



- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07D 207/416; A61K 31/4015; A61P 1/16 (13) B



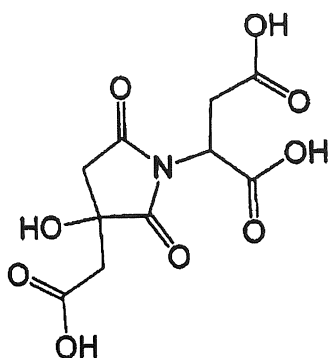
1-0047494

-
- (21) 1-2019-05592 (22) 23/04/2018
(86) PCT/JP2018/016495 23/04/2018 (87) WO 2018/199040 01/11/2018
(30) 2017-089725 28/04/2017 JP
(45) 25/06/2025 447 (43) 30/01/2020 382A
(73) OTSUKA PHARMACEUTICAL FACTORY, INC. (JP)
115, Aza Kuguhara, Tateiwa, Muya-cho, Naruto-shi, Tokushima 7728601, Japan
(72) HIRAISHI, Katsuya (JP); SOMA, Hiroyuki (JP); JIMMA, Fumie (JP); ADACHI,
Taro (JP); YAMAOKA, Ippei (JP); ENDO, Naoyuki (JP).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

- (54) HỢP CHẤT Ở DẠNG TINH THỂ HOẶC HỢP CHẤT Ở DẠNG CHẤT ĐỒNG
PHÂN KHÔNG ĐỐI QUANG KHÔNG KẾT TINH CỦA DẪN XUẤT AXIT
XITRIC VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2019-05592

(57) Bằng cách sử dụng sắc ký cột trao đổi ion hoặc canxi cacbonat cho dung dịch nước chứa hợp chất A được thể hiện bằng công thức hóa học sau đây và axit xitric, axit xitric trong dung dịch nước được loại bỏ và hợp chất A dạng tinh thể thu được bằng cách đưa vào một số bước sau đó. Ngoài ra, hợp chất A dạng không kết tinh có độ tinh khiết cao thu được bằng cách sử dụng canxi cacbonat, axit sulfuric, dung môi hữu cơ và hợp chất tương tự cho dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric để tách axit xitric và hợp chất A dạng tinh thể trong dung dịch này. Cấu hình của hợp chất A dạng tinh thể là chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS. Cấu hình của hợp chất A dạng không kết tinh là chất đồng phân SR.



(A)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất dạng tinh thể của dẫn xuất axit xitric có tác dụng ức chế rối loạn gan, chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh tinh khiết cao (chất đồng phân không đối quang vô định hình) của nó, và quy trình sản xuất chúng.

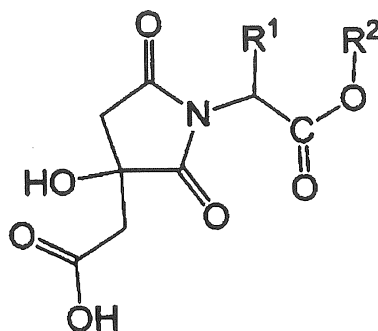
Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Mơ Nhật (ume)(tên khoa học: *Prunus mume*) thuộc phân chi *Prunus* của chi *Prunus* của phân họ *Amygdaloideae* của họ *Rosaceae*, và được ăn ở dạng sản phẩm mơ đã xử lý như mơ ngâm muối, rượu mơ và dịch chiết từ phần thịt của quả mơ. Ngoài ra, dịch chiết từ phần thịt của quả mơ có tác dụng chống nhiễm trùng, phục hồi trạng thái mệt mỏi, bảo vệ dạ dày và tương tự, và được ăn vì sức khỏe. Ngoài ra, dịch chiết từ phần thịt của quả mơ được biết là có tác dụng cải thiện dòng máu (xem tài liệu phi sáng chế 1 và 2). Tác dụng cải thiện dòng máu được biết là được gây ra bởi Mume-fural và các hợp chất liên quan của nó được tạo ra bằng cách gia nhiệt axit hữu cơ như axit xitric hoặc axit malic có trong dịch chiết từ thịt quả mơ cùng với đường, (tài liệu phi sáng chế 3).

Misatol(R) đã có trên thị trường ở dạng một trong các thực phẩm tốt cho sức khỏe chứa dịch chiết từ thịt quả mơ, và được biết là có tác dụng gây ra sự tự thực bào, và tác dụng ức chế rối loạn gan ở bệnh nhân bị viêm gan do virus (tài liệu sáng chế 1 và 2).

Đã phát hiện ra là hợp chất trong đó hai nhóm carboxyl được liên kết với cacbon ở vị trí 1 (hoặc cacbon ở vị trí 3) và cacbon ở vị trí 2 của mạch propan, mà là mạch cacbon của axit xitric (danh pháp IUPAC: axit 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylic), tạo ra liên kết imit với nhóm amino của axit amin cụ thể; và hợp chất amit, thu được bằng phản ứng thủy phân hợp chất imit, của axit amin này và nhóm carboxyl được liên kết với cacbon ở vị trí số 1 (hoặc cacbon ở vị trí số 3) của mạch propan thu được từ axit xitric là các hoạt chất có tác dụng ức chế rối loạn gan.

Sáng chế đề xuất, dựa trên phát hiện trên đây, dẫn xuất của axit xitric chứa hợp chất được thể hiện bằng công thức sau đây, và quy trình tổng hợp hợp chất này (PCT/JP2016/004789).



(Trong công thức này, R¹ là nhóm C1 đến C3 alkyl tùy ý có nhóm carboxyl hoặc nhóm hydroxyl, và R² là nguyên tử hydro; hoặc R¹ và R² tùy ý cùng nhau tạo ra cấu trúc vòng và là mạch C2 đến C3 alkylen).

Tuy nhiên, vì dẫn xuất axit xitric được thể hiện bằng công thức hóa học trên đây có hai nguyên tử cacbon bất đối, nên có tồn tại bốn chất đồng phân lập thể. Tuy nhiên, để tách và thu được các chất đồng phân lập thể có cấu trúc tương tự này, nhiều cột giá thành cao có khả năng tách cao cần phải được kết hợp và quy trình tách phải được lặp lại nhiều lần, và điều này có nghĩa là chỉ có thể thu được các lượng nhỏ sản phẩm tách phụ thuộc vào cỡ cột và đòi hỏi chi phí cao. Vẫn chưa tạo ra được công nghệ tách và tinh chế cao các chất đồng phân lập thể này ở các lượng lớn và không đắt tiền.

