Dolder và Nealy). Các dữ liệu trên động vật và một vài thử nghiệm lâm sàng sơ bộ gợi ý là levetiracetam có thể có tiềm năng hạn chế bệnh động kinh sau chấn thương, như bệnh do trạng thái động kinh, tổn thương não do chấn thương và cơn đột quỵ thiếu máu, và thuốc này dường như có các tác dụng bảo vệ thần kinh. Tiềm năng của levetiracetam trong việc làm giảm gây cơn động kinh hoặc chứng rối loạn chức năng nhận thức vẫn cần được khẳng định bằng các nghiên cứu trên động vật và lâm sàng (tham khảo: “Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research” Pharmacol Rev 2010, Vol. 62, 668-700 của Löscher và Brandt; “Prospects of levetiracetam as a neuroprotective drug against status epilepticus, traumatic brain injury and stroke” Front. Neur. 2013, 4:172. Doi: 10.3389/fneur.2013.00172 của Shetty) do thuốc này thể hiện hoạt tính chống động kinh ở mô hình gây điện giật ở chuột nhắt và chuột cống. Cũng có tác giả gợi ý là

levetiracetam ức chế giải phóng glutamat (“Levetiracetam inhibits glutamate transmission through presynaptic P/Q-type calcium channels on the granule cells of the dentate gyrus” British Journal of Pharmacology 2009, Vol. 158, các trang 1753-1762 của Lee và các đồng tác giả).

Seletracetam và Brivaracetam, đã được xác định làm giảm mức độ nghiêm trọng của chứng rối loạn trương lực cơ ở mô hình chuột đồng đột biến dt^{sz} và có thể hữu ích ở một số bệnh nhân mắc các chứng rối loạn vận động và loạn trương lực (“Brivaracetam and seletracetam, two new SV2A ligands, improve paroxysmal dystonia in the dt^{sz} mutant hamster” European Journal of Pharmacology 2008, Vol. 601, các trang 99-102 của Hamann và các đồng tác giả).

Chất điều biến biến cấu dương của mGluR2 gần đây đã xuất hiện như một cách điều trị mới có nhiều hứa hẹn để điều trị một vài chứng rối loạn của hệ thần kinh trung ương (CNS), kể cả bệnh động kinh, và một vài PAM mGluR2 hiện đang ở giai đoạn thử nghiệm lâm sàng để điều trị bệnh tâm thần phân liệt, và chứng trầm cảm-lo lắng (www.clinicaltrials.gov, xem ví dụ: JNJ-40411813/ADX71149 của Addex Therapeutics và Janssen Pharmaceuticals, Inc.). Gợi ý ban đầu là các thuốc làm mất dẫn truyền qua glutamat có thể hữu hiệu trong điều trị bệnh động kinh xuất phát từ các nghiên cứu không phải trên lâm sàng cấp tính với các chất chủ vận thụ thể mGlu2/3 hỗn hợp (“Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy” Eur J Pharmacol. 2003, Vol. 476, các trang 3-16, của Moldrich và các đồng tác giả). LY379268 và LY389795, hai chất chủ vận thụ thể mGlu2/3, được xác định là không có tác dụng ức chế các cơn động kinh MES với các liều dùng lên đến gây tổn thương vận động nhưng có hiệu quả trên mô hình 6 Hz theo cách phụ thuộc-liều dùng (“Comparison of the effect of glutamate receptor modulators in the 6 Hz and maximal electroshock seizure models” Epilepsy Research 2003, Vol. 56, các trang 17-26 của Barton và các đồng tác giả). Sử dụng liên tục chất chủ vận mGlu2/3 nghịch lý là gây cảm ứng hoạt động động kinh trong các nghiên cứu độc tính học kéo dài (“Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder” Neuropsychopharmacology. 2008, Vol. 33(7), các trang 1603-10 của Dunayevich và các đồng tác giả). Tác dụng nghịch lý này có thể có liên quan đến các thay đổi do cảm

ứng bởi chất chủ vận về tính nhạy cảm của hệ thụ thể (miễn dịch nhanh), nhưng tuy nhiên không được ghi nhận trên các mô hình tiền lâm sàng của bệnh động kinh. Chất điều biến biến cấu dương, trái lại, điều biến quá trình dẫn truyền thần kinh đang diễn ra nhưng không kích thích trực tiếp, do đó giảm thiểu nguy cơ có miễn dịch nhanh.

Trước khi có hoạt động động kinh, xác định có gia tăng glutamat ngoại bào ở vùng hải mã của người và duy trì gia tăng này trong suốt hoạt động gây động kinh (“Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain” Lancet 1993, Vol. 341(8861), các trang 1607-10 của Doring và Spencer), do đó chứng tỏ cho lý thuyết là giảm nồng độ glutamat có thể có lợi trong điều trị bệnh động kinh. Trên thực tế, trong quá trình hoạt động động kinh nồng độ glutamat gia tăng đến các nồng độ có thể gây độc thần kinh. Hoạt động động kinh dẫn đến gây hư hại cấu trúc tiến triển ở não người, gây cảm ứng hơn nữa các bất thường về chuyển hoá glutamat (“Glutamate-glutamine cycling in the epileptic human hippocampus” Epilepsia 2002, Vol. 43(7), các trang 703-10 của Petroff và các đồng tác giả). Do đó, chất điều biến biến cấu dương mGluR2 hoặc chất chủ vận mGluR2 có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu có thể được cho là bảo vệ khỏi các hư hại nơron do cảm ứng bởi cơn động kinh.

WO2009/033704 và WO2010/130424 đề cập đến các chất điều biến biến cấu dương mGluR2, việc sử dụng chúng và các quy trình tổng hợp các hợp chất này. WO1997/18199 và WO2003/104217 đề cập đến các hoạt chất điều biến thụ thể axit amin kích thích mà sau đó đã chứng tỏ có hoạt tính chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu mGlu2/3 (xem ví dụ, The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics Vol. 321, No. 1, các trang 308-317 (2007) của Rorick-Kehn và các đồng tác giả), các tài liệu khoa học và sáng chế khác nữa đề cập đến các ví dụ bổ sung về các hợp chất có hoạt tính chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu mGlu2/3, và WO2008/150233 đề cập đến các hợp chất có hoạt tính hoạt hoá biến cấu mGluR2.

Các thuốc động kinh hiện có không chỉ ảnh hưởng đến dẫn truyền glutamat. Cơ chế tác dụng của các thuốc này nói chung là làm biến đổi sự cân bằng giữa dẫn truyền kích thích (qua trung gian glutamat) và ức chế (qua trung gian GABA) (“Antiepileptic

drugs in non-epilepsy disorders: relations between mechanisms of action and clinical efficacy” CNS Drugs 2008, Vol. 22(1), các trang 27-47 của Johannessen Landmark).

Yếu tố hạn chế đáng kể việc sử dụng các phối tử SV2A là khả năng dung nạp và profin tác dụng phụ. Ví dụ, liều hữu hiệu của levetiracetam cho các cơn động kinh khởi phát- từng phần là 1000 mg, 2000 mg, và 3000 mg, cho dùng hai lần/ngày. Các tác dụng phụ được ghi nhận đối với levetiracetam bao gồm hành vi hung hăng hoặc cáu giận, lo lắng, thay đổi tính cách, cảm giác ớn lạnh, ho hoặc khàn giọng, khóc, mất nhân cách, tiêu chảy, khô miệng, sáng khoái, sốt, cảm giác khó chịu nói chung hoặc ốm mệt, đau đầu, thở quá nhanh, nhịp tim không đều, kích ứng, đau khớp, chán ăn, đau vùng dưới thắt lưng hoặc bên sườn, trầm cảm tinh thần, đau bắp cơ và cơn đau, buồn nôn, tiểu tiện đau hoặc khó hoặc, hoang tưởng đoán nhận, phản ứng nhanh hoặc phản ứng quá mức về mặt cảm xúc, tâm trạng thay đổi nhanh chóng, bồn chồn, rung, run, thở nông, buồn ngủ hoặc ngủ gật bất thường, đau họng, ngạt mũi hoặc chảy nước mũi, ra mồ hôi, khó ngủ, mệt mỏi bất thường hoặc yếu mệt và nôn mửa. Do đó, vẫn có nhu cầu cung cấp biện pháp điều trị hữu hiệu với liều dùng thấp hơn có hiệu quả của levetiracetam và có profin tác dụng phụ có lợi hơn để điều trị bệnh động kinh và các chứng rối loạn bệnh lý có liên quan, không chỉ cho người trưởng thành mà cả cho nhóm bệnh nhân nhi khoa.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp bao gồm:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dung hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dung hoặc solvat của chúng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Đáp ứng liều dùng để xác định ED₅₀ trong thử nghiệm 6Hz 44mA đối với Hợp chất số 2 và LEV đơn độc và phối hợp.

Fig. 2: Phân tích đồ thị nồng độ cho chế phẩm phối hợp Hợp chất số 1 với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA). Các giá trị ED₅₀ ban đầu (nêu dưới đây) được xác định cho cả Hợp chất số 1 và LEV (các điểm dữ liệu trên trục x và trục y; hình thoi màu đen). Đường cộng tính lý thuyết nối các giá trị ED₅₀ đã tính cho hai hợp chất (đường kẻ liền màu đen). ED₅₀ lý thuyết (+ SEM) cho ba chế phẩm phối hợp tỷ lệ liều dùng cố định (LEV: Hợp chất số 1) được vẽ đồ thị: 1:3 – hình vuông đặc/vạch liền màu đen, 1:1 – hình tam giác ngược đặc/vạch liền màu đen, và 3:1 – hình tam giác xuôi đặc/vạch liền màu đen. Các liều dùng điều trị thử nghiệm ban đầu thu được từ các giá trị lý thuyết và được điều chỉnh theo tác dụng nhận thấy. Các giá trị ED₅₀ (+ SEM) được xác định trên thực nghiệm cho từng chế phẩm phối hợp tỷ lệ liều dùng cố định cũng được thể hiện: 1:3' – hình vuông rỗng /vạch đứt quãng, 1:1' – hình tam giác ngược rỗng/vạch đứt quãng, và 3:1' – hình tam giác xuôi rỗng/vạch đứt quãng. So sánh giữa các giá trị ED₅₀ lý thuyết và được xác định trên thực nghiệm bằng cách sử dụng kiểm định-t (**P<0,001). N=8/nhóm. Trên Fig. 2, tỷ lệ giữa LEV và Hợp chất số 1 được nêu như dưới đây:

Tỷ lệ LEV : Hợp chất số 1	
■ 1:3	
▲ 1:1	
▼ 3:1	
--□-- 1:3'	
--△-- 1:1'	
--▽-- 3:1'	
	ED ₅₀ (LEV) = 345 mg/kg (211-485) (trong màng bụng, (i.p.))
	ED ₅₀ (Hợp chất số 1) = 10,2 mg/kg (3,1-12,4) (dưới da) (s.c)

Fig. 3: Nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 25-a với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA). Ở liều dùng 10 mg/kg dưới da, Hợp chất số 25-a làm tăng công hiệu của LEV, dẫn đến tăng khoảng 70 lần ED₅₀. Điều này gợi ý là có mối liên hệ được lực học có lợi.

Fig. 4: Các nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 2-a với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6 Hz (44 mA). Ở liều dùng 10 mg/kg dưới da, Hợp chất số 2-a làm tăng

công hiệu của LEV, dẫn đến tăng khoảng 35 lần ED₅₀. Điều này gợi ý là có mối liên hệ dược lực học có lợi.

Fig. 5: Các nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 6-b với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6 Hz (44 mA). Ở liều dùng 10 mg/kg p.o., Hợp chất số 6-b làm tăng công hiệu của LEV, dẫn đến tăng khoảng 100 lần ED₅₀. Điều này gợi ý là có mối liên hệ dược lực học có lợi.

Fig. 6: Các nghiên cứu phối hợp LY-404039 với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44mA). Ở liều dùng 5 mg/kg dưới da, LY-404039 làm tăng công hiệu của LEV, dẫn đến tăng khoảng 27 lần ED₅₀. Điều này gợi ý là có mối liên hệ dược lực học có lợi.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo phương án cụ thể, sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này đề cập đến được phẩm phối hợp, cụ thể là sản phẩm được phẩm phối hợp, bao gồm:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của nó; và
- (c) ít nhất một chất mang được dụng.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp được đề cập trong bản mô tả này để sử dụng làm thuốc.

Một phương án khác của sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp được đề cập trong bản mô tả này để sử dụng để sản xuất thuốc hoặc dược phẩm để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc và chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan.

Một phương án khác của sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp được đề cập trong bản mô tả này để sử dụng để sản xuất thuốc hoặc dược phẩm để bảo vệ thần kinh.

Một phương án khác của sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp được đề cập trong bản mô tả này để sử dụng để sản xuất thuốc hoặc dược phẩm để ngăn ngừa gây cơn động kinh.

Một phương án khác đề cập đến phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”) đồng thời hoặc kế tiếp; và chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, với lượng mà sẽ hữu hiệu điều trị khi phối tử SV2A và hợp chất mGluR2 được sử dụng đồng thời để sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; và chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan.

Một phương án khác đề cập đến chế phẩm phối hợp như được đề cập trong bản mô tả này để bảo vệ thần kinh; hoặc chế phẩm phối hợp như được đề cập trong bản mô tả này để sử dụng để bảo vệ thần kinh.

Một phương án khác đề cập đến chế phẩm phối hợp như được đề cập trong bản mô tả này để ngăn ngừa gây cơn động kinh; hoặc đến chế phẩm phối hợp như được đề cập trong bản mô tả này để sử dụng để ngăn ngừa gây cơn động kinh.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp liều dùng cố định của:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng,

với lượng mà sẽ hữu hiệu điều trị khi phối tử SV2A và hợp chất mGluR2 được sử dụng đồng thời để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp như được xác định trong bản mô tả này để sử dụng trong phương pháp bảo vệ thần kinh.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp như được xác định trong bản mô tả này để sử dụng trong phương pháp chống động kinh.

Một phương án khác đề cập đến chế phẩm phối hợp hoặc sản phẩm ở lượng điều trị hữu hiệu để sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan, trong đó chế phẩm phối hợp hoặc sản phẩm này chứa chế phẩm phối hợp bao gồm:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng,

cho đối tượng cần điều trị này, như là động vật máu nóng, cụ thể là người.

Một phương án khác đề cập đến chế phẩm phối hợp hoặc sản phẩm ở lượng điều trị hữu hiệu để sử dụng trong phương pháp bảo vệ thần kinh, trong đó chế phẩm phối hợp hoặc sản phẩm này chứa chế phẩm phối hợp bao gồm:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến

cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng,

cho đối tượng cần điều trị này, như là động vật máu nóng, cụ thể là người.

Một phương án khác đề cập đến chế phẩm phối hợp hoặc sản phẩm ở lượng điều trị hiệu quả để sử dụng trong phương pháp chống động kinh, trong đó chế phẩm phối hợp hoặc sản phẩm chứa chế phẩm phối hợp bao gồm:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng,

cho đối tượng cần điều trị này, như là động vật máu nóng, cụ thể là người.

Theo một phương án bổ sung, sáng chế đề cập đến dược phẩm hoặc thương phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, cụ thể là kèm theo hướng dẫn sử dụng, để sử dụng chúng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp nhằm điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc lưỡng cực; và các chứng rối loạn có liên quan.

Theo một phương án bổ sung, sáng chế đề cập đến dược phẩm hoặc thương phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, cụ thể là kèm theo hướng dẫn sử dụng, để sử dụng chúng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp nhằm bảo vệ thần kinh.

Theo một phương án bổ sung, sáng chế đề cập đến dược phẩm hoặc thương phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo sáng chế như được mô tả trong bản mô tả này, cụ thể là kèm theo hướng dẫn sử dụng, để sử dụng chúng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp để chống động kinh.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp bao gồm một lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh kết hợp dùng cho bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan; của:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, và ít nhất một chất mang được dụng.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp bao gồm một lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh kết hợp dưới dạng chất bảo vệ thần kinh, của:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, và ít nhất một chất mang được dụng.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm phối hợp bao gồm một lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh kết hợp ngăn ngừa gây cơn động kinh, của:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, và ít nhất một chất mang được dụng.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và

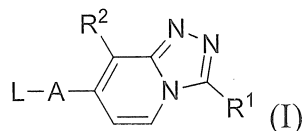
(b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng,

để bào chế sản phẩm chứa chế phẩm phối hợp theo sáng chế.

Các hợp phần (b) của chế phẩm phối hợp theo sáng chế nói chung được gọi là “các hợp chất mGluR2” hoặc “các hợp chất chủ vận/PAM mGluR2”, hoặc “chất điều biến biến cấu dương của mGluR2/hợp chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của mGluR2” là các hợp chất có hoạt tính chủ yếu ở phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2, và cụ thể là được chọn từ các chất điều biến biến cấu dương (PAM) của phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2, và chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan sẽ quen thuộc với sự tương đồng giữa mGluR2 và mGluR3, do sự tương đồng này, một vài chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu mGluR2 cũng thể hiện hoạt tính như chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu mGluR3. Ví dụ, axit (-)-(1R,4S,5S,6S)-4-amino-2-sulfonylbicyclo[3.1.0]hexan-4,6-dicarboxylic (còn gọi là LY-404,039 [CAS 635318-11-5]), với $K_i = 149$ nM (thụ thể mGlu2) và $K_i = 92$ nM (thụ thể mGlu3), độ chọn lọc 100 lần đối với mGlu2 và mGlu3 so với mGlu4a, -6, -7a, và -8a, và không có hoạt tính ở mGlu1a và mGlu5a (The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics Vol. 321, No. 1, các trang 308–317 (2007) của Rorick-Kehn và các đồng tác giả). Thuật ngữ “các hợp chất mGluR2” hoặc “các hợp chất chủ vận/PAM mGluR2”, hoặc “chất điều biến biến cấu dương của mGluR2/hợp chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thuỷ không bị biến cấu của mGluR2” do đó không loại trừ các hợp chất thể hiện hoạt tính thứ yếu bổ sung *in vitro* hoặc *in vivo* khác.

Các hợp chất PAM mGluR2 của chế phẩm phối hợp theo sáng chế cụ thể là được chọn từ các hợp chất được bộc lộ trong WO2010/130424. Một phân nhóm cụ thể các

hợp chất này được bộc lộ trong WO2010/130424 có thể được xác định bằng công thức (I) dưới đây:



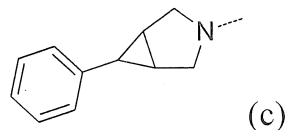
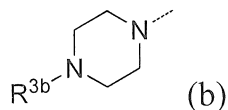
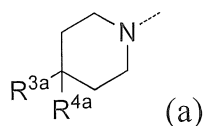
hoặc dạng đồng phân lập thể của nó; trong đó:

R^1 được chọn từ nhóm gồm $(C_{3-7}xycloalkyl)C_{1-3}alkyl$ -, mono- hoặc polyhalo $C_{1-4}alkyl$ -, và $(C_{1-4}alkyl)-O-(C_{1-4}alkyl)$;

R^2 là halogen hoặc polyhalo $C_{1-4}alkyl$;

A là liên kết cộng hoá trị hoặc $-CH_2-$;

L được chọn từ các gốc (a), (b) và (c):

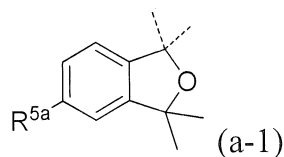


trong đó:

R^{3a} được chọn từ phenyl không được thế hoặc phenyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế halo;

R^{4a} được chọn từ nhóm gồm hydro, $C_{1-3}alkyl$ và halo;

Hoặc $R^{3a}-C-R^{4a}$ cùng là gốc có công thức (a-1):



trong đó R^{5a} là hydro hoặc halo;

R^{3b} được chọn từ nhóm gồm phenyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế halo, pyridinyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế halo, pyrimidinyl không được thế và pyrimidinyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế $C_{1-3}alkyloxy$;

hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng.

Do đó, theo một phương án cụ thể của sáng chế, chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyên hoá 2 (“mGluR2”) là hợp chất có công thức (I) như được xác định trong bản mô tả này.

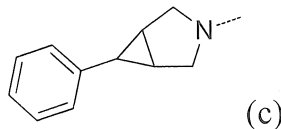
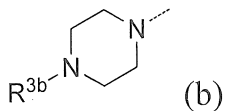
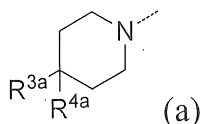
Theo phương án cụ thể, các hợp chất có công thức (I) như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R^1 được chọn từ nhóm gồm xyclopropylmetyl-, 2,2,2-trifloetyl, và $\text{CH}_3\text{-O-CH}_2\text{-}$;

R^2 là clo hoặc CF_3 ;

A là liên kết cộng hoá trị hoặc $\text{-CH}_2\text{-}$;

L được chọn từ các gốc (a), (b) và (c):

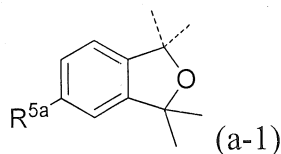


trong đó:

R^{3a} được chọn từ phenyl không được thế hoặc phenyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế flo;

R^{4a} được chọn từ nhóm gồm hydro, metyl và flo;

hoặc $R^{3a}\text{-C-}R^{4a}$ cùng là gốc có công thức (a-1):



trong đó R^{5a} là hydro hoặc flo;

R^{3b} được chọn từ nhóm gồm phenyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế flo, pyridinyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế flo, pyrimidinyl không được thế và pyrimidinyl được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế metoxy;

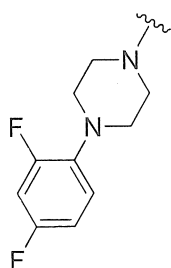
hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng.

Theo phương án cụ thể, các hợp chất có công thức (I) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

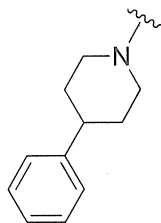
(i) khi A là CH_2 ; và R^2 là triflometyl; thì:

R^1 là xyclopropylmetyl-; và

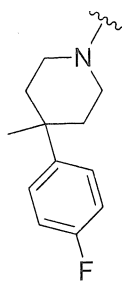
L được chọn từ:



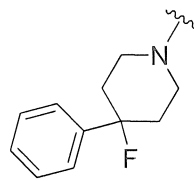
(L-a);



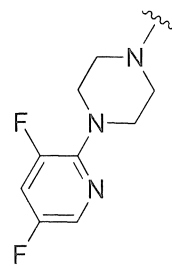
(L-b);



(L-c);



(L-d); và

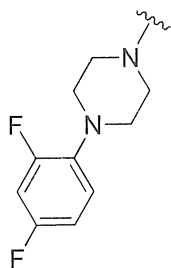


(L-e);

(ii) khi A là CH_2 ; và R_2 là clo; thì:

R^1 là xyclopropylmetyl-; và

L là:

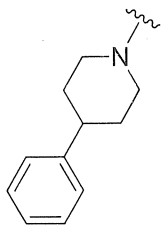


(L-a);

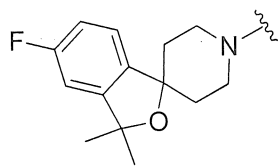
(iii) khi A là liên kết cộng hoá trị; và R^2 là triflometyl; thì:

R^1 là xyclopropylmetyl; và

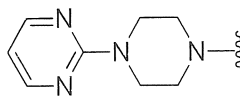
L được chọn từ:



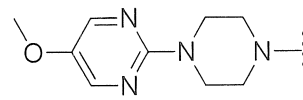
(L-b);



(L-e);



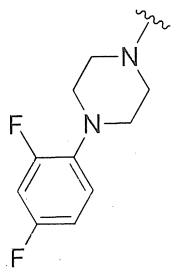
(L-f); và



(L-g);

(iv) khi A là liên kết cộng hoá trị và R^2 là Cl; thì:

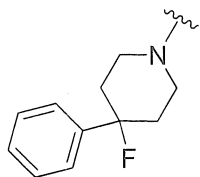
(iv-a) R^1 là xyclopropylmetyl và L là:



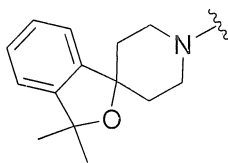
(L-a);

hoặc:

(iv-b) R^1 là 2,2,2-trifluoethyl và L được chọn từ:



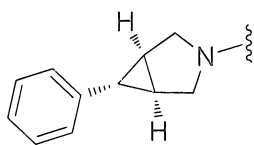
(L-d); và



(L-h);

(v) khi A là CH_2 và R^1 là $-CH_2-O-CH_3$; thì:

R^2 là $-CF_3$ và L là:



rac-(2 α , 3 α , 3 α)

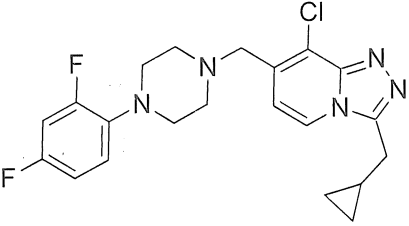
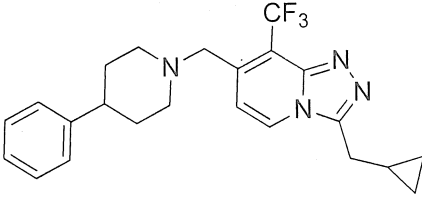
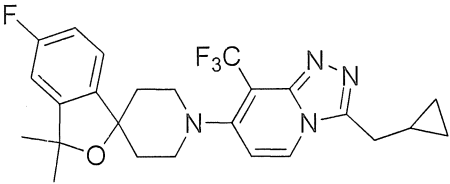
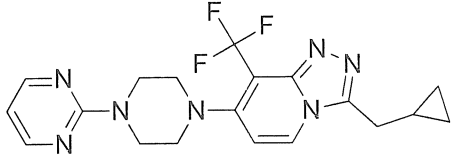
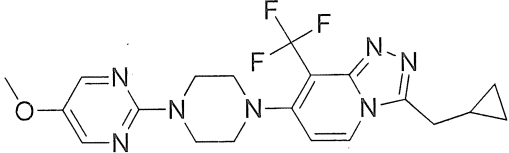
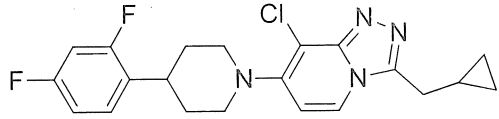
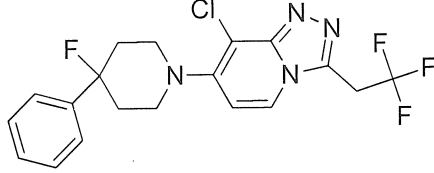
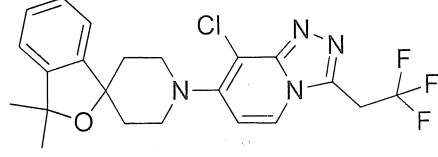
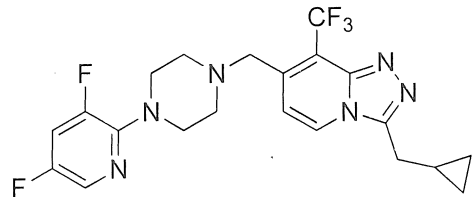
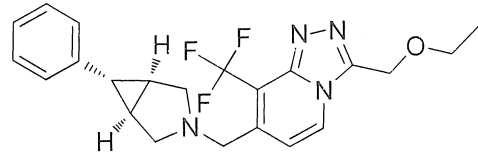
(L-i);

hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng.

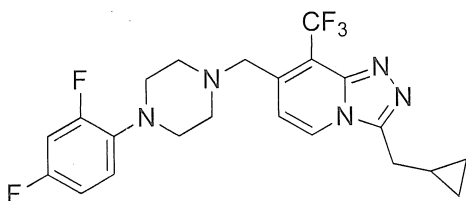
Các hợp chất có công thức (I) được bộc lộ trong WO2010/130424 và có thể được điều chế theo các quy trình được mô tả trong tài liệu này, được viện dẫn ở đây để tham khảo.

Các hợp chất cụ thể có công thức (I) bao gồm:

Hợp chất số 1; hoặc muối hydroclorua của nó (Hợp chất số 1a)	Hợp chất số 2; hoặc muối hydroclorua của nó (.HCl) (Hợp chất số 2a)

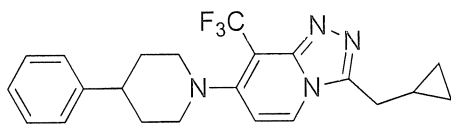
Hợp chất số 3	Hợp chất số 4
	
Hợp chất số 5	Hợp chất số 6; hoặc muối hydroclorua của nó (Hợp chất số 6a)
	
Hợp chất số 7	Hợp chất số 8
	
Hợp chất số 9	Hợp chất số 10
	
Hợp chất số 11	Hợp chất số 12
	
Hợp chất số 13	rac-(2α, 3α, 3α) Hợp chất số 14

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức (I) là:



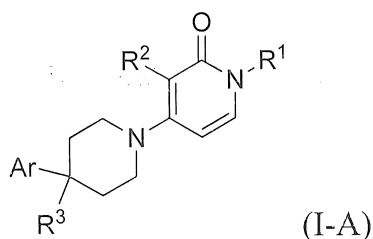
Hợp chất số 1; hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối hydroclorua của nó.

Theo một phương án bổ sung của sáng chế, hợp chất có công thức (I) là:



Hợp chất số 2; hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối hydroclorua của nó (.HCl).

Các hợp chất PAM mGluR2 của chế phẩm phối hợp của sáng chế cụ thể là được chọn từ các hợp chất được bộc lộ trong WO2009/033704. Các hợp chất được bộc lộ trong WO2009/033704 có thể được xác định bằng công thức dưới đây (I-A):



và các dạng đồng phân lập thể hoá học của nó, trong đó:

R¹ là C₁₋₆alkyl; hoặc C₁₋₃alkyl được thế bằng C₃₋₇cycloalkyl, phenyl, hoặc phenyl được thế bằng halo, triflometyl hoặc triflometoxy;

R² là halo, triflometyl, C₁₋₃alkyl hoặc xyclopropyl;

R³ là hydro, flo, hydroxyl, hydroxyC₁₋₃alkyl, hydroxyC₁₋₃alkyloxy,

floC₁₋₃alkyl, floC₁₋₃alkyloxy hoặc xyano; và

Ar là phenyl không được thế; hoặc phenyl được thế bằng n gốc R⁴, trong đó n bằng 1, 2 hoặc 3;

R⁴ được chọn từ nhóm gồm hydro, halo, C₁₋₃alkyl,

hydroxyC₁₋₃alkyl, polyhaloC₁₋₃alkyl, xyano, hydroxyl, amino, carboxyl,

C₁₋₃alkyloxyC₁₋₃alkyl, C₁₋₃alkyloxy, polyhaloC₁₋₃alkyloxy, C₁₋₃alkylcarbonyl, mono-

và di(C₁₋₃alkyl)amino, và morpholinyl; hoặc

hai gốc R⁴ lân cận cùng nhau tạo thành gốc hoá trị hai có công thức:



-CH=CH-NH- (ii), hoặc

-O-CH₂-CH₂-NH- (iii); hoặc

R³ và gốc R⁴ ở vị trí ortho cùng nhau tạo thành gốc hoá trị hai có công thức:

-CH₂-O- (iv), hoặc

-O-CH₂- (v);

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo phương án cụ thể, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này trong đó:

R¹ là C₁₋₆alkyl; hoặc C₁₋₃alkyl được thế bằng C₃₋₇cycloalkyl, phenyl, hoặc phenyl được thế bằng halo, triflometyl hoặc triflometoxy;

R² là halo, triflometyl, C₁₋₃alkyl hoặc cyclopropyl;

R³ là hydro, flo, hydroxyl, hydroxyC₁₋₃alkyl, hydroxyC₁₋₃alkyloxy,

floC₁₋₃alkyl, floC₁₋₃alkyloxy hoặc xyano; và

Ar là phenyl không được thế, hoặc phenyl được thế bằng n gốc R⁴, trong đó n bằng 1, 2 hoặc 3;

R⁴ được chọn từ nhóm gồm hydro, halo, C₁₋₃alkyl,

hydroxyC₁₋₃alkyl, polyhaloC₁₋₃alkyl, xyano, hydroxyl, amino, carboxyl,

C₁₋₃alkyloxyC₁₋₃alkyl, C₁₋₃alkyloxy, polyhaloC₁₋₃alkyloxy; C₁₋₃alkylcarbonyl, mono- và di(C₁₋₃alkyl)amino, và morpholinyl ; hoặc

hai gốc R⁴ lân cận cùng nhau tạo thành gốc hoá trị hai có công thức:

-N=CH-NH- (i),

-CH=CH-NH- (ii), hoặc

-O-CH₂-CH₂-NH- (iii);

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo phương án cụ thể, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R¹ là C₁₋₆alkyl; hoặc C₁₋₃alkyl được thế bằng C₃₋₇cycloalkyl, phenyl hoặc phenyl được thế bằng halo, triflometyl hoặc triflometoxy;

R² là halo, triflometyl, C₁₋₃alkyl hoặc cyclopropyl;

R^3 là hydro, flo, hydroxyl, hydroxy C_{1-3} alkyl, hydroxy C_{1-3} alkyloxy, flo C_{1-3} alkyl, flo C_{1-3} alkyloxy hoặc xyano; và

Ar là phenyl không được thế;

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R^1 là 1-butyl, 2-metyl-1-propyl, 3-metyl-1-butyl, (xyclopropyl)metyl hoặc 2-(xyclopropyl)-3-etyl;

R^3 là hydro, flo hoặc xyano; và

Ar là phenyl không được thế;

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R^1 is 1-butyl, 3-metyl-1-butyl, (xyclopropyl)metyl hoặc 2-(xyclopropyl)-1-etyl;

R^2 là clo;

R^3 là hydro hoặc flo; và

Ar là phenyl không được thế;

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo phương án khác, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl; hoặc C_{1-3} alkyl được thế bằng C_{3-7} xycloalkyl, phenyl, hoặc phenyl được thế bằng halo, triflometyl hoặc triflometoxy;

R^2 là halo, triflometyl, C_{1-3} alkyl hoặc xyclopropyl;

R^3 là hydro, flo, hydroxyl, hydroxy C_{1-3} alkyl, hydroxy C_{1-3} alkyloxy, flo C_{1-3} alkyl, flo C_{1-3} alkyloxy hoặc xyano; và

Ar là phenyl được thế bằng n gốc R^4 , trong đó n bằng 1, 2, hoặc 3;

R^4 được chọn từ nhóm gồm halo, C_{1-3} alkyl, hydroxy C_{1-3} alkyl,

C_{1-3} alkyloxy, polyhalo C_{1-3} alkyloxy, C_{1-3} alkylcacbonyl, mono- và di(C_{1-3} alkyl)amino, và morpholinyl; hoặc

hai gốc R^4 lân cận cùng nhau tạo thành gốc hoá trị hai có công thức:



-CH=CH-NH- (ii), hoặc

-O-CH₂-CH₂-NH- (iii); hoặc

R³ và gốc R⁴ ở vị trí ortho cùng nhau tạo thành gốc hoá trị hai có công thức:

-CH₂-O- (iv),

-O-CH₂- (v);

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R¹ là 1-butyl, 2-metyl-1-propyl, 3-metyl-1-butyl, (xyclopropyl)metyl hoặc 2-(xyclopropyl)-1-etyl;

R³ là hydro, flo hoặc xyano; và

Ar là phenyl được thế bằng halo, triflometyl, morpholinyl hoặc hydroxyC₁₋₃alkyl;

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R¹ là 1-butyl, 3-metyl-1-butyl, (xyclopropyl)metyl hoặc 2-(xyclopropyl)-1-etyl;

R² là clo;

R³ là hydro hoặc flo; và

Ar là phenyl được thế bằng ít nhất một nhóm halo;