Tài liệu đối chứng

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Patent Nhật số 4842624

Tài liệu sáng chế 2: Patent Nhật số 5577129

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: J. Agric, FoodChem., 1999, 47, 828-31

Tài liệu phi sáng chế 2: Journal of Hemorheology Research 1, 65-67, 1998

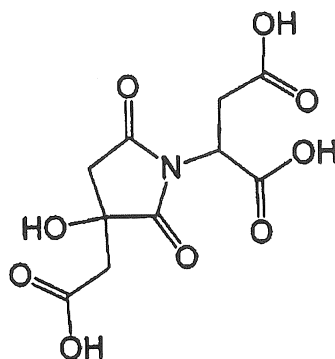
Tài liệu phi sáng chế 3: Journal of Hemorheology Research 3, 81-88, 2000

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất phương pháp tách hợp chất là chất đồng phân không đối quang dạng tinh thể từ hỗn hợp chất đồng phân không đối quang của dẫn xuất axit xitric, mà là một trong số dẫn xuất axit xitric được thể hiện bằng công thức hóa học trên đây, được thể hiện bằng công thức sau đây thu được bằng phản ứng của axit xitric

với axit L-aspartic, với lượng lớn của nó bằng cách sử dụng các phương tiện rẻ tiền, và phương pháp tinh chế chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh từ hỗn hợp chất đồng phân không đối quang, có độ tinh khiết cao với lượng lớn bằng cách sử dụng các phương tiện rẻ tiền.



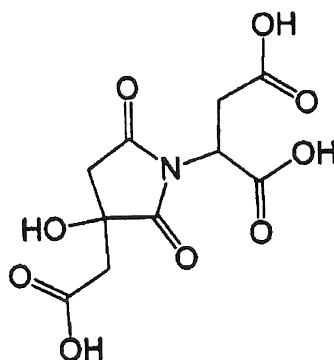
Cách thức thực hiện sáng chế

Từ nghiên cứu và thử nghiệm toàn diện để thực hiện mục đích trên đây, tác giả sáng chế đã phát hiện ra là tinh thể của hợp chất được thể hiện bằng công thức trên đây có thể thu được bằng cách kết hợp các bước cụ thể. Tác giả sáng chế cũng đã phát hiện ra là muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất này có thể được kết tủa bằng cách kết hợp các bước cụ thể. Các tác giả sáng chế cũng xác định được cấu trúc của chất đồng phân không đối quang dạng tinh thể của hợp chất được thể hiện bằng công thức trên đây bằng phân tích cấu trúc sử dụng kỹ thuật đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn.

Sáng chế được hoàn thiện dựa trên các phát hiện này.

Nghĩa là, sáng chế là như sau.

[1] Tinh thể của hợp chất được thể hiện bằng công thức (A) sau đây (sau đây, được gọi là hợp chất A).



[2] Tinh thể theo điểm [1], có cấu trúc không gian của chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

[3] Tinh thể theo điểm [1] hoặc [2], có pic của các góc nhiễu xạ (2θ) ở $11,74 \pm 0,20^\circ$, $29,25 \pm 0,20^\circ$, $18,36 \pm 0,20^\circ$, $21,75 \pm 0,20^\circ$ và $15,95 \pm 0,20^\circ$ trong mẫu nhiễu xạ bột tia X sử dụng phát xạ $\text{CuK}\alpha$ làm nguồn tia X.

[4] Quy trình sản xuất hợp chất A dạng tinh thể, bao gồm các bước từ (a) đến (f) sau đây:

(a) cho dung dịch nước chứa hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó và có độ pH là 5,0 đến 8,5 đi qua cột được nhồi bằng nhựa trao đổi anion;

(b) cho dịch rửa giải đi qua cột này để nhờ đó thu được dung dịch nước không chứa axit xitric mà chứa hợp chất A;

(c) loại bỏ dịch rửa giải khỏi dung dịch nước thu được bởi bước (b);

(d) cô đặc dung dịch nước mà dịch rửa giải đã được loại bỏ ra khỏi đó;

(e) bổ sung nước vào cặn đã cô đặc để tạo ra dung dịch nước, và cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và

(f) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

[5] Quy trình sản xuất theo điểm [4], trong đó hợp chất A dạng tinh thể này có cấu trúc không gian của chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

[6] Quy trình sản xuất theo điểm [4] hoặc [5], trong đó dịch rửa giải này là dịch rửa giải được chọn từ nhóm bao gồm dung dịch nước amoni axetat, dung dịch nước natri clorua và dung dịch nước amoni format.

[7] Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ [4] đến [6], trong đó quy trình loại bỏ dịch rửa giải là quy trình sử dụng cột được nhồi bằng nhựa trao đổi cation.

[8] Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ [4] đến [7], trong đó quy trình cô đặc là quy trình đông khô.

[9] Quy trình sản xuất hợp chất A dạng tinh thể, bao gồm các bước từ (a) đến (f) sau đây:

(a) bổ sung canxi cacbonat vào dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;

- (b) loại bỏ canxi xitrat khỏi dung dịch nước 60% metanol;
- (c) bổ sung axit sulfuric vào dung dịch nước để tạo ra độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi sulfat;
- (d) loại bỏ canxi sulfat khỏi dung dịch nước;
- (e) cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và
- (f) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

[10] Quy trình sản xuất theo điểm [9], trong đó hợp chất A dạng tinh thể này có cấu trúc không gian của chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

[11] Quy trình sản xuất theo điểm [9] hoặc [10], trong đó nồng độ này là nồng độ chân không.

[12] Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ [9] đến [11], còn bao gồm, sau khi thu được hợp chất A dạng tinh thể, các bước từ (g) đến (j) sau đây:

- (g) bổ sung dung môi hữu cơ vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;
- (h) loại bỏ canxi xitrat từ hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ;
- (i) khử nước hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và
- (j) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

[13] Quy trình sản xuất theo điểm [12], trong đó dung môi hữu cơ là axeton.

[14] Quy trình sản xuất muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A, bao gồm các bước từ (a) đến (l) sau đây:

- (a) bổ sung canxi cacbonat vào dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;
- (b) loại bỏ canxi xitrat khỏi dung dịch nước;
- (c) bổ sung axit sulfuric vào dung dịch nước để tạo ra độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi sulfat;
- (d) loại bỏ canxi sulfat khỏi dung dịch nước;
- (e) cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể;
- (f) loại bỏ hợp chất A dạng tinh thể ra khỏi dung dịch nước;
- (g) bổ sung dung môi hữu cơ vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể, và canxi xitrat;

(h) loại bỏ hợp chất A dạng tinh thể và canxi xitrat ra khỏi hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ;

(i) khử nước hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể;

(j) loại bỏ hợp chất A dạng tinh thể ra khỏi dung dịch nước

(k) bổ sung muối kim loại hoặc muối của axit amin và rượu vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A; và

(l) thu được muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A.

[15] Quy trình sản xuất theo điểm [14], trong đó muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A có cấu trúc không gian của chất đồng phân SR trong hệ thống ký hiệu RS.

[16] Quy trình sản xuất theo điểm [14], trong đó dung môi hữu cơ là axeton.

[17] Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ [14] đến [16], trong đó muối kim loại này là muối kim loại được chọn từ nhóm bao gồm muối natri, muối kali, muối magie và muối canxi.

[18] Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ [14] đến [16], trong đó muối của axit amin là muối của axit amin được chọn từ nhóm bao gồm muối của arginin, muối của xitrullin, muối của ornithin và muối của histidin.

[19] Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ [14] đến [18], trong đó rượu này là etanol hoặc metanol.

[20] Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó.

[21] Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo điểm [20], có cấu trúc không gian của chất đồng phân SR trong hệ thống ký hiệu RS.