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, các hợp chất có công thức (I-A) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

R¹ là 1-butyl, 3-metyl-1-butyl, (xyclopropyl)metyl hoặc 2-(xyclopropyl)-1-etyl;

R² là clo;

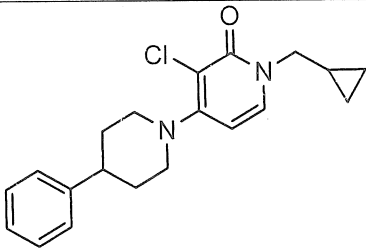
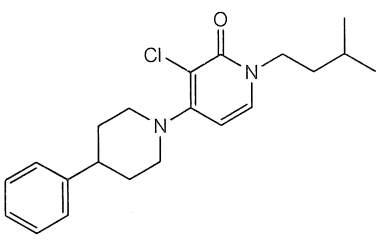
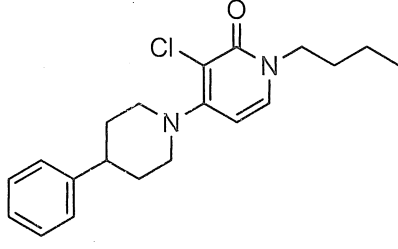
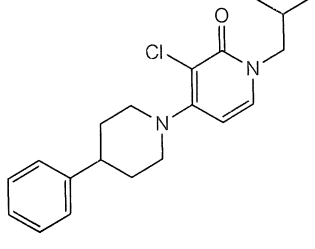
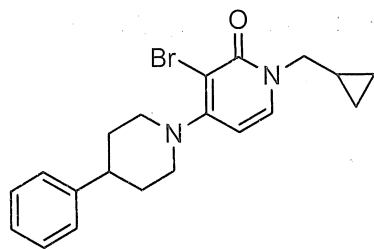
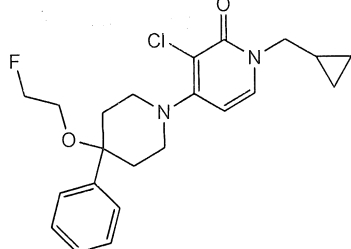
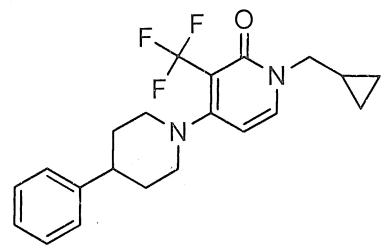
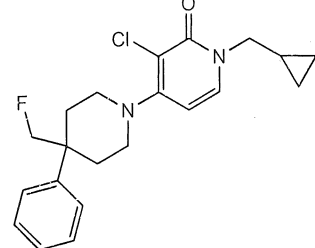
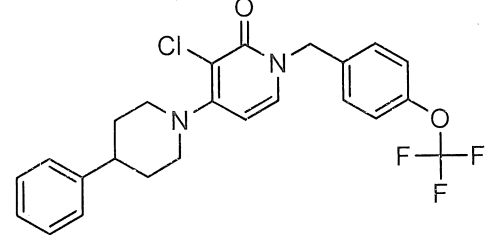
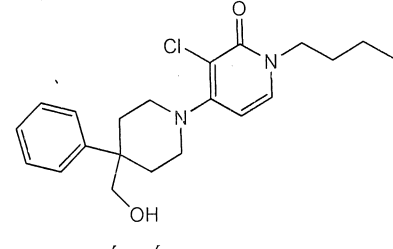
R³ là hydro hoặc flo; và

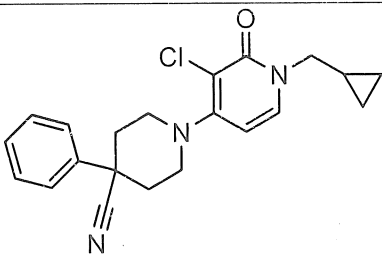
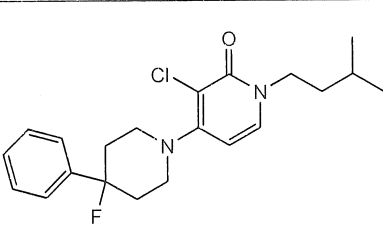
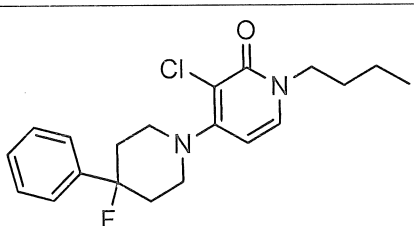
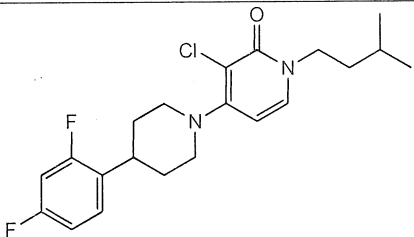
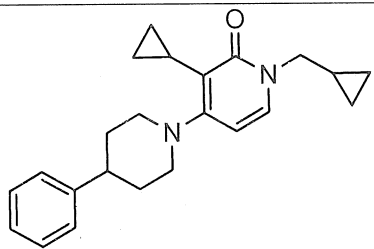
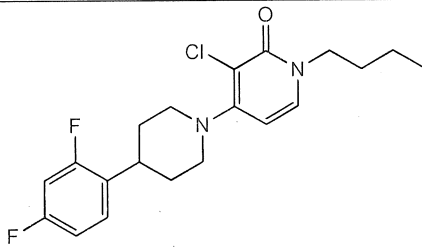
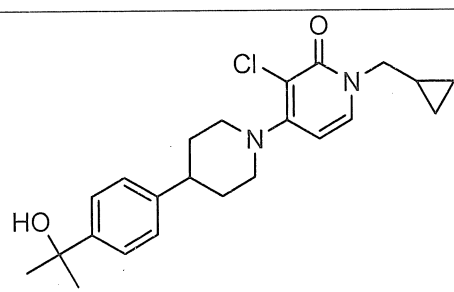
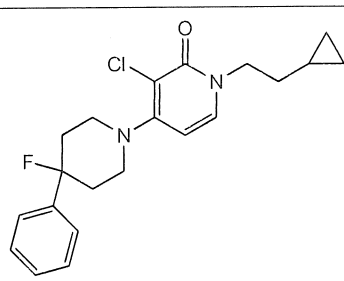
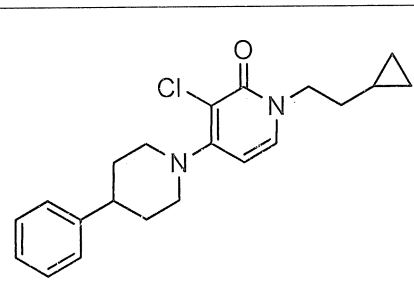
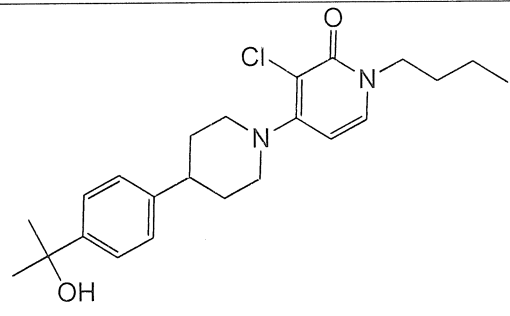
Ar là phenyl được thế bằng ít nhất hai nhóm flo;

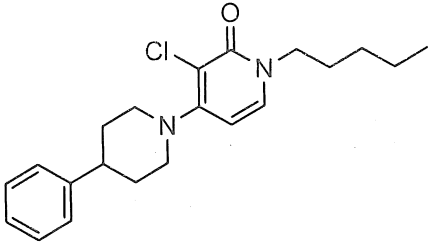
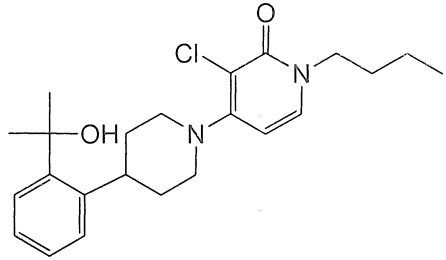
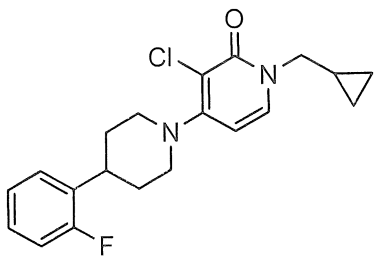
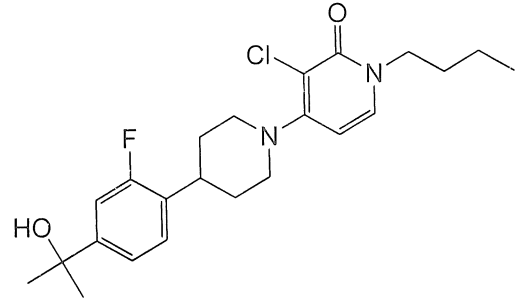
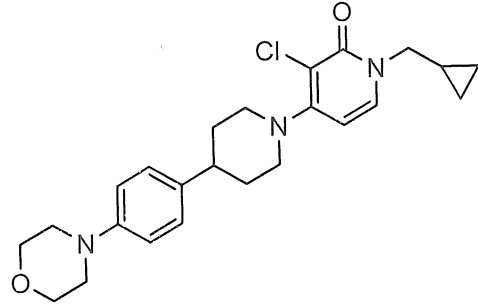
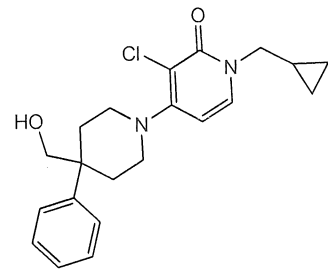
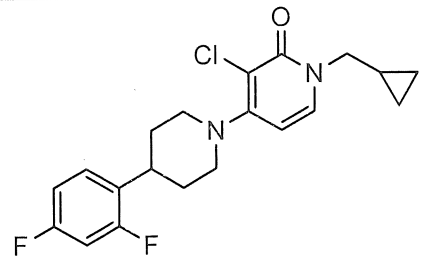
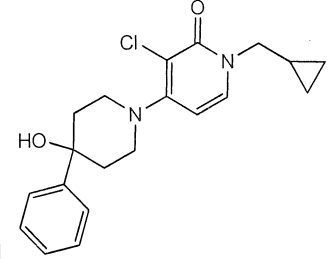
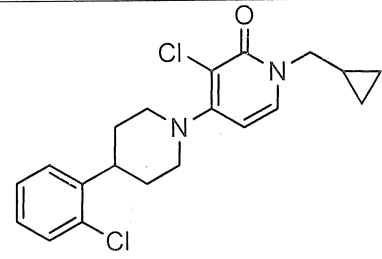
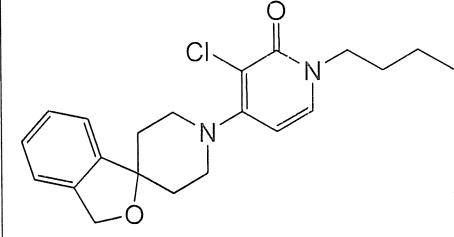
và các muối được dụng và các solvat của chúng.

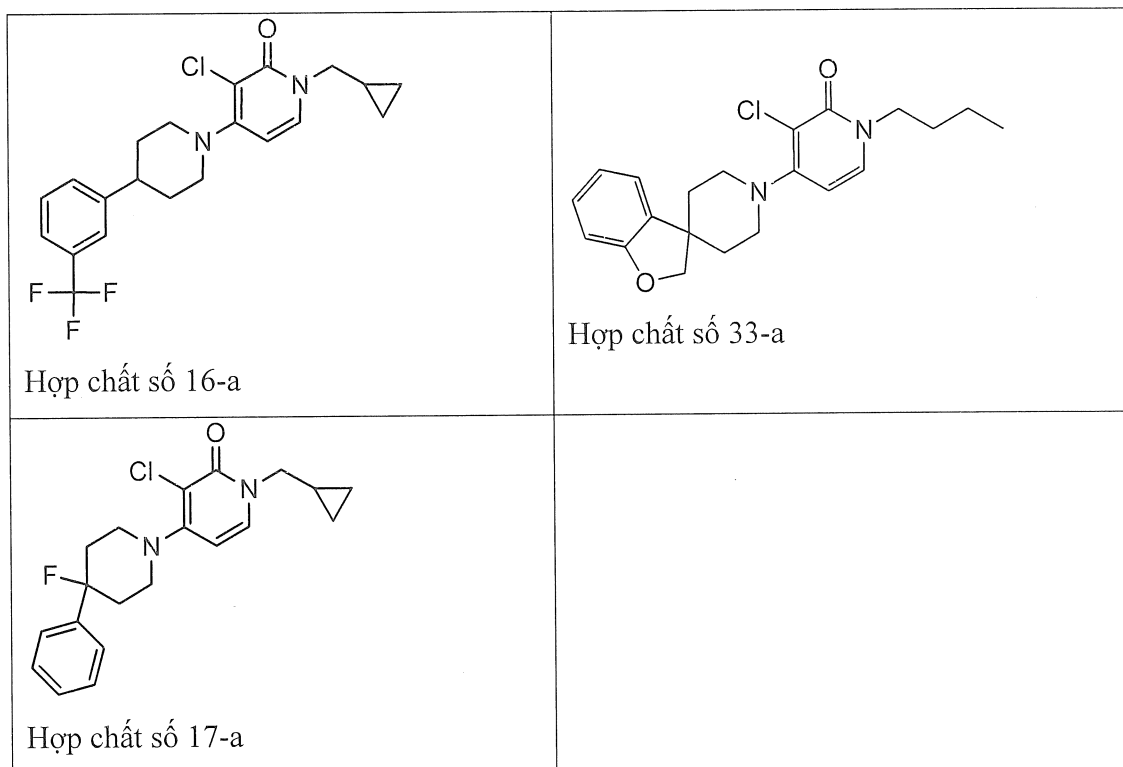
Các hợp chất có công thức (I-A) được bộc lộ trong WO2009/033704 và có thể được điều chế theo các quy trình được mô tả trong đó, được viện dẫn ở đây để tham khảo.

Các hợp chất cụ thể có công thức (I-A) bao gồm:

 Hợp chất số 1-a	 Hợp chất số 18-a
 Hợp chất số 2-a	 Hợp chất số 19-a
 Hợp chất số 3-a	 Hợp chất số 20-a
 Hợp chất số 4-a	 Hợp chất số 21-a
 Hợp chất số 5-a	 Hợp chất số 22-a

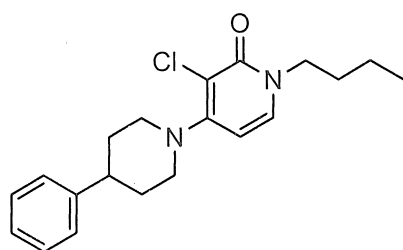
 Hợp chất số 6-a	 Hợp chất số 23-a
 Hợp chất số 7-a	 Hợp chất số 24-a
 Hợp chất số 8-a	 Hợp chất số 25-a
 Hợp chất số 9-a	 Hợp chất số 26-a
 Hợp chất số 10-a	 Hợp chất số 27-a

 Hợp chất số 11-a	 Hợp chất số 28-a
 Hợp chất số 12-a	 Hợp chất số 29-a
 Hợp chất số 13-a	 Hợp chất số 30-a
 Hợp chất số 14-a	 Hợp chất số 31-a
 Hợp chất số 15-a	 Hợp chất số 32-a



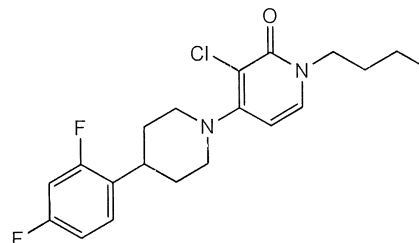
và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức (I-A) là:



Hợp chất số 2-a

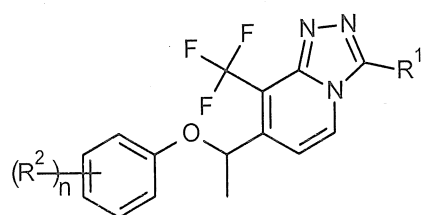
hoặc



Hợp chất số 25-a,

hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng.

Các hợp chất PAM mGluR2 của chế phẩm phối hợp theo sáng chế cụ thể là được chọn từ các hợp chất được bộc lộ trong PCT/EP2014/068676. Các hợp chất được bộc lộ trong PCT/EP2014/068676 có thể được xác định bằng công thức (I-B) dưới đây:



(I-B)

và các dạng đồng phân lập thể hoá học của nó, trong đó:

R^1 được chọn từ nhóm gồm $C_{1-6}alkyl$, $(C_{3-8}cycloalkyl)C_{1-3}alkyl$, và $(C_{1-3}alkyloxy)C_{1-3}alkyl$;

mỗi R^2 độc lập được chọn từ F, Cl, $C_{1-3}alkyl$, $C_{1-3}alkyloxy$, mono- hoặc polyhalo $C_{1-3}alkyl$, và mono- hoặc polyhalo $C_{1-3}alkyloxy$;

n là số nguyên được chọn từ 1, 2, và 3;

và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Các hợp chất PAM mGluR2 của chế phẩm phối hợp theo sáng chế cụ thể là được chọn từ các hợp chất có công thức (I-B) như được xác định trong bản mô tả ở trên, và các dạng đồng phân lập thể của chúng, trong đó R^1 được chọn từ nhóm gồm CH_3CH_2 , $CH_3CH_2CH_2$, (xyclopropyl)metyl, (xyclobutyl)metyl, etyloxymetyl và metyloxymetyl; và các gốc thay đổi còn lại là như được xác định trong bản mô tả này; và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo phương án khác, các hợp chất PAM mGluR2 của chế phẩm phối hợp theo sáng chế cụ thể là được chọn từ các hợp chất có công thức (I-B) như được xác định trong bản mô tả ở trên, và các dạng đồng phân lập thể của chúng, trong đó R^1 được chọn từ nhóm gồm CH_3CH_2 , (xyclopropyl)metyl, (xyclobutyl)metyl và metyloxymetyl; và các gốc thay đổi còn lại là như được xác định trong bản mô tả này; và các muối được dụng và các solvat của chúng.

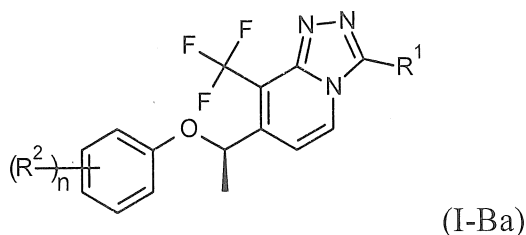
Theo phương án khác, các hợp chất PAM mGluR2 của chế phẩm phối hợp theo sáng chế cụ thể là được chọn từ các hợp chất có công thức (I-B) như được xác định trong bản mô tả ở trên, và các dạng đồng phân lập thể của chúng, trong đó R^1 được chọn từ nhóm gồm CH_3CH_2 , (xyclopropyl)metyl, (xyclobutyl)metyl và etyloxymetyl; và các gốc thay đổi còn lại là như được xác định trong bản mô tả này; và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Do đó, theo một phương án cụ thể của sáng chế, chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) là hợp chất có công thức (I-B) như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một phương án bổ sung, các hợp chất có công thức (I-B) là như được xác định trong bản mô tả này, trong đó:

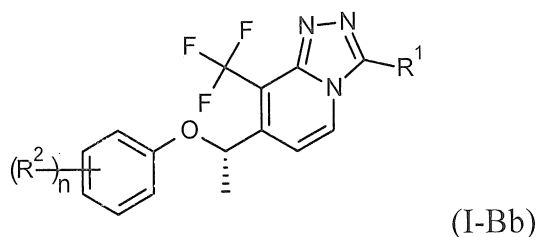
mỗi R^2 độc lập được chọn từ F, Cl, CH_3 , CH_3O và CF_3 ; và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo phương án khác, các hợp chất có công thức (I-B) là như được xác định trong bản mô tả này có công thức (I-Ba):



trong đó các gốc là như được xác định trong công thức (I-B) trong bản mô tả này, và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo phương án khác, các hợp chất có công thức (I-B) là như được xác định trong bản mô tả này có công thức (I-Bb):



trong đó các gốc thay đổi là như được xác định trong công thức (I-B) trong bản mô tả này, và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Các hợp chất cụ thể có công thức (I-B) bao gồm:

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[1-(4-flophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo-
[4,3-a]pyridin;

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1*R)-1-(4-flophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-
a]pyridin;

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1*S)-1-(4-flophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-
a]pyridin;

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-
(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1R)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-
(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo-
[4,3-a]pyridin;

3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(3,5-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(3,4-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(2,3-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(2,5-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(2,6-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(4-flo-2-methoxyphenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclobutylmetyl)-7-[1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[(1S)-1-(2-Chloro-4-metylphenoxy)etyl]-3-(xyclopropylmetyl)-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(4-flo-2-metylphenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclopropylmetyl)-8-(triflometyl)-7-[(1S)-1-(2,4,6-triflophenoxy)etyl][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-(Etoxymetyl)-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-Etyl-8-(triflometyl)-7-[1-(2,4,6-triflophenoxy)etyl][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-etyl-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Xyclobutylmetyl)-7-[(1*R)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin ;
 3-(Xyclobutylmetyl)-7-[(1*S)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-(Etoxymetyl)-8-(triflometyl)-7-[(1*R)-1-(2,4,6-triflophenoxy)etyl][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;

3-(Etoxymetyl)-8-(triflometyl)-7-[(1*S)-1-(2,4,6-triflophenoxy)etyl][1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[(1*S)-1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-(Etoxymetyl)-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[(1*R)-1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-(Etoxymetyl)-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[(1*R)-1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-etyl-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[(1*S)-1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-etyl-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[1-(2,4-Diflophenoxy)etyl]-3-propyl-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-Etyl-8-(triflometyl)-7-[(1*R)-1-(2,4,6-triflophenoxy)etyl]-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 3-Etyl-8-(triflometyl)-7-[(1*S)-1-(2,4,6-triflophenoxy)etyl]-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 7-[(1*R)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-3-propyl-8-(triflometyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin;
 và
 7-[(1*S)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-3-propyl-8-(triflometyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin.

Bao gồm trong phạm vi của dạng sách này là các dạng đồng phân lập thể, các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, hợp chất có thể được chọn từ:

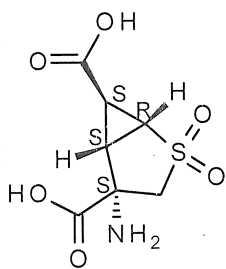
3-(Xyclopropylmetyl)-7-[(1S)-1-(2,4-diflophenoxy)etyl]-8-(triflometyl)[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyridin muối hydroclorua.

Chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu mGluR2/mGluR2/3 của chế phẩm phối hợp của sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, LY-404039; LY-2969822; LY-2934747; LY-379268; DCG-IV; LY-354740; LY-314582; LY-544344; LY-2140023; LY-181837; LY-389795; LY-446433; LY-450477; LY-395756; LY-566332; LY-541850; LY-2300559; LY-404040; LY-281223; LY-2979165; talaglumetad; MGS008; MGS0022; MGS0028; MGS0039; (-)-2-oxa-4-aminobixyclo[3.1.0]hexan-4,6-dicarboxylat; axit (+)-4-amino-2-sulfonylbixyclo[3.1.0]hexan-4,6-dicarboxylic; axit (+)-2-amino-4-flobixyclo-

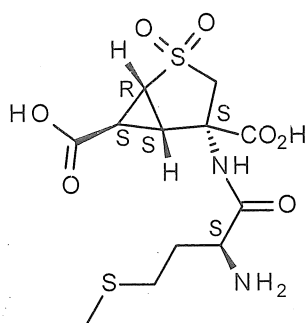
[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxylic; axit 1S,2R,5S,6S-2-amino-6-flo-4-oxobixyclo-
 [3.1.0]hexan-2,6-dicarboxylic; axit 1S,2R,4S,5S,6S-2-amino-6-flo-4-
 hydroxybixyclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxylic; axit 1S,2R,3R,5S,6S-2-amino-3-
 flobixyclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxylic; axit 1S,2R,3S,5S,6S-2-amino-6-flo-3-
 hydroxybixyclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxylic; axit (+)-4-amino-2-sulfonylbixyclo-
 [3.1.0]hexan-4,6-dicarboxylic; axit (+)-2-amino-4-flobixyclo[3.1.0]hexan-2,6-
 dicarboxylic; axit 1S,2R,5S,6S-2-amino-6-flo-4-oxobixyclo[3.1.0]hexan-2,6-
 dicarboxylic; axit 1S,2R,4S,5S,6S-2-amino-6-flo-4-hydroxybixyclo[3.1.0]hexan-2,6-
 dicarboxylic; axit 1S,2R,3R,5S,6S-2-amino-3-flobixyclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarboxylic;
 hoặc axit 1S,2R,3S,5S,6S-2-amino-6-flo-3-hydroxybixyclo-[3.1.0]hexan-2,6-
 dicarboxylic.

Nhóm cụ thể các hợp chất chủ vận mGluR2 bao gồm LY-379268; DCG-IV; LY-354740; LY-404039; LY-2969822; LY-2934747; LY-544344; và LY-2140023.

Chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 của chế phẩm phối hợp theo sáng chế cụ thể còn được chọn từ các hợp chất được bộc lộ trong WO1997/18199 và WO2003/104217, được đưa vào trong bản mô tả này. Các hợp chất cụ thể được đề cập trong bản mô tả này là axit (-)-(1R,4S,5S,6S)-4-amino-2-sulfonylbixyclo[3.1.0]-hexan-4,6-dicarboxylic (còn được gọi là LY-404039):



hoặc muối hoặc solvat của chúng, và axit (1R,4S,5S,6S)-4-[[[(2S)-2-amino-4-(methylthio)-1-oxobutyl]amino]-2-thiabixyclo[3.1.0]hexan-4,6-dicarboxylic 2,2-dioxit (còn được gọi là LY-2140023 [CAS 635318-55-7])



hoặc muối hoặc solvat của chúng, ví dụ monohydrat của nó.

Tên các hợp chất theo sáng chế được đặt theo quy tắc danh pháp được chấp thuận của Chemical Abstracts Service (C.A.S.) sử dụng phần mềm của Advanced Chemical Development, Inc., (ACD/phiên bản tên sản phẩm 10.01.0.14105, 10/2006). Trong trường hợp dạng hồ biến, tên dạng hồ biến được mô tả của cấu trúc được đặt ra. Tuy nhiên, cần phải hiểu là dạng hồ biến không được mô tả cũng bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “C₁₋₃alkyl”, “C₁₋₄alkyl” hoặc “C₁₋₆alkyl” dưới dạng một nhóm hoặc phần của nhóm là gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, bão hoà (no) có từ 1 đến 3 hoặc từ 1 đến 4 hoặc từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, như là metyl, etyl, 1-propyl, 1-metyletyl, butyl, 1-metylpropyl, 2-metyl-1-propyl, 1,1-dimetyletyl, 3-metyl-1-butyl, 1-pentyl, 1-hexyl và gốc tương tự.

Thuật ngữ “C₃₋₇cycloalkyl” hoặc “C₃₋₈cycloalkyl” ở dạng một nhóm hoặc phần của một nhóm là gốc hydrocarbon vòng bão hoà có từ 3 đến 7 hoặc từ 3 đến 8 nguyên tử cacbon, như xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, và xyclooctyl.

Thuật ngữ “halo” hoặc “halogen” như được sử dụng trong bản mô tả này ở dạng một nhóm hoặc phần của một nhóm chỉ flo, clo, brom hoặc iốt, ưu tiên là flo hoặc clo.

Thuật ngữ “mono- và polyhaloC₁₋₃alkyl” hoặc “mono- và polyhaloC₁₋₄alkyl” tương ứng chỉ C₁₋₃alkyl hoặc C₁₋₄alkyl, như được xác định ở trên, được thế bằng 1, 2, 3 hoặc nhiều nguyên tử halo hơn nếu có thể như được xác định ở trên.

Thuật ngữ “được thế” sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, nghĩa là, trừ khi có chỉ dẫn khác hoặc rõ ràng từ ngữ cảnh, chỉ một hoặc nhiều hydro, tốt hơn là từ 1 đến 3 hydro, tốt hơn nữa là từ 1 đến 2 hydro, tốt hơn nữa là 1 hydro, trên nguyên tử hoặc gốc

được chỉ ra trong cụm từ sử dụng “được thể” được thay thế bằng một nhóm chọn từ nhóm được chỉ ra, miễn là không vượt quá hoá trị thông thường, và sự thay thế này dẫn đến một hợp chất ổn định về mặt hoá học, có nghĩa là hợp chất đủ để phân tách được ở độ tinh khiết hữu ích từ hỗn hợp phản ứng, và bảo chế thành chất trị liệu.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có lưu ý khác, thuật ngữ “thuốc động kinh” và thuật ngữ viết tắt “AED” sử dụng thay thế cho nhau cho thuật ngữ “chất chống co giật”, và như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ một chất có khả năng điều trị, ức chế hoặc ngăn ngừa hoạt động động kinh hoặc lên cơn động kinh khi sử dụng chất này cho một đối tượng hoặc bệnh nhân.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có lưu ý khác, thuật ngữ “phối tử protein túi synap 2A” và thuật ngữ viết tắt “phối tử SV2A” sẽ được sử dụng thay thế cho nhau. Ví dụ về các phối tử SV2A bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hợp chất được đề cập trong các tài liệu: GB 1,039,113; GB 1,309,692; EP 1 262 036; EP 1 806 339; WO 2001/062726; US 2002/094787; WO 2004/087658; WO 2005/121082; WO 2005/054188; WO 2006/128692; WO 2006/128693; WO 2007/065595; WO 2008/132139, và WO 2008/132142; WO 2011/047860; WO 2012/143116; và WO 2012/143117. Ví dụ cụ thể thích hợp của các phối tử SV2A bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: levetiracetam, brivaracetam và seletracetam.

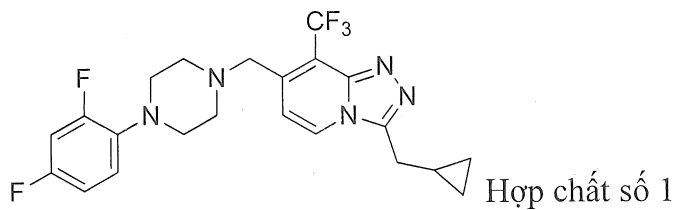
Do đó, theo một phương án của sáng chế, phối tử SV2A được chọn từ levetiracetam, brivaracetam và seletracetam.

Theo phương án cụ thể, phối tử SV2A là levetiracetam.

Theo phương án cụ thể, phối tử SV2A là brivaracetam.

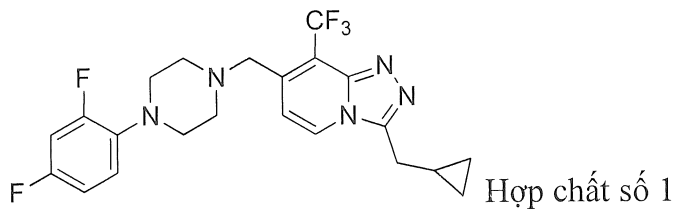
Các quy trình để điều chế các phối tử SV2A là đã biết trong lĩnh vực và được mô tả ví dụ trong: EP 1 806 339; EP 0 162 036 và GB 2 225 322 (levetiracetam); WO 01/62726 (brivaracetam); và WO 2005/121082 (seletracetam); các quy trình này được viện dẫn ở đây để tham khảo.

Theo một phương án bổ sung, chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm (a) phối tử SV2A được chọn từ levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b):



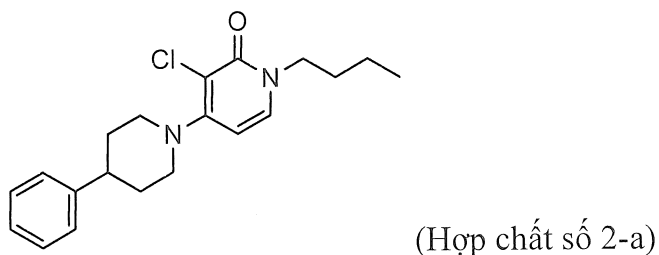
hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối hydroclorua của nó, hoặc solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, được phẩm theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



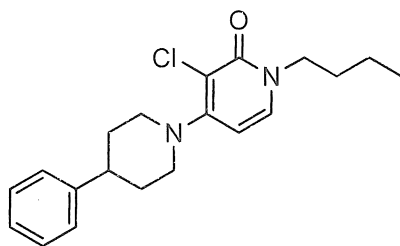
hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối hydroclorua của nó, hoặc solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



hoặc muối được dụng, hoặc solvat của nó.

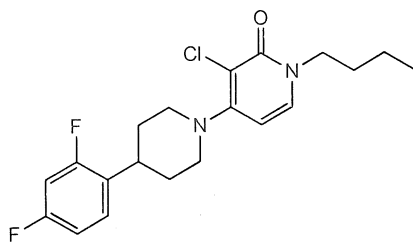
Theo một phương án bổ sung, được phẩm theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



(Hợp chất số 2-a)

hoặc muối được dụng, hoặc solvat của nó.

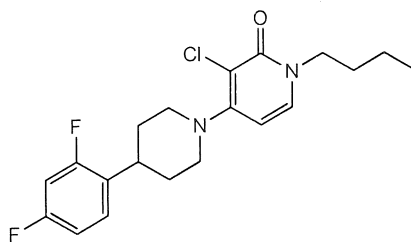
Theo một phương án bổ sung, chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



(Hợp chất số 25-a)

hoặc muối được dụng, hoặc solvat của chúng.

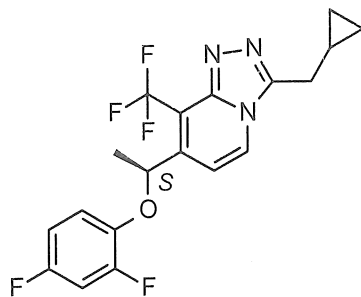
Theo một phương án bổ sung, được phẩm theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



(Hợp chất số 25-a)

hoặc muối được dụng, hoặc solvat của chúng.

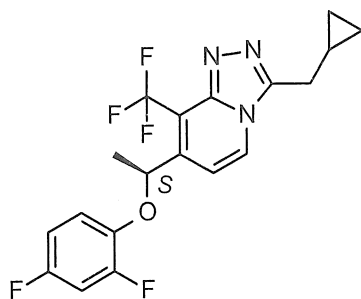
Theo một phương án bổ sung, chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



(Hợp chất số 6-b)

hoặc muối được dụng của nó, cụ thể là muối hydroclorua, hoặc solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, được phẩm theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của:



(Hợp chất số 6-b)

hoặc muối được dụng của nó, cụ thể là muối hydroclorua, hoặc solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của LY-404039 hoặc muối được dụng của nó, cụ thể là muối hydroclorua, hoặc solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, được phẩm theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của LY-404039 hoặc muối được dụng của nó, cụ thể là muối hydroclorua, hoặc solvat của chúng.

Theo một phương án bổ sung, chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu

được dụng của LY-2140023 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, cụ thể là monohydrat của nó.

Theo một phương án bổ sung, được phẩm theo sáng chế bao gồm (a) lượng hữu hiệu được dụng của levetiracetam hoặc brivaracetam; và (b) lượng hữu hiệu được dụng của LY-2140023 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, cụ thể là monohydrat của nó.

Chế phẩm phối hợp theo sáng chế, cụ thể là, được phẩm theo sáng chế, là đặc biệt thích hợp để điều trị bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan.

Nên hiểu là một vài hợp chất mGluR2, cụ thể là các hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 theo sáng chế và các muối cộng được dụng và các solvat của chúng có thể có một hoặc nhiều tâm không đối xứng và tồn tại ở dạng các dạng đồng phân lập thể.