[22] Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo điểm [20] hoặc [21], trong đó muối này là muối kim loại hoặc muối của axit amin của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A.

[23] Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo điểm [22], trong đó muối kim loại này là muối kim loại được chọn từ nhóm bao gồm muối natri, muối kali, muối magie và muối canxi.

[24] Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo điểm [22], trong đó muối của axit amin là muối của axit amin được chọn từ nhóm bao gồm muối của arginin, muối của xitrullin, muối của ornithin và muối của histidin.

Hiệu quả của sáng chế

Việc thu được hợp chất A dạng tinh thể và chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh có độ tinh khiết cao của hợp chất A giải thích cho tác dụng sinh lý của mỗi hợp chất và cơ chế tác dụng của chúng đối với bệnh. Ngoài ra, hợp chất A dạng tinh thể và chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh có độ tinh khiết cao của hợp chất A, vì được xử lý dễ hơn so với hỗn hợp chất đồng phân không đối quang chứa chúng, là đặc biệt hữu ích trong việc sản xuất hoặc ứng dụng tương tự của các thuốc sử dụng hợp chất A làm thành phần hoạt chất, hoặc thực phẩm hoặc đồ uống sử dụng hợp chất A. Ngoài ra, theo quy trình được mô tả trong sáng chế, hợp chất A dạng tinh thể và chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh có thể được tách và thu được với chi phí thấp hơn với lượng lớn hơn và trong thời gian ngắn hơn so với trong các quy trình tinh chế sử dụng cột tách cao được sử dụng làm phương tiện tinh chế thông thường. Trong quy trình tinh chế sử dụng cột và phương tiện tương tự sử dụng chất mang tách cao được sử dụng làm phương pháp tách chất đồng phân không đối quang thông thường, lượng mà có thể được tinh chế trong quy trình tinh chế một lần phụ thuộc vào cỡ cột được sử dụng, và quy trình tinh chế lượng lớn sử dụng các cột lớn mà đòi hỏi chất mang tách cao đắt tiền là không dễ dàng về mặt chi phí và hiệu quả. Theo quy trình được mô tả trong sáng chế, 20 g hoặc nhiều hơn chất đồng phân không đối quang tinh khiết cao có thể tách được dễ dàng ra khỏi 500 mL chất lỏng phản ứng bằng quy trình tinh chế một lần, và quy mô tinh chế có thể dễ dàng được gia tăng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện sắc ký HPLC (pha loãng 160 lần) của chất lỏng phản ứng tổng hợp của hợp chất A.

Fig.2 thể hiện sắc ký HPLC của hợp chất A dạng tinh thể được kết tinh trong dung dịch nước.

Fig.3 thể hiện sắc ký HPLC của dịch cái sau khi hợp chất A dạng tinh thể đã được thu gom từng phần.

Fig.4 thể hiện sắc ký HPLC (sau khi kết tinh lại) của hợp chất A được kết tinh trong axeton.

Fig.5 thể hiện sắc ký HPLC của kết tủa được kết tủa ở độ pH=3,6 (muối Ca của hợp chất A ở dạng không kết tinh (1)).

Fig.6 thể hiện sắc ký HPLC của kết tủa được kết tủa ở độ pH=6,0 (muối Ca của hợp chất A ở dạng không kết tinh (2)). Trong pic 2 trong Fig.6, pic của hợp chất amit thu được bằng phản ứng thủy phân của hợp chất A được chồng lên phần vai bên trái của pic của hợp chất A (phần vai trái của pic này trông như lỗi lên). Ngoài ra pic 3 là pic được cho là axit xitric.

Fig.7 thể hiện sắc ký HPLC của dung dịch tổng hợp của hợp chất A được tinh chế thô.

Fig.8 thể hiện sắc ký HPLC của hợp chất A dạng tinh thể được kết tinh trong dung dịch nước (kết quả phân tích cho cùng một mẫu như trong Fig.2).

Fig.9 thể hiện sắc ký HPLC của hợp chất A được kết tinh trong axeton (kết quả phân tích cho mẫu giống như trong Fig.4).

Fig.10 thể hiện sắc ký HPLC của muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh được kết tủa ở độ pH=3,6 (kết quả phân tích cho mẫu giống như trong Fig.5).

Fig.11 là lưu đồ của quy trình sản xuất hợp chất A dạng tinh thể bằng kỹ thuật sắc ký trao đổi ion trong ví dụ 7.

Fig.12 thể hiện sắc ký HPLC của hợp chất A dạng tinh thể.

Fig.13 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất A dạng tinh thể.

Fig.14 thể hiện sắc ký HPLC của dịch cái sau khi hợp chất A dạng tinh thể đã được thu gom từng phần.

Fig.15 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của dịch cái sau khi hợp chất A dạng tinh thể đã được thu gom từng phần.

Fig.16 thể hiện so sánh bằng nhiều lần thẩm tách giữa các mẫu nhiễu xạ bột tia X của các hợp chất tương ứng của mẫu thử nghiệm 1 (tinh thể thu được từ dung dịch

nước bằng cách tinh chế cột), mẫu thử nghiệm 2 (tinh thể thu được từ dung dịch axeton) và mẫu thử nghiệm 3 (muối Ca của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh) theo thứ tự từ trên xuống.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế bao gồm tinh thể có các pic có các góc nhiễu xạ (2θ) ở $11,74 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là, $\pm 0,10^\circ$, $29,25 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, $18,36 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, $21,75 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, và $15,95 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$ trong mẫu nhiễu xạ bột tia X sử dụng phát xạ $\text{CuK}\alpha$ làm nguồn tia X.

Hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế bao gồm tinh thể có thêm các pic có các góc nhiễu xạ (2θ) ở $24,09 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là, $\pm 0,10^\circ$, $19,32 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, $19,04 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, $26,95 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, và $16,19 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$ trong mẫu nhiễu xạ bột tia X sử dụng phát xạ $\text{CuK}\alpha$ làm nguồn tia X, ngoài các pic trên đây.

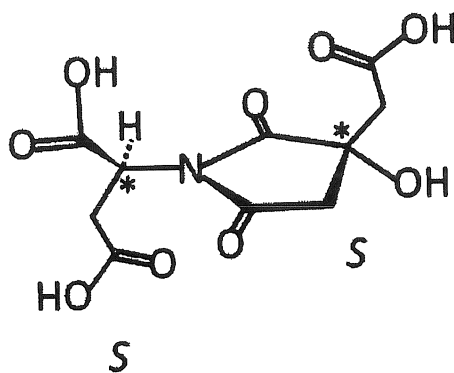
Hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế bao gồm tinh thể có thêm, ngoài các pic trên đây, các pic có các góc nhiễu xạ (2θ) ở $26,42 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là, $\pm 0,10^\circ$, $16,68 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, $17,85 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, $21,19 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$, và $18,14 \pm 0,20^\circ$, tốt hơn là $\pm 0,10^\circ$ trong mẫu nhiễu xạ bột tia X sử dụng phát xạ $\text{CuK}\alpha$ làm nguồn tia X.

Các mẫu nhiễu xạ bột tia X sử dụng $\text{CuK}\alpha$ làm nguồn tia X có thể thu được bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 8 trong sáng chế.

Hợp chất A có các chất đồng phân không đối quang có nguyên tử cacbon bất đối là cacbon ở vị trí số 2 của mạch propan có nguồn gốc từ axit xitric. Ở đây, mặc dù hợp chất A theo sáng chế có nguyên tử cacbon bất đối cũng nằm trong cấu trúc có nguồn gốc từ axit aspartic, cấu hình của nguyên tử cacbon bất đối này thu được từ axit aspartic hoặc asparagin để được sử dụng làm nguyên liệu thô. Hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế thu được từ chất đồng phân L của axit aspartic.

Mặc dù hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế là tinh thể của một trong số các chất đồng phân không đối quang của hợp chất A, NMR không thể chỉ ra chất đồng phân không đối quang nào tương ứng với một trong số các chất đồng phân không đối quang này.

Phương pháp xác định hợp chất A dạng tinh thể là chất đồng phân không đối quang nào bao gồm phân tích cấu trúc sử dụng nhiễu xạ tia X đơn tinh thể. Cụ thể là, phương pháp này bao gồm phương pháp được mô tả trong Ví dụ 9 như một ví dụ. Từ kết quả của phân tích trong Ví dụ 9, rõ ràng là hợp chất tinh thể A (hợp chất A dạng tinh thể) là các chất đồng phân đối quang của chất đồng phân SS và chất đồng phân RR. Sau đó, vì axit aspartic được sử dụng trong quy trình tổng hợp hoàn toàn là axit L-aspartic (chất đồng phân S), đã phát hiện ra là cấu hình của hợp chất tinh thể A là chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

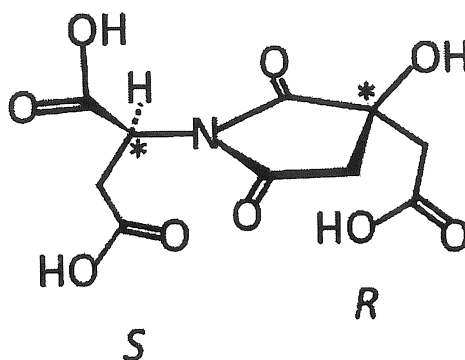


Từ kết quả của phân tích này, rõ ràng là hợp chất tinh thể A là các chất đồng phân đối quang của chất đồng phân SS và chất đồng phân RR. Sau đó, vì axit aspartic được sử dụng trong quy trình tổng hợp hoàn toàn là L-aspartic (chất đồng phân S), đã phát hiện ra là hợp chất tinh thể A là chất đồng phân SS. Tương ứng với điều này, cũng phát hiện ra là hợp chất A có đặc điểm không được kết tinh là chất đồng phân SR.

Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo sáng chế là chất đồng phân không đối quang không được kết tinh bằng phương pháp kết tinh hợp chất A được mô tả dưới đây (sau đây, còn được gọi là chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh) trong số các chất đồng phân không đối quang của hợp chất A, hoặc muối của nó.

Chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo sáng chế có thể được xác nhận bằng phân tích định tính bằng cách sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được mô tả trong Ví dụ 5, và có thể được phân biệt với chất đồng phân không đối quang dạng tinh thể.

Như được mô tả trên đây, vì cấu hình của hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế là chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS, cũng được phát hiện ra là cấu hình của dạng vô định hình (chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh) của hợp chất A theo sáng chế là chất đồng phân SR trong hệ thống ký hiệu RS như được thể hiện dưới đây.



Chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh của hợp chất A hoặc muối của nó theo sáng chế bao gồm các chất có tỷ lệ trộn lẫn của chất đồng phân không đối quang dạng tinh thể là 5% hoặc thấp hơn, tốt hơn là 4% hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 3% hoặc thấp hơn, còn tốt hơn nữa là 2% hoặc thấp hơn và tốt nhất là 1% hoặc thấp hơn.

Muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A theo sáng chế bao gồm muối kim loại và muối của axit amin.

Muối kim loại bao gồm muối kim loại được chọn từ nhóm bao gồm muối natri, muối kali, muối magie và muối canxi, và tốt nhất là bao gồm muối canxi.

Muối của axit amin bao gồm muối của axit amin được chọn từ nhóm bao gồm muối của arginin, muối của xitruilin, muối của ornithin và muối của histidin. Muối của axit amin tốt hơn là chất đồng phân L của muối của axit amin.

Hợp chất A dạng tinh thể theo sáng chế có thể thu được bằng cách kết tinh sử dụng sắc ký cột trao đổi ion hoặc sử dụng hợp chất như canxi cacbonat.

(Phương pháp sử dụng sắc ký cột trao đổi ion)

Hợp chất A dạng tinh thể được sản xuất bằng các bước từ (a) đến (f) sau đây:

(a) cho dung dịch nước chứa hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó và có độ pH là 5,0 đến 8,5 đi qua cột được nhồi bằng nhựa trao đổi anion;

- (b) cho dịch rửa giải đi qua cột này để nhờ đó thu được dung dịch nước không chứa axit xitric mà chứa hợp chất A;
- (c) loại bỏ dịch rửa giải khỏi dung dịch nước thu được bởi bước (b);
- (d) cô đặc dung dịch nước mà dịch rửa giải đã được loại bỏ ra khỏi đó;
- (e) bổ sung nước vào cặn đã cô đặc để tạo ra dung dịch nước, và cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và
- (f) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

Muối của hợp chất A và muối của axit xitric trong dung dịch nước chứa hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó không bị giới hạn đặc biệt và có độ pH là từ 5,0 đến 8,5. Ví dụ về muối của hợp chất A và muối của axit xitric bao gồm muối của axit amin và muối kim loại (muối natri, muối kali, muối magie, muối canxi). Hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó tốt nhất là hợp chất A và axit xitric.

Dung dịch nước chứa hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó và có độ pH là 5,0 đến 8,5, để sử dụng trong bước (a) trên đây được sản xuất, ví dụ, như sau. Axit xitric monohydrat và axit L-aspartic được cho phản ứng trong điều kiện gia nhiệt để tạo thành hợp chất A. Hợp chất A có thể là hợp chất A được sản xuất bằng quy trình khác với quy trình tổng hợp này, như quy trình phản ứng enzym hoặc quy trình lên men. Sau khi hoàn thành phản ứng, chất lỏng phản ứng được để nguội, và metanol được bổ sung vào trong điều kiện axit. Nồng độ của dung dịch metanol có thể là nồng độ bất kỳ miễn là nồng độ mà tại đó axit L-aspartic lắng đọng, nhưng ví dụ, là 60 V/V%. Vì axit L-aspartic kết tủa và lắng đọng ra khỏi axit xitric và axit L-aspartic không phản ứng chứa trong chất lỏng phản ứng, lắng đọng và kết tủa này được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm hoặc lọc. Dung dịch nước sau khi tách rắn lỏng chứa hợp chất A và axit xitric. Trong trường hợp trong đó dung dịch nước sau khi tách rắn lỏng là axit, tốt hơn là dung dịch nước kiềm, ví dụ, dung dịch nước amoniac, được bổ sung vào để điều chỉnh độ pH. Độ pH của dung dịch nước là từ 5,0 đến 8,5, tốt hơn là từ 6,0 đến 8,0 và tốt nhất là từ 6,5 đến 7,2. Dung dịch nước này được đi qua cột được nhồi bằng nhựa trao đổi anion.