Thuật ngữ “hợp chất theo sáng chế” như được sử dụng trong bản mô tả này, nhằm bao gồm các hợp chất PAM mGluR2, cụ thể là các hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và các hợp chất chủ vận mGluR2 như được bộc lộ trong bản mô tả này, và các muối và các solvat của chúng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, công thức hoá học bất kỳ với các liên kết được thể hiện chỉ dưới dạng vạch liền và không phải ở dạng hình nêm liền hoặc các liên kết hình nêm gạch chéo, hoặc được chỉ dẫn theo cách khác là có cấu hình cụ thể (ví dụ R, S) quanh một hoặc nhiều nguyên tử, có thể có đồng phân lập thể, hoặc hỗn hợp gồm hai hoặc nhiều đồng phân lập thể.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ “hợp chất mGluR2” và “hợp chất chủ vận/PAM mGluR2” nghĩa là bao gồm các đồng phân lập thể của chúng và dạng hỗn biến của chúng. Các thuật ngữ “đồng phân lập thể”, “dạng đồng phân lập thể” hoặc “các dạng đồng phân lập thể hoá học” trong bản mô tả này được sử dụng thay thế cho nhau. Sáng chế bao gồm tất cả các đồng phân lập thể của các hợp chất theo sáng chế hoặc dưới dạng đồng phân lập thể tinh khiết hoặc hỗn hợp gồm hai hoặc nhiều đồng phân lập thể. Các đồng phân đối ảnh là các đồng phân lập thể có hình ảnh qua gương không trùng khít với nhau. Hỗn hợp 1:1 của một cặp đồng phân đối ảnh là raxemat hoặc hỗn hợp raxemic.

Các đồng phân không đối quang là các đồng phân lập thể không phải là các đồng phân đối ảnh, nghĩa là các chất này không liên quan như là các hình ảnh qua gương. Nếu một hợp chất có một liên kết đôi, các phần tử thể có thể ở cấu hình E hoặc Z. Các phần tử thể trên gốc bão hoà (một phần), mạch vòng hoá trị hai có thể ở cấu hình cis- hoặc trans-; ví dụ nếu một hợp chất có một nhóm xycloalkyl được thế hai lần, các phần tử thể có thể ở cấu hình cis hoặc trans. Do đó, sáng chế bao gồm các đồng phân đối ảnh, các đồng phân không đối quang, các raxemat, các chất đồng phân E, các chất đồng phân Z, các chất đồng phân cis, các chất đồng phân trans và hỗn hợp của chúng, nếu có thể về mặt hoá học. Ý nghĩa của tất cả các thuật ngữ này, nghĩa là các đồng phân đối ảnh, các đồng phân không đối quang, các raxemat, các chất đồng phân E, các chất đồng phân Z, các chất đồng phân cis, các chất đồng phân trans và hỗn hợp của chúng là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan. Cấu hình tuyệt đối được xác định theo hệ thống Cahn-Ingold-Prelog. Cấu hình ở một nguyên tử không đối xứng được xác định là R hoặc S. Các đồng phân lập thể đã phân tách có cấu hình tuyệt đối chưa biết có thể được ký hiệu (+) hoặc (-) tùy thuộc vào hướng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực. Ví dụ, các đồng phân đối ảnh đã phân tách có cấu hình tuyệt đối chưa biết có thể được ký hiệu (+) hoặc (-) tùy thuộc vào hướng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực.

Khi một đồng phân lập thể cụ thể được xác định, nghĩa là đồng phân lập thể này về cơ bản không có, nghĩa là kết hợp với < 50%, tốt hơn là < 20%, tốt hơn nữa là < 10%, tốt hơn nữa là < 5%, cụ thể là < 2% và tốt nhất là < 1%, các chất đồng phân khác. Do đó, khi một hợp chất mGluR2 ví dụ được xác định là (R), nghĩa là hợp chất này về cơ bản là không có chất đồng phân (S); khi hợp chất mGluR2 ví dụ được xác định là E, nghĩa là hợp chất này về cơ bản không có chất đồng phân Z; khi hợp chất mGluR2 ví dụ được xác định là cis, nghĩa là hợp chất này về cơ bản không có chất đồng phân trans.

Một vài hợp chất mGluR2 cũng có thể tồn tại dưới dạng hỗn hợp của chúng. Các dạng này, nếu có, mặc dù không được chỉ rõ trong công thức nêu trên là nhằm bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Một hợp chất có thể tồn tại ở cả dạng đồng phân lập thể và hỗn hợp.

Để sử dụng trong y học, các muối của các hợp chất theo sáng chế chỉ “muối được dụng” không độc (các muối của các hợp chất theo sáng chế trong đó phân tử đối ứng là được dụng). Tuy nhiên, các muối khác có thể hữu ích trong việc điều chế hoặc tinh chế các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối được dụng của chúng, và có thể là các axit và bazơ không được dụng. Tất cả các muối, cho dù là được dụng hay không, là bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Các muối cộng axit và bazơ được dụng như được đề cập trong bản mô tả này là bao gồm các dạng muối cộng axit và bazơ không độc có hoạt tính trị liệu mà các hợp chất theo sáng chế có thể tạo thành. Các muối được dụng thích hợp của các hợp chất bao gồm các muối cộng axit có thể, ví dụ, được tạo thành bằng cách trộn dung dịch chứa hợp chất này với dung dịch chứa axit được dụng ví dụ, các axit vô cơ, như axit hydrohalic, ví dụ axit clohydric hoặc bromhydric, sulfuric, nitric, phosphoric và các axit tương tự; hoặc các axit hữu cơ, ví dụ, axetic, propanoic, hydroxyaxetic, lactic, pyruvic, oxalic (nghĩa là etandioic), malonic, succinic (nghĩa là axit butandioic), maleic, fumaric, malic, tartaric, citric, metansulfonic, etansulfonic, benzensulfonic, p-toluensulfonic, xyclamic, salixylic, p-aminosalixylic, pamoic và các axit tương tự. Ngược lại, các dạng muối này có thể được chuyển hoá bằng cách xử lý bằng bazơ thích hợp thành dạng bazơ tự do. Hơn nữa, trong trường hợp các hợp chất theo sáng chế mang nhóm axit, các muối được dụng thích hợp của chúng có thể bao gồm các bazơ hữu cơ và vô cơ. Các dạng muối bazơ thích hợp bao gồm, ví dụ, các muối amoni, các muối kim loại kiềm và kiềm thổ, ví dụ lithi, natri, kali, magie, canxi và các muối tương tự, các muối với bazơ hữu cơ, ví dụ các muối với amin bậc một, bậc hai và bậc ba béo và thơm như metylamin, etylamin, propylamin, isopropylamin, 4 đồng phân butylamin, dimethylamin, diethylamin, dietanolamin, dipropylamin, diisopropylamin, di-n-butylamin, pyrrolidin, piperidin, morpholin, trimethylamin, triethylamin, tripropylamin, quinuclidin, pyridin, quinolin và isoquinolin; benzathin, N-metyl-D-glucamin, hydrabamin, và các muối với axit amin, ví dụ, arginin, lysin và các amin tương tự. Ngược lại, các dạng muối này có thể được chuyển hoá bằng cách xử lý bằng axit thích hợp thành dạng axit tự do.

Thuật ngữ “solvat” bao gồm dạng cộng hợp dung môi cũng như các muối của

chúng, mà các hợp chất có công thức (I) có thể tạo thành. Ví dụ về các dạng cộng dung môi này ví dụ là các hydrat, alcoholat và các dạng tương tự.

Điều chế các hợp chất có công thức (I-B)

Các hợp chất có công thức (I-B) theo sáng chế nói chung có thể điều chế tuần tự theo các bước đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan. Cụ thể là, các hợp chất này có thể được điều chế theo các phương pháp tổng hợp dưới đây.

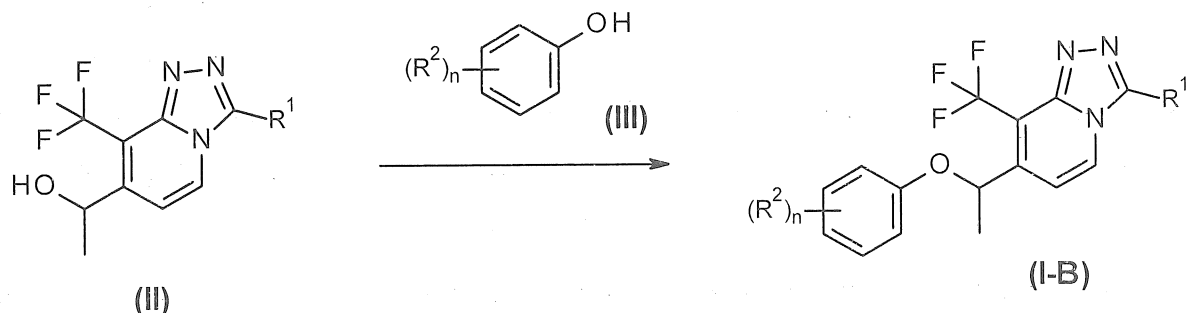
Các hợp chất có công thức (I-B) có thể được tổng hợp ở dạng các hỗn hợp raxemic gồm các chất đồng phân đối ảnh mà có thể tách riêng theo các quy trình phân tách đã biết. Các hợp chất raxemic theo công thức (I-B) có thể được chuyển hoá thành các dạng muối đồng phân không đối quang tương ứng bằng cách cho phản ứng với axit không đối xứng thích hợp. Các dạng muối đồng phân không đối quang này sau đó được phân tách, ví dụ, bằng cách kết tinh chọn lọc hoặc phân đoạn và các chất đồng phân đối ảnh được giải phóng từ dạng muối này bằng kiềm. Một cách khác để phân tách các dạng đồng phân đối ảnh của các hợp chất có công thức (I-B) bao gồm sắc ký lỏng hoặc sắc ký lỏng siêu tới hạn (SFC) sử dụng pha tĩnh không đối xứng. Các dạng đồng phân lập thể hoá học tinh khiết này cũng có thể thu được từ các dạng đồng phân lập thể hoá học tinh khiết tương ứng của nguyên liệu thích hợp, miễn là phản ứng diễn ra một cách chọn lọc về mặt lập thể.

A. Điều chế các hợp chất theo Công thức (I-B) thành phẩm

Các hợp chất thành phẩm theo công thức (I-B), có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian có công thức (II) phản ứng với hợp chất có công thức (III) theo sơ đồ phản ứng (1), phản ứng diễn ra trong điều kiện Mitsunobu cổ điển. Phản ứng này tốt hơn là được tiến hành với phosphin và este hoặc amit của axit azodicarboxylic hoặc trong tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, diethyl ete, toluen, benzen, diclometan, hoặc hỗn hợp của chúng, ở từ -30 đến 150°C, trong điều kiện gia nhiệt hoặc chiếu xạ vi sóng. Các phosphin thường được sử dụng là triphenylphosphin và tributylphosphin thường kết hợp với dimethyl azodicarboxylat, diethyl azodicarboxylat, diisopropyl azodicarboxylat, di-(4-clobenzyl) azodicarboxylat, dibenzyl azodicarboxylat, di-tert-butyl azodicarboxylat, bis-(dimethylamit) của axit azodicarboxylic, dipiperidit của axit azodicarboxylic, hoặc dimorpholit của axit azodicarboxylic. Trong sơ đồ phản ứng (1), tất cả các góc thay đổi

là như được xác định trong công thức (I-B)

Sơ đồ phản ứng 1

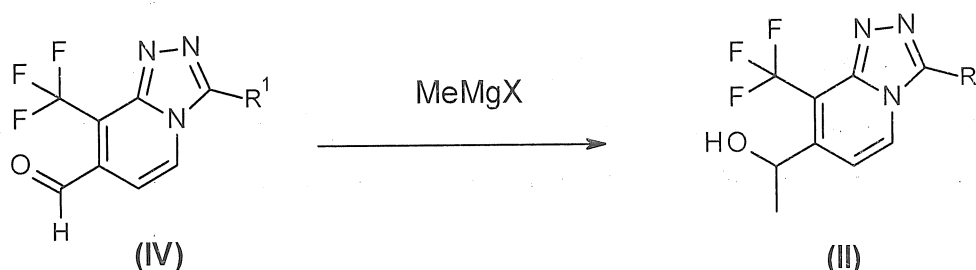


B. Điều chế các hợp chất trung gian

Quy trình thí nghiệm 2

Các hợp chất trung gian theo công thức (II) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian có công thức (IV) vào các điều kiện mà đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan. Quá trình này được minh họa trong sơ đồ phản ứng (2) trong đó tất cả các gốc thay đổi là được xác định như được đề cập trong bản mô tả này ở trên. Các phương pháp tiến hành các biến đổi này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan. Xử lý aldehyt có công thức (IV) với hợp chất kim loại hữu cơ như metyl lithi hoặc metyl magie bromua cho hợp chất có công thức (II). Dung môi thích hợp cho phản ứng này là ete như tetrahydrofuran và phản ứng thường được thực hiện ở nhiệt độ trong khoảng -78°C và 40°C . Trong sơ đồ phản ứng (2), tất cả các gốc thay đổi là được xác định như trong công thức (I-B).

Sơ đồ phản ứng 2

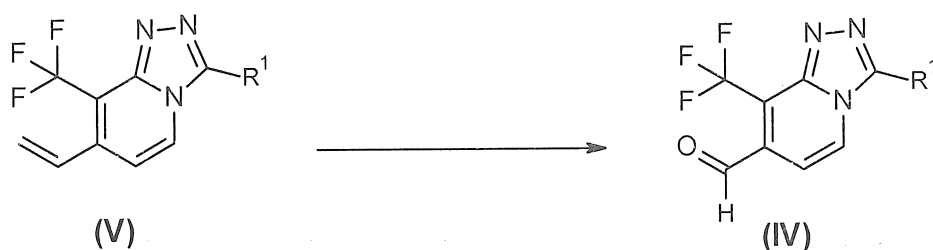


Quy trình thí nghiệm 3

Các hợp chất trung gian theo công thức (IV) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian có công thức (V) phản ứng trong điều kiện dihydroxyl hoá và phân

giải oxy hoá mà đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan và có thể thực hiện ví dụ với oxon, osmi tetroxit. Có thể thực hiện quy trình này tùy ý trong dung môi như 1,4-dioxan, nước và nói chung ở nhiệt độ trong khoảng -100°C và 100°C . Tham khảo tóm tắt các phương pháp này trong “Comprehensive Organic Transformations”, VCH Publishers, (1989), R.C.Larock, các trang 595-596. Quá trình này được minh họa trong sơ đồ phản ứng (3) trong đó tất cả các gốc thay đổi là được xác định như được đề cập trong bản mô tả này ở trên.

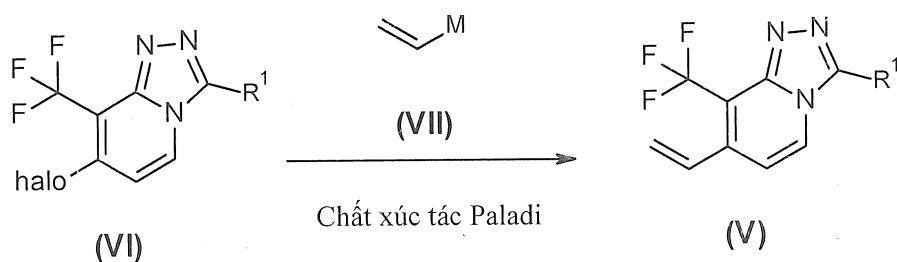
Sơ đồ phản ứng 3



Quy trình thí nghiệm 4

Các hợp chất trung gian theo công thức (V) có thể được điều chế bằng các phản ứng kết hợp, như các phản ứng Stille hoặc Suzuki của hợp chất trung gian có công thức (VI) với hợp chất có công thức (VII) trong các điều kiện mà đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan. Có thể thực hiện quy trình này tùy ý trong dung môi như 1,4-dioxan, nước và nói chung ở nhiệt độ trong khoảng nhiệt độ trong phòng và 200°C với sự có mặt của bazơ. Quá trình này được minh họa trong sơ đồ phản ứng (4) trong đó tất cả các gốc thay đổi là được xác định ở trên, trong đó M là trialkyltin, axit boronic hoặc boronat este, và chất xúc tác paladi và halo là clo, bromo hoặc iốt.

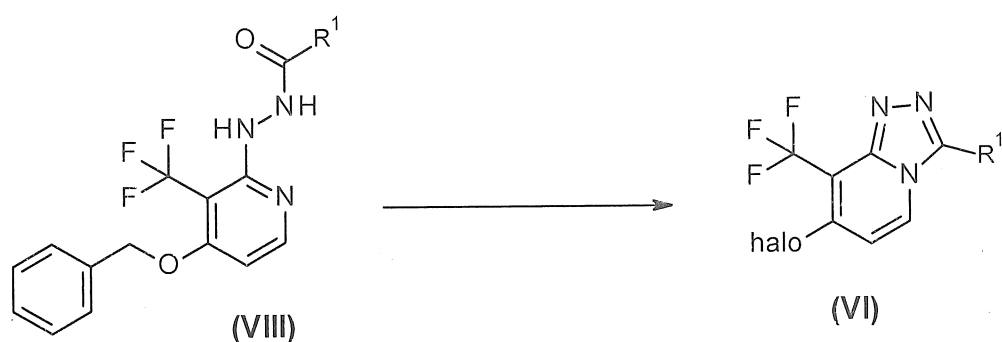
Sơ đồ phản ứng 4



Quy trình thí nghiệm 5

Các hợp chất trung gian theo công thức (VI) có thể được điều chế theo các quy trình đã biết trong lĩnh vực bằng cách tạo vòng hợp chất trung gian có công thức (VIII) với sự có mặt của tác nhân halogen hoá ví dụ như phospho (V) oxyclorua (POCl_3) trong dung môi thích hợp như, ví dụ, dicloetan, được khuấy trong điều kiện chiếu xạ vi sóng, trong một khoảng thời gian thích hợp cho phép phản ứng hoàn toàn, như ví dụ 5 phút ở nhiệt độ trong khoảng $140\text{-}200^\circ\text{C}$. Trong sơ đồ phản ứng (5), R^1 được xác định như trong công thức (I-B) và halo là clo, bromo hoặc iốt.

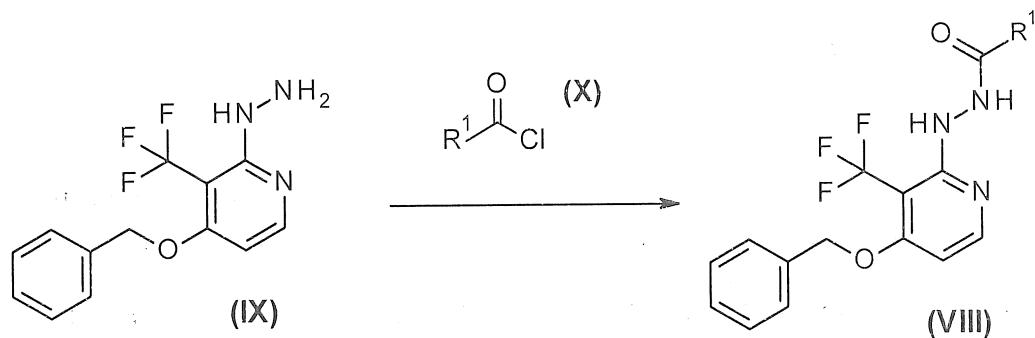
Sơ đồ phản ứng 5



Quy trình thí nghiệm 6

Các hợp chất trung gian theo công thức (VIII) có thể được điều chế bằng các quy trình đã biết trong lĩnh vực bằng cách cho hợp chất trung gian hydrazin có công thức (IX) phản ứng với halogenua axit có công thức (X). Thực hiện phản ứng bằng cách sử dụng dung môi trơ, ví dụ như DCM, với sự có mặt của bazơ ví dụ như triethylamin, ví dụ ở nhiệt độ trong phòng trong một khoảng thời gian thích hợp cho phép phản ứng hoàn toàn, ví dụ 20 phút. Trong sơ đồ phản ứng (6), R^1 được xác định như trong công thức (I-B).

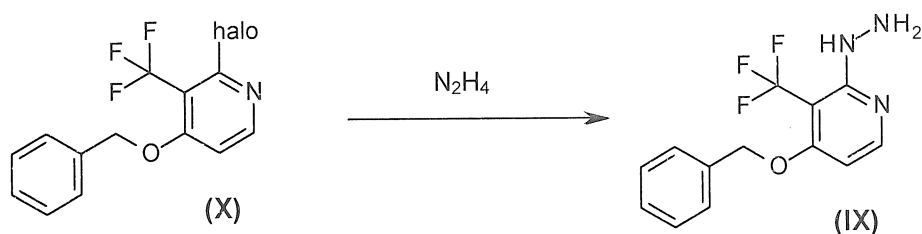
Sơ đồ phản ứng 6



Quy trình thí nghiệm 7

Các hợp chất trung gian có công thức (IX) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian có công thức (XI) phản ứng với hydrazin theo sơ đồ phản ứng (7), tiến hành phản ứng trong dung môi trơ-phản ứng thích hợp, ví dụ như etanol, THF hoặc 1,4-dioxan trong điều kiện gia nhiệt, ví dụ như gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ví dụ ở 160°C trong điều kiện chiếu xạ vi sóng trong 30 phút hoặc điều kiện gia nhiệt cổ điển ở 70°C trong 16 giờ. Trong sơ đồ phản ứng (7), halo là clo, bromo hoặc iốt.

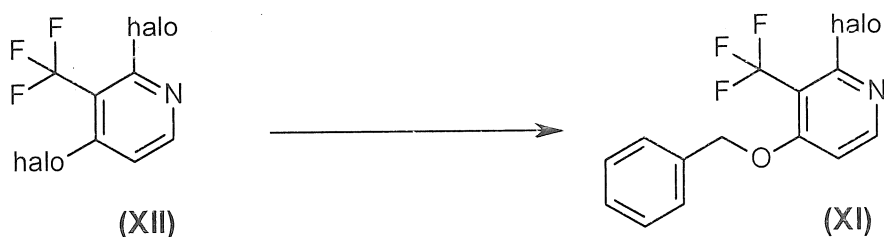
Sơ đồ phản ứng 7



Quy trình thí nghiệm 8

Các hợp chất trung gian theo công thức (XI) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian có công thức (XII) phản ứng với rượu benzylic theo sơ đồ phản ứng (8), tiến hành phản ứng trong dung môi trơ-phản ứng thích hợp, như, ví dụ, *N,N*-dimetylformamit với sự có mặt của bazơ thích hợp, ví dụ như natri hydrua ở nhiệt độ trong phòng trong một khoảng thời gian thích hợp cho phép phản ứng hoàn toàn, ví dụ 1 giờ. Trong sơ đồ phản ứng (8), halo là clo, bromo hoặc iốt.

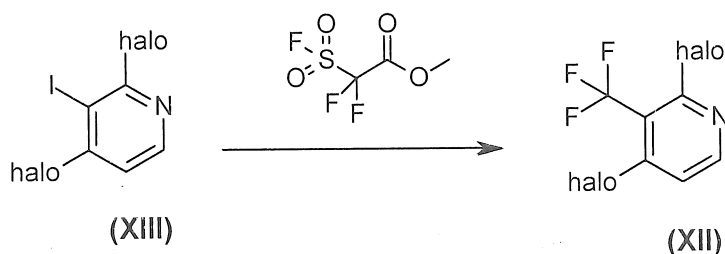
Sơ đồ phản ứng 8



Quy trình thí nghiệm 9

Hợp chất trung gian theo công thức (XII), có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian có công thức (XIII) phản ứng với tác nhân triflometyl hoá thích hợp, như ví dụ methyl este của axit flosulfonyl(diflo)axetic, theo sơ đồ phản ứng (9). Tiến hành phản ứng này trong dung môi trơ-phản ứng thích hợp như, ví dụ, *N,N*-dimethylformamit với sự có mặt của chất kết hợp thích hợp ví dụ, như đồng (I) iotua, trong điều kiện gia nhiệt, ví dụ, như gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ví dụ ở 160°C trong điều kiện chiếu xạ vi sóng trong thời gian 45 phút. Trong sơ đồ phản ứng (9), halo là clo, bromo hoặc iốt.

Sơ đồ phản ứng 9



Các chất ban đầu có công thức (II), (VII), (X) hoặc (XIII) là các hợp chất có bán sẵn trên thị trường hoặc có thể được điều chế theo các quy trình phản ứng thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chế phẩm” dùng để chỉ sản phẩm bao gồm các thành phần xác định với những lượng xác định, cũng như sản phẩm bất kỳ thu được trực tiếp hoặc gián tiếp từ chế phẩm phối hợp các thành phần xác định ở lượng xác định.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “đối tượng” chỉ động vật, tốt hơn là động vật có vú, tốt nhất là người trưởng thành, trẻ em hoặc trẻ sơ sinh, đang hoặc đã là đối tượng điều trị, theo dõi hoặc thử nghiệm.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh” như được sử dụng trong bản mô tả này, dùng để chỉ lượng hợp chất có hoạt tính hoặc dược chất có đáp ứng sinh học hoặc y học ở hệ thống mô, động vật hoặc con người mà đang được nhà nghiên cứu, bác sỹ thú y, thầy thuốc hoặc bác sỹ lâm sàng khác tìm cách, bao gồm làm giảm nhẹ một

hoặc nhiều triệu chứng của bệnh hoặc chứng rối loạn bệnh đang điều trị; và/hoặc giảm mức độ nghiêm trọng của một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh đang được điều trị.

Chế phẩm phối hợp của các hợp chất (a) phối tử SV2A và (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, hoặc chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu của phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng, trong đó các hợp chất (a) và (b) được cho dùng đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự, có thể có lợi so với tác dụng của các hợp chất (a) hoặc (b) được sử dụng đơn độc. Cụ thể là, có thể có ít nhất một tác dụng có lợi, ví dụ gia tăng tác dụng hiệp đồng của các hợp chất (a) và (b), tác dụng mạnh hơn tác dụng cộng hợp, cụ thể là tác dụng hiệp đồng; các tác dụng có lợi bổ sung bao gồm ví dụ, liều dùng hữu hiệu giảm đáng kể đối với (a) và (b) kết hợp; tác dụng điều trị khác mà không nhận thấy đối với hợp chất (a) hoặc (b) đơn độc, profin tác dụng phụ có lợi hơn, hoặc tác dụng điều trị kết hợp ở liều lượng không có hiệu quả của một hoặc cả (a) và (b).

Như được xác định trong bản mô tả này, thuật ngữ “tỷ lệ liều dùng cố định của (a) phối tử protein túi synap 2A so với (b) hợp chất có công thức (I) là 1:1, được tính theo giá trị ED_{50} của các hợp chất (a) và (b) riêng lẻ” chỉ chế phẩm bao gồm các hợp chất (a) và (b) ở liều dùng tương ứng với 50% liều dùng ED_{50} tương ứng của hợp chất (a) và (b) riêng lẻ hoặc bội số của tỷ lệ liều dùng cố định này. Thuật ngữ “tỷ lệ liều dùng cố định của (a) phối tử protein túi synap 2A: (b) hợp chất có công thức (I) là 3:1, được tính theo các giá trị ED_{50} của các hợp chất (a) và (b) riêng lẻ” chỉ các chế phẩm bao gồm (b) hợp chất có công thức (I) ở liều dùng tương ứng với 75% liều dùng ED_{50} tương ứng của hợp chất (b) và hợp chất (a) ở liều dùng tương ứng với 25% liều dùng ED_{50} tương ứng của hợp chất (a) hoặc bội số của tỷ lệ liều dùng cố định này, và tương tự.

Do đó, theo một phương án của sáng chế, (a) phối tử SV2A và (b) hợp chất có công thức (I) có mặt trong được phẩm với tỷ lệ liều dùng cố định của (a):(b) là khoảng từ 1:10 đến khoảng 10:1, tốt hơn là từ khoảng 1:5 đến khoảng 5:1, tốt hơn nữa là từ khoảng 1:3 đến khoảng 3:1, theo một phương án từ khoảng 1:1 đến khoảng 3:1; theo một phương án khác là 1:3; theo một phương án khác nữa là 1:1; phương án khác là 3:1;

trong đó tỷ lệ liều dùng cố định được tính theo các giá trị ED_{50} của các hợp chất (a) và (b) riêng rẽ.

Trong đó, sáng chế đề cập đến liệu pháp trị liệu đồng thời hoặc liệu pháp phối hợp, bao gồm bước sử dụng (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”); và (b) hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B) như được xác định trong bản mô tả này, lượng được dùng hoặc lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh là lượng chế phẩm phối hợp các chất được dùng đồng thời sao cho tác dụng phối hợp cho đáp ứng sinh học hoặc y học mong muốn. Ví dụ, lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của liệu pháp đồng thời bao gồm bước sử dụng (a) phối tử SV2A như được xác định trong bản mô tả này và (b) hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B) như được xác định trong bản mô tả này là lượng của (a) phối tử SV2A như được xác định trong bản mô tả này và lượng của (b) hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B) khi được dùng đồng thời hoặc kế tiếp có tác dụng phối hợp mà có hiệu quả điều trị. Hơn nữa, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan sẽ biết được là trong trường hợp liệu pháp đồng thời với lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh, như trong ví dụ nêu trên, lượng của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và/hoặc lượng phối tử SV2A thích hợp dùng riêng rẽ có thể hoặc không thể có hiệu quả điều trị.

Sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị này, sử dụng liệu pháp đồng thời với lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của phối tử SV2A và lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), như được đề cập trong bản mô tả này. Để đạt được mục đích này, các hợp chất hoặc chế phẩm theo sáng chế cần phải được sử dụng với lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh hoặc liều dùng chính xác, như được mô tả dưới đây.

Liều lượng và phác đồ tối ưu cần sử dụng sẽ được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan xác định một cách dễ dàng, và sẽ thay đổi theo hợp chất cụ thể được sử dụng, cách dùng, hàm lượng của chế phẩm, đường dùng, và mức độ tiến triển của tình trạng bệnh. Ngoài ra, các yếu tố liên quan đến bệnh nhân cụ thể đang điều trị,

bao gồm tuổi tác của bệnh nhân, cân nặng, chế độ ăn và thời gian sử dụng, sẽ dẫn đến nhu cầu điều chỉnh liều lượng.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan sẽ biết được là liều lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của các hợp chất theo sáng chế có thể bao gồm các liều dùng lặp lại trong phác đồ điều trị kéo dài mà sẽ cho kết quả đáng kể trên lâm sàng.

Lượng hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là của hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), trong các chế phẩm phối hợp của sáng chế mà được sử dụng hằng ngày có thể thay đổi trong khoảng từ 0,01 đến khoảng 2000 mg. Ví dụ về liều lượng hằng ngày của hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B) là 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 750 và 1000 mg được điều chỉnh theo triệu chứng cho bệnh nhân cần điều trị. Lượng hữu hiệu của thuốc thường được cung cấp ở mức liều lượng nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến khoảng 150,0 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày hoặc khoảng liều lượng bất kỳ trong bản mô tả này. Tốt hơn là, khoảng liều này nằm trong khoảng từ 0,1 đến khoảng 100,0 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày, tốt hơn nữa là, từ 0,5 mg/kg đến khoảng 50 mg/kg, tốt hơn nữa là, từ 1,0 đến khoảng 25,0 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày. Các hợp chất có được sử dụng theo phác đồ 1, 2, 3 hoặc 4 lần/ngày. Lượng của phối tử SV2A mà được sử dụng hằng ngày có thể thay đổi trong khoảng từ 0,01 đến khoảng 7000 mg, tốt hơn là trong khoảng 250 và 5000 mg và tốt hơn nữa là trong khoảng 500 và 3000 mg. Ví dụ về liều lượng hằng ngày của phối tử SV2A 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1500 và 3000 mg được điều chỉnh theo triệu chứng cho bệnh nhân cần điều trị. Lượng hữu hiệu của thuốc thường được cung cấp ở mức liều lượng nằm trong khoảng từ 150,0 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày hoặc khoảng bất kỳ trong bản mô tả này, Tốt hơn là, khoảng này nằm trong khoảng từ 0,1 đến khoảng 100,0 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày, tốt hơn nữa là, từ 0,5 mg/kg đến khoảng 50 mg/kg, tốt hơn nữa là, từ 1,0 đến khoảng 25,0 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày. Các hợp chất có thể được sử dụng theo phác đồ 1, 2, 3 hoặc 4 lần/ngày. Tất cả liều lượng được đề cập ở đây và trong các đoạn dưới đây chỉ dạng tự do (nghĩa là không phải dạng muối). Các giá trị nêu trên biểu thị tương đương với dạng tự do, nghĩa là khối lượng được tính khi sử dụng dạng tự do. Nếu sử dụng các muối, các liều lượng này cần phải được tính theo tỷ lệ trọng lượng phân tử giữa dạng muối và dạng tự do.

Các liều dùng hằng ngày nêu trên được tính cho trọng lượng cơ thể trung bình là khoảng 70 kg và nên được tính lại trong trường hợp dùng cho trẻ em, hoặc khi sử dụng cho bệnh nhân có trọng lượng cơ thể chênh lệch đáng kể.

Các dạng phân liều có thể trình bày dưới dạng một, hai, ba hoặc bốn hoặc nhiều liều dùng phân nhỏ được dùng ở các khoảng cách thích hợp trong ngày. Liều lượng tốt hơn là tương ứng với lượng hằng ngày của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là của hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc của phối tử SV2A, nêu trên, hoặc liều chia nhỏ của chúng như 1/2, 1/3, 1/4 các liều này. Dạng phân liều có thể chứa hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất (I)/(I-A)/(I-B), hoặc phối tử SV2A hoặc cả hai chất này, với lượng tương đương với các khoảng liều dùng hoặc khối lượng được đề cập ở trên, ví dụ dạng phân liều có thể chứa 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, hoặc 200 mg hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất (I)/(I-A)/(I-B), 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg hoặc 250 mg, phối tử SV2A, ở chế phẩm riêng rẽ hoặc ở dạng chế phẩm phối hợp. Theo một phương án, hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), được sử dụng một lần/ngày (q.d.), cụ thể là với một liều dùng/ngày, và phối tử SV2A được sử dụng một lần hoặc hai lần/ngày (q.d. hoặc b.i.d.), cụ thể là với một hoặc hai liều dùng/ngày. Trong trường hợp cả hai hợp chất được sử dụng một lần/ngày, việc sử dụng này có thể thực hiện bằng cách sử dụng hai liều dùng riêng rẽ, một liều dùng với hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), một liều dùng với phối tử SV2A, hoặc bằng cách sử dụng liều dùng phối hợp chứa hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và phối tử SV2A.

Chế phẩm phối hợp theo sáng chế có thể được sử dụng một, hai, ba, bốn, hoặc nhiều lần/ngày. Theo một phương án, chế phẩm phối hợp được sử dụng một lần/ngày. Theo một phương án khác, chế phẩm phối hợp được sử dụng hai lần/ngày, hoặc ba lần/ngày. Việc sử dụng các liều lượng này có thể bằng các dạng phân liều riêng rẽ, nghĩa là các dạng phân liều chỉ chứa hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc chỉ chứa phối tử SV2A; hoặc bằng các dạng phân liều phối hợp chứa các thành phần hoạt tính là hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và phối tử SV2A. Cũng có thể sử dụng dạng hỗn

hợp dạng phân liều phối hợp và dạng phân liều riêng rẽ. Các dạng phân liều có thể được sử dụng như được đề cập trong bản mô tả này, ưu tiên là dạng phân liều qua đường miệng, cụ thể là viên nén hoặc viên nang.

Các thành phần hoạt tính có thể được bào chế thành các dược phẩm riêng rẽ hoặc dưới dạng dược phẩm phối hợp. Trong trường hợp phối hợp, sáng chế đề xuất dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc muối dược dụng của nó, và phối tử SV2A, như được xác định ở trên trong bản mô tả này, và chất mang dược dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến quy trình bào chế dược phẩm như được xác định trong bản mô tả này, quy trình này bao gồm trộn chất mang dược dụng với lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc muối dược dụng hoặc solvat của chúng, và lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của ít nhất một phối tử SV2A.