Nhựa trao đổi anion này có thể là nhựa trao đổi anion bất kỳ có khả năng tách hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó, ví dụ về chúng bao

gồm TOYOPEARL SuperQ-650M (150 mm × 500 mm, được sản xuất bởi Tosoh Corp.).

Dịch rửa giải để sử dụng trong bước (b) trên đây không bị giới hạn cụ thể, mà được chọn, ví dụ, từ nhóm bao gồm dung dịch nước amoni axetat, dung dịch nước natri clorua và dung dịch nước amoni format.

Nồng độ của dịch rửa giải là từ 50 mM đến 5 M, tốt hơn là 100 mM đến 3 M, tốt hơn nữa là 150 mM đến 2 M và tốt nhất là 200 mM đến 1,5 M. Việc rửa giải có thể được thực hiện bằng cách tăng từng bậc nồng độ của dịch rửa giải.

Tốc độ dòng của bước rửa giải nằm trong khoảng từ 10 đến 500 mL/phút, tốt hơn là 50 đến 300 mL/phút và tốt nhất là 100 đến 200 mL/phút.

Mong muốn là việc "không chứa axit xitric" trong bước (b) trên đây là không chứa axit xitric bất kỳ, nhưng một lượng nhỏ của axit xitric có thể được chứa ở mức độ không cản trở sự kết tinh của hợp chất A.

Trong bước (c) trên đây, ví dụ về quy trình loại bỏ dịch rửa giải bao gồm quy trình sử dụng cột được nhồi bằng nhựa trao đổi cation, và điện thẩm tách, và tốt hơn là bao gồm quy trình sử dụng cột được nhồi bằng nhựa trao đổi cation. Ở đây, "loại bỏ dịch rửa giải" có nghĩa là loại bỏ các thành phần (các chất tan) trong dịch rửa giải.

Nhựa trao đổi cation có thể là nhựa trao đổi cation bất kỳ miễn là có khả năng tách hợp chất A và dịch rửa giải, bao gồm DOWEX 50Wx8 (được sản xuất bởi Wako Chemical Corp.). Bằng cách nạp dung dịch nước, ví dụ, nước tinh khiết, vào cột được nhồi bằng nhựa trao đổi cation, thu được dung dịch nước chứa hợp chất A nhưng không chứa dịch rửa giải. Mong muốn là "không chứa dịch rửa giải" là không chứa dịch rửa giải bất kỳ, nhưng một lượng nhỏ của dịch rửa giải có thể được chứa ở mức độ không cản trở sự kết tinh của hợp chất A.

Trong bước (d) và (e) trên đây, quy trình cô đặc dung dịch nước bao gồm cô bằng cách gia nhiệt, cô chân không và quy trình đông khô, và tốt nhất là bao gồm quy trình đông khô.

Trong bước (d) và (e) trên đây, bằng cách cô đặc dung dịch nước, có thể thu được hợp chất A dạng không kết tinh và/hoặc dạng tinh thể, hoặc hỗn hợp của chúng, hoặc cặn đã cô chứa chúng. Trong trường hợp, trong đó hợp chất A là dạng không kết tinh, trong trường hợp là hỗn hợp chứa dạng không kết tinh, hoặc trong trường hợp là cặn đã

cô chứa chúng, tốt hơn là nước lại được bổ sung vào để tạo ra hỗn hợp nước và bước cô được thực hiện. Bằng cách thực hiện bước này, hợp chất A dạng tinh thể có thể được lắng đọng.

Trong bước (f) trên đây, quy trình thu dạng tinh thể bao gồm lọc áp lực, lọc hút và tách ly tâm. Ngoài ra, để làm giảm sự kết dính của dịch cái và cải thiện chất lượng của tinh thể, tinh thể này có thể được rửa thích hợp. Tinh thể đã rửa được làm khô bằng cách sấy chân không, sấy tầng sôi, sấy bằng không khí cưỡng bức hoặc tương tự để thu được sản phẩm cuối cùng.

Trong phương pháp trên đây, sự kết tinh của hợp chất A còn có thể đạt được bằng cách thực hiện bước (d) và bước (e) lặp lại vài lần.

(Quy trình kết tinh sử dụng hợp chất như canxi cacbonat)

Hợp chất A dạng tinh thể được sản xuất trong dung dịch nước bằng cách bước từ (a) đến (f) sau đây:

(a) bổ sung canxi cacbonat vào dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;

(b) loại bỏ canxi xitrat khỏi dung dịch nước;

(c) bổ sung axit sulfuric vào dung dịch nước để tạo ra độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi sulfat;

(d) loại bỏ canxi sulfat khỏi dung dịch nước;

(e) cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và

(f) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

Dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn, để sử dụng trong bước (a) trên đây được sản xuất, ví dụ, như sau. Axit xitric monohydrat và axit L-aspartic được cho phản ứng trong điều kiện gia nhiệt để tạo thành hợp chất A. Hợp chất A có thể là hợp chất A được sản xuất bằng quy trình khác với quy trình tổng hợp này, như quy trình phản ứng enzym hoặc quy trình lên men. Sau khi hoàn thành phản ứng, chất lỏng phản ứng được để nguội, và metanol được bổ sung vào trong điều kiện axit. Nồng độ của dung dịch metanol có thể là nồng độ bất kỳ miễn là nồng độ mà tại đó axit L-aspartic lắng đọng, ví dụ, là 60 V/V%. Vì axit L-aspartic kết tủa và lắng đọng ra khỏi axit xitric và axit L-aspartic không phản ứng chứa trong chất lỏng phản ứng, lắng đọng và kết tủa này được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm. Ở đây, trong

bước này, việc bổ sung metanol là quan trọng. Etanol là không được chấp nhận. Đối với các bước tiếp theo, dung dịch nước sau khi tách rắn lỏng chứa hợp chất A và axit xitric được sử dụng.

Điểm khó khăn khi thu được hợp chất A dạng tinh thể bằng quy trình này là việc loại bỏ axit xitric khỏi dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric trong điều kiện axit. Vì hợp chất A là không bền trong dung dịch nước trung tính đến kiềm (độ pH=5 hoặc cao hơn), để ức chế sự phân hủy của hợp chất A, việc duy trì điều kiện axit là quan trọng. Do đó, dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để được sử dụng trong bước (a) có thể là dung dịch nước có độ pH tốt hơn là 0,6 đến 1,8 và tốt nhất là từ 1,0 đến 1,6. Tác giả sáng chế đã nghĩ đến việc loại bỏ axit xitric bằng cách chuyển nó thành dạng muối, và nhờ lặp lại phương pháp thử và sai sử dụng các muối chứa các ion kim loại khác nhau, đã phát hiện ra là việc sử dụng ion canxi (Ca^{2+}) có thể loại bỏ tốt axit xitric. Tác giả sáng chế cũng phát hiện thêm là ngay cả khi muối này là muối canxi, trong trường hợp sử dụng canxi clorua (CaCl_2), axit xitric không thể được loại bỏ tốt trong điều kiện axit, và trong trường hợp sử dụng canxi cacbonat (CaCO_3), axit xitric có thể được loại bỏ thành công ngay cả trong điều kiện axit. Điều này là đáng tin cậy vì ion cacbonat (CO_3^{2-}) của canxi cacbonat chuyển thành CO_2 và các anion là ion đối của ion canxi biến mất, ion xitric và ion canxi được liên kết một cách dễ dàng. Do đó, việc sử dụng canxi cacbonat trong bước (a) là điều kiện thiết yếu.

Việc loại bỏ canxi xitrat trong bước (b) trên đây và việc loại bỏ canxi sulfat trong bước (d) trên đây có thể được thực hiện, ví dụ, bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

Lý do sử dụng axit sulfuric trong bước (c) trên đây bao gồm do tính không bền với kiềm của hợp chất A và độ tan thấp của canxi sulfat, việc loại bỏ các ion canxi là dễ dàng (nghĩa là, việc khử muối là dễ dàng). Bằng cách tạo ra độ pH=2,0 hoặc thấp hơn, ion canxi có mặt ở dạng muối canxi của hợp chất A phân ly từ hợp chất A và trở thành canxi sulfat. Độ pH ở thời điểm này tốt hơn là 1,0 đến 2,0 và tốt hơn nữa là 1,3 đến 1,8. Trong trường hợp sử dụng muối natri (natri sulfat) hoặc muối kali (kali sulfat), việc khử muối là khó.

Ví dụ cụ thể về quy trình cô đặc dung dịch nước trong bước (e) trên đây bao gồm cô bằng cách gia nhiệt và cô chân không, nhưng để ngăn ngừa sự hư hỏng hoặc phân

hủy các thành phần được trộn lẫn bởi nhiệt, việc sử dụng phương pháp cô chân không được ưu tiên hơn.

Trong bước (f) trên đây, quy trình thu dạng tinh thể bao gồm lọc áp lực, lọc hút và tách ly tâm. Ngoài ra, để làm giảm sự kết dính của dịch cái và cải thiện chất lượng của tinh thể, tinh thể này có thể được rửa. Tinh thể đã rửa được làm khô bằng cách sấy chân không, sấy tầng sôi, sấy bằng không khí cưỡng bức hoặc tương tự để thu được sản phẩm cuối cùng.

Trong dung dịch nước (dịch cái kết tinh) sau khi hợp chất A dạng tinh thể được lắng đọng trong bước (e) trên đây, chất đồng phân không đối quang của hợp chất A dạng tinh thể vẫn nằm trong đó. Do đó, hợp chất A dạng tinh thể có thể thu được thêm bằng cách thực hiện các bước từ (g) đến (j) sau đây:

(g) bổ sung dung môi hữu cơ vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;

(h) loại bỏ canxi xitrat khỏi hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ;

(i) khử nước hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và

(j) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

Dung môi hữu cơ cần được bổ sung vào bước (g) trên đây tốt hơn là dung môi hữu cơ trộn lẫn được với nước và có thể hòa tan một lượng nhất định của hợp chất A, và ví dụ cụ thể về chúng bao gồm axeton.

Việc loại bỏ canxi xitrat trong bước (h) trên đây có thể được thực hiện, ví dụ, bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

Quy trình lắng đọng hợp chất A dạng tinh thể trong bước (i) trên đây có thể là quy trình bất kỳ làm lắng đọng hợp chất này, nhưng tốt hơn là bao gồm quy trình trong đó dung dịch nước được cô đặc bằng cách chưng cất dung môi ra và dung môi lại được bổ sung vào.

Trong bước (j) trên đây, quy trình thu dạng tinh thể bao gồm lọc áp lực, lọc hút và tách ly tâm. Ngoài ra, để làm giảm sự kết dính của dịch cái và cải thiện chất lượng của tinh thể, tinh thể này có thể được rửa. Tinh thể đã rửa được làm khô bằng cách sấy chân không, sấy tầng sôi, sấy bằng không khí cưỡng bức hoặc tương tự để thu được sản phẩm cuối cùng.

Muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A theo sáng chế có thể thu được bằng quy trình bao gồm các bước từ (a) đến (l) sau đây:

- (a) bổ sung canxi cacbonat vào dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;
- (b) loại bỏ canxi xitrat khỏi dung dịch nước;
- (c) bổ sung axit sulfuric vào dung dịch nước để tạo ra độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi sulfat;
- (d) loại bỏ canxi sulfat khỏi dung dịch nước;
- (e) cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể;
- (f) tách hợp chất A dạng tinh thể ra;
- (g) bổ sung dung môi hữu cơ vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể và canxi xitrat;
- (h) tách hợp chất A dạng tinh thể và canxi xitrat ra khỏi hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ;
- (i) khử nước hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể;
- (j) tách hợp chất A dạng tinh thể ra khỏi dung dịch nước;
- (k) bổ sung muối kim loại hoặc muối của axit amin và rượu vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A; và
- (l) thu được muối của chất đồng phân không đối quang không kết tinh của hợp chất A.

Dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn, để sử dụng trong bước (a) trên đây được sản xuất, ví dụ, như sau. Axit xitric monohydrat và axit L-aspartic được cho phản ứng trong điều kiện gia nhiệt để tạo thành hợp chất A. Hợp chất A có thể là hợp chất A được sản xuất bằng quy trình khác với quy trình tổng hợp này, như quy trình phản ứng enzym hoặc quy trình lên men. Sau khi hoàn thành phản ứng, chất lỏng phản ứng được để nguội, và metanol được bổ sung vào trong điều kiện axit. Nồng độ của dung dịch metanol có thể là nồng độ bất kỳ miễn là nồng độ mà tại đó axit L-aspartic lắng đọng, ví dụ, là 60 V/V%. Vì axit L-aspartic kết tủa và lắng đọng ra khỏi axit xitric và axit L-aspartic không phản ứng chứa trong chất lỏng phản

ứng, lắng đọng và kết tủa này được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm. Ở đây, trong bước này, việc bổ sung metanol là quan trọng. Etanol là không được chấp nhận. Đối với các bước tiếp theo, dung dịch nước sau khi tách rắn lỏng chứa hợp chất A và axit xitric được sử dụng. Dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn có thể là dung dịch nước có độ pH tốt hơn là 0,6 đến 1,8 và tốt nhất là từ 1,0 đến 1,6.