Chế phẩm phối hợp được đề xuất trong bản mô tả này cũng có thể được bào chế dưới dạng chế phẩm phối hợp để sử dụng đồng thời, riêng rẽ, hoặc kế tiếp để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan; nhằm bảo vệ thần kinh; hoặc ngăn ngừa gây cơn động kinh. Trong trường hợp này, hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), được bào chế dưới dạng dược phẩm chứa tá dược dược dụng khác, và phối tử SV2A được bào chế riêng rẽ ở dạng dược phẩm chứa tá dược dược dụng khác. Thuận tiện là các dược phẩm riêng rẽ này có thể là phần của bộ kit để sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp.

Các hợp phần riêng rẽ của chế phẩm phối hợp theo sáng chế có thể được sử dụng đồng thời hoặc riêng rẽ ở các thời điểm khác nhau trong đợt điều trị hoặc đồng thời ở dạng chia liều hoặc dạng phối hợp liều duy nhất.

Do đó, các hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là các hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và phối tử SV2A, riêng rẽ hoặc phối hợp, có thể được bào chế thành

nhiều dược phẩm khác nhau thích hợp cho mục đích sử dụng. Trong các dược phẩm này, lượng hữu hiệu dùng để điều trị bệnh của một hợp chất cụ thể, hoặc của cả hai hợp chất, được kết hợp với chất mang dược dụng, chất mang này có thể ở dạng khác nhau tùy thuộc vào dạng chế phẩm mong muốn để sử dụng. Các dược phẩm có thể được bào chế dưới dạng thuốc để dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hoá (bao gồm dưới da (s.c.), trong bắp cơ (i.m.), và qua đường tĩnh mạch (i.v.)), qua đường trực tràng, qua đường da, qua miệng, hoặc qua đường mũi. Các dược phẩm cũng có thể được bào chế để sử dụng trực tiếp vào hệ thần kinh qua các đường dùng, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, trong não, trong thất, trong não thất, trong nội tuỷ mạc, trong bể, trong tuỷ sống và/hoặc quanh tuỷ bằng cách chuyển vận qua kim tiêm và/hoặc ống thông trong sọ hoặc trong tuỷ sống kèm theo hoặc không kèm theo dụng cụ bơm. Chế phẩm thích hợp để sử dụng qua đường miệng bao gồm thuốc bột, thuốc cốm, thuốc hạt, viên nén, viên tròn dạng nén hoặc viên tròn dạng bao, viên ngậm, túi thuốc, viên nang gelatin cứng hoặc mềm, xirô và hỗn dịch. Các chế phẩm thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hoá bao gồm các dung dịch hoặc nhũ tương nước hoặc dung dịch hoặc nhũ tương không phải là nước, trong khi đó để sử dụng qua đường trực tràng, các chế phẩm thích hợp để sử dụng bao gồm viên đạn với chất dẫn ưa nước hoặc kỵ nước. Để dùng ngoài da, có thể sử dụng các hệ chuyển vận qua da thích hợp và để chuyển vận qua đường mũi, có thể sử dụng hệ chuyển vận sol khí thích hợp.

Ví dụ, để bào chế các chế phẩm để dùng qua đường miệng, môi trường dược dụng thông thường bất kỳ có thể được sử dụng, ví dụ, như nước, glycol, dầu, alcol và môi trường tương tự trong trường hợp chế phẩm dạng lỏng qua đường miệng như hỗn dịch, xi-rô, cốm thuốc ngọt, nhũ tương và dung dịch; hoặc các chất mang rắn như tinh bột, đường, kaolin, chất làm trơn, chất kết dính, chất gây phân rã và chất tương tự trong trường hợp chế phẩm dạng rắn. Đối với các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hoá, chất mang thường sẽ bao gồm nước vô trùng, ít nhất với lượng lớn, mặc dù các thành phần khác, như chất hoà tan, chất nhũ hoá hoặc các chất phụ trợ khác có thể được bổ sung vào các chế phẩm này. Các dung dịch để tiêm có thể được bào chế, trong đó chất mang bao gồm dung dịch nước muối, dung dịch glucoza hoặc hỗn hợp của chúng. Các hỗn dịch để tiêm cũng có thể được bào chế, trong đó các chất mang lỏng thích hợp, các chất

tạo hỗn dịch và các chất tương tự có thể được sử dụng. Cũng bao gồm là các chế phẩm dạng rắn nhằm để chuyển đổi, ngay trước khi sử dụng, thành các chế phẩm dạng lỏng như bột để pha hoàn nguyên. Trong các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua da, chất mang tùy ý bao gồm chất tăng cường ngấm qua da và/hoặc chất gây thẩm, tùy ý kết hợp với chất phụ trợ tương hợp với da thích hợp ở tỷ lệ nhỏ. Hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc phối tử SV2A, hoặc phối hợp của chúng, cũng có thể được sử dụng bằng cách hít hoặc bơm vào qua đường miệng bằng các chế phẩm thích hợp cho hình thức sử dụng này, hỗn dịch hoặc bột khô. Các dược phẩm thích hợp để sử dụng ở dạng sol khí hoặc phun xịt, ví dụ, hỗn dịch chứa hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc phối tử SV2A, hoặc cả hai hợp chất này trong chất mang lỏng được dùng, như etanol hoặc nước, hoặc hỗn hợp của chúng. Nếu cần, chế phẩm này cũng có thể chứa các chất phụ trợ được dùng khác như chất hoạt động bề mặt, chất nhũ hoá và chất làm ổn định cũng như các chất đẩy. Chế phẩm này thông thường chứa hợp chất hoạt tính ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 50%, cụ thể là từ 0,3 đến 3% theo trọng lượng.

Các dược phẩm có thể chứa thành phần hoạt tính là hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), hoặc phối tử SV2A, hoặc cả hai hợp chất này phối hợp ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1% đến khoảng 50%, hoặc từ 1% đến khoảng 30%, hoặc từ 3% đến khoảng 20%, hoặc từ 5% đến khoảng 20%, tất cả % là theo trọng lượng, trong đó hàm lượng tổng cộng của các thành phần trong dược phẩm không vượt quá 100%. Trong các chế phẩm chứa cả hai hợp chất hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và phối tử SV2A, hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), có mặt với nồng độ trong khoảng từ 0,1% đến khoảng 50%, hoặc từ 1% đến khoảng 30%, hoặc từ khoảng 3% đến khoảng 20%, hoặc từ khoảng 5% đến khoảng 20%; và phối tử SV2A có mặt với nồng độ trong khoảng từ khoảng 3% đến khoảng 50%, hoặc từ khoảng 5% đến khoảng 50%, hoặc từ khoảng 10% đến khoảng 50%, hoặc từ khoảng 10% đến khoảng 40%, hoặc từ khoảng 10% đến khoảng 30%, hàm lượng tổng cộng của các thành phần trong dược phẩm không vượt quá 100%.

Các dược phẩm một cách thuận tiện có thể được trình bày ở dạng phân liều đơn vị để dễ sử dụng và có độ đồng đều hàm lượng. Các ví dụ bao gồm viên nén (bao gồm viên nén in dập hoặc bao), viên nang, viên tròn, viên đạn, gói bột thuốc, dạng bánh, dung dịch tiêm hoặc hỗn dịch và dạng tương tự, và nhiều dạng kết hợp. Quan tâm đến dạng phân liều dạng rắn để sử dụng qua đường miệng như viên nén hoặc viên nang.

Các dạng phân liều dạng rắn ở dạng liều dùng đơn vị có thể được đóng gói trong bao bì đã biết bất kỳ, ví dụ viên được ưu tiên, cụ thể là cho viên nén và viên nang. Trong trường hợp hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và phối tử SV2A được bào chế riêng rẽ, chúng có thể được đóng gói ở dạng các vỉ riêng rẽ, một vỉ bao gồm các dạng liều dùng đơn vị của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và của phối tử SV2A, ví dụ một hàng là đơn vị liều của hợp chất chủ vận/PAM mGluR2, cụ thể là hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B), và một hàng khác là đơn vị liều của phối tử SV2A. Cũng có thể có các khả năng đóng gói khác.

Chế phẩm phối hợp theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; và chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan; hoặc các chế phẩm này có thể được sử dụng ở dạng chất bảo vệ thần kinh hoặc ngăn ngừa lên cơn động kinh.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “điều trị” nhằm để chỉ tất cả các quy trình, trong đó có thể có làm chậm, làm ngưng, làm ngừng hoặc chấm dứt tiến triển của bệnh hoặc giảm nhẹ các triệu chứng, nhưng không nhất thiết chỉ ra là loại bỏ hoàn toàn tất cả các triệu chứng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có lưu ý khác, các thuật ngữ “bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan” hoặc “bệnh động kinh hoặc chứng rối loạn có liên quan” là chứng rối loạn bất kỳ, trong đó một đối tượng (tốt hơn là người trưởng thành, trẻ em hoặc trẻ nhỏ) có một hoặc nhiều cơn động kinh và/hoặc run rẩy. Các ví dụ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh động kinh (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh động kinh khu trú, bệnh động kinh toàn thể, bệnh

động kinh có cả cơn động kinh khu trú và toàn thể, và bệnh tương tự), các cơn động kinh khởi phát- từng phần kèm theo hoặc không kèm theo toàn thể hoá, cơn động kinh giật cơ, các cơn động kinh co cứng-co giật toàn thể nguyên phát cụ thể là ở các bệnh nhân kèm theo bệnh động kinh toàn thể tự phát, cơn động kinh kèm theo hội chứng Lennox-Gastaut, cơn động kinh như biến chứng của một bệnh hoặc tình trạng bệnh (như các cơn động kinh kèm theo bệnh não, phenylketon niệu, bệnh Gaucher ở thanh thiếu niên, bệnh động kinh giật cơ tiến triển Lundborg, cơn đột quỵ, chấn thương đầu, stress, các thay đổi hormon, sử dụng hoặc cai ma túy, sử dụng hoặc cai rượu, mất ngủ, sốt, bệnh nhiễm trùng, và bệnh tương tự), trạng thái động kinh (có co giật hoặc không co giật), chứng run vô căn, hội chứng chân không nghỉ, và hội chứng tương tự. Tốt hơn là, chứng rối loạn được chọn từ bệnh động kinh (bất kể thể, căn nguyên hoặc nguồn gốc), chứng run vô căn hoặc hội chứng chân không nghỉ. Tốt hơn nữa là, chứng rối loạn là bệnh động kinh (bất kể thể, căn nguyên hoặc nguồn gốc) hoặc chứng run vô căn. Ví dụ cụ thể về bệnh động kinh dai dẳng, còn được gọi là bệnh động kinh kháng lại việc điều trị hoặc liệu pháp. Thuật ngữ này thường được sử dụng khi bệnh nhân không đáp ứng ba hoặc nhiều hơn thuốc động kinh (AED). Bệnh động kinh dai dẳng cũng bao gồm bệnh động kinh từng phần kháng thuốc và bệnh động kinh toàn thể kháng thuốc (kể cả tự phát hoặc có biểu hiện triệu chứng).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “cơn đau thần kinh” bao gồm cơn đau do tình trạng hoặc chứng rối loạn mạn tính hoặc suy nhược. Tình trạng hoặc chứng rối loạn mạn tính hoặc suy nhược có thể dẫn đến cơn đau thần kinh bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh thần kinh ngoại vi do tiểu đường gây đau, đau dây thần kinh sau bệnh ecpet, đau dây thần kinh sinh ba, cơn đau sau đột quỵ, đau liên quan đến đa xơ cứng, cơn đau liên quan đến bệnh thần kinh như trong bệnh thần kinh tự phát hoặc sau chấn thương và viêm đơn dây thần kinh, cơn đau thần kinh liên quan đến HIV, cơn đau thần kinh liên quan đến ung thư, cơn đau thần kinh liên quan đến hội chứng ống cổ tay, cơn đau liên quan đến tổn thương tuỷ sống, hội chứng đau vùng phức hợp, cơn đau thần kinh liên quan đến hội chứng đau cơ xơ hóa, cơn đau thắt lưng và cổ, hội chứng giao cảm loạn dưỡng do phản xạ, hội chứng đau chi ảo và các hội chứng đau liên quan đến tình trạng mạn tính và suy nhược khác.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “bệnh nhức nửa đầu” nghĩa là tình trạng bệnh lý lâm sàng suy nhược từng cơn và mạn tính, được chẩn đoán do có các cơn đau đầu một bên theo nhịp ở mức độ trung bình đến nặng kéo dài từ 4 đến 72 giờ, bao gồm bệnh nhức nửa đầu không có tiền triệu và bệnh nhức nửa đầu có tiền triệu. Như được sử dụng trong bản mô tả này, “bệnh nhức nửa đầu không có tiền triệu” nghĩa là ít nhất 5 cơn đau đáp ứng các tiêu chí sau: (a) cơn đau đầu kéo dài 4-72 giờ đồng thời cơn đau đầu có ít nhất hai trong số các dấu hiệu dưới đây: khu trú ở một bên, tính chất theo nhịp, cường độ trung bình hoặc nặng kèm theo ảnh hưởng trực tiếp đến các hoạt động sinh hoạt hằng ngày, và nặng hơn khi lên cầu thang hoặc chế độ sinh hoạt tương tự; và (b) trong cơn đau đầu xuất hiện ít nhất một trong số triệu chứng sau đây: buồn nôn và/hoặc nôn, và sợ ánh sáng và sợ tiếng động. Như được sử dụng trong bản mô tả này, “bệnh nhức nửa đầu có tiền triệu” nghĩa là ít nhất hai cơn đau kèm theo 3 trong số 4 dấu hiệu sau: (a) một hoặc nhiều triệu chứng tiền triệu có thể phục hồi hoàn toàn; (b) ít nhất một triệu chứng tiền triệu phát triển từ từ trong vòng > 4 phút hoặc 2 hoặc nhiều hơn triệu chứng xuất hiện kế tiếp; (c) không có triệu chứng tiền triệu kéo dài > 60 phút; (d) cơn đau đầu xuất hiện trước, đồng thời hoặc sau khi có tiền triệu, với khoảng thời gian không đau giữa tiền triệu và cơn đau đầu < khoảng 60 phút.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan” bao gồm chứng rối loạn lưỡng cực I (ví dụ cơn hưng cảm đơn nhất, cơn hưng cảm nhẹ gần nhất, cơn hưng cảm gần nhất, cơn hỗn hợp gần nhất, cơn trầm cảm gần nhất và cơn không xác định gần nhất), chứng rối loạn lưỡng cực II, chứng rối loạn tâm thần chu kỳ và chứng rối loạn lưỡng cực không xác định khác (do các thuật ngữ này được xác định theo các tiêu chí chẩn đoán của chúng, trong tài liệu: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, tái bản lần thứ 4, Hiệp hội Tâm thần Hoa Kỳ, 2000 (DSM-IV-TR) hoặc bản tái bản lần thứ 5, Hiệp hội Tâm thần Hoa Kỳ, 2013 (DSM-5TM). Tốt hơn là, chứng rối loạn lưỡng cực đặc trưng bởi pha trầm cảm và hưng cảm (hoặc hưng cảm nhẹ), trong đó các pha này quay vòng lặp lại. Tốt hơn là, chứng rối loạn lưỡng cực là chứng rối loạn lưỡng cực I hoặc chứng rối loạn lưỡng cực II. Như được sử dụng trong bản mô tả này “hưng cảm” bao gồm pha hưng cảm hoặc tâm trạng hưng cảm, bất kể căn nguyên. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ

“hung cảm lưỡng cực” nghĩa là hung cảm kèm theo, đặc trưng bởi hoặc biểu hiện triệu chứng của chứng rối loạn lưỡng cực. Do đó, các phương pháp điều trị hung cảm lưỡng cực theo sáng chế là các phương pháp điều trị pha hung cảm và/hoặc pha hung cảm của chứng rối loạn lưỡng cực. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chứng trầm cảm lưỡng cực” là chứng trầm cảm kèm theo, đặc trưng bởi hoặc biểu hiện triệu chứng của chứng rối loạn lưỡng cực. Do đó, các phương pháp điều trị chứng trầm cảm lưỡng cực theo sáng chế các phương pháp điều trị chứng trầm cảm và/hoặc pha trầm cảm của các chứng rối loạn lưỡng cực. Như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có lưu ý khác các thuật ngữ “quay vòng lặp lại” hoặc “quay vòng lặp lại lưỡng cực” chỉ tâm trạng thay đổi luân phiên giữa pha trầm cảm và hung cảm đặc trưng của các chứng rối loạn lưỡng cực. Do đó, sáng chế bao gồm các phương pháp làm ổn định sự quay vòng lặp lại này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, giảm tần suất quay vòng lặp lại và/hoặc giảm mức độ của các pha trầm cảm và/hoặc hung cảm.

Do đó, theo một phương án, dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng làm ổn định tâm trạng, cụ thể là làm ổn định tâm trạng cho chứng trầm cảm hung cảm.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “gây cơn động kinh” chỉ quá trình từ từ phát triển thành bệnh động kinh. Quá trình này có thể diễn ra sau khi có chấn thương não bộ hoặc nhiều loại tình trạng bệnh lý, bao gồm bệnh thoái hoá thần kinh, tổn thương não do chấn thương, đột quỵ, khối u não, bệnh nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương, và trạng thái động kinh; hoặc có thể xuất hiện sau khi có đột biến gen.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “lo lắng” cụ thể chỉ chứng rối loạn lo lắng toàn thể.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng” có nghĩa thông thường của từ này. Các phương án cụ thể, khi đề cập đến giá trị số, có thể hiểu là giá trị số $\pm 10\%$, hoặc $\pm 5\%$, hoặc $\pm 2\%$, hoặc $\pm 1\%$, hoặc $\pm 0,5\%$, hoặc $\pm 0,1\%$. Theo các phương án khác, khi đề cập đến giá trị chính xác, nghĩa là không có từ “khoảng”.

“Và/hoặc” nghĩa là một hoặc cả hai hoặc tất cả các hợp phần hoặc dấu hiệu của một danh sách là các biến có thể có, đặc biệt hai hoặc nhiều biến này theo cách luân phiên hoặc cộng gộp.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ chỉ số ít trong ngữ cảnh của sáng chế (đặc biệt là trong các yêu cầu bảo hộ) được hiểu là bao gồm cả số ít và số nhiều trừ khi có chỉ dẫn khác trong bản mô tả này hoặc ngữ cảnh rõ ràng có nghĩa ngược lại.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau nhằm giúp hiểu rõ sáng chế, và không nhằm, và không được hiểu là giới hạn phạm vi sáng chế theo cách bất kỳ như trong yêu cầu bảo hộ dưới đây.

A) Các hợp chất theo công thức (I-B) – hoá học và thử nghiệm *in vitro*

Một vài phương pháp điều chế các hợp chất có công thức (I-B) theo sáng chế được minh họa trong các ví dụ dưới đây. Trừ khi có lưu ý khác, tất cả các nguyên liệu được mua từ các nhà cung cấp trên thị trường và sử dụng không cần tinh chế thêm.

Trong bản mô tả này, “aq.” nghĩa là trong nước; “DCE” là 1,2-dicloetan, “DCM” là diclometan; “DIPE” là diisopropylete; “DIPEA” là *N,N*-diisopropyletylamin; “DMF” là *N,N*-dimetylformamit; “ES” là phun điện tử; “Et₃N” là trietylamin; “Et₂O” là dietyl ete; “EtOAc” là etyl axetat; “h” là giờ; “HPLC” là sắc ký lỏng hiệu năng cao; “HRMS” là phổ khối độ phân giải cao; “l” hoặc “L” là lít; “LRMS” là phổ khối độ phân giải thấp; “MeOH” là metanol; “min” là phút; “mp” là nhiệt độ nóng chảy; “Pd(PPh₃)₄” là tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0); “RP” là pha đảo; “r.t.” là nhiệt độ trong phòng; “s” là giây; “sat.” là bão hoà; “SFC” là sắc ký lỏng siêu tới hạn; “sol.” là dung dịch; “THF” là tetrahydrofuran.

Tiến hành các phản ứng được hỗ trợ vi sóng trong thiết bị phản ứng đơn một: thiết bị phản ứng vi sóng Initiator™ Sixty EXP (Biotage AB), hoặc thiết bị phản ứng đa một: MicroSYNTH Labstation (Milestone, Inc.).

Tiến hành sắc ký lớp mỏng (TLC) trên các đĩa silicagel 60 F254 (Merck) sử dụng các dung môi loại thuốc thử. Tiến hành sắc ký cột mở trên silicagel, cỡ hạt 60 Å, lưới = 230-400 (Merck) sử dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn. Tiến hành sắc ký cột nhanh tự động sử dụng các hộp nối sẵn của Merck, trên silicagel đặc biệt, cỡ hạt 15-40 µm (cột nhanh

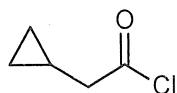
dùng một lần pha thông thường) trên hệ thống SPOT hoặc LAFLASH của Armen Instrument.

Cấu hình hoá học lập thể tuyệt đối đối với một vài hợp chất được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật lưỡng hướng sắc tròn dao động (VCD). Xác định trên Bruker Equinox 55 có trang bị PMA 37, trong tế bào lỏng KBr sử dụng CD_2Cl_2 làm dung môi (PEM: 1350cm^{-1} , LIA: 1mV , độ phân giải: 4 cm^{-1}). Mô tả việc sử dụng VCD để xác định cấu hình tuyệt đối có thể xem trong tài liệu Chirality, 14:215-219 (2002) của Dyatkin A.B. và các đồng tác giả.

Khi thuật ngữ “RS” chỉ ra trong bản mô tả này, chỉ hợp chất là hỗn hợp raxemic trừ khi có chỉ dẫn khác. Cấu hình hoá học lập thể cho một vài hợp chất được chỉ định là “R” hoặc “S” khi hỗn hợp đã tách; đối với một vài hợp chất, cấu hình hoá học lập thể đã được chỉ định là “*R” hoặc “*S” khi hoá học lập thể tuyệt đối chưa được xác định mặc dù bản thân hợp chất này đã được phân tách dưới dạng đồng phân lập thể đơn nhất và tính khiết về mặt đồng phân đối ảnh. Dư lượng đồng phân đối ảnh của các hợp chất trong bản mô tả này được xác định bằng cách phân tích hỗn hợp raxemic bằng sắc ký lỏng siêu tới hạn (SFC) tiếp đó so sánh SFC các đồng phân đối ảnh đã tách riêng.

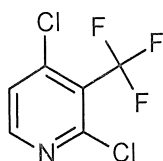
Điều chế các hợp chất trung gian

Mô tả 1 - Hợp chất trung gian 1



Axit xyclopropylaxetic ([CAS 5239-82-7], 50 g, 500 mmol) được hoà tan trong CH_2Cl_2 (300 mL) tiếp đó bổ sung vào SOCl_2 (100 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và tiếp đó làm bay hơi dung môi thu được hợp chất trung gian 1 (53 g, 90%), chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

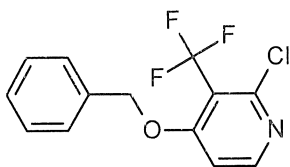
Mô tả 2 - Hợp chất trung gian 2



Bổ sung methyl 2,2-diflo-2-(flosulfonyl)axetat ([CAS 680-15-9], 403 g, 2098 mmol) và CuI (403 g, 2,13 mol) vào dung dịch chứa 2,4-diclo-3-iodopyridin ([CAS 343781-36-2], 290 g, 1058 mmol) trong DMF (1,7 L), tiếp đó gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 5 giờ.

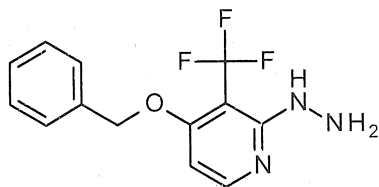
Làm nguội hỗn hợp phản ứng và lọc. Pha loãng dịch lọc bằng H₂O và chiết tách bằng Et₂O và rửa bằng dung dịch NH₃. Làm khô lớp hữu cơ (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không thu được hợp chất trung gian 2 (160 g), chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Mô tả 3 - Hợp chất trung gian 3



Bổ sung rượu benzylic (35 g, 325 mmol) vào dung dịch chứa NaH (60% trong dầu, 24 g, 600 mmol) trong DMF (2 L) ở nhiệt độ 0°C, khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 2 phút. Hợp chất trung gian 2 (160 mg, 741 mmol) được bổ sung vào làm một lần, và khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 1 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng cách bổ sung H₂O và chiết tách bằng Et₂O. Làm khô lớp hữu cơ (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký cột trên silicagel (dung môi rửa giải: ete dầu mỏ/EtOAc = 20/1). Thu gom các phân đoạn tinh khiết và làm bay hơi dung môi thu được hợp chất trung gian 3 (100 g, 38%).

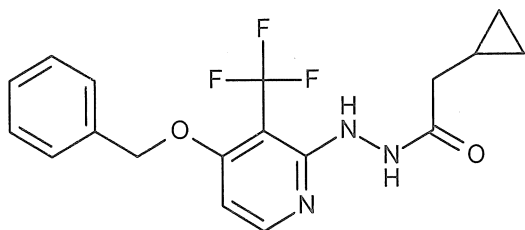
Mô tả 4 - Hợp chất trung gian 4



Bổ sung NH₂NH₂ hydrat (85% dung dịch trong nước, 300 g, 9,11 mol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 3 (100 g, 277 mmol) trong 1,4-dioxan (1,5 L), gia nhiệt hỗn hợp phản ứng trong ống nghiệm đậy kín ở nhiệt độ 160°C trong thời gian 2 giờ. Cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, hoà tan trong DCM, rửa bằng dung dịch NaHCO₃.

Làm khô lớp hữu cơ (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không thu được hợp chất trung gian 4 (90 g, 90%), chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

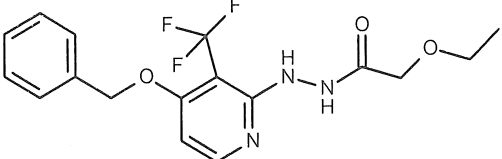
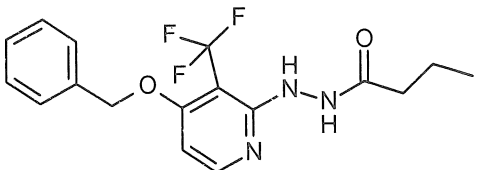
Mô tả 5 - Hợp chất trung gian 5



Bổ sung triethylamin (64,3 g, 636 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 4 (90 g, 318 mmol) trong CH_2Cl_2 (1,5 L), làm lạnh hỗn hợp đến nhiệt độ 0°C , tiếp đó bổ sung vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 1 (53 g, 449 mmol) trong CH_2Cl_2 . Khuấy dung dịch ở RT trong thời gian 1 giờ. Rửa hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch nước bão hoà của NaHCO_3 , và chiết tách bằng CH_2Cl_2 . Làm khô lớp hữu cơ (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không thu được hợp chất trung gian 5 (104,4 g, 90%).

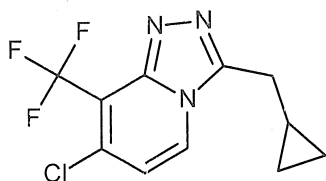
Các hợp chất trung gian dưới đây được tổng hợp theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong mô tả 5 (D5).

Hợp chất trung gian	Clorua axit	Điều kiện
Hợp chất trung gian 6	propionyl clorua ([CAS 79-03-8])	Cộng hợp ở RT.
Hợp chất trung gian 7	xyclobutanaxetyl clorua ([CAS 59543-38-3])	Điều kiện như trong D5.

Hợp chất trung gian	Clorua axit	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 8	2-etoxy-axetyl clorua ([CAS 14077-58-8])	Điều kiện như trong D5.
 Hợp chất trung gian 25	butyryl clorua ([CAS 141-75-3])	Điều kiện như trong D5.

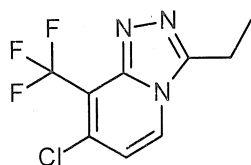
Mô tả 6

(a) Hợp chất trung gian 9



Bổ sung phospho(V) oxyclorua (84,7 g, 553 mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (71,3 g, 553 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian **5** (101 g, 277 mmol) trong CH₃CN (1,2 L). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 38 giờ. Tiếp đó pha loãng phản ứng bằng DCM và rửa bằng dung dịch Na₂CO₃. Làm khô lớp hữu cơ (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký cột trên silicagel (dung môi rửa giải: ete dầu mỏ/EtOAc = 4/1). Thu gom các phân đoạn tinh khiết và làm bay hơi dung môi thu được hợp chất trung gian **9** (31,39 g, 41%).

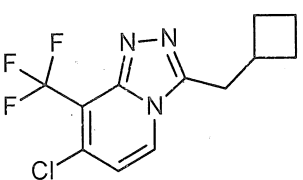
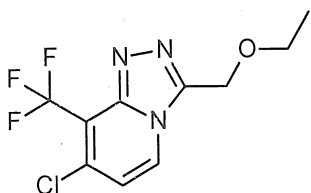
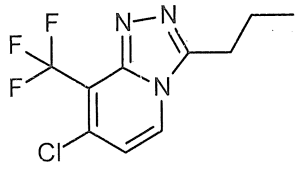
(b) Hợp chất trung gian 10



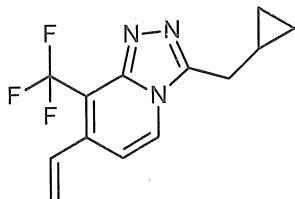
Tiến hành phản ứng thành 4 mẻ sau đó gộp lại để chiết và tinh chế.

Bổ sung N,N-diisopropyletylamin (3,96 mL, 22,69 mmol) và tiếp đó phospho oxyclorea (2,12 mL, 22,69 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 6 (7 g, 20,6 mmol) trong DCE (50 mL), và gia nhiệt hỗn hợp phản ứng trong lò vi sóng ở nhiệt độ 150°C trong thời gian 5 phút. Tiếp đó bổ sung DCM vào và rửa lớp hữu cơ bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO₃, làm khô (Na₂SO₄) và cô trong chân không thu được hợp chất mong muốn, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (rửa giải theo gradien: DCM 100% đến MeOH.NH₃ 2% trong DCM) thu được hợp chất trung gian 10 (2,5 g, 49%).

Các hợp chất trung gian dưới đây được tổng hợp theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Mô tả 6(a) hoặc (b).

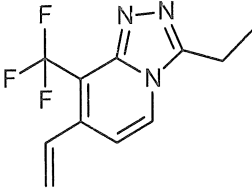
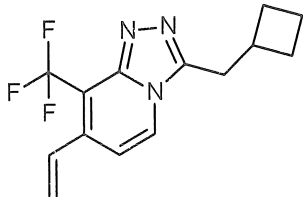
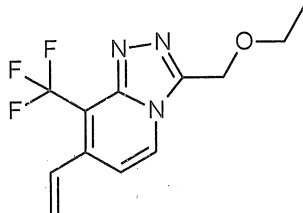
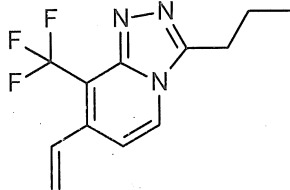
Hợp chất trung gian	Nguyên liệu	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 11	Hợp chất trung gian 7	Tiến hành phản ứng như trong mục (a) nhưng trong CH ₃ CN. Sau khi phản ứng hoàn toàn, rót hỗn hợp phản ứng vào nước/đá tiếp đó rửa bằng dung dịch bão hoà NaHCO ₃ và chiết tách bằng DCM, làm khô (Na ₂ SO ₄), lọc và cô. Tiến hành tinh chế trong Spot (Si, dung môi rửa giải DCM/EtOAc đến 10-20%).
 Hợp chất trung gian 12	Hợp chất trung gian 8	Tiến hành phản ứng như trong mục (b). Tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh (silic oxit; EtOAc trong DCM từ 0/100 đến 40/60).
 Hợp chất trung gian 26	Hợp chất trung gian 25	Tiến hành phản ứng như trong mục (a). Tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong CH ₂ Cl ₂ , từ 0/100 đến 4/96).

Mô tả 7 - Hợp chất trung gian 13



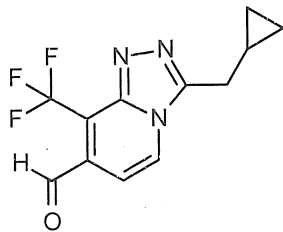
Bổ sung $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (2,096 g, 1,81 mmol) vào dung dịch khuấy chứa hợp chất trung gian 9 (10 g, 36,28 mmol) và 4,4,5,5-tetrametyl-2-vinyl-1,3,2-dioxaborolan ([CAS 75927-49-0], 7,77 mL, 43,53 mmol) trong dioxan đã khử oxy (30 mL) và dung dịch bão hoà NaHCO_3 đã khử oxy (30 mL) dưới nitơ. Khuấy hỗn hợp ở 100°C trong thời gian 18 giờ. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc/nước và lọc qua tấm đất tảo cát. Xử lý dịch lọc bằng nước muối và chiết tách bằng EtOAc. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và làm bay hơi dung môi trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; EtOAc trong CH_2Cl_2 từ 0/100 đến 5/95). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không thu được hợp chất trung gian 13 (6,08, 63%) có dạng chất rắn màu vàng.

Các hợp chất trung gian dưới đây được tổng hợp theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong mô tả 7.

Hợp chất trung gian	Nguyên liệu	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 14	Hợp chất trung gian 10	Tiến hành phản ứng ở 150 °C. Tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh (silic oxit; dung dịch amoniac 7N trong metanol trong DCM từ 0/100 đến 1/9).
 Hợp chất trung gian 15	Hợp chất trung gian 11	Chiết tách bằng DCM, tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM 4/96).
 Hợp chất trung gian 16	Hợp chất trung gian 12	Tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh (silic oxit; EtOAc trong DCM từ 0/100 đến 10/90).
 Hợp chất trung gian 27	Hợp chất trung gian 26	Tiến hành hỗn hợp phản ứng ở 150 °C trong lò vi sóng. Tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh (silic oxit; EtOAc trong DCM từ 0/100 đến 10/90).

Mô tả 8

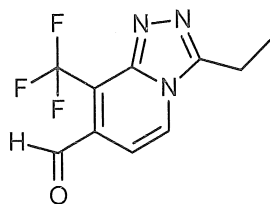
(a) Hợp chất trung gian 17



Bổ sung osmi tetraoxit (2,5% trong t-BuOH, 10,103 mL, 0,781 mmol) và tiếp đó, natri periodat 12,53 g, 58,58 mmol) trong nước (48,5 mL) vào hỗn dịch (huyền phù) chứa Hợp chất trung gian 13 (6,08 g, 20,02 mmol) trong dioxan (192 mL). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ.

Xử lý hỗn hợp bằng nước và EtOAc và lọc qua tấm đất tảo cát. Dịch lọc được chiết tách bằng EtOAc. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và làm bay hơi dung môi trong chân không. Rửa sản phẩm thô bằng dung dịch Et_2O và lọc và làm khô thu được Hợp chất trung gian 17 (4,25 g, 79%) có dạng chất rắn màu nâu.

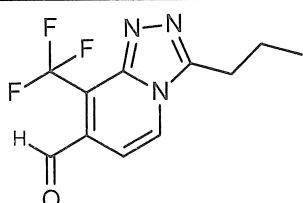
(b) Hợp chất trung gian 18



Hỗn dịch chứa natri periodat (5,04 g, 23,54 mmol) trong nước cất (19 mL) được bổ sung vào dung dịch khuấy chứa osmi tetraoxit (2,5% trong t-BuOH, 4,06 mL, 0,31 mmol) và Hợp chất trung gian 14 (2,08 g, 7,85 mmol) trong dioxan (75 mL). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 150 phút, và tiếp đó hỗn hợp được xử lý bằng NaHCO_3 bão hoà và nước muối, và chiết tách bằng DCM. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không. Nghiền thành bột sản phẩm bằng Et_2O và lọc trong chân không, và cuối cùng cho vào bình hút ẩm ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 18 giờ, thu được Hợp chất trung gian 18 (1,6 g, 80%) có dạng chất rắn màu nâu.