Điểm khó khăn khi thu được hợp chất A dạng tinh thể bằng quy trình này là việc loại bỏ axit xitric khỏi dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric. Tác giả sáng chế đã nghĩ đến việc loại bỏ axit xitric bằng cách chuyển nó thành dạng muối, và nhờ lặp lại phương pháp thử và sai sử dụng các muối chứa các ion kim loại khác nhau, đã phát hiện ra là việc sử dụng ion canxi (Ca^{2+}) có thể loại bỏ tốt axit xitric. Tác giả sáng chế cũng phát hiện thêm là ngay cả khi muối này là muối canxi, trong trường hợp sử dụng canxi clorua (CaCl_2), axit xitric không thể được loại bỏ tốt trong điều kiện axit, và trong trường hợp sử dụng canxi cacbonat (CaCO_3), axit xitric có thể được loại bỏ thành công ngay cả trong điều kiện axit. Điều này là đáng tin cậy vì ion cacbonat (CO_3^{2-}) của canxi cacbonat chuyển thành CO_2 và các anion là ion đối của ion canxi biến mất, ion xitric và ion canxi được liên kết một cách dễ dàng. Do đó, việc sử dụng canxi cacbonat trong bước (a) là điều kiện thiết yếu.

Việc loại bỏ canxi xitrat trong bước (b) trên đây và việc loại bỏ canxi sulfat trong bước (d) trên đây có thể được thực hiện, ví dụ, bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

Lý do sử dụng axit sulfuric trong bước (c) trên đây bao gồm do tính không bền với kiềm của hợp chất A và độ tan thấp của canxi sulfat, việc loại bỏ các ion canxi là dễ dàng (nghĩa là, việc khử muối là dễ). Bằng cách tạo ra độ pH=2,0 hoặc thấp hơn, ion canxi có mặt ở dạng muối canxi của hợp chất A phân ly từ hợp chất A và trở thành canxi sulfat. Độ pH ở thời điểm này tốt hơn là 1,0 đến 2,0 và tốt hơn nữa là 1,3 đến 1,8. Trong trường hợp sử dụng muối natri (natri sulfat) hoặc muối kali (kali sulfat), việc khử muối là khó.

Ví dụ cụ thể về quy trình cô đặc dung dịch nước trong bước (e) trên đây bao gồm cô bằng cách gia nhiệt và cô chân không, nhưng để ngăn ngừa sự hư hỏng hoặc phân hủy các thành phần được trộn lẫn bởi nhiệt, việc sử dụng phương pháp cô chân không được ưu tiên hơn.

Trong bước (f) trên đây, quy trình tách dạng tinh thể bao gồm lọc áp lực, lọc hút và tách ly tâm.

Bước (g) và bước (h) trên đây là các bước cần thiết để tinh chế cao muối của chất đồng phân không đối quang của hợp chất A. Lý do là vì trong dung dịch nước sau khi hợp chất A dạng tinh thể đã được tách ra trong bước (f), hợp chất A cần được kết tinh vẫn còn.

Dung môi hữu cơ cần được bổ sung vào bước (g) trên đây tốt hơn là dung môi hữu cơ trộn lẫn được với nước và có thể hòa tan một lượng nhất định của hợp chất A, và ví dụ cụ thể về chúng bao gồm axeton.

Việc tách canxi xitrat trong bước (h) trên đây có thể được thực hiện, ví dụ, bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

Quy trình lắng đọng hợp chất A dạng tinh thể trong bước (i) trên đây có thể là quy trình bất kỳ làm lắng đọng hợp chất này, nhưng tốt hơn là bao gồm quy trình trong đó dung dịch nước được cô đặc bằng cách chưng cất dung môi ra và dung môi lại được bổ sung vào.

Trong bước (j) trên đây, quy trình tách dạng tinh thể bao gồm tách ly tâm, lọc áp lực và lọc hút. Trong giai đoạn của bước (j) trên đây, hợp chất A dạng tinh thể gần như được tách ra.

Muối kim loại cần được bổ sung vào bước (k) trên đây bao gồm muối natri, muối kali, muối magie và muối canxi, và tốt nhất là, muối canxi (ví dụ, canxi clorua hoặc canxi axetat) có thể được sử dụng. Sau đó độ pH của dung dịch nước tốt hơn là có tính axit và tốt nhất là 3,6 hoặc thấp hơn.

Muối của axit amin cần được bổ sung vào bước (k) trên đây bao gồm axit amin được chọn từ nhóm bao gồm muối của arginin, muối của xitrullin, muối của ornithin và muối của histidin, và các ví dụ về chúng bao gồm L-arginin hydroclorua, L-xitrullin hydroclorua, L-ornithin hydroclorua và L-histidin hydroclorua.

Rượu cần được bổ sung vào bước (k) trên đây bao gồm metanol, etanol, n-propanol và isopropanol, và ví dụ, etanol hoặc metanol có thể được sử dụng. Hiệu quả lắng đọng muối của chất đồng phân không đối quang của hợp chất A là tốt hơn trong trường hợp etanol so với trong trường hợp metanol.

Hợp chất A theo sáng chế có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng, làm chất khởi đầu, axit xitric và axit L-aspartic và/hoặc L-asparagin (tốt nhất là axit L-aspartic). Trong trường hợp này, hợp chất A đã tổng hợp bao gồm hỗn hợp của hai chất đồng phân không đối quang. Theo quy trình sau đây, sự kết tinh của hợp chất A và sự lắng đọng của muối của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A có thể được thực hiện liên tục. Ở đây, trong các bước sau đây, các điều kiện của các bước tương ứng được mô tả trên đây có thể được sử dụng.

(1) axit xitric monohydrat và axit L-aspartic và/hoặc L-asparagin (tốt nhất là axit L-aspartic) được cho phản ứng trong điều kiện gia nhiệt để tạo thành hợp chất A. Nhiệt độ gia nhiệt và thời gian phản ứng có thể được xác định theo các điều kiện khác nhau (ví dụ, 121°C, 8 giờ).

(2) Sau khi hoàn thành phản ứng, chất lỏng phản ứng được để nguội, và metanol (ví dụ, dung dịch metanol 60%) được bổ sung vào trong điều kiện axit. Vì axit L-aspartic kết tủa và lắng đọng ra khỏi axit xitric và axit L-aspartic không phản ứng chứa trong chất lỏng phản ứng, lắng đọng và kết tủa này được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm hoặc lọc. Axit L-aspartic đã tách ra có thể được sử dụng lại. Ở đây, trong bước này, mặc dù ngay cả khi etanol hoặc isopropanol, khác với metanol, được bổ sung vào, axit L-aspartic có thể được tách ra, metanol là thích hợp nhất trên quan điểm về độ tan của canxi cacbonat cần được bổ sung vào sau đó.

(3) Nước tinh khiết được bổ sung vào dung dịch metanol chứa hợp chất A thu được và axit xitric để pha loãng (ví dụ, pha loãng hai lần), và sau đó bột canxi cacbonat (ví dụ, 228 mg mỗi 1 mL chất lỏng phản ứng) được bổ sung vào. Nhờ đó, chất lỏng phản ứng được tạo bột và canxi xitrat được kết tủa. Canxi xitrat đã kết tủa được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm hoặc lọc. Chất lỏng phản ứng mà canxi xitrat đã được tách ra từ đó là dung dịch metanol của hợp chất A chứa các ion canxi.