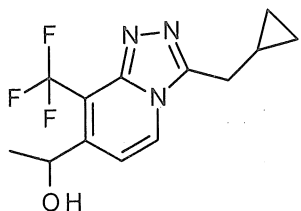
Các Hợp chất trung gian dưới đây được tổng hợp theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Mô tả 8.

Hợp chất trung gian	Nguyên liệu	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 19	Hợp chất trung gian 15	Quy trình như trong mục (a).
 Hợp chất trung gian 20	Hợp chất trung gian 16	Quy trình như trong mục (a).

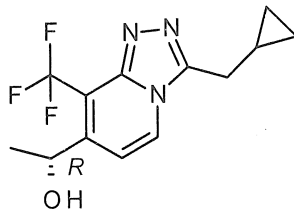
Hợp chất trung gian	Nguyên liệu	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 28	Hợp chất trung gian 27	Quy trình như trong mục (a), thứ tự bổ sung vào: bổ sung osmi tetraoxit vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 27 trong 1,4-dioxan, tiếp đó bổ sung vào hỗn dịch chứa natri periodat trong nước và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 2 giờ ở RT. Không lọc qua tấm đất tảo cát.

Mô tả 9

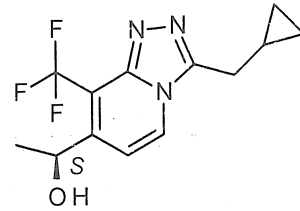
(a) Hợp chất trung gian 21a, 21b và 21c



Hợp chất trung gian 21a



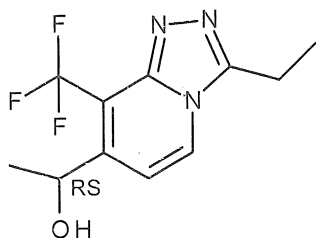
Hợp chất trung gian 21b



Hợp chất trung gian 21c

Nhỏ giọt metylmagie bromua (1,4 M trong THF, 12,40 mL, 17,37 mmol) vào hỗn dịch được khuấy chứa Hợp chất trung gian 17 (4,25 g, 15,79 mmol) trong THF (281,07 mL) ở -20 °C trong khí N₂. Khuấy hỗn hợp ở -20°C trong thời gian 45 phút. Xử lý sản phẩm thô bằng dung dịch bão hoà chứa NH₄Cl và chiết tách bằng EtOAc. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phân cận bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM từ 0/100 đến 4/96). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không thu được Hợp chất trung gian 21a (hỗn hợp raxemic) (2,96 g, 66%). Hợp chất trung gian 21a (1,82 g) được tinh chế bằng SFC đối xứng: [Pha tĩnh: CHIRALPAK AD-H (5µm 250 x20 mm), Pha động: 80% CO₂, 20% EtOH] thu được hợp chất 21b (*R*-đồng phân đối ảnh) (0,453 g, 10%) có dạng chất rắn màu xám nhạt và Hợp chất trung gian 21c (*S*-đồng phân đối ảnh) (0,439 g, 10%).

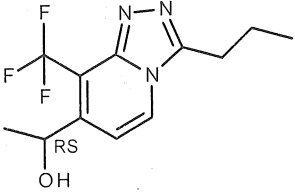
(b) Hợp chất trung gian 22



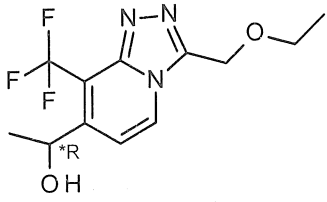
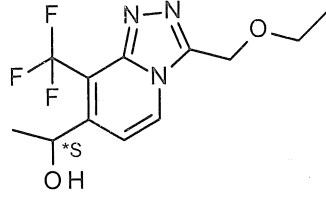
Nhỏ giọt metylmagie bromua (1,4 M trong THF, 3,97 mL, 5,56 mmol) vào hỗn dịch được khuấy chứa Hợp chất trung gian 18 (1,23 g, 5,06 mmol) trong THF (90 mL) ở nhiệt độ -20°C trong khí N_2 . Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ -20°C trong thời gian 45 phút. Xử lý sản phẩm thô bằng dung dịch bão hoà chứa NH_4Cl và chiết tách bằng EtOAc. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phân cận bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM từ 0/100 đến 4/96). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Cận thu được được nghiền thành bột bằng Et_2O thu được Hợp chất trung gian 22 (620 mg, 35%) có dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Các Hợp chất trung gian dưới đây được tổng hợp theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Mô tả 9.

Hợp chất trung gian	Nguyên liệu	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 23	Hợp chất trung gian 19	Quy trình (b).
 Hợp chất trung gian 24a	Hợp chất trung gian 20	Quy trình (b).

Hợp chất trung gian	Nguyên liệu	Điều kiện
 Hợp chất trung gian 29	Hợp chất trung gian 28	Quy trình (b).

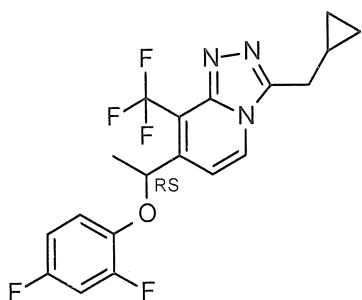
Hợp chất trung gian 24a được tinh chế tiếp thành Hợp chất trung gian 24b và Hợp chất trung gian 24c:

 Hợp chất trung gian 24b	 Hợp chất trung gian 24c
Điều kiện SFC bất đối xứng: Pha tĩnh Chiralpak AD-H 5 μ m 250*30 mm; Pha động: 80% CO ₂ , 15% EtOH	

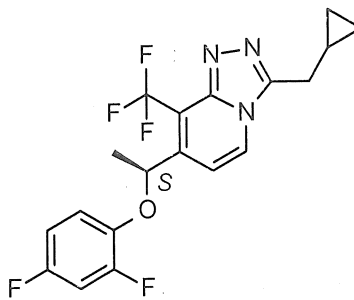
Điều chế các hợp chất thành phẩm có công thức (I-B)

Ví dụ 1

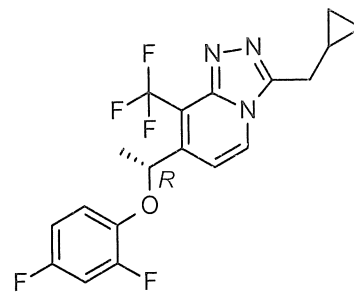
(a) Tổng hợp các hợp chất 4-b, 6-b và 5-b



Hợp chất 4-b



Hợp chất 6-b

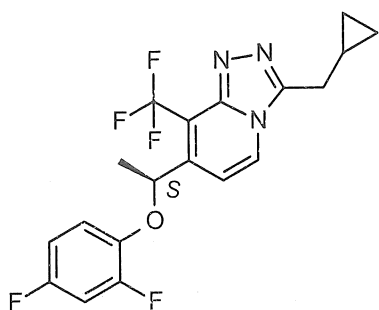


Hợp chất 5-b

Nhỏ giọt DIAD (2,07 mL, 10,52 mmol) vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 21a (2 g, 7,01 mmol), 2,4-diflophenol (1,00 mL, 10,52 mmol) và triphenylphosphin (2,76 g, 10,52 mmol) trong THF (74,18 mL) ở 0°C và trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 10 phút trong điều kiện chiếu xạ vi

sóng. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO_3 . Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM từ 0/100 đến 97/3). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Nghiền thành bột phần cặn bằng DIPE thu được hợp chất 4-b (1,46 g, 52%) có dạng chất rắn màu trắng, chất này được tinh chế bằng SFC bất đối xứng [Pha tĩnh: Chiralpak AD ($5\mu\text{m}$ 250*30 mm, Pha động: 85% CO_2 , 15% iPrOH)], thu được hợp chất 6-b (0,659 g, 24%) và hợp chất 5-b (0,693 g, 25%).

(b) Tổng hợp hợp chất 6-b theo cách khác



Hợp chất số 6-b

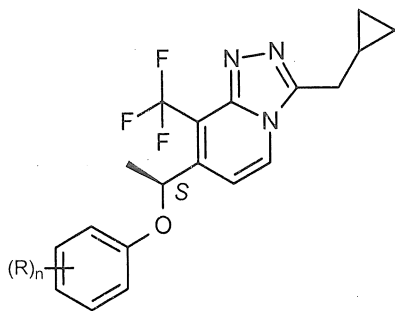
Nhỏ giọt DIAD (31,06 μL , 0,16 mmol) vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 21b (30 mg, 0,11 mmol), 2,4-diflophenol (15,07 μL , 0,16 mmol) và triphenylphosphin (41,38 mg, 0,16 mmol) trong THF (1,11 mL) ở 0°C và trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 10 phút trong điều kiện chiếu xạ vi sóng. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO_3 . Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM từ 0/100 đến 97/3). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Nghiền thành bột phần cặn bằng DIPE thu được hợp chất 6-b (40 mg, 96%) có dạng chất rắn màu trắng.

(c) Tổng hợp hợp chất 6-b muối hydroclorua (.HCl)

Nhỏ giọt DIAD (207,06 μL , 1,05 mmol) vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 21b (200 mg, 0,70 mmol), 2,4-diflophenol (100,45 μL , 1,05 mmol) và triphenylphosphin (275,84 mg, 1,0516 mmol) trong THF (4 mL) ở 0°C và trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 15 phút trong điều kiện chiếu xạ vi sóng. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO_3 .

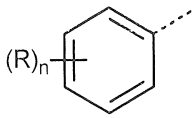
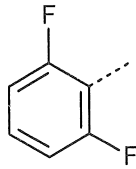
Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng RP HPLC (Pha tĩnh: C18 XBridge 30 x 100 mm 5 μm , Pha động: Gradient từ 60% 0,1% $\text{NH}_4\text{CO}_3\text{H}/\text{NH}_4\text{OH}$ pH 9 dung dịch trong nước, 40% CH_3CN đến 43% 0,1% $\text{NH}_4\text{CO}_3\text{H}/\text{NH}_4\text{OH}$ pH 9 dung dịch trong nước, 57% CH_3CN), thu được cặn chất rắn màu trắng cặn này được hoà tan trong Et_2O (8 mL) và 1,4-dioxan (0.5 mL). Nhỏ giọt dung dịch HCl (4M trong dioxan, 200 μL) vào dung dịch thu được. Lọc chất rắn kết tủa màu trắng, rửa bằng dung dịch Et_2O , làm khô (Na_2SO_4) và làm bay hơi trong chân không. Nghiền thành bột cặn màu trắng thu được bằng Et_2O thu được hợp chất 6-b .HCl (110 mg, 36%) có dạng chất rắn màu trắng.

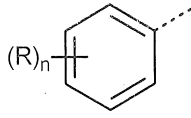
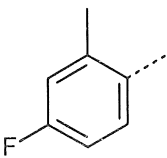
Tổng hợp các hợp chất dưới đây theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Ví dụ 1(b), bắt đầu từ hợp chất trung gian 21b.



Hợp chất số	
9-b	
10-b	

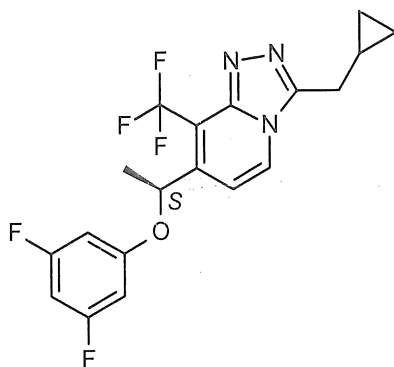
Hợp chất số	
12-b	
13-b	

Hợp chất số	
11-b	

Hợp chất số	
14-b	

Ví dụ 2

Tổng hợp hợp chất 7-b



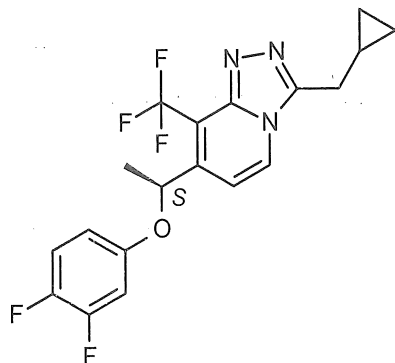
Hợp chất số 7-b

Quy trình (a): nhỏ giọt DIAD (31,06 μ L, 0,158 mmol) vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 21b (30 mg, 0,105 mmol), 3,5-diflophenol (20,52 mg, 0,158 mmol) và triphenylphosphin (41,38 mg, 0,158 mmol) trong THF (1,113 mL) ở 0°C và trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 10 phút trong điều kiện chiếu xạ vi sóng. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO₃. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM từ 0/100 đến 96/4). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Nghiền thành bột phần cặn bằng DIPE thu được hợp chất 7-b (21 mg, 50%) có dạng chất rắn màu trắng.

Quy trình (b): theo cách khác, tổng hợp hợp chất 7 theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Ví dụ 1(b), bắt đầu từ Hợp chất trung gian 21b.

Ví dụ 3

Tổng hợp hợp chất 8-b



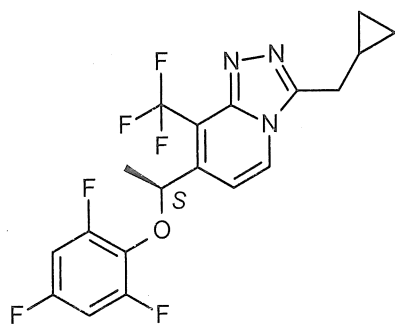
Hợp chất số 8-b

Quy trình (a): nhỏ giọt DIAD (31,06 μ L, 0,158 mmol) vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 21b (30 mg, 0,105 mmol), 3,4-diflophenol (20,52 mg, 0,158 mmol) và triphenylphosphin (41,38 mg, 0,158 mmol) trong THF (1,11 mL) ở 0°C và trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp ở 100°C trong thời gian 10 phút trong điều kiện chiếu xạ vi sóng. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO₃. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM từ 0/100 đến 96/4). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Nghiền thành bột phần cặn bằng DIPE thu được hợp chất 8-b (10,6 mg, 25%) có dạng chất rắn màu trắng.

Quy trình (b): Theo cách khác, cũng tổng hợp hợp chất 8-b theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Ví dụ 1(b), bắt đầu từ Hợp chất trung gian 21b.

Ví dụ 4

Tổng hợp hợp chất 15-b



Hợp chất số 15-b

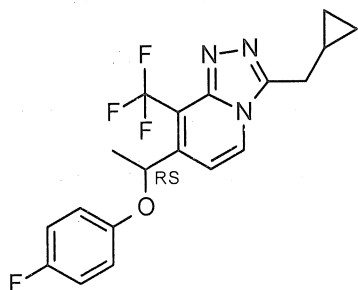
Quy trình (a): nhỏ giọt DIAD (155,3 μ L, 0,789 mmol) vào dung dịch khuấy chứa Hợp chất trung gian 21b (150 mg, 0,526 mmol), 2,4,6-triflophenol (116,8 mg, 0,789

mol) và triphenylphosphin (206,88 mg, 0,789 mmol) trong THF (5,56 mL) ở nhiệt độ 0°C và trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 10 phút trong điều kiện vi sóng. Pha loãng hỗn hợp bằng DCM và rửa bằng dung dịch bão hoà chứa NaHCO₃. Tách lớp hữu cơ, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong chân không, tiếp đó tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH/NH₃ 7 N trong DCM từ 0/100 đến 90/10). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Tinh chế bằng RP HPLC (Pha tĩnh: C18 XBridge 30 x 100 mm 5 µm, Pha động: Gradient từ 54% 0,1% NH₄CO₃H/NH₄OH pH 9 dung dịch trong nước, 46% CH₃CN đến 64% 0,1% NH₄CO₃H/NH₄OH pH 9 dung dịch trong nước, 36% CH₃CN) thu được dầu không màu kết tinh khi để tĩnh (2 ngày). Nghiền thành bột chất rắn này bằng heptan thu được hợp chất 15-b (129,8 mg, 59%) có dạng chất rắn màu trắng.

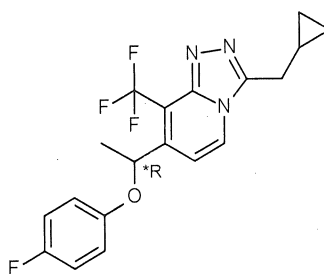
Quy trình (b): Theo cách khác, cũng tổng hợp hợp chất 15-b theo trình tự tổng hợp tương tự như đã mô tả trong Ví dụ 1(b), bắt đầu từ Hợp chất trung gian 21b.

Ví dụ 5

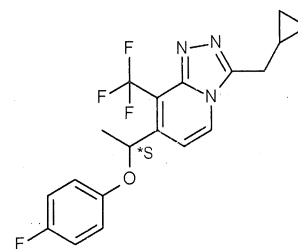
Tổng hợp các hợp chất 1-b, 2-b và 3-b



Hợp chất 1-b



Hợp chất 2-b



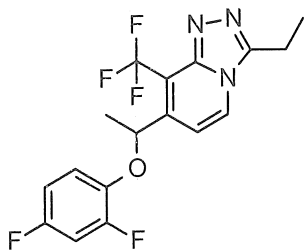
Hợp chất 3-b

Tổng hợp các Hợp chất 1-b, 2-b và 3-b theo quy trình mô tả trong Ví dụ 1(a). Do đó, phản ứng của DIAD (500,05 µL, 2,54 mmol), Hợp chất trung gian 21a (483 mg, 1,69 mmol), 4-flophenol (227,77 mg, 2,03 mmol) và triphenylphosphin (666,14 mg, 2,54 mmol) trong THF (17,91 mL) như mô tả trong Ví dụ 1(a) thu được chất cặn, cặn này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; EtOAc trong DCM từ 0/100 đến 90/10). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không. Nghiền thành bột cặn thu được bằng DIPE thu được hợp chất 1-b (320 mg, 50%) có dạng chất rắn màu trắng, chất này được tinh chế bằng SFC bất đối xứng [Pha tĩnh: Chiralpak AD

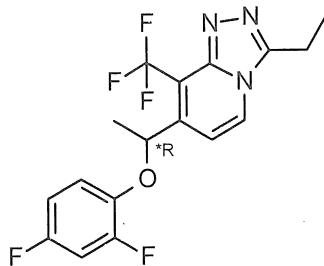
(5 μ m 250*30 mm, Pha động: 77% CO₂, 23% MeOH)], thu được hợp chất 2-b (131mg, 20%) và hợp chất 3-b (129 mg, 20%) có dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 6

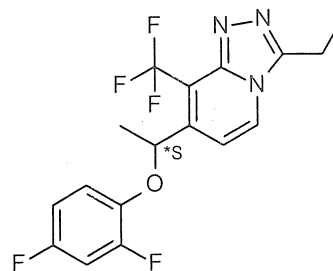
Tổng hợp các hợp chất 24-b, 26-b, và 27-b



Hợp chất 24-b



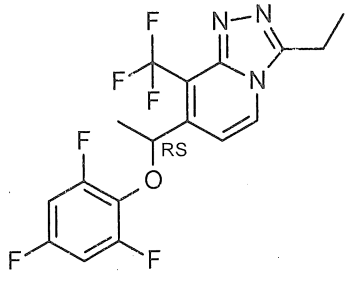
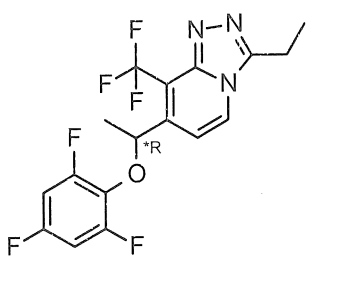
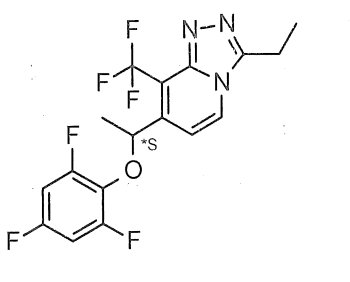
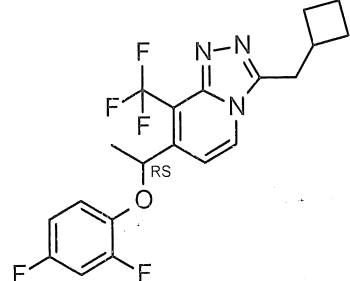
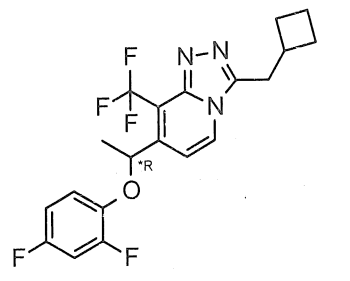
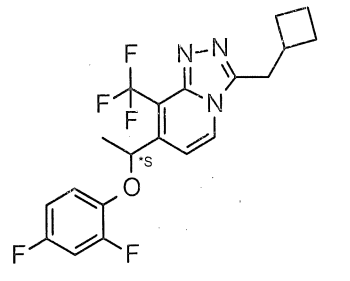
Hợp chất 26-b



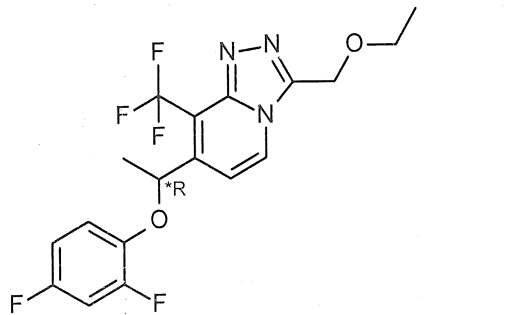
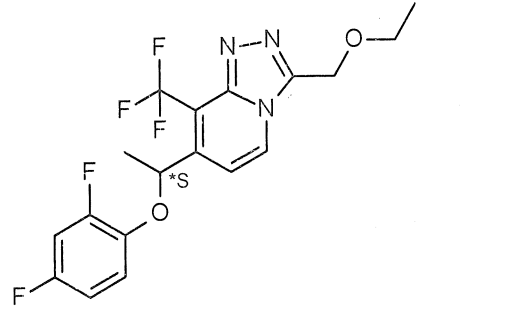
Hợp chất 27-b

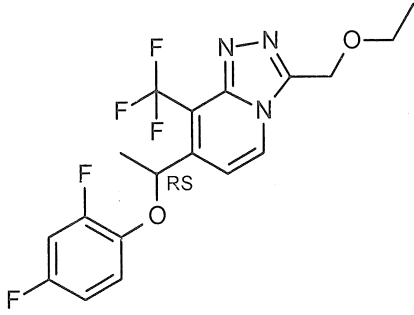
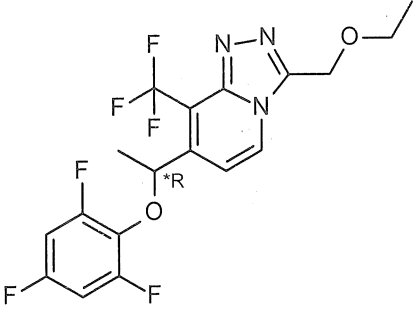
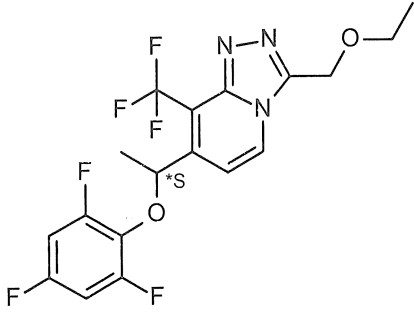
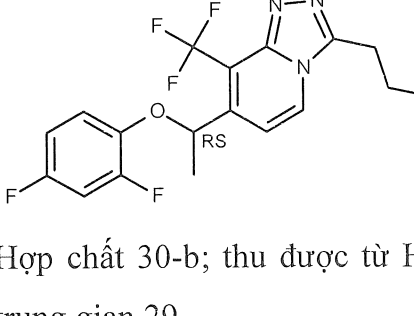
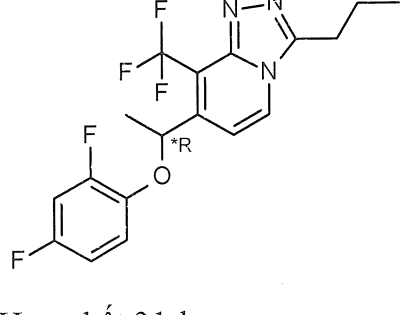
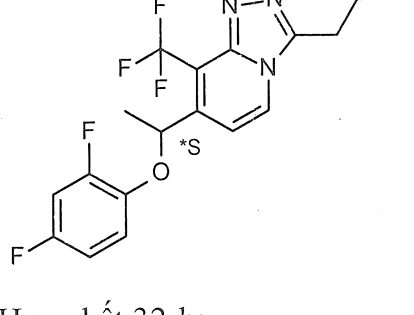
Các Hợp chất 24-b, 26-b và 27-b được tổng hợp theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1(a). Do đó, phản ứng của DIAD (364,57 μ L, 1,85 mmol), Hợp chất trung gian 22 (320 mg, 1,23 mmol), 2,4-diflophenol (176,86 μ L, 1,85 mmol) và triphenylphosphin (485,67 mg, 1,85 mmol) trong THF (13,06 mL) như mô tả trong Ví dụ 1(a) thu được chất cặn, cặn này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silic oxit; MeOH trong DCM 0/100 đến 96/4). Thu gom các phân đoạn mong muốn và cô trong chân không thu được chất dầu không màu kết tinh chất này bằng DIPE cho hợp chất 24 có dạng chất rắn màu trắng, chất này được tinh chế bằng RP HPLC (Pha tĩnh: C18 XBridge 30 x 100 mm 5 μ m; pha động: Gradient từ 54% 0,1% NH₄CO₃H/NH₄OH pH 9 dung dịch trong nước, 46% CH₃CN đến 64% 0,1% NH₄CO₃H/NH₄OH pH 9 dung dịch trong nước, 36% CH₃CN) thu được chất dầu không màu kết tinh chất này khi nghiền thành bột bằng heptan cho 240 mg (52%) hợp chất 24-b có dạng chất rắn màu trắng, chất này tiếp đó tinh chế bằng SFC bất đối xứng (Pha tĩnh: CHIRALPAK AD-H 5 μ m 250x20mm; pha động: 85% CO₂, 15% iPOH (0,3% iPrNH₂)), thu được hợp chất 26-b (103 mg, 22%) và hợp chất 27-b (107 mg, 23%).

Thu được các hợp chất dưới đây theo trình tự tổng hợp tương tự trình tự đề cập trong Ví dụ 1(a).

 Hợp chất 25-b	 Hợp chất 28-b	 Hợp chất 29-b
Nguyên liệu: Hợp chất trung gian 22 Điều kiện SFC bất đối xứng: Pha tĩnh: Chiralpak AD-H 5µm 250 x 20 mm); Pha động: 85% CO₂, hỗn hợp 15% của EtOH/iPrOH 50/50 thể tích/thể tích (+0,3% iPrNH₂)		
 Hợp chất 16-b	 Hợp chất 17-b	 Hợp chất 18-b
Nguyên liệu: Hợp chất trung gian 23 Điều kiện SFC bất đối xứng: Pha tĩnh: Chiralpak AD-H (5 µm 250*30 mm); Pha động: 80% CO₂, 20% hỗn hợp MeOH/iPrOH 50/50 thể tích/thể tích (+0,3% iPrNH₂)		

Tổng hợp các hợp chất dưới đây theo trình tự tổng hợp được mô tả trong Ví dụ 1(b), bắt đầu từ Hợp chất trung gian chỉ ra.

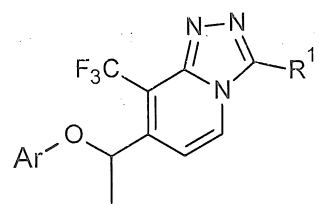
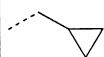
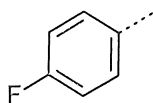
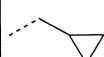
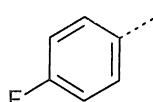
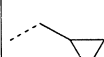
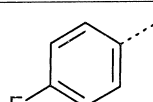
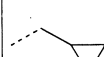
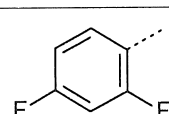
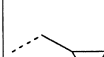
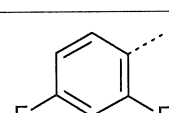
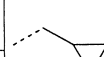
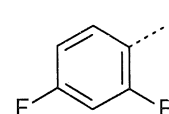
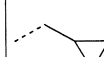
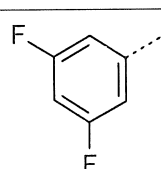
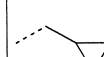
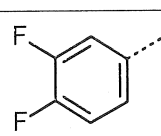
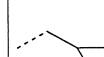
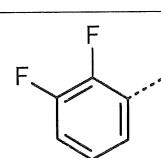
 Hợp chất 20-b; thu được từ Hợp chất trung gian 24c	 Hợp chất 21-b; thu được từ Hợp chất trung gian 24b
---	--

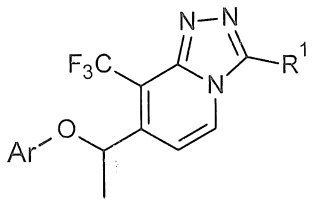
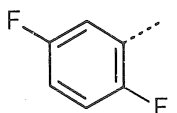
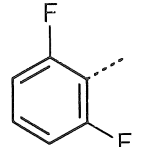
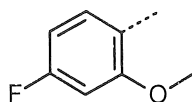
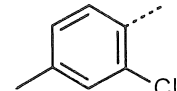
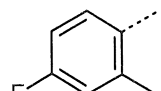
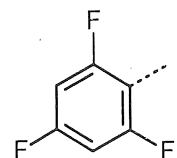
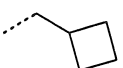
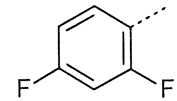
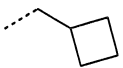
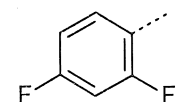
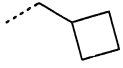
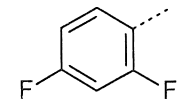
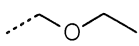
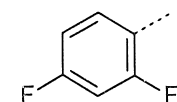
 Hợp chất 19-b; thu được từ Hợp chất trung gian 24a	 Hợp chất 22-b; thu được từ Hợp chất trung gian 24c
 Hợp chất 23-b; thu được từ Hợp chất trung gian 24b	 Hợp chất 30-b; thu được từ Hợp chất trung gian 29
 Hợp chất 31-b;	 Hợp chất 32-b;
Nguyên liệu: Hợp chất trung gian 30 Điều kiện SFC bất đối xứng: Pha tĩnh: Chiralpak AD-H 5µm 250 x 20 mm); Pha động: 85% CO₂, 15% iPrOH.	

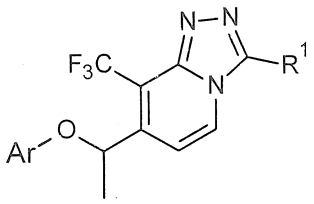
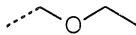
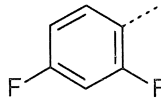
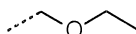
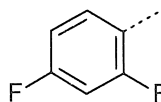
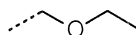
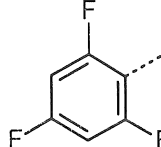
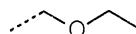
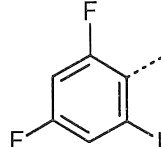
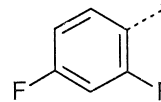
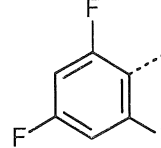
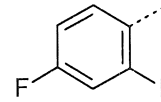
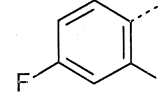
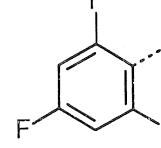
Bảng A dưới đây liệt kê các hợp chất bổ sung có công thức (I-B) được điều chế theo cách tương tự như các ví dụ nêu trên (Ví dụ số).

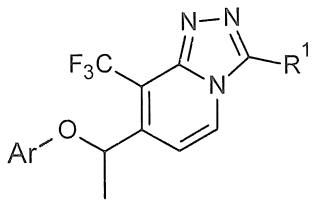
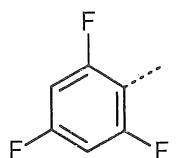
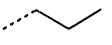
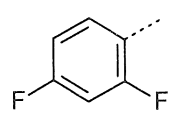
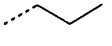
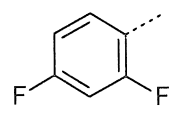
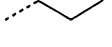
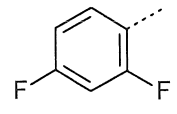
Bảng A: Các hợp chất ví dụ có công thức (I-B)

chỉ ra rằng quy trình thí nghiệm được mô tả trong các ví dụ.

				
Hợp chất số	Ví dụ số	R ¹	Ar	Hoá học lập thể
1-b	E5 [#]			RS
2-b	E5 [#]			*R
3-b	E5 [#]			*S
4-b	E1 [#]			RS
5-b	E1 [#]			R
6-b	E1(a) và (b) [#]			S
6-b.HCl	E1(c) [#]			
7-b	E2 [#]			S
8-b	E3 [#]			S
9-b	E1(b)			S

				
Hợp chất số	Ví dụ số	R ¹	Ar	Hoá học lập thể
10-b	E1(b)			S
11-b	E1(b)			S
12-b	E1(b)			S
13-b	E1(b)			S
14-b	E1(b)			S
15-b	E4 [#]			S
16-b	E1(a)			RS
17-b	E1(a)			*R
18-b	E1(a)			*S
19-b	E1(b)			RS

				
Hợp chất số	Ví dụ số	R ¹	Ar	Hoá học lập thể
20-b	E1(b)			*R
21-b	E1(b)			*S
22-b	E1(b)			*R
23-b	E1(b)			*S
24-b	E6 [#]			RS
25-b	E1(a)			RS
26-b	E6 [#]			*R
27-b	E6 [#]			*S
28-b	E1(a)			*R

				
Hợp chất số	Ví dụ số	R ¹	Ar	Hoá học lập thể
29-b	E1(a)			*S
30-b	E1(b)			RS
31-b	E1(b)			*R
32-b	E1(b)			*S

Phân tích

Độ quay quang

Đo độ quay quang trên phân cực kế Perkin-Elmer 341 với đèn natri và ghi kết quả như sau: $[\alpha]^{\circ}(\lambda, c \text{ g/100ml, dung môi, } T^{\circ}\text{C})$.

$[\alpha]_{\lambda}^T = (100\alpha) / (l \times c)$: trong đó l là độ dài theo dm và c là nồng độ theo g/100 ml cho mẫu ở nhiệt độ T ($^{\circ}\text{C}$) và bước sóng λ (nm). Nếu bước sóng ánh sáng sử dụng là 589 nm (vạch D của natri), thì ký hiệu D được sử dụng. Dấu hiệu quay (+ hoặc -) luôn được chỉ ra. Khi sử dụng phương trình này, nồng độ và dung môi luôn được cho trong ngoặc đơn sau độ quay quang. Độ quay quang được ghi nhận theo độ và không ghi đơn vị nồng độ (được cho là g/100 ml).

LCMS

Xác định đặc tính theo MS (LC) các hợp chất theo sáng chế, sử dụng các phương pháp dưới đây.

Quy trình chung

Tiến hành sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) sử dụng bơm LC, bộ phát hiện mảng-diốt (DAD) hoặc UV và cột được quy định trong các phương pháp tương ứng. Nếu cần, sử dụng các bộ phát hiện bổ sung (xem bảng các phương pháp nêu dưới đây).

Dòng chảy từ cột được nối với Máy đo phổ khối (MS) có lắp nguồn ion áp suất khí quyển. Trong phạm vi hiểu biết của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan cài đặt các thông số thích hợp (ví dụ khoảng quét, thời gian lưu...) để thu được các ion cho phép xác định trọng lượng phân tử đơn đồng vị chuẩn của hợp chất (MW). Thu được dữ liệu bằng phần mềm thích hợp.

Các Hợp chất được mô tả theo thời gian lưu thực nghiệm (R_t) và các ion của chúng. Nếu không có quy định khác trong bảng dữ liệu, ion phân tử ghi nhận tương ứng với $[M+H]^+$ (phân tử được proton hoá) và/hoặc $[M-H]^-$ (phân tử được khử proton hoá). Trong trường hợp hợp chất không ion hoá được trực tiếp, quy định loại sản phẩm cộng hợp (nghĩa là $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, v.v.). Đối với các phân tử có nhiều loại đồng vị (Br, Cl..), giá trị ghi nhận là giá trị thu được cho khối lượng đồng vị thấp nhất. Tất cả các kết quả thu được với mức độ không chắc chắn thực nghiệm thường liên quan đến các phương pháp sử dụng.

Dưới đây, “SQD” là Single Quadrupole Detector (đầu dò một tứ cực), “RT” là nhiệt độ trong phòng, “BEH” là hỗn hợp etylsiloxan/silica bậc cầu, “HSS” là Silic oxit hàm lượng cao, “DAD” bộ phát hiện mảng diốt.

Bảng B: Các ký hiệu của phương pháp LCMS (Tốc độ chảy được biểu thị bằng mL/phút; nhiệt độ cột (T) - °C; thời gian chạy theo phút)

Thiết bị	Cột	Pha động	Gradien	Tốc độ chảy ----- Col T	Thời gian chạy	Phương pháp LCMS
Waters: Acquity® UPLC® - DAD và SQD	Agilent: Eclipse Plus C18 RRHD (1,8µm, 2,1x50mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 6,5mM + 5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	Từ 95% A đến 5% A trong 4,6 phút, duy trì trong thời gian 0,4 phút	1 ----- 50	5	1

Waters: Acquity® UPLC® - DAD và SQD	Waters: CSH™ C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 6,5mM + 5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	Từ 95% A đến 5% A trong 4,6 phút, duy trì trong thời gian 0,4 phút	1 ----- 50	5	2
Waters: Acquity UPLC® - DAD và Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7µm, 2,1x100mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7mM / 5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	84,2% A trong thời gian 0,49 phút, đến 10,5% A trong thời gian 2,18 phút, duy trì trong thời gian 1,94 phút, quay lại 84,2% A trong thời gian 0,73 phút, duy trì trong thời gian 0,73 phút,	0,343 ----- 40	6,2	3
Waters: Acquity® UPLC® - DAD và SQD	Waters: CSH™ C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 6,5mM + 5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	Từ 95% A đến 5% A trong thời gian 7,8 phút, duy trì trong thời gian 1,2 phút	1 ----- 50	9	4

Nhiệt độ nóng chảy

Các giá trị là giá trị đỉnh, và thu được ở mức độ không chắc chắn thực nghiệm thường liên quan đến phương pháp phân tích này.

Thiết bị Mettler FP 81HT / FP90

Đối với một số các hợp chất, xác định nhiệt độ nóng chảy trong các ống mao quản mở trên thiết bị FP 81HT/FP90 (Mettler-Toledo). Xác định nhiệt độ nóng chảy với

gradien nhiệt độ 1, 3, 5 hoặc 10°C/phút. Nhiệt độ tối đa là 300°C. Đọc nhiệt độ nóng chảy từ màn hình hiển thị số.

Bảng C: Dữ liệu hoá lý của một vài hợp chất, thời gian lưu (R_t) theo phút, pic $[M+H]^+$ (phân tử được proton hoá), phương pháp LCMS và mp (nhiệt độ nóng chảy theo °C).

(n.d. = không xác định được)

Hợp chất	Mp (°C)	R_t (phút)	$[MH^+]$	Phương pháp LCMS	Độ quay quang
1-b	156,3	2,32	380	1	
2-b	176,9	2,93	380	3	-58,5 ° (589 nm, c 0,53 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
3-b	177,3	2,93	380	3	+59,4 ° (589 nm, c 0,52 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
4-b	121,7	2,41	398	1	
5-b	142	2,99	398,3	3	+95,7 ° (589 nm, c 0,69 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
6-b	142,4	2,99	398,2	3	-95,4 ° (589 nm, c 0,7 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
7-b	170,08	2,37	398	2	-55,7 ° (589 nm, c 0,96 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
8-b	n.d.	2,32	398	2	n.d.
9-b	n.d.	2,32	398	2	n.d.
10-b	n.d.	2,25	398	2	n.d.
11-b	n.d.	2,28	398	2	n.d.
12-b	n.d.	2,16	410	2	n.d.
13-b	144,1	2,68	410	2	n.d.

Hợp chất	Mp (°C)	R _t (phút)	[MH ⁺]	Phương pháp LCMS	Độ quay quang
14-b	161,7	2,51	394	2	n.d.
15-b	80,3	2,37	416	2	-167,0 ° (589 nm, c 0,55 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
16-b	n.d.	2,50	412	2	n.d.
17-b	n.d.	3,12	412	3	n.d.
18-b	n.d.	3,12	412	3	n.d.
19-b	n.d.	2,39	402	2	n.d.
20-b	n.d.	2,3	402	2	n.d.
21-b	n.d.	3,36	402		n.d.
22-b	n.d.	2,35	420	2	n.d.
23-b	n.d.	2,35	420	2	n.d.
24-b	135,7	2,05	372	2	n.d.
25-b	138,3	2,13	390	2	n.d.
26-b	n.d.	2,80	372	3	-83,9 ° (589 nm, c 0,52 % trọng lượng/thể tích, DMF, 25 °C)
27-b	n.d.	2,80	372	3	+92,1 ° (589 nm, c 0,55 % trọng lượng/thể tích, DMF, 25 °C)
28-b	n.d.	2,85	390	3	-129,2 ° (589 nm, c 0,5 % trọng lượng/thể tích, DMF, 25 °C)
29-b	n.d.	2,85	390	3	+137,3 ° (589 nm, c 0,51 % trọng lượng/thể tích, DMF, 25 °C)

Hợp chất	Mp (°C)	R _t (phút)	[MH ⁺]	Phương pháp LCMS	Độ quay quang
30-b	130,6	2,29	386	2	n.d.
31-b	127,85	2,29	386	2	-67,5 ° (589 nm, c 0,83 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)
32-b	127,69	2,29	386	2	+89,5 ° (589 nm, c 0,83 % trọng lượng/thể tích, DMF, 20 °C)

SFC-MS

Quy trình chung

Tiến hành xác định SFC bằng cách sử dụng hệ thống phân tích trên thiết bị của Berger bao gồm mô-đun kiểm soát bơm chất lỏng kép FCM-1200 để chuyển vận cacbon dioxit (CO₂) và bộ điều chỉnh, bộ lấy mẫu chất lỏng tự động CTC Analytics; mô-đun kiểm soát nhiệt TCM-20000 để gia nhiệt cột từ nhiệt độ trong phòng lên 80°C. Sử dụng bộ phát hiện mảng đi-ốt quang Agilent 1100 UV có trang bị tế bào lưu lượng áp suất cao chịu được áp suất tối đa 4.10⁷ Pa (400 bar). Dòng chảy từ cột được tách vào bộ đo phổ MS. Bộ phát hiện MS có lắp nguồn ion hoá áp suất khí quyển. Các thông số ion hoá dưới đây cho máy đo quang phổ khối Waters ZQ: corona: 9µa, nhiệt độ nguồn: 140°C, nón: 30 V, nhiệt độ dò 450°C, bộ chiết 3 V, khí khử solvat 400L/giờ, khí nón 70 L/giờ. Sử dụng nitơ làm khí phun. Thu thập dữ liệu bằng hệ thống dữ liệu Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Phương pháp 1: ngoài quy trình chung: tiến hành tách bất đối xứng phân tích trong SFC-MS trên cột CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) ở 35°C với tốc độ chảy 3,0 ml/phút. Pha động là 85% CO₂, 15% iPrOH (+ 0,3% iPrNH₂) duy trì 7 phút ở phương thức đẳng dòng.

Phương pháp 2: ngoài quy trình chung: tiến hành tách bất đối xứng phân tích trong SFC-MS trên cột CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) ở 35°C với tốc độ chảy 3,0/ phút. Pha động là 75% CO₂, 15% iPrOH (+ 0,3% iPrNH₂) duy trì 7 phút ở phương thức đẳng dòng.

Phương pháp 3: ngoài quy trình chung: tiến hành tách bất đối xứng phân tích trong SFC-MS trên cột CHIRALPAK AD DAICEL (10 μ m, 4,6 x 250 mm) ở 35 °C tốc độ chảy 3,0/ phút. Pha động là 80% CO₂, 10% Metanol + 10% iPrOH (+ 0,3% iPrNH₂) duy trì 7 phút ở phương thức đẳng dòng.

Bảng D: Dữ liệu SFC phân tích – R_t là thời gian lưu (phút), [M+H]⁺ là khối lượng proton hoá của hợp chất, phương pháp chỉ phương pháp được sử dụng để phân tích SFC/MS các hợp chất tinh khiết đồng phân đối ảnh. So sánh chỉ số đo được với hỗn hợp

Hợp chất số	R _t	[M+H] ⁺	% Diện tích UV	Phương pháp	Thứ tự rửa giải chất đồng phân *
6-b	4,28	398	100	1	A
5-b	5,98	398	100	1	B
2-b	2,13	380	100	2	A
3-b	2,97	380	100	2	B
17-b	2,46	412	100	3	A
18-b	3,12	412	100	3	B
31-b	2,93	386	100	1	A
32-b	3,81	386	100	1	B

*A nghĩa là đồng phân thứ nhất rửa giải. B nghĩa là đồng phân thứ hai rửa giải.

Cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Đối với một số hợp chất, ghi phổ ¹H NMR trên máy đo phổ Bruker DPX-400 hoặc Bruker AV-500 với chuỗi xung tiêu chuẩn, tương ứng vận hành ở 400 MHz và 500 MHz. Ghi độ dịch chuyển hoá học (δ) theo phần triệu (ppm) từ tetrametylsilan (TMS), chất này được sử dụng làm chất chuẩn nội.

Hợp chất số 6-b: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0,30 - 0,38 (m, 2 H), 0,59 - 0,68 (m, 2 H), 1,14 - 1,22 (m, 1 H), 1,72 (d, *J*=6,5 Hz, 3 H), 3,02 - 3,14 (m, 2 H), 5,84 (q, *J*=6,3 Hz, 1 H), 6,67 - 6,73 (m, 1 H), 6,80 - 6,89 (m, 2 H), 7,30 (d, *J*=7,4 Hz, 1 H), 8,11 (d, *J*=7,4 Hz, 1 H)

Hợp chất số 7-b: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,30 - 0,39 (m, 2 H), 0,59 - 0,68 (m, 2 H), 1,11 - 1,23 (m, 1 H), 1,70 (d, $J=6,5$ Hz, 3 H), 3,01 - 3,14 (m, 2 H), 5,83 (q, $J=6,2$ Hz, 1 H), 6,35 - 6,45 (m, 3 H), 7,13 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H), 8,08 (d, $J=7,4$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 8-b: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,30 - 0,38 (m, 2 H), 0,58 - 0,68 (m, 2 H), 1,11 - 1,22 (m, 1 H), 1,69 (d, $J=6,2$ Hz, 3 H), 3,01 - 3,13 (m, 2 H), 5,79 (q, $J=6,2$ Hz, 1 H), 6,53 (dtd, $J=9,2, 3,1, 3,1, 1,7$ Hz, 1 H), 6,72 (ddd, $J=11,6, 6,5, 3,1$ Hz, 1 H), 6,95 - 7,04 (m, 1 H), 7,15 (d, $J=7,4$ Hz, 1 H), 8,07 (d, $J=7,4$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 15-b: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,30 - 0,41 (m, 2 H), 0,59 - 0,71 (m, 2 H), 1,16 - 1,25 (m, 1 H), 1,70 (d, $J=6,4$ Hz, 3 H), 3,05 - 3,16 (m, 2 H), 5,80 (q, $J=6,4$ Hz, 1 H), 6,62 - 6,70 (m, 2 H), 7,45 (d, $J=7,5$ Hz, 1 H), 8,16 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 13-b: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,27 - 0,39 (m, 2 H), 0,58 - 0,67 (m, 2 H), 1,12 - 1,21 (m, 1 H), 1,73 (d, $J=6,4$ Hz, 3 H), 2,22 (s, 3 H), 3,06 (qd, $J=15,4, 6,6$ Hz, 2 H), 5,92 (q, $J=6,4$ Hz, 1 H), 6,71 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H), 6,89 (dd, $J=8,4, 1,4$ Hz, 1 H), 7,18 (d, $J=1,7$ Hz, 1 H), 7,32 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H), 8,07 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 14-b: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 0,28 - 0,39 (m, 2 H), 0,57 - 0,69 (m, 2 H), 1,12 - 1,21 (m, 1 H), 1,70 (d, $J=6,6$ Hz, 3 H), 2,31 (s, 3 H), 3,01 - 3,12 (m, 2 H), 5,79 (q, $J=6,6$ Hz, 1 H), 6,55 (dd, $J=9,0, 4,3$ Hz, 1 H), 6,69 (td, $J=8,5, 3,0$ Hz, 1 H), 6,87 (dd, $J=9,0, 2,9$ Hz, 1 H), 7,17 (d, $J=7,5$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 20-b: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,22 (t, $J=7,1$ Hz, 3 H), 1,72 (d, $J=6,4$ Hz, 3 H), 3,58 (q, $J=7,1$ Hz, 2 H), 5,03 - 5,10 (m, 2 H), 5,84 (q, $J=6,5$ Hz, 1 H), 6,67 - 6,74 (m, 1 H), 6,81 - 6,88 (m, 2 H), 7,34 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H), 8,40 (d, $J=7,5$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 22-b: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,23 (t, $J=6,9$ Hz, 3 H), 1,70 (d, $J=6,4$ Hz, 3 H), 3,58 (q, $J=7,0$ Hz, 2 H), 5,05 - 5,12 (m, 2 H), 5,81 (q, $J=6,6$ Hz, 1 H), 6,62 - 6,70 (m, 2 H), 7,48 (d, $J=7,5$ Hz, 1 H), 8,45 (d, $J=7,2$ Hz, 1 H)

Hợp chất số 31-b: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,07 (t, $J=7,40$ Hz, 3 H) 1,72 (d, $J=6,24$ Hz, 3 H) 1,92 (sxt, $J=7,63$ Hz, 2 H) 2,98 - 3,14 (m, 2 H) 5,84 (q, $J=6,47$ Hz, 1 H) 6,65 - 6,74 (m, 1 H) 6,78 - 6,89 (m, 2 H) 7,29 (d, $J=7,40$ Hz, 1 H) 8,02 (d, $J=7,40$ Hz, 1 H).

Thử nghiệm *in vitro* các hợp chất theo công thức (I-B)

Các hợp chất có công thức (I-B) được đề xuất theo sáng chế là các chất điều biến biến cấu dương của mGluR2. Các hợp chất này dường như làm tăng cường độ các đáp ứng glutamat bằng cách gắn kết với vị trí biến cấu mà không phải là vị trí gắn kết glutamat. Đáp ứng của mGluR2 với nồng độ glutamat gia tăng khi có mặt các hợp chất có công thức (I-B). Các hợp chất có công thức (I-B) được cho là có tác dụng đáng kể ở mGluR2 nhờ khả năng tăng cường chức năng của thụ thể này của chúng. Các tác dụng của các chất điều biến biến cấu dương được thử nghiệm ở mGluR2 bằng cách sử dụng phương pháp thử nghiệm gắn kết [^{35}S]GTP γ S mô tả dưới đây và phương pháp này là thích hợp để nhận dạng các hợp chất này, và cụ thể hơn là các hợp chất có công thức (I-B), được trình bày trong Bảng E.

Thử nghiệm gắn kết [^{35}S]GTP γ S

Thử nghiệm gắn kết [^{35}S]GTP γ S là thử nghiệm dựa trên màng được sử dụng để nghiên cứu chức năng thụ thể liên hợp G-protein (GPCR), trong đó xác định mức độ kết hợp của dạng không thuỷ phân của GTP, [^{35}S]GTP γ S (guanosin 5'-triphosphat, được đánh dấu bằng ^{35}S phát tia gama). Cấu trúc dưới phân tử α G-protein xúc tác cho quá trình trao đổi guanosin 5'-diphosphat (GDP) với guanosin triphosphat (GTP) và hoạt hoá GPCR bằng chất chủ vận, [^{35}S]GTP γ S, trở nên được kết hợp và không thể phân giải để tiếp tục chu trình trao đổi (Current Protocols in Pharmacology 2.6.1-10, của Harper, (1998) John Wiley & Sons, Inc.). Lượng kết hợp [^{35}S]GTP γ S có hoạt tính phóng xạ là chỉ số đo trực tiếp hoạt tính của G-protein và do đó có thể xác định hoạt tính của chất chủ vận. Các thụ thể mGlu2 đã chứng tỏ liên hợp ưu tiên với G α i-protein, liên hợp ưu tiên cho phương pháp này, và do đó được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu khả năng hoạt hoá thụ thể mGlu2 ở các dòng tế bào tái tổ hợp cũng như các mô. Trong bản mô tả này, các tác giả mô tả việc sử dụng thử nghiệm gắn kết [^{35}S]GTP γ S có sử dụng các màng lấy từ các tế bào đã chuyển nhiễm với thụ thể mGlu2 của người và làm thích ứng theo Schaffhauser và các đồng tác giả (Molecular Pharmacology, **2003**, 4:798-810) để phát hiện các tính chất điều biến biến cấu dương (PAM) của các hợp chất theo sáng chế.

Chuẩn bị màng

Nuôi cấy các tế bào CHO đến trước khi hợp dòng và kích thích bằng 5 mM butyrat trong 24 giờ. Tiếp đó gom các tế bào bằng cách cạo trong PBS và ly tâm hỗn dịch tế bào (10 phút ở 4000 vòng/phút (RPM) trong máy ly tâm để bàn). Loại bỏ phần dịch nổi và tái tạo huyền phù nhẹ nhàng viên kết trong 50 mM Tris-HCl, pH 7,4 bằng cách trộn xoáy và dịch chuyển pipet lên và xuống. Ly tâm huyền phù ở 16.000 RPM (Sorvall RC-5C + rô-to SS-34) trong thời gian 10 phút và loại bỏ phần dịch nổi. Đồng thể hoá viên kết trong 5 mM Tris-HCl, pH 7,4 sử dụng máy đồng thể hoá ultra-turrax và ly tâm lại (18.000 RPM, 20 phút, 4°C). Viên kết cuối cùng này được tái tạo huyền phù trong 50 mM Tris-HCl, pH 7,4 và bảo quản ở -80°C ở dạng các phần mẫu thích hợp trước khi sử dụng. Xác định nồng độ protein bằng phương pháp Bradford (Bio-Rad, USA) với albumin huyết thanh bò làm chất chuẩn.

Thử nghiệm gắn kết [^{35}S]GTP γ S

Tiến hành xác định hoạt tính chất điều biến biến cấu dươg mGluR2 của các hợp chất thử như sau. Các hợp chất thử và glutamat được pha loãng trong dịch đệm thử nghiệm chứa 10 mM axit HEPES, 10 mM muối HEPES, độ pH 7,4, 100 mM NaCl, 3 mM MgCl₂ và 10 μ M GDP. Các màng chứa thụ thể mGlu2 của người được làm tan trên đá và pha loãng trong dịch đệm thử nghiệm có bổ sung 14 μ g/ml saponin. Ủ sơ bộ các màng với hợp chất đơn độc hoặc cùng với nồng độ định trước ($\sim$ EC₂₀) của glutamat (thử nghiệm PAM) trong 30 phút ở 30°C. Sau khi bổ sung [^{35}S]GTP γ S (f.c. 0,1 nM), lắc hỗn hợp thử nghiệm nhanh và ủ tiếp để cho phép kết hợp [^{35}S]GTP γ S khi hoạt hoá (30 phút, 30°C). Hỗn hợp thử nghiệm cuối cùng chứa 7 μ g protein màng trong 10 mM axit HEPES, 10 mM muối HEPES, pH 7,4, 100 mM NaCl, 3 mM MgCl₂, 10 μ M GDP và 2 μ g/ml saponin. Thể tích phản ứng tổng cộng là 200 μ l. Chấm dứt phản ứng bằng cách lọc nhanh qua các đĩa Unifilter-96 GF/B (Perkin Elmer, Massachusetts, Mỹ) bằng cách sử dụng thiết bị gom mẫu lọc thông dụng 96-giếng. Rửa màng lọc 6 lần bằng dung dịch 10 mM NaH₂PO₄/10 mM Na₂HPO₄, được làm lạnh bằng đá, pH 7,4. Màng lọc tiếp đó được làm khô trong không khí, và bổ sung 40 μ l hỗn hợp nhấp nháy lỏng (Microscint-O) vào mỗi giếng. Đếm hoạt tính phóng xạ gắn kết màng trên máy Microplate Scintillation và Luminescence Counter của Perkin Elmer.

Phân tích dữ liệu

Đồ thị nồng độ-đáp ứng của các hợp chất tiêu biểu theo sáng chế thu được với sự có mặt của glutamat chủ vận mGluR2 ở EC₂₀ để xác định mức độ điều biến biến cấu (PAM) được tạo ra bằng cách sử dụng giao diện phần mềm Lexis (của J&J). Tính toán các dữ liệu theo % mức đáp ứng glutamat đối chứng, được xác định là mức đáp ứng tối đa mà được tạo ra khi chỉ bổ sung glutamat đơn độc. Đồ thị nồng độ-đáp ứng hình chữ S vẽ các giá trị % này theo log nồng độ của hợp chất thử được phân tích bằng cách sử dụng phân tích hồi quy không tuyến tính. Nồng độ cho tác dụng bán tối đa được tính là EC₅₀.

Các giá trị pEC₅₀ dưới đây được tính dưới dạng $-\log EC_{50}$, khi EC₅₀ được biểu thị theo M. E_{max} được xác định là tác dụng tối đa tương đối (nghĩa là % tác dụng tối đa so với đáp ứng glutamat đối chứng).

Bảng E dưới đây trình bày dữ liệu được lý thu được của các hợp chất có công thức (I-B) và dữ liệu được lý hiện hành thu được đối với các hợp chất có công thức (I) và (I-A).

Bảng E: Dữ liệu được lý của các hợp chất theo sáng chế

Hợp chất số	GTP γ S - hmGluR2 PAM pEC ₅₀	GTP γ S - hmGluR2 PAM E _{max}
1-b	6,59	296
2-b	6,84	228
3-b	5,79	187
6-b	7,39	256
5-b	6,06	141
4-b	7,04	329
7-b	7,31	292
8-b	7,04	244
9-b	7,3	260
10-b	7,47	218
11-b	8,25	239

Hợp chất số	GTP γ S - hmGluR2 PAM pEC ₅₀	GTP γ S - hmGluR2 PAM E _{max}
12-b	6,99	178
16-b	7,54	284
13-b	7,75	280
14-b	7,53	281
15-b	8,16	293
19-b	6,71	297
25-b	6,9	233
24-b	6,42	193
17-b	7,73	317
18-b	6,24	213
22-b	7,61	325
23-b	5,94	167
21-b	6,32	102
20-b	7,07	332
26-b	6,78	214
27-b	n.c.	51
30-b	6,9	227
28-b	7,19	234
29-b	5,85	77
31-b	7,05	251
32-b	5,71	116
1	7,11	258
1a	6,95	286
2	7,82	290
2a	7,61	484
3	7,55	212
4	6,88	260

Hợp chất số	GTP γ S - hmGluR2 PAM pEC ₅₀	GTP γ S - hmGluR2 PAM E _{max}
5	6,26	231
6	7,79	263
6a	7,68	261
7	8,45	263
8	6,73	360
9	6,9	462
10	7,21	357
11	6,94	310
12	8,36	261
13	6,9	278
1-a	6,78	314
2-a	6,84	340
3-a	6,88	231
4-a	6,6	269
5-a	n.t.	
6-a	6,34	255
7-a	6,64	291
8-a	6,04	157
9-a	6,59	222
10-a	6,88	290
11-a	7,11	249
12-a	7,03	242
13-a	6,67	212
14-a	6,92	259
15-a	7	253
16-a	7,12	223
17-a	6,54	261

Hợp chất số	GTP γ S - hmGluR2 PAM pEC ₅₀	GTP γ S - hmGluR2 PAM E _{max}
18-a	n.t.	
19-a	6,71	240
20-a	6,91	243
21-a	6,25	207
22-a	6,05	259
23-a	6,58	203
24-a	6,91	258
25-a	7,07	261
26-a	6,5	248
27-a	6,48	284
28-a	6,96	297
29-a	6,97	317
30-a	n.t.	
31-a	n.t.	
32-a	6,66	347
33-a	6,58	362

n.c. là pEC₅₀ không tính được

n.t. nghĩa là không được thử nghiệm

Các giá trị pEC₅₀ không tính được trong các trường hợp khi đồ thị nồng độ-đáp ứng không đạt đến mức ổn định.

Tất cả các hợp chất được thử nghiệm với sự có mặt của glutamat chủ vận mGluR2 ở nồng độ EC₂₀ định trước, để xác định khả năng điều biến biến cấu dương. Các giá trị pEC₅₀ được tính từ thử nghiệm nồng độ-đáp ứng ở ít nhất 8 nồng độ.

B) Các nghiên cứu chống co giật với các hợp chất mGluR2 (chất chủ vận có vị trí gắn kết nguyên thủy không bị biến cấu và các hợp chất có công thức (I)/(I-A)/(I-B)

Mô tả chung

Điều chế các hợp chất và dung dịch

Các hợp chất thử được sử dụng bằng cách sử dụng tỷ lệ thể tích dịch tối ưu so với dịch cơ thể. Các hợp chất thử được sử dụng cho chuột với thể tích 0,01 mL/g trọng lượng cơ thể (General Principles: Experimental selection, quantification, and evaluation of antiepileptic drugs, in Antiepileptic Drugs, Tái bản lần thứ 4, của White H.S., và các đồng tác giả, R. H. Levy, R.H. Mattson, và B. S. Meldrum, biên tập, 1995, Raven Press, Ltd.: New York, các trang 99-110). Để sử dụng dưới da (s.c.), các hợp chất thử được tiêm vào nếp gấp da dọc theo sống lưng của chuột ngoại trừ hợp chất 6-b, chất này được sử dụng qua đường miệng (p.o). Đối với từng thử nghiệm trong số các thử nghiệm được tiến hành với các hợp chất thử (ngoại trừ hợp chất 6-b), nồng độ hợp chất cuối cùng được sử dụng dưới dạng dung dịch nước trong 20% Hp- β -CD. Đối với hợp chất 6-b, trước tiên pha dung dịch gốc 40% Hp- β -CD và sử dụng dung dịch này để pha hợp chất 6-b ở nồng độ mong muốn cho thử nghiệm qua đường miệng; nồng độ hợp chất cuối cùng được sử dụng dưới dạng hỗn dịch trong 20% Hp- β -CD. Sử dụng dung dịch 20% Hp- β -CD đối với các nhóm chất dẫn.

Đối với LY-404039, nồng độ hợp chất cuối cùng được sử dụng dưới dạng dung dịch nước muối dưới da.

Đối với hợp chất CAS 1092453-15-0, nồng độ hợp chất cuối cùng được sử dụng trong chất dẫn 10% Hp- β -CD (+NaCl) sau khi hoà tan.

Nồng độ levetiracetam cuối cùng được sử dụng trong dung dịch nước 0,5% methylxenluloza (MC) được sử dụng bằng cách tiêm trong màng bụng (i.p.).

Các thuốc thử quan trọng

a) Dung dịch chất dẫn

0,5% methylxenluloza (MC)

dung dịch gốc 40% Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Hp- β -CD)

b) Dung dịch khác

Tetracain (dung dịch 0,5% trọng lượng/thể tích) được nhỏ giọt từ chai nhỏ giọt bằng nhựa vào mắt của các con chuột mà sau đó sẽ được kích thích bằng điện qua điện cực gắn vào màng sừng.

Các con chuột nhắt và chăm sóc chúng

Chuột bạch tạng CF Số 1, giống đực, trưởng thành (26-35 g) thu được từ Charles River, Portage, Michigan. Các con chuột được duy trì chế độ ăn đầy đủ (Prolab RMH 3000) và để đồ ăn và nước uống thoải mái, ngoại trừ trong thời gian ngắn khi chúng được lấy ra khỏi lồng để thử nghiệm. Các con chuột mới được tiếp nhận về phòng thí nghiệm được cho đủ thời gian để điều chỉnh việc hạn chế đồ ăn và nước uống có thể có trong khi di chuyển trước khi sử dụng để thử nghiệm. Tất cả các con chuột được nhốt trong lồng nhựa trong phòng thiết kế đặc biệt có độ ẩm được kiểm soát, trao đổi không khí và chế độ chiếu sáng có kiểm soát (12 giờ bật – 12 giờ tắt). Các con chuột được nuôi giữ, cho ăn và xử lý theo cách phù hợp với các khuyến cáo trong tài liệu Công Bố của Ủy ban Quốc gia: “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”.

Tổn thương vận động tối thiểu (MMI)

MMI cấp tính được đánh giá bằng cách tập hợp các quan sát trực tiếp các con chuột xem có các triệu chứng hiển nhiên về chức năng thần kinh hoặc cơ bắp của chuột không. Ở chuột, quy trình ‘rotarod’ được sử dụng để bộc lộ tổn thương cơ bắp hoặc thần kinh tối thiểu. Khi chuột được đặt lên trục quay ở tốc độ 6 vòng/phút, chuột có thể vẫn giữ được trạng thái cân bằng trong thời gian dài. Chuột bị coi là nhiễm độc nếu nó rơi khỏi trục quay ba lần trong vòng một phút.

Xác định các liều dùng hữu hiệu trung vị và liều dùng có độc tính (ED₅₀ và TD₅₀)

Để xác định ED₅₀ hoặc TD₅₀ cho mỗi hợp chất thử, liều dùng đầu tiên được sử dụng thường bằng với liều dùng để xác định TPE thành công. Nếu liều dùng ban đầu được sử dụng mà hữu hiệu hoặc gây độc tính ở > 50% số chuột, liều dùng tiếp theo sẽ bằng ½ liều dùng ban đầu; nếu liều dùng ban đầu hữu hiệu hoặc gây độc tính ở < 50% số chuột, liều dùng tiếp theo sẽ gấp đôi liều dùng ban đầu. Liều dùng thứ ba và thứ tư

được lựa chọn để cho đường đồ thị đáp ứng liều dùng cách đều nhau. Nên có tối thiểu 4 thời điểm bao gồm hoặc nằm trong khoảng 0 và 100%.

Xác định TPE

Nhóm nói chung khoảng 4 con được sử dụng các hợp chất thử và mỗi nhóm được thử nghiệm ở một trong số 5 thời điểm: 0,25, 0,5, 1, 2, hoặc 4 giờ sau khi điều trị (White và các đồng tác giả 1995). Xác định TPE bằng cách sử dụng thử nghiệm 6Hz (32mA). Thời điểm (0,25, 0,5, 1, 2, hoặc 4 giờ sau khi điều trị) mà ở đó nhận thấy khả năng bảo vệ tối đa được coi là Thời điểm có Tác dụng Đỉnh (TPE).

Ở TPE được xác định cho nghiên cứu này, hoặc được xác định trước đây, các hợp chất được thử nghiệm trong thử nghiệm 6Hz (32 và/hoặc 44 mA), ở một vài liều dùng và bao gồm các liều dùng hầu như không cho hoặc cho rất ít tác dụng bảo vệ cho đến cho tác dụng bảo vệ hoàn toàn.

ED₅₀ và khoảng độ tin cậy (C.I.) 95% được tính bằng cách sử dụng phân tích Probit trên chương trình máy tính của phòng thí nghiệm ("Probit Analysis" 34d Ed 1971, của Finney, London: Cambridge University Press).

Lấy mẫu huyết thanh để phân tích pK/pD

Trong nhiều thử nghiệm, các con chuột bị giết sau khi thử nghiệm, và được lấy mẫu máu khi chặt đầu và/hoặc mô não (toàn bộ não) để định lượng nồng độ thuốc. Ngay sau khi thử nghiệm, các con chuột bị chặt đầu và lấy mẫu máu vào ống nghiệm BD Vacutainer® chứa K2EDTA và làm lạnh trên đá cho đến khi ly tâm. Sau khi ly tâm (13000 - 18000 vòng/phút, 5-7 phút), loại bỏ huyết tương và chuyển vào ống ly tâm nhỏ có dán nhãn và bảo quản ở nhiệt độ -80°C. Để lấy mẫu mô não, lấy não ngay sau khi chặt đầu và làm đông lạnh nhanh. Mẫu đã đông lạnh được cho vào ống nghiệm ly tâm có dán nhãn và bảo quản ở nhiệt độ -80 °C.

Thử nghiệm cơn động kinh tâm thần vận động 6 Hz ở chuột nhắt

Thử nghiệm cơn động kinh 6Hz được sử dụng làm mô hình cơn động kinh thể viên kháng thuốc. Cơn động kinh 6Hz thể hiện tính kháng phenytoin, carbamazepin,

lamotrigin, và topiramat (“Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy” *Epilepsy Research* 2001, Vol. 47, các trang 217-222, của Barton và các đồng tác giả).

Phương pháp thử nghiệm cơn động kinh tâm thần vận động 6 Hz

Gây cảm ứng các cơn động kinh cục bộ ở chuột bằng cách kích thích qua màng sừng (6Hz, xung hình chữ nhật 0,2 miligiây, thời gian 3 giây; Barton và các đồng tác giả 2001). Thử nghiệm các con chuột ở 32mA hoặc 44mA. Trước khi kích thích, nhỏ 0,5% tetracain vào mỗi mắt chuột. Các cơn động kinh phát sinh do kích thích qua màng sừng trong thử nghiệm này đặc trưng bởi pha co giật tối thiểu tiếp đó có hành vi tự động rập khuôn bao gồm bất tỉnh, giật rung chi trước, giật giật ria mép, và đuôi Straub. Các con chuột không có biểu hiện các hành vi này được coi là được bảo vệ.

Ví dụ 1 - Nghiên cứu với các hợp chất 1 và 2

1.1. Nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 1, Hợp chất số 2 và Levetiracetam

Trước tiên, từng hợp chất được thử nghiệm riêng rẽ ở liều dùng thể hiện hoạt tính tối thiểu trong thử nghiệm 6Hz 44 mA ở TPE ở mỗi hợp chất. Khi các hợp chất PAM mGluR2 và levetiracetam được sử dụng phối hợp (cùng liều dùng và thời điểm như các thử nghiệm riêng rẽ) nhận thấy tác dụng bảo vệ gần như hoàn toàn trong thử nghiệm 6Hz 44 mA (Bảng 2). Ngoài việc ghi nhận các dữ liệu về hiệu lực và độc tính của các hợp chất này khi dùng đơn độc hoặc phối hợp, lấy mẫu huyết tương và não ở từng nhóm để phân tích dược động học/dược lực học. Nhận thấy không có tương tác dược động học dựa trên nồng độ hợp chất trong mẫu huyết tương và não (dữ liệu không được thể hiện). Tóm lại là, các hợp chất 1 và 2 thể hiện tương tác dược lực học có lợi với levetiracetam trong mô hình 6Hz mà dường như không phải do tương tác dược động học, và không kèm theo gia tăng tổn thương vận động (các Bảng 2, Bảng 2a, Bảng 2b). Tác dụng của 1 liều dùng Hợp chất 2 cũng được thử nghiệm trên liều dùng-đáp ứng của LEV. Như thể hiện trong Bảng 3, có sự thay đổi ~200 lần ED₅₀ của LEV so với khi LEV được thử nghiệm đơn độc. LEV dường như làm gia tăng nhẹ công hiệu của Hợp chất số 2 (Bảng 3).

1.2. Phân tích hoạt tính thay đổi theo nồng độ các tương tác giữa Hợp chất số 1 và Levetiracetam trên mô hình cơn động kinh 6 Hz

Tiến hành các nghiên cứu hoạt tính thay đổi theo nồng độ khi sử dụng phối hợp Hợp chất số 1 với LEV trong thử nghiệm 6Hz (44mA). Tiến hành các nghiên cứu theo các phương pháp mô tả ở trên (Madsen và các đồng tác giả 2011). Xác định các giá trị ED_{50} ban đầu cho Hợp chất số 1 và LEV và sử dụng để tính toán các giá trị ED_{50} lý thuyết ($\pm$ sai số chuẩn, SEM) cho ba chế phẩm phối hợp tỷ lệ liều dùng cố định (LEV: Hợp chất số 1): 1:3, 1:1, và 3:1. Các liều dùng sử dụng tỷ lệ với các giá trị ED_{50} đã tính. Ví dụ, tỷ lệ liều dùng sử dụng cho mẫu 1:1 là dựa trên $0,5 \times ED_{50}$ cho LEV và $0,5 \times ED_{50}$ cho Hợp chất số 1. Tương tự, mẫu 1:3 sử dụng $0,25 \times ED_{50}$ cho LEV và $0,75 \times ED_{50}$ cho Hợp chất số 1. Tỷ lệ liều dùng 3:1 sử dụng $0,75 \times ED_{50}$ cho LEV và $0,25 \times ED_{50}$ cho Hợp chất số 1. Các liều dùng điều trị thử nghiệm (xem Bảng 4) dựa trên các giá trị lý thuyết và được điều chỉnh theo tác dụng nhận thấy. Các giá trị ED_{50} ($\pm$ SEM) được xác định trên thực nghiệm cho chế phẩm phối hợp tỷ lệ liều dùng cố định được so sánh với các giá trị lý thuyết (kiểm định-t) để thống kê. Tỷ lệ liều dùng được xác định là siêu-cộng (hiệp đồng) nếu giá trị ED_{50} xác định trên thực nghiệm thấp hơn đáng kể so với ED_{50} lý thuyết. Do đó, các liều dùng phối hợp thử nghiệm được xác định cho cùng các mẫu này trong thử nghiệm cơn động kinh 6Hz (Bảng 4 dưới đây). Nghiên cứu hoạt tính thay đổi theo nồng độ với hợp chất 1 và levetiracetam trên mô hình 6 Hz chứng tỏ có tương tác được lực học hiệp đồng đáng kể ở tất cả các tỷ lệ liều dùng đánh giá và liên quan chặt chẽ với nồng độ trong huyết tương của hợp chất 1. Hơn nữa, không nhận thấy có tổn thương vận động ở tỷ lệ liều dùng bất kỳ đã đánh giá, điều này gợi ý là tương tác được lực học hiệp đồng không gây độc tính vận động gia tăng.

1.3. Mô hình gây giật điện qua màng sừng ở chuột và các nghiên cứu với hợp chất 1

Chuột bị gây giật điện bằng cách kích thích trong 3 giây, 3 mA, 60 Hz, hai lần/ngày sử dụng điện cực dán vào màng sừng cho đến khi đáp ứng tiêu chí 5 cơn động kinh liên tục Giai đoạn 5 được xác định theo Racine (“Modification of seizure activity by electrical stimulation” II. motor seizure” *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1972, 32, các trang 281-294 của Racine). Sau khi chuột đã đạt đến trạng thái giật điện ổn định,

hợp chất thử hoặc chất dẫn được sử dụng, ở TPE đã xác định trước đó, mỗi con chuột được kích thích bằng điện như nêu trên. Sau khi kích thích, quan sát các con chuột xem có hoặc không có hoạt động động kinh ghi điểm theo thang điểm Racine (0 – 5) trong đó 5 biểu thị con chuột lông lên và ngã ở giai đoạn cao nhất. Một liều dùng của LEV và hai liều dùng của Hợp chất số 1 được thử nghiệm riêng rẽ và phối hợp kháng lại các con động kinh gây giật điện qua màng sừng. Phối hợp hợp chất 1 với levetiracetam trên mô hình này gợi ý có tương tác dược lực học có lợi (Bảng 5 dưới đây).

Tóm tắt các dữ liệu của các hợp chất được thử nghiệm đơn độc được trình bày trong Bảng 1 và các kết quả bổ sung của các nghiên cứu tiến hành theo ví dụ 1 được nêu trong các Bảng từ 2 đến 5 dưới đây.

Bảng 1: Tóm tắt các dữ liệu chống co giật cấp tính trên mô hình 6Hz ở 32 mA và 44 mA của các hợp chất PAM mGluR2 1, 2, 11, 2-a, 25-a, 6-b và LY-404039 sau khi sử dụng dưới da (ngoại trừ hợp chất 6-b được thử nghiệm qua đường miệng). TPE là thời điểm có tác dụng đỉnh, CI là khoảng tin cậy, s.c. là sử dụng dưới da, p.o. là sử dụng qua đường miệng, n.t. nghĩa là không được thử nghiệm. TPE được xác định trong thử nghiệm 32 mA 6Hz. Các tác dụng nói chung nhận thấy ở các liều dùng mà không gây tổn thương trong thử nghiệm rotarod. Đối với các hợp chất 11 và 2-a các giá trị riêng lẻ của các thử nghiệm lặp lại được cung cấp. Đối với hợp chất 25a, các thời điểm 0,25 và 1 giờ được sử dụng cho các nghiên cứu 6Hz (44mA)

Hợp chất số	TPE (giờ)	ED ₅₀ (95% CI) mg/kg, dưới da		Điểm đánh giá con động kinh (liều dùng)
		32 mA	44 mA	Gây giật điện qua màng sừng
11	0,5	4,77 (3,54 – 6,76) 9,41 (1,53-15,1)	31,5 (15,1 – 47,3)	2,8 (100 mg/kg)
2	0,25	3,83 (1,62 – 6,71)	5,89 (3,89 – 8,45)	3,4 (40 mg/kg)
1	0,5	2,8 (1,3 – 4,3)	10,2 (3,1 – 12,4)	3,7 (20 mg/kg)

25-a	1	7,7 (2,3-18,4)	1 giờ TPE: 25,9 (15,5-33,7) 0,25 giờ TPE: 29,1 (21,6-39,6)	n,t,
2-a	0,5	44,7 (23,4- 80,5) 20,8 (10,0- 31,7) 12,2 (8,4-17,4)	50% bảo vệ ở 100 mg/kg 21 (17,9-27,4)	4,4 (100 mg/kg)
6-b	0,5	7,2 (4,2-11,8)	16,1 (13,0-20,1)	n.t.
LY-404039	0,5	10,2 (3,62- 12,4)	n.t.	3,1 (100 mg/kg)

Bảng 1a: Tóm tắt xác định TPE 6Hz 32 mA cho Hợp chất số 1

Liều dùng (mg/kg, dưới da)	Thời điểm (giờ)	6Hz 32 mA	Tổn thương vận động
10	4	0/4	0/0
	2	0/4	0/0
	1	3/4	0/0
	0,5	4/4	0/0
	0,25	4/4	0/0
5	0,5	8/12	0/0
	0,25	8/12	0/0
2,5	0,5	5/8	0/0
	0,25	1/8	0/0

(Số chuột được bảo vệ trong thử nghiệm 6Hz hoặc nhiễm độc trong thử nghiệm rotarod/số chuột đã thử nghiệm)

Bảng 1b: Các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng đối với Hợp chất số 1. TPE đối với Hợp chất số 1 được xác định trước đó là 0,5 giờ (các kết quả thể hiện ở trên trong bảng 1a).

Một vài liều dùng của Hợp chất số 1 được sử dụng ở TPE này và được thử nghiệm trong thử nghiệm 6Hz, sử dụng cả hai cường độ kích thích 32 và 44 mA

Thử nghiệm	Liều dùng (mg/kg, dưới da)	#được bảo vệ/#thử nghiệm	#tổn thương vận động rotarod/#thử nghiệm
6Hz 32 mA	20	8/8	1/8
	10	7/8	0/8
	5	8/12	0/12
	2,5	7/16	0/16
	0,5	1/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 2,8 mg/kg (từ 1,3 đến 4,3)			

6Hz 44 mA	20	8/8	1/8
	15	7/8	0/8
	10	4/8	0/8
	2,5	0/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 10,2 mg/kg (từ 3,1 đến 12,4)			

Bảng 2: Tóm tắt tương tác của Hợp chất số 1 và Hợp chất số 2 với levetiracetam (LEV) trên mô hình cơn động kinh 6Hz, 44 mA ở chuột. Các kết quả được ghi theo số chuột biểu hiện tác dụng bảo vệ hoàn toàn/tổng số chuột thử nghiệm trong mỗi nhóm liều dùng (ở mức liều lượng hợp chất thử nghiệm xác định hoặc mức liều lượng phối hợp)

	Liều dùng	Thời gian (giờ)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# độc tính vận động/# đã thử nghiệm
LEV	10 mg/kg trong màng bụng	1	1/6	0/6
Hợp chất số 2 + LEV	3 mg/kg dưới da	0,25	5/6	0/6
Hợp chất số 2	3 mg/kg dưới da	0,25	1/6	0/6
LEV	10 mg/kg trong màng bụng	1	1/8	0/8
Hợp chất số 1 + LEV	2,5 mg/kg dưới da	0,5	6/8	0/8
Hợp chất số 1	2,5 mg/kg dưới da	0,5	0/8	0/8

Bảng 2a: Nồng độ trong huyết tương và trong não của Hợp chất số 1 trong nghiên cứu phối hợp với levetiracetam (LEV). BQL – dưới ngưỡng có thể định lượng được

Hợp chất số 1	LEV	Huyết tương (ng/ml)	Hợp chất số 1	Huyết tương (ng/ml)	Bảo vệ 6 Hz
6 Hz 44 mA	10 mg/kg	9350	2,5 mg/kg	BQL	Có
		8580		244	Không
		10900		314	Có
		10300		382	Có
		9780		416	Có
		9780		377	Có
		13700		2260*	Không
		10100		607	Có
Nồng độ trung bình		10311		657,1 (390)	6/8

trong huyết tương					
Nồng độ trung bình trong huyết tương (không phối hợp)	1/8	8254	0/8	438	

Nồng độ trung bình trong huyết tương thể hiện trong ngoặc đơn () được tính khi các số liệu thống kê ngoại lệ * bị loại bỏ

Bảng 2b: Nồng độ trong huyết tương và não của Hợp chất số 2 trong nghiên cứu phối hợp với levetiracetam (LEV). AQL - dưới ngưỡng có thể định lượng được

Hợp chất số 2	LEV	Huyết tương (ng/ml)	Não (ng/ml)	Hợp chất số 2	Huyết tương (ng/ml)	Não (ng/ml)	Bảo vệ 6 Hz
6 Hz 44 mA	10 mg/kg	6450	6290	3 mg/kg	1830	1540	Có
		8200	7990		386	1020	Có
		3540	4760		4700	1310	Có
		3850	NA		467	NA	Không
		7150	6380		AQL (>500)	1120	Có
		3890	3960		2080	1140	Có
Nồng độ trung bình trong huyết tương / não		5513	5876		1893	1226	5/6
Nồng độ trung bình trong huyết tương / não (không phối hợp)	1/6	8750	5773	1/6	1295	1113	

NA - mẫu không khả dụng để phân tích

Bảng 3: Xác định ED₅₀ trên mô hình cơn động kinh 6Hz (44mA) cho Hợp chất số 2 và levetiracetam (LEV) đơn độc và dùng phối hợp. LEV ở liều dùng 10 mg/kg làm gia tăng công hiệu của Hợp chất số 2 (thay đổi ~5 lần ED₅₀). Hợp chất số 2 ở liều dùng 3 mg/kg gia tăng cả hiệu lực (đến mức bảo vệ 100%) và công hiệu của LEV (thay đổi ~200 lần ED₅₀)

Fig. 1 thể hiện đáp ứng-liều dùng để xác định ED₅₀ trong thử nghiệm 6 Hz 44mA cho Hợp chất số 2 và LEV đơn độc và dùng phối hợp.

Điều trị	ED ₅₀ (95% CI) mg/kg	Tác dụng đối đa (% bảo vệ)
Hợp chất số 2 đơn độc	6,97 (5,44 – 8,30)	100%
Hợp chất số 2 + LEV (10 mg/kg)	1,35 (0,8 – 1,9)	100%
LEV đơn độc	~ 200	75%
LEV + Hợp chất số 2 (3 mg/kg)	1,0 (0,23 – 2,24)	100%

Bảng 4: Kết quả của Hợp chất số 1 và Levetiracetam trong nghiên cứu hoạt tính thay đổi theo nồng độ

Nhóm	LEV (mg/kg trong màng bụng)	f	Hợp chất số, 1 (mg/kg dưới da)	f	Liều dùng phối hợp (mg/kg)	Rotarod #độc tính vận động/# đã thử nghiệm	6Hz (44mA) #được bảo vệ/#đã thử nghiệm
mẫu 1:1	181	0,5	5,1	0,5	93,1	0/8	8/8
	90,5		2,6		46,6	0/8	6/8
	45,3		1,3		23,3	0/8	3/8
	22,6		0,6		11,6	0/8	3/8
ED ₅₀ (95% CI; mg/kg): 22,2 (8,4-35,7)							
mẫu 1:3	45,3	,25	3,8	,75	14,2	0/8	8/8
	22,6		1,9		7,1	0/8	4/8
	11,3		1,0		3,6	0/8	2/8

ED ₅₀ (95% CI; mg/kg): 5,9 (3,5-8,7)							
mẫu 3:1	271,5	,75	2,6	,25	204,3	0/8	8/8
	135,8		1,3		102,2	0/8	3/8
	67,9		0,6		51,1	0/8	3/8
	33,9		0,3		25,5	0/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI; mg/kg): 86,3 (56,8-131,4)							

Phân tích hoạt tính thay đổi theo nồng độ (Fig. 2) chứng tỏ là chế phẩm phối hợp của Hợp chất số 1 và levetiracetam dẫn đến tác dụng hiệp đồng có lợi đáng kể.

Bảng 5: Các kết quả của nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 1 và Levetiracetam trên mô hình gây giật điện qua màng sừng ở chuột

Hợp chất	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	% được bảo vệ	Điểm đánh giá cơn động kinh trung bình
Cắt dẫn (20% HPBCD@30', dưới da; 0,5% MC@60', trong màng bụng)	0/10	0%	4,7
LEV 3 mg/kg	5/13	38%	3,3
Hợp chất số 1 30 mg/kg	3/12	25%	4,0
LEV 3 mg/kg & Hợp chất số 1 30 mg/kg	10/10	100%	0,6
Hợp chất số 1 20 mg/kg	5/16	31%	3,7
LEV 3 mg/kg & Hợp chất số 1 20 mg/kg	7/10	70%	1,9
Điểm đánh giá cơn động kinh theo Racine từ 0 đến 5 0 = không có hoạt động động kinh 5 = hoạt động động kinh tối đa			

VÍ DỤ 2 – Nghiên cứu với các hợp chất 25-a và 2-a

2.1. Nghiên cứu phối hợp với Hợp chất số 25-a và Levetiracetam

Tiến hành các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng độc lập trong thử nghiệm 6 Hz 44mA cho cả hai hợp chất để xác định các giá trị ED₅₀ ở TPE 1 giờ tiêm trong màng bụng đối với levetiracetam và 1 giờ dưới da đối với Hợp chất số 25-a. Giá trị ED₅₀ cho Hợp chất số 25-a là 25,9 mg/kg và đối với levetiracetam giá trị này được ước tính khoảng 345 mg/kg. Lặp lại nghiên cứu liều dùng-đáp ứng khi sử dụng đồng thời 10 mg/kg Hợp chất số 25-a (liều dùng của Hợp chất số 25-a mà nếu dùng đơn độc không có tác dụng bảo vệ trên mô hình 6 Hz 44mA). Việc sử dụng đồng thời 10 mg/kg Hợp chất số 25-a cho ED₅₀ với liều dùng-đáp ứng của levetiracetam là 4,9 mg/kg (thấp hơn ~70 lần so với levetiracetam đơn độc) và quan trọng là cho tác dụng bảo vệ hoàn toàn trên mô hình cơn động kinh 6Hz 44mA. Các kết quả này gợi ý là có tương tác dược lực học có lợi trên mô hình cơn động kinh 6Hz giữa Hợp chất số 25-a và levetiracetam.

Bảng 6: Xác định thời điểm cho tác dụng đỉnh (TPE) cho Hợp chất số 25-a trong thử nghiệm 6Hz (32mA). Sử dụng hai liều dùng trong nghiên cứu này, 10 và 20 mg/kg, ở một vài thời điểm khác nhau (0,25-4 giờ). Hợp chất này thể hiện mức độ bảo vệ lớn nhất trong thử nghiệm 6Hz trong khoảng 0,25 và 1 giờ, tác dụng này rõ rệt hơn ở liều dùng 20 mg/kg. Nồng độ trong huyết tương của hợp chất này nói chung tương ứng với khả năng bảo vệ cơn động kinh hành vi. TPE 0,25 giờ được sử dụng cho các nghiên cứu 6Hz (32 mA) trong khi đó cả hai thời điểm 0,25 và 1 giờ được sử dụng cho các nghiên cứu 6Hz (44mA)

s.c. là sử dụng dưới da

Liều dùng (mg/kg, dưới da)	Thời gian (giờ)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm	Nồng độ trong huyết tương trung bình của Hợp chất số 25-a (ng/mL)
10	0,25	2/4	0/4	10.983 (2.477)
	0,5	1/4	0/4	3.330
	1	1/4	1/4	700
	2	0/4	0/4	256
	4	0/4	0/4	40
20	0,25	4/4	0/4	4.095
	0,5	3/4	1/4	2.800
	1	4/4	1/4	1.765
	2	1/4	0/4	618

Liều dùng (mg/kg, dưới da)	Thời gian (giờ)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm	Nồng độ trong huyết tương trung bình của Hợp chất số 25-a (ng/mL)
	4	1/4	1/4	28

Nồng độ trung bình trong huyết tương thể hiện trong ngoặc đơn () được tính khi các số liệu thống kê ngoại lệ * bị loại bỏ.

Bảng 7: Các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng cho Hợp chất số 25-a trong thử nghiệm 6Hz (32 mA^a và 44 mA^b)

CI là khoảng độ tin cậy

Thử nghiệm	Liều dùng (mg/kg, dưới da)	# được bảo vệ/ # đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm	Nồng độ trong huyết tương trung bình của Hợp chất số 25-a (ng/mL)
6Hz 32 mA	20	8/8	0/8	5.570
	15	3/8	0/8	1.201
	10	4/8	0/8	6.113
	5	4/8	0/8	2.558
	1	1/8	0/8	466
ED ₅₀ (95% CI): 7,7 mg/kg (2,3 – 18,4)				
6Hz 44 mA	40	7/8	0/8	6.263
	30	3/8	0/8	7.220
	20	2/8	0/8	3.368
	10	0/8	0/8	4.345 (1.526)
	5	0/8	1/8	1.428
ED ₅₀ (95% CI): 29,1 mg/kg (21,6 – 39,6)				

^aThời điểm có tác dụng đỉnh trong thử nghiệm 6Hz 32mA đối với Hợp chất số 25-a được xác định là 0,25 giờ (xem Bảng 1).

^bThời điểm có tác dụng đỉnh trong thử nghiệm 6Hz 44 mA đối với Hợp chất số 25-a tương tự là 0,25 giờ và 1 giờ; các kết quả ở 1 giờ khẳng định ED₅₀ (95% CI) 25,9 (15,5 – 33,7) (xem Bảng 1 và Bảng 6).

Nồng độ trung bình trong huyết tương thể hiện trong ngoặc đơn () được tính khi các số liệu thống kê ngoại lệ * bị loại bỏ.

Bảng 8: Các nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 25-a với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA)

Thuốc	Liều dùng (mg/kg, dưới da)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
ED ₅₀ (95% CI): 345,4 mg/kg (211,0 - 485,3)			
LEV + Hợp chất số 25-a 10 mg/kg	200	8/8	1/8
	100	7/8	2/8
	50	5/8	1/8
	10	4/8	0/8
	1	4/8	1/8
ED ₅₀ (95% CI): 4,9 (0,0 – 14,2)			

Hợp chất số 25-a (dưới da) 10 mg/kg được thử nghiệm phối hợp với LEV (trong màng bụng) - Hợp chất số 25-a 10 mg/kg, không có hoạt tính khi sử dụng đơn độc.

2.2. Nghiên cứu phối hợp với Hợp chất số 2-a và Levetiracetam

Các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng được tiến hành trong các thử nghiệm 6 Hz 32 mA và 44mA (bảng 9 dưới đây) và trong thử nghiệm phối hợp với levetiracetam (tác dụng của Hợp chất số 2-a lên liều dùng-đáp ứng của LEV trong bảng 10a và tác dụng của LEV lên liều dùng-đáp ứng của Hợp chất số 2-a trong bảng 10b dưới đây) theo cách tương tự như đã mô tả cho các nghiên cứu với Hợp chất số 25-a và levetiracetam ở trên.

Bảng 9: Các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng đối với Hợp chất số 2-a trong thử nghiệm 6Hz (32 mA và 44 mA; TPE 0,5 giờ). Thời điểm tác dụng đỉnh 0,5 giờ được xác định trong thử nghiệm 32 mA 6 Hz (dưới da) và được sử dụng cho các nghiên cứu 6Hz (32 mA và 44 mA)

Thử nghiệm	Liều dùng (mg/kg, dưới da)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
6Hz 32 mA	40	8/8	2/8
	20	6/8	3/8
	10	4/8	0/8
	5	0/8	0/8
	2,5	0/8	1/8
ED ₅₀ (95% CI): 12,2 mg/kg (8,4 - 17,4)			
6Hz 44 mA	40	8/8	4/8
	20	3/8 3/8	0/8 0/8
	15	2/8	1/8
	10	0/8 0/8	1/8 0/8
ED ₅₀ (95% CI): 21,0 mg/kg (17,9 – 27,4) TD ₅₀ : > 40 mg/kg ^a			

^a40 mg/kg – 6 trên tổng số 16 con (gộp cả 32 mA và 44 mA) có tổn thương.

Liều dùng được lựa chọn cho các nghiên cứu phối hợp với LEV trong 6Hz (44mA): Hợp chất số 2-a 10 mg/kg.

Bảng 10a: Các nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 2-a với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA). Phối hợp 10 mg/kg Hợp chất số 2-a với các liều dùng khác nhau của levetiracetam

Thuốc	Liều dùng (mg/kg)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED ₅₀ (95% CI): 345,4 mg/kg (211,0 - 485,3)			
LEV + Hợp chất số 2-a 10 mg/kg ^a	200	6/8	1/8
	100	6/8	0/8

	50	6/8	0/8
	25	8/8	0/8
	12,5	5/8	0/8
	6,25	4/8	0/8
	3,125	3/8	1/8
	1,5625	0/8	0/8
LEV ED ₅₀ (95% CI): 9,6 mg/kg (1,7 – 21,9)			

^aHợp chất số 2-a (dưới da) 10 mg/kg được thử nghiệm phối hợp với LEV (trong màng bụng); Hợp chất số 2-a 10 mg/kg, không có hoạt tính khi sử dụng đơn độc.

Nhóm đối chứng LEV (liều dùng thấp) bổ sung được thử nghiệm ở 25 và 6,25 mg/kg (1/8 và 0/6 tương ứng được bảo vệ).

Chuột được điều trị bằng chất dẫn (0,5% methylxenluloza trong màng bụng (1 giờ) / 20% HPBCD dưới da (0,5 giờ)) không thể hiện tác dụng bảo vệ (0/8 được bảo vệ).

Bảng 10b: Các nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 2-a với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA). Phối hợp 350 mg/kg levetiracetam với các liều khác nhau của Hợp chất số 2-a

Thuốc	Liều dùng (mg/kg)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
LEV (đơn độc) ^a	350	3/8	0/8
LEV 350 mg/kg + Hợp chất số 2-a ^b	20	8/8	2/8
	10	7/8	1/8
	5	7/8	1/8
	2,5	5/8	0/8
	1,25	4/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI) của Hợp chất số 2-a trước đó: 21,0 mg/kg (17,9 – 27,4) ED ₅₀ (95% CI) của phối hợp LEV và Hợp chất số 2-a: 1,5 mg/kg (0,1 – 2,7) thay đổi ~14 lần về công hiệu			

^a ED₅₀ của LEV (được trình bày riêng) được xác định trước đó trong thử nghiệm 6Hz (44 mA): 345 mg/kg.

^bHợp chất số 2-a (dưới da) 10 mg/kg được thử nghiệm phối hợp với LEV (trong màng bụng); Hợp chất số 2-a 10 mg/kg, không có hoạt tính khi sử dụng đơn độc.

Nhóm đối chứng LEV (liều dùng thấp) bổ sung được thử nghiệm ở 25 và 6,25 mg/kg (1/8 và 0/6 tương ứng được bảo vệ).

Chuột được điều trị bằng chất dẫn (0,5% methylxenuloza trong màng bụng (1 giờ) / 20% HPBCD dưới da (0,5 giờ)) không thể hiện tác dụng bảo vệ (0/8 được bảo vệ).

Ở liều dùng 10 mg/kg dưới da, Hợp chất số 2-a gia tăng công hiệu của LEV, dẫn đến thay đổi khoảng 35 lần ED₅₀. Sự gia tăng này gợi ý có mối liên hệ dược lực học có lợi (Bảng 10a). Ở liều dùng 350 mg/kg trong màng bụng, LEV làm gia tăng công hiệu của Hợp chất số 2-a, dẫn đến thay đổi khoảng 14 lần ED₅₀. Sự gia tăng này gợi ý có mối liên hệ dược lực học có lợi (Bảng 10b).

VÍ DỤ 3 - Các nghiên cứu với hợp chất 6-b

3.1. Nghiên cứu phối hợp với Hợp chất số 6-b và Levetiracetam

Tiến hành các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng độc lập trong thử nghiệm 6 Hz 44mA cho cả hai hợp chất để xác định các giá trị ED₅₀ ở TPE 1 giờ trong màng bụng cho levetiracetam và 0,5 giờ qua đường miệng cho Hợp chất số 6-b. Giá trị ED₅₀ đối với Hợp chất số 6-b là 16,1 mg/kg và đối với levetiracetam giá trị này được ước tính khoảng 345 mg/kg. Lặp lại liều dùng-đáp ứng đối với levetiracetam với việc sử dụng đồng thời 10 mg/kg Hợp chất số 6-b (liều dùng của Hợp chất số 6-b mà đơn độc không có tác dụng bảo vệ trên mô hình 6 Hz 44mA). Sử dụng đồng thời 10 mg/kg Hợp chất số 6-b cho ED₅₀ với liều dùng-đáp ứng của levetiracetam là 2,4 mg/kg (thấp hơn ~100 lần so với levetiracetam đơn độc) và quan trọng là cho tác dụng bảo vệ hoàn toàn trên mô hình cơn động kinh 6Hz 44mA. Các kết quả này gợi ý là có tương tác dược lực học có lợi trên mô hình cơn động kinh 6Hz giữa Hợp chất số 6-b và levetiracetam.

Các kết quả của nghiên cứu đã tiến hành với hợp chất 6-b được trình bày trong các Bảng từ 11 đến 13 dưới đây.

Bảng 11: Xác định thời gian có tác dụng đỉnh cho Hợp chất số 6-b (qua đường miệng)
trong thử nghiệm 6HZ (32mA)

Liều dùng (mg/kg, qua đường miệng)	Thời gian (giờ)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
10	0,25	1/4	0/4
	0,5	3/4	0/4
	1	0/4	0/4
	2	1/4	0/4
	4	0/4	0/4
20	0,25	4/4	0/4
	0,5	3/4	0/4
	1	4/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	1/4	0/4

TPE đã xác định là 0,5 giờ.

Bảng 12: Nghiên cứu liều dùng-đáp ứng đối với Hợp chất số 6-b trong thử nghiệm
6Hz (32mA và 44mA; 0,5 giờ TPE)

Thử nghiệm	Liều dùng (mg/kg, qua đường miệng)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
6Hz 32mA	20	7/8	0/8
	10	6/8	0/8
	5	2/8	0/8
	2,5	1/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 7,2 mg/kg (4,2 – 11,8)			
6Hz 44mA	40	8/8	0/8
	20	6/8	0/8
	15	4/8	0/8
	10	0/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 16,1 mg/kg (13,0 – 20,1)			

Bảng 13: Các nghiên cứu phối hợp Hợp chất số 6-b với LEV trong thử nghiệm 6Hz (44mA)

Thuốc	Liều dùng (mg/kg)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod /# đã thử nghiệm
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
ED ₅₀ (95% CI): 345,4 mg/kg (211,0 – 485,3)			
LEV + Hợp chất số 6-b 10 mg/kg	200	8/8	0/8
	100	8/8	0/8
	50	5/8	0/8
	10	5/8	0/8
	1	5/8	0/8
ED ₅₀ (95% CI): 2,4 (0,0 – 6,4)			

Hợp chất số 6-b (qua đường miệng) 10 mg/kg được thử nghiệm phối hợp với LEV (trong màng bụng)

Hợp chất số 6-b 10 mg/kg, không có hoạt tính khi sử dụng đơn độc

VÍ DỤ 4 - Các nghiên cứu với hợp chất LY404039

3.1. Nghiên cứu phối hợp với LY404039 và Levetiracetam

LY-404039 được thử nghiệm đơn độc và phối hợp với levetiracetam theo quy trình đã đề cập trong bản mô tả này ở trên. Các kết quả của các nghiên cứu đã tiến hành với LY-404039 được nêu trong các Bảng từ 14 đến 15.

Bảng 14: Các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng đối với LY404039 trong thử nghiệm 6Hz (32 mA và 44 mA). Thời điểm có tác dụng đỉnh là 0,5 giờ được xác định trong thử nghiệm 32 mA 6 Hz (dưới da) và sử dụng cho các nghiên cứu 6Hz (32 mA và 44 mA)

Thử nghiệm	Liều dùng (mg/kg, dưới da)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
6Hz 32mA	40	8/8	1/8
	20	6/8	1/8
	10	5/8	0/8
	5	1/16	1/16
ED ₅₀ (95% CI): 10,9 mg/kg (7,8 – 15,9)			
6Hz 44mA	40	7/8	2/8
	20	7/8	1/8
	10	3/8	1/8
	5	0/16	0/16
ED ₅₀ (95% CI): 14,1 mg/kg (10,0 – 20,6) TD ₅₀ : > 40 mg/kg ^a			

^a40 mg/kg – 3 trên tổng số 16 (gộp 32 mA và 44 mA) có tổn thương.

Lưu ý: không nhận thấy có hoạt tính sau khi sử dụng chất dẫn trong thử nghiệm 32 hoặc 44 mA.

Liều dùng được lựa chọn cho các nghiên cứu phối hợp với LEV trong thử nghiệm 6Hz (44 mA): LY404039 5 mg/kg.

Bảng 15: Các nghiên cứu phối hợp LY404039 với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA)

Thuốc	Liều dùng (mg/kg)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
LEV ^a	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED ₅₀ (95% CI): 345,4 mg/kg (211,0 – 485,3)			
LEV + LY404039 5 mg/kg ^b	200	8/8	0/8
	50	6/8	1/8
	20	6/8	2/8
	5	2/8	1/8

LEV ED ₅₀ (95% CI): 12,8 mg/kg (2,5 – 25,2)
--

^aLEV đơn độc đã trình bày ở trên, các liều dùng xác nhận được tiến hành phối hợp với Hợp chất số 2-a (xem bảng ở trên).

^bLY404039 (dưới da) 5 mg/kg được thử nghiệm phối hợp với LEV (trong màng bụng); LY404039 5 mg/kg không có hoạt tính khi sử dụng đơn độc.

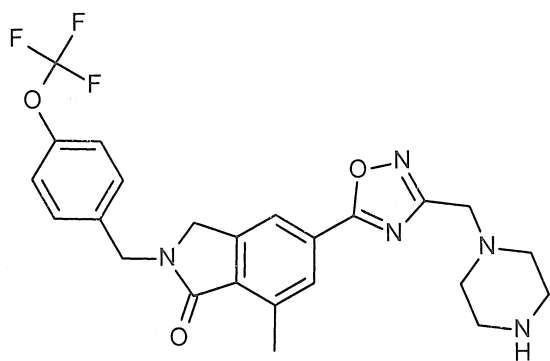
Nhóm đối chứng LEV (liều dùng thấp) bổ sung được thử nghiệm ở 25 và 6,25 mg/kg (1/8 và 0/6 tương ứng được bảo vệ).

Chuột được điều trị bằng chất dẫn (10% nước vô trùng– NaCl, dưới da, 0,5 giờ TPE và 0,5% MC, trong màng bụng, 1 giờ TPE) không thể hiện tác dụng bảo vệ hoặc không có tổn thương rotarod.

Ở liều dùng 5 mg/kg LY404039 làm gia tăng công hiệu của LEV, dẫn đến thay đổi khoảng 27 lần ED₅₀. Sự gia tăng này gợi ý có mối liên hệ dược lực học có lợi.

VÍ DỤ 4 - Nghiên cứu với hợp chất CAS 1092453-15-0

4.1. Nghiên cứu phối hợp với 2,3-dihydro-7-metyl-5-[3-(1-piperazinylmetyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-2-[[4-(triflometoxy)phenyl]metyl]-1H-isoindol-1-on [CAS 1092453-15-0] (được mô tả trong WO 2008150233, WO 2011084098) và Levetiracetam



CAS 1092453-15-0 được thử nghiệm đơn độc và phối hợp với với levetiracetam theo quy trình đã đề cập ở trên. Các kết quả của ví dụ 5 được trình bày trong các Bảng 16 - Bảng 17.

Bảng 16: Các nghiên cứu liều dùng-đáp ứng đối với CAS 1092453-15-0 trong thử nghiệm 6Hz (32 mA)

Liều dùng (mg/kg, dưới da)	Thời gian (giờ)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
20	0,25	1/4	0/4
	0,5	0/4	0/4
	1	1/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	0/4	0/4
40	0,25	1/4	0/4
	0,5	1/4	0/4
	1	1/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	0/4	0/4
80	0,25	0/4	0/4
	0,5	0/4	0/4
	1	1/4	1/4

Nhận thấy có hoạt tính thấp ở các liều dùng và các thời điểm thử nghiệm. Hoạt tính tối đa ở 0,25-1 giờ ở các liều dùng đã thử nghiệm. Tiến hành các nghiên cứu phối hợp bằng cách sử dụng 20 mg/kg, dưới da, TPE 1 giờ trong thử nghiệm 6Hz (44 mA).

Bảng 17: Các nghiên cứu phối hợp CAS 1092453-15-0 với levetiracetam (LEV) trong thử nghiệm 6Hz (44 mA)

Thuốc	Liều dùng LEV (mg/kg)	# được bảo vệ/# đã thử nghiệm	# tổn thương vận động rotarod/# đã thử nghiệm
LEV ^a	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED ₅₀ (95% CI): 345,4 mg/kg (211,0 – 485,3)			
[CAS 1092453-15-0] (20)		0/8	0/8

mg/kg, đơn độc)			
LEV + [CAS 1092453-15-0] 20 mg/kg ^b	400	4/8	0/8
	200	5/8	0/8
	50	3/8	0/8
	20	2/8	0/8
	5	1/8	1/8
LEV ED ₅₀ (95% CI): 238,9 mg/kg (41,6 – cao hơn liều dùng tối đa đã thử nghiệm)			

^aCác nhóm đối chứng LEV (liều dùng thấp) bổ sung được thử nghiệm ở 25 và 6,25 mg/kg (1/8 và 0/6 tương ứng được bảo vệ).

^b[CAS 1092453-15-0] 20 mg/kg (dưới da; TPE 1 giờ) được thử nghiệm phối hợp với LEV (trong màng bụng; TPE 1 giờ); [CAS 1092453-15-0] 20 mg/kg thể hiện hoạt tính thấp khi sử dụng đơn độc (6Hz, 32 mA), và không được thử nghiệm trong thử nghiệm 6Hz (44mA). Hợp chất này có EC₅₀ *in vitro* = 562 nM (E_{max} = 197%) khi thử nghiệm trong thử nghiệm GTPγS được đề cập trong bản mô tả này ở trên và không nhận thấy gắn kết thụ thể này trong thử nghiệm *ex vivo* ở chuột cống.

Lưu ý: Các con chuột được điều trị bằng chất dẫn (10% HPβCD-NaCl, dưới da, 1 giờ và 0,5% MC, trong màng bụng, 1 giờ) không thể hiện tác dụng bảo vệ hoặc có tổn thương vận động, N=8.

Bộ dữ liệu này chỉ ra là các phân tử chủ vận hoặc PAM mGlu2 có hoạt tính chống động kinh trên mô hình 6Hz ở động vật. Các PAM mGlu2 đã thử nghiệm với độ công hiệu EC₅₀ ≤150 nM (như được xác định trong thử nghiệm [³⁵S]GTPγS), các thông số dược động học (PK) thích hợp và đi qua hàng rào máu não, thể hiện hoạt tính trong cả hai thử nghiệm 6Hz 32 mA và 44 mA. Hơn nữa, tất cả các phân tử thử nghiệm thể hiện tác dụng hiệp đồng với LEV. Trái lại, phân tử CAS 1092453-15-0, chỉ có hoạt tính yếu (EC₅₀ 562 nM) *in vitro*, không thể hiện hoạt tính trong các thử nghiệm 6Hz, và cũng không thể hiện sự hiệp đồng với LEV.

Quan trọng là, các dữ liệu chỉ ra rằng, trong các điều kiện các đặc tính PK tương đương và đi qua hàng rào máu não thích hợp, các PAM mGlu2 công hiệu nhất, dựa trên các giá trị EC₅₀ *in vitro*, dường như cũng có tác dụng *in vivo* mạnh nhất, điều này gợi ý

là độ công hiệu *in vitro* và *in vivo* có liên quan với nhau. Ngoài ra, các tác dụng hiệp đồng với LEV được nhận thấy với các liều dùng của PAM mGlu2 tương tự như ED₅₀ thu được trên mô hình 32 mA hoặc thấp hơn ít nhất 2 lần so với ED₅₀ được xác định trong mẫu 44 mA (nghĩa là liều dùng không có hoạt tính trong thử nghiệm 44mA khi các phân tử được thử nghiệm đơn độc).

Cũng đối với LY404039, chất chủ vận mGlu2/3, nhận thấy có hoạt tính trong cả hai thử nghiệm 6Hz và có hiệp đồng ở liều dùng thấp hơn 3 lần so với ED₅₀ được xác định trên mô hình 44 mA, mà không có hoạt tính khi thử nghiệm đơn độc.

Dựa trên các dữ liệu tiền lâm sàng sẵn có trên mô hình 6Hz 44mA, dường như là phối hợp phối tử SV2A tác dụng mạnh và PAM mGlu2 tác dụng mạnh, dẫn đến giảm liều dùng hữu hiệu trung vị hoặc ED₅₀ của phối tử SV2A, như LEV, trong khoảng từ 35 đến 100 lần.

Do đó, không ràng buộc theo lý thuyết bất kỳ, các tác giả gợi ý là chất điều biến biến cấu dương của các hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (mGluR2 PAM), cụ thể là các hợp chất PAM mGluR2 có EC₅₀ công hiệu ≤ 150 nM (như được xác định trong thử nghiệm [³⁵S]GTP γ S), trong đó EC₅₀ là nồng độ cho tác dụng bán tối đa trên đường cong đồ thị nồng độ-đáp ứng thu được với sự có mặt của EC₂₀ của glutamat, và các thông số PK và đi qua hàng rào máu não, dẫn đến sự phối hợp hiệp đồng với phối tử SV2A, cụ thể là levetiracetam, ở các liều dùng không có hiệu quả của một hoặc cả hai hợp chất (a) và hợp chất (b) của chế phẩm phối hợp theo sáng chế.

Do đó, theo phương án khác, chất điều biến biến cấu dương của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (mGluR2 PAM) của chế phẩm phối hợp theo sáng chế như được xác định trong bản mô tả này được chọn từ hợp chất PAM mGluR2 có EC₅₀ công hiệu ≤ 150 nM (như được xác định trong thử nghiệm [³⁵S]GTP γ S), trong đó EC₅₀ là nồng độ cho tác dụng bán tối đa trên đường cong đồ thị nồng độ-đáp ứng thu được với sự có mặt của EC₂₀ của glutamat.

Các ví dụ dự đoán

A) Mỗi liên hệ chi phối-phục tùng (DSR) ở chuột cống trong thử nghiệm *in vivo*

Thử nghiệm DSR được chia thành hai mô hình: Mô hình Giảm Hành vi Chi phối (RDBM) của chứng hưng cảm và Mô hình Giảm Hành vi Phục tùng (RSBM) của chứng

trầm cảm. RDBM, trong đó các con chuột chỉ phổi được điều trị bằng hợp chất thử nghiệm, có thể dự đoán khả năng điều trị chứng hưng cảm của hợp chất thử nghiệm. RSBM, trong đó các con chuột phục tùng được điều trị bằng hợp chất thử nghiệm, có thể dự đoán khả năng điều trị chứng trầm cảm của hợp chất thử nghiệm.

Chuột Sprague Dawley giống đực (140 đến 160g) của Charles River Laboratories Wilmington, MA được sử dụng trong thử nghiệm này. Các lô chuột được tiếp nhận cách quãng 2 tuần. Mỗi lô chuột sẽ có 5 ngày kiểm dịch, thời gian 1 tuần để làm quen và 1 tuần cho quá trình chọn lọc, tiếp đó là 5 tuần điều trị bằng thuốc hoặc chất dẫn cho các cặp chuột đã được chọn lọc.

Nhốt 4 con/lồng. Hạn chế tiếp cận thức ăn 1 giờ/ngày sau khi thử nghiệm vào ngày Thứ Hai cho đến ngày Thứ Năm. Sau khi thử nghiệm vào ngày Thứ Sáu, các con chuột được tiếp cận thức ăn tự do cho đến khi bắt nhịn ăn vào Chủ Nhật. Nước uống luôn luôn được cung cấp thoải mái. Giai đoạn không cho ăn sẽ có tác động rất ít đến sự tăng cân của các con chuột do trọng lượng trung bình của chuột sẽ là khoảng 300g cho đến khi kết thúc thử nghiệm. Khi thử nghiệm xong, các con chuột sẽ bị giết bằng cách chặt đầu, lấy mẫu máu thân và não cho các thử nghiệm in vitro và xác định nồng độ thuốc.

Công cụ thử nghiệm cơ bản bao gồm hai lồng được nối với nhau bằng đường hầm chỉ đủ lớn cho một con chuột đi qua ở một thời điểm. Ở giữa đường hầm này sẽ có một khay đựng sữa có đường. Công cụ cơ bản này sẽ có nhiều bộ giống nhau, sao cho tổng số 4 cặp chuột có thể theo dõi hình ảnh đồng thời. Camera có thể phân biệt các con chuột có đánh dấu bằng các màu khác nhau. Do đó, đầu các con chuột sẽ được đánh dấu màu để theo dõi bằng hình ảnh, đỏ ở một lồng và vàng ở lồng phía bên kia. Chỉ một con chuột ở một thời điểm có thể tiếp cận dễ dàng đến khay thức ăn, nhưng cả hai con chuột có thể uống sữa trong thời gian 5 phút/ngày. Trong các khoảng thời gian 5 phút này, thời gian chuột lưu lại khu vực để khay thức ăn sẽ được ghi lại bằng phần mềm theo dõi qua hình ảnh và lưu lại dưới dạng tệp ký tự.

Thử nghiệm sẽ bắt đầu bằng cách phân bổ ngẫu nhiên các con chuột thành từng cặp. Mỗi con chuột của cặp đôi sẽ được cho vào lồng đối diện của công cụ thử nghiệm.

Thời gian mỗi con chuột lưu lại khu vực khay thức ăn sẽ được ghi lại. Trong tuần đầu tiên (năm ngày) thử nghiệm, các con chuột được cho làm quen với môi trường mới. Đặc tính chi phổi sẽ được quy cho con chuột có điểm đánh giá cao nhất trong tuần thứ hai của thử nghiệm nếu đáp ứng ba tiêu chí. Một là, cần phải có sự khác biệt đáng kể (kiểm định-t hai đuôi, $P < 0,05$) giữa điểm đánh giá việc ăn uống hằng ngày trung bình của cả hai con chuột. Hai là, điểm đánh giá con chi phổi cần phải lớn hơn ít nhất 25% so với điểm đánh giá của con phục tùng. Ba là, không được có “nửa phiên” trong tuần chọn lọc cặp đôi, trong đó chuột phục tùng giả định ghi điểm cao hơn chuột đối tác chi phổi ở các thời điểm cách biệt. Lý tưởng là sẽ có hiện tượng nửa phiên trong tuần làm quen. Chỉ các cặp chuột đáp ứng các tiêu chí này sẽ được tiếp tục trong nghiên cứu này.

Sự chênh lệch đáng kể giữa thời gian lưu lại khay thức ăn của con chuột chi phổi và phục tùng sẽ được xác định bằng ANOVA có sử dụng phần mềm GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA) tiếp đó là kiểm định-t hai đuôi ($P < 0,05$). Tiến hành so sánh giữa các nhóm điều trị bằng cách sử dụng các giá trị mức chi phổi đã chuẩn hoá ở các con chuột đã ghép cặp. Mức chi phổi là giá trị xác định mối liên hệ xã hội giữa các đối tượng ghép cặp. Mức chi phổi (DL) = FTD–FTS trong đó FTD là thời gian lưu lại khay thức ăn của chuột chi phổi và FTS là thời gian lưu lại khay thức ăn của chuột phục tùng. Tiến hành chuẩn hoá theo công thức:

$$\text{Mức chi phổi (tuần n theo \%)} = (\text{Mức chi phổi (tuần n)}) / (\text{Mức chi phổi (tuần 2)})$$

Ý nghĩa thống kê của sự chênh lệch mức chi phổi giữa nhóm đối chứng (các cặp chuột mà trong đó cả con chi phổi và phục tùng được điều trị bằng chất dẫn) và nhóm điều trị (các con chuột phục tùng sẽ được điều trị bằng thuốc và các con chuột chi phổi bằng chất dẫn) sẽ được xác định bằng ANOVA, tiếp đó là kiểm định-t. Giá trị thời điểm khởi đầu hoạt tính ở 50% mức đáp ứng (AOT-50) và đáp ứng tối thiểu và đáp ứng tối đa đối với thuốc sẽ được tính toán dựa trên mức giảm giá trị mức chi phổi bằng cách sử dụng phân tích hồi quy không tuyến tính (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Các giá trị DL đã chuẩn hoá sẽ được sử dụng cho việc tính toán này, trong đó các giá trị DL cho các tuần điều trị sẽ được chuẩn hoá là % của giá trị tuần thứ hai (trước khi điều trị) của cặp đó theo công thức nêu trên. Trong điều kiện này, mức đáp ứng tối thiểu (DL)

xác định có hoạt tính dương, tương ứng với hiệu lực, do các giá trị DL sẽ giảm đi nếu có đáp ứng với thuốc. Trong trường hợp không có đáp ứng với thuốc (các triệu chứng nặng thêm) các giá trị DL sẽ giảm đi. Nếu thuốc không có hoạt tính này, mức đáp ứng tối đa sẽ không vượt quá 100%. Giá trị DL tối đa bất kỳ cao hơn đáng kể so với giá trị đối chứng (khoảng 100%) cho thấy là thuốc có hoạt tính âm.

Levetiracetam và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 (ví dụ các hợp chất 2, 2-a, 25-a, 6-b hoặc LY-404039) sẽ được đánh giá trong RDBM ở chuột theo quy trình được mô tả chi tiết dưới đây.

Các nhóm các con chuột chi phối sẽ được điều trị qua đường miệng QD với levetiracetam 10 mg/kg và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 ở các nồng độ khác nhau từ khoảng 0,05 mg/kg ($n \geq 3$), ở 0,5 mg/kg ($n \geq 3$), ở 2,5 mg/kg ($n \geq 3$), ở 5,0 mg/kg ($n \geq 3$) và ở 50,0 mg/kg ($n \geq 3$). Nhóm đối chứng chất dẫn gồm các con chuột chi phối sẽ được điều trị bằng 0,5% methylxenuloza ($n \geq 3$) và nhóm đối chứng thứ hai gồm các con chuột chi phối sẽ được điều trị bằng natri valproat trong màng bụng QD ở liều 30 mg/kg ($n \geq 6$ từ 2 nghiên cứu có $n \geq 3$).

Việc điều trị sẽ được tiến hành khoảng 1 giờ trước khi thử nghiệm. Tất cả bắt đầu điều trị vào ngày Thứ Bảy sau tuần thử nghiệm thứ hai (tuần chọn lọc). Levetiracetam và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 sẽ được sử dụng qua đường miệng.

Khi các con chuột chi phối được điều trị bằng levetiracetam 10mg/kg và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 sẽ không còn khác biệt giữa các con chuột chi phối và các con chuột phục tùng sau tuần điều trị đầu tiên hoặc thứ hai tùy thuộc vào liều lượng. Tương tự, khi các con chuột chi phối được điều trị bằng natri valproat, sẽ không còn khác biệt giữa các con chuột chi phối và các con chuột phục tùng sau tuần điều trị đầu tiên. Sự quy thuận của các con chuột chi phối được điều trị bằng levetiracetam và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 hoặc natri valproat có thể nhận thấy là có gia tăng. Do đó, các con chuột chi phối được điều trị sẽ cho phép các con đối tác phục tùng của chúng có nhiều thời gian ở khay thức ăn hơn.

Để so sánh tác dụng khác nhau do thuốc và liều dùng, các dữ liệu sẽ được chuẩn hoá theo các giá trị của tuần đối chứng ban đầu. Tác dụng mạnh nhất của chế phẩm phối

hợp levetiracetam và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 sẽ được nhận thấy nếu có sự khác biệt đáng kể về các giá trị mức chi phối (DL) giữa chuột được điều trị bằng chất dẫn và chế phẩm phối hợp bắt đầu từ tuần thứ hai và tiếp tục trong suốt thời gian điều trị 5 tuần. Để so sánh, các con chuột sẽ được điều trị bằng natri valproat (30 mg/kg) sẽ ổn định cho thấy mức chi phối giảm đi sau tuần điều trị thứ hai với tác dụng này gia tăng trong các tuần tiếp theo.

Để ước tính thời điểm bắt đầu có hoạt tính (AOT), các giá trị trung bình hằng ngày cho thời gian lưu lại khay thức ăn của các cặp chuột chi phối và phục tùng sẽ được vẽ đồ thị và sự chênh lệch đáng kể giữa hai nhóm chuột ngày sẽ được tính toán bằng cách sử dụng kiểm định-t hai đuôi.

Để so sánh thời điểm bắt đầu có hoạt tính (AOT) giữa các cách điều trị khác nhau, thời điểm bắt đầu có hoạt tính sẽ được ước tính từ việc khớp dữ liệu hồi quy không tuyến tính. Mô hình hồi quy không tuyến tính sẽ được lập cho mỗi thuốc, chế phẩm phối hợp và các giá trị DL hằng ngày đã chuẩn hoá theo liều dùng.

Tác dụng của levetiracetam và hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 trên RDBM được cho là phụ thuộc liều dùng.

Trong thử nghiệm này, chế phẩm phối hợp của levetiracetam và các hợp chất PAM/chủ vận mGlu2 được cho là làm giảm hành vi chi phối, điều này chỉ ra là chế phẩm phối hợp có hoạt tính chống hưng cảm.

B) Viên nén dùng qua đường miệng

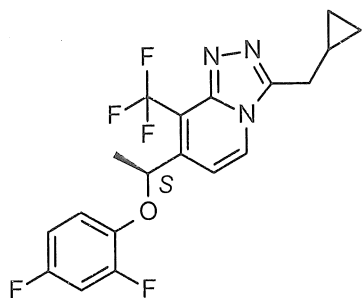
Theo một phương án cụ thể của chế phẩm dùng qua đường miệng, 100 mg hợp chất chủ vận/PAM mGluR2 được bào chế với lactoza chia đủ mịn để cho lượng tổng cộng từ 580 đến 590 mg để đóng vào nang gel cứng cỡ O.

Phần mô tả trên đây đề cập đến các nguyên lý của sáng chế, với các ví dụ chỉ nhằm để minh hoạ, nên hiểu là sáng chế sẽ bao gồm tất cả các phương án thay đổi, thích ứng và/hoặc cải biến trong phạm vi các yêu cầu bảo hộ kèm theo và các phương án tương đương của chúng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

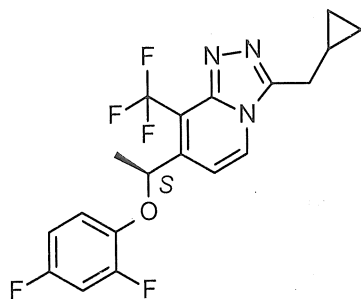
1. Chế phẩm phối hợp bao gồm:

- (a) phối tử protein túi synap 2A (“SV2A”) được chọn từ nhóm gồm levetiracetam, brivaracetam và seletiracetam; và
- (b) chất điều biến biến cấu dương (“PAM”) của hợp chất thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 (“mGluR2”) có công thức:



, hoặc muối được dụng hoặc solvat của nó.

2. Chế phẩm phối hợp theo điểm 1, trong đó chất điều biến biến cấu dương thuộc phân nhóm thụ thể glutamat hướng chuyển hoá 2 là:



, hoặc muối hydroclorua của nó.

- Chế phẩm phối hợp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó phối tử SV2A là levetiracetam.
- Chế phẩm phối hợp theo điểm 1 hoặc 2, trong đó phối tử SV2A là brivaracetam.
- Dược phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, và chất mang được dụng.
- Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này được bào chế dưới dạng dược phẩm phối hợp.
- Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này được bào chế dưới dạng dược phẩm riêng rẽ.

8. Quy trình bào chế dược phẩm theo điểm 5 hoặc 6, trong đó chế phẩm phối hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 được trộn kỹ với chất mang dược dụng.

9. Sản phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, dưới dạng chế phẩm phối hợp để sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp nhằm điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh và các chứng rối loạn có liên quan; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc; chứng rối loạn lưỡng cực và các chứng rối loạn có liên quan.

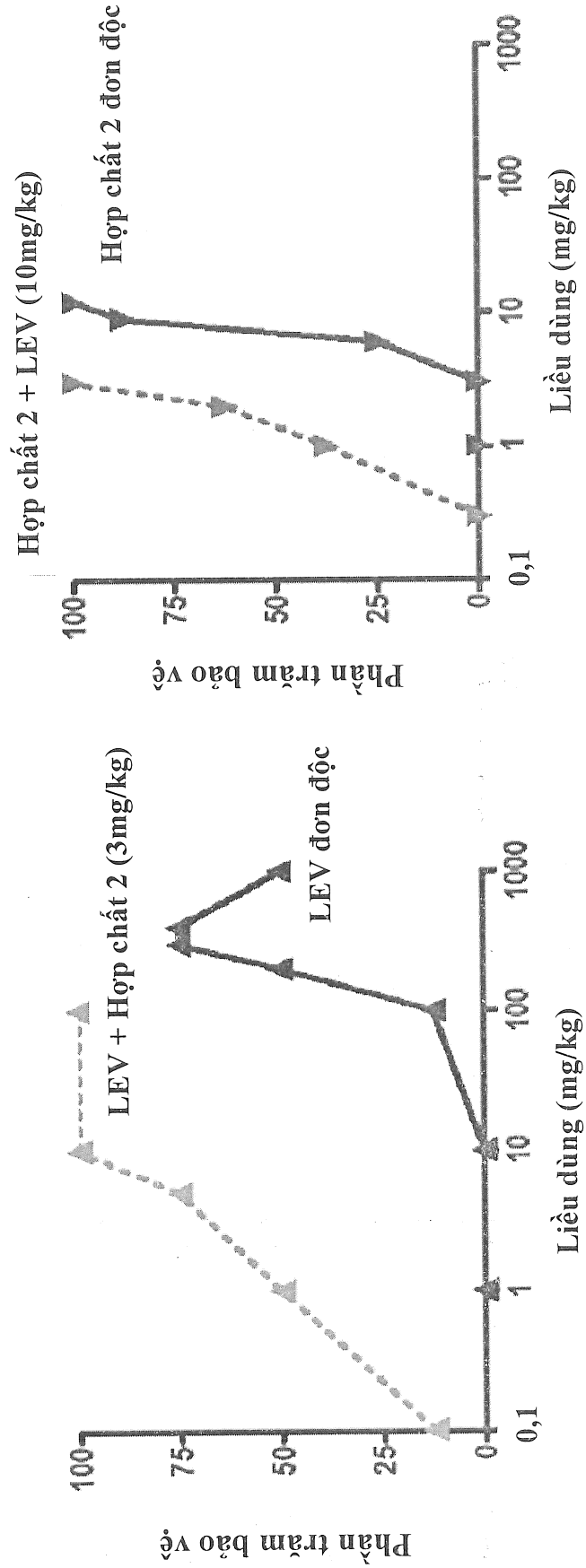
10. Dược phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 kèm theo hướng dẫn sử dụng, để sử dụng chúng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp nhằm điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc lưỡng cực; và các chứng rối loạn có liên quan.

11. Thương phẩm bao gồm chế phẩm phối hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 kèm theo hướng dẫn sử dụng, để sử dụng chúng đồng thời, riêng rẽ hoặc kế tiếp nhằm điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh động kinh; cơn đau thần kinh; bệnh nhức nửa đầu hoặc bệnh đau đầu kháng thuốc lưỡng cực; và các chứng rối loạn có liên quan.

FIG. 1

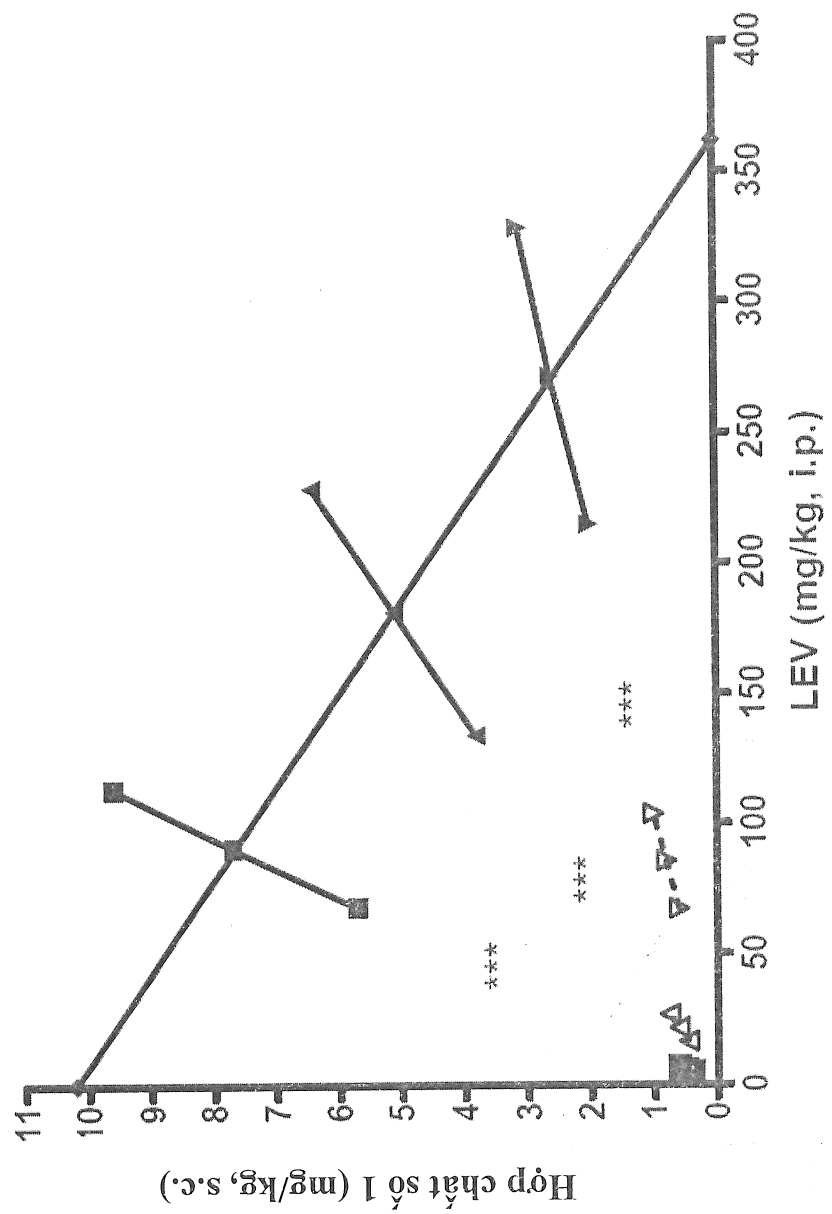
Hợp chất số 2 làm gia tăng công hiệu và hiệu lực của
levetiracetam trong thử nghiệm 6 Hz (44 mA)

Hợp chất số 2 làm gia tăng công hiệu của Hợp chất số 2
trong thử nghiệm 6 Hz (44 mA)



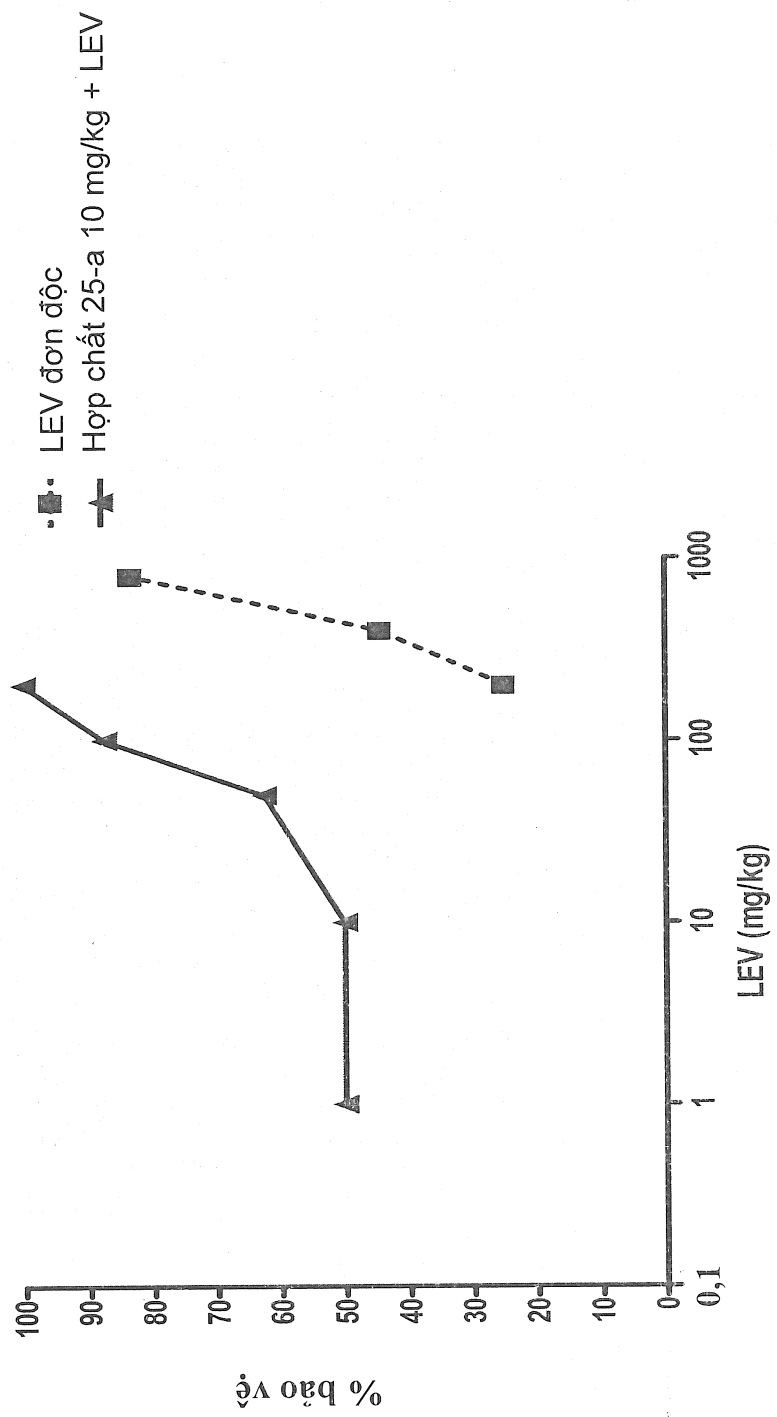
2/6

FIG. 2



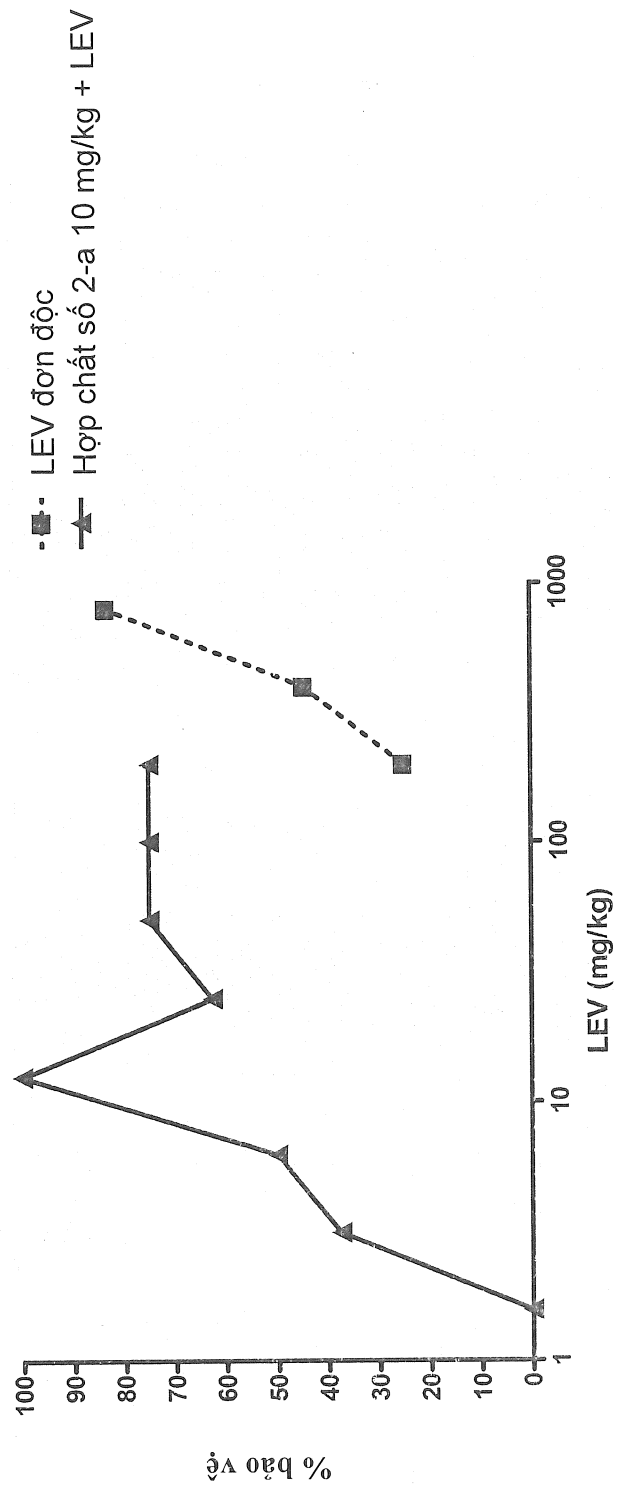
3/6

FIG. 3



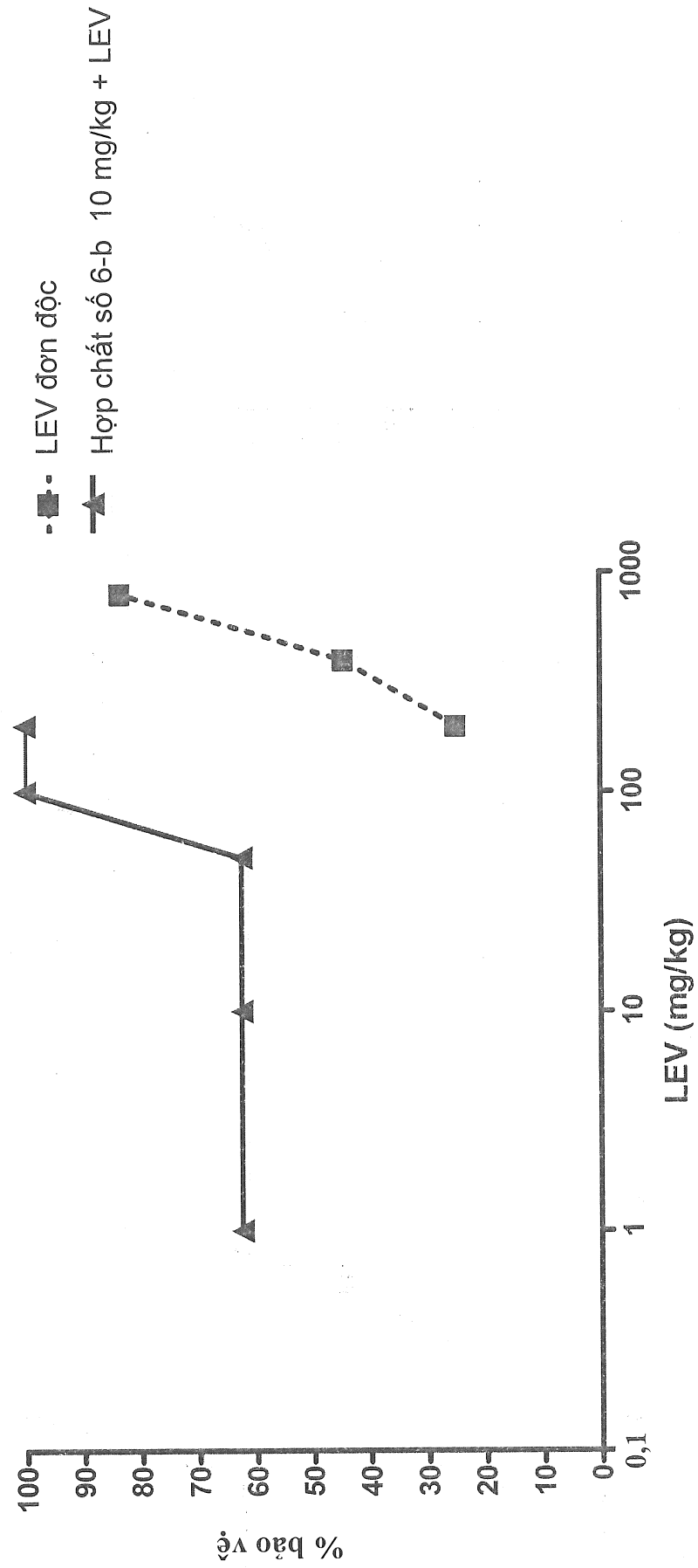
4/6

FIG. 4



5/6

FIG. 5



6/6

FIG. 6