(4) Chất lỏng phản ứng thu được trong (3) được cô để chưng cất metanol ra, và nước tinh khiết được bổ sung vào để tạo ra thể tích chất lỏng phản ứng bằng thể tích của chất lỏng phản ứng ban đầu. Ví dụ, axit sulfuric 1M được bổ sung vào đó để tạo ra độ pH là thấp hơn hoặc bằng 2,0 và cao hơn hoặc bằng 1,3, nhờ đó các ion canxi trở thành canxi sulfat, mà sau đó được kết tủa. Canxi sulfat đã kết tủa được tách rắn lỏng bằng

cách tách ly tâm hoặc lọc. Chất lỏng phản ứng sau khi tách rắn lỏng là dung dịch axit của axit sulfuric chứa hợp chất A.

(5) Bằng cách cô dung dịch axit của axit sulfuric, ví dụ, đến khoảng 2/5, vì hợp chất A dạng tinh thể (được gọi là "hợp chất A được kết tinh") được kết tinh, tinh thể này được tách ra và phần còn lại được xử lý như là dịch cái chứa tinh thể.

(6) Bằng cách cô dịch cái kết tinh có tính axit-chứa axit sulfuric, và bổ sung axeton để tạo ra dung dịch axeton (có tính axit) (ví dụ, dung dịch axeton 80%) của hợp chất A, kết tủa nhớt được lắng đọng và được kết tinh sau đó (canxi xitrat). Canxi xitrat được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

(7) Dịch cái kết tinh sau khi tách rắn lỏng được cô và được khử nước (khử nước trong axeton). Bằng cách bổ sung axeton vào dịch cái kết tinh sau khi khử nước nhờ đó tạo ra nồng độ axeton trong dung môi là, ví dụ, 90% hoặc cao hơn, hợp chất A được kết tinh và được kết tủa. Hợp chất A đã kết tinh (được gọi là "hợp chất A đã kết tinh") được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

(8) Nước tinh khiết được bổ sung vào dung dịch axeton của hợp chất A, và axeton được chưng cất ra. Canxi clorua và canxi hydroxit được bổ sung vào dung dịch nước của hợp chất A sau khi chưng cất axeton ra nhờ đó độ pH bằng, ví dụ, 3,6; và sau đó bằng cách bổ sung etanol (ví dụ, dung dịch nước etanol 70%), muối canxi của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A được kết tủa. Kết tủa (được gọi là hợp chất A không kết tinh (muối Ca)) được tách rắn lỏng bằng cách tách ly tâm hoặc lọc.

Mỗi hợp chất A đã kết tinh (tinh thể trong dung dịch nước) thu được trong bước (5) trên đây và hợp chất A đã kết tinh (tinh thể trong axeton) thu được trong bước (7) trên đây được bảo quản bằng cách đưa vào quy trình sau đây.

Hòa tan lại trong nước → kết tinh lại → đánh giá độ tinh khiết bằng phân tích định tính sử dụng HPLC → sấy khô → bảo quản

Hợp chất A không kết tinh (muối Ca) thu được trong bước (8) trên đây được bảo quản bằng cách đưa vào quy trình sau đây.

Hòa tan lại trong nước → cô (loại bỏ canxi xitrat đã kết tủa) → bổ sung etanol (ví dụ, dung dịch nước etanol 90v/v%) vào dung dịch nước của hợp chất A → kết tủa

lại → đánh giá độ tinh khiết bằng phân tích định tính sử dụng HPLC → làm khô → bảo quản

Liên quan đến hợp chất A không kết tinh thu được (muối Ca), khi sử dụng nó, bằng cách làm cho nó có tính axit bằng axit sulfuric, canxi có thể được loại bỏ từ đó và nồng độ dưới dạng hợp chất A có thể được đánh giá bằng phân tích định tính và định lượng sử dụng HPLC.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể bằng các ví dụ, nhưng sáng chế không bị giới hạn vào đó.

[Ví dụ 1]

(Quy trình tổng hợp hợp chất A)

Nước được bổ sung vào 240 g (1,142 mol) axit xitric (monohydrat, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) để tạo ra 400 mL dung dịch axit xitric sệt; 72 g (0,541 mol) axit L-aspartic (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) được bổ sung vào dung dịch này; và dung dịch tạo thành được pha loãng đến thể tích dung dịch là 600 mL (nồng độ axit xitric cuối cùng: 1,903 mol/L, nồng độ axit L-aspartic cuối cùng: 0,902 mol/L). Chất lỏng phản ứng được đưa vào bình thủy tinh chịu áp suất và được đậy kín bên trong, và được gia nhiệt trong bể nước ở 90°C để hòa tan axit L-aspartic đã bổ sung vào nhiều nhất có thể. Sau đó, chất lỏng phản ứng trong bình chịu áp suất này được đưa vào nồi hấp được gia nhiệt ở khoảng 80°C, và được xử lý nhiệt ở 121°C trong 120 phút. Nhiệt độ trong nồi hấp được hạ xuống đến khoảng 80°C, và chất lỏng phản ứng trong bình chịu áp suất được lấy ra và được khuấy để hòa tan axit L-aspartic vẫn chưa hòa tan nhiều nhất có thể. Chất lỏng phản ứng được xử lý nhiệt thêm trong nồi hấp ở 121°C trong 120 phút. Khuấy và xử lý gia nhiệt được lặp lại để thực hiện xử lý gia nhiệt ở 121°C trong tổng thời gian 420 phút trong khi axit L-aspartic được hòa tan. (Axit L-aspartic được hòa tan hoàn toàn ở thời điểm kết thúc việc gia nhiệt trong tổng thời gian 360 phút.). Đã xác nhận được bằng phân tích định tính sử dụng HPLC được mô tả trong ví dụ 2 sau đây là hợp chất A được tổng hợp trong chất lỏng phản ứng (Fig.1). Fig.1 thể hiện sắc ký HPLC (pha loãng 160 lần) của chất lỏng phản ứng tổng hợp hợp chất A. Như rõ ràng từ Fig.1, liên quan đến chất lỏng phản ứng tổng hợp sau phản ứng gia nhiệt, pic (RT 26,0) của hợp chất A cao lên và độ cao của pic (RT 27,7) của axit xitric giảm đi. Ở đây, xác

nhận được bằng phân tích tiếp theo là pic ở RT 26,0 là hợp chất A. Ở đây, axit aspartic là nguyên liệu tổng hợp thô, vì gần như không thể hiện sự hấp thụ ánh sáng ở 210 nm, không được phát hiện bởi hệ phát hiện ở đây.

[Ví dụ 2]

(Điều kiện tách trong phân tích định tính bằng cách sử dụng HPLC của hợp chất A)

Liên quan đến hợp chất A có mặt trong chất lỏng phản ứng tổng hợp và mẫu đã tinh chế của nó, sự có mặt của hợp chất A được xác nhận bằng phân tích định tính sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao sau đây (HPLC). Các dung dịch có nồng độ khác nhau của hợp chất A được pha loãng với dung dịch nước axit perchloric 10mM (pha động cho phân tích định tính sử dụng HPLC) để có nồng độ thích hợp; các chất không hòa tan được loại bỏ bằng thiết bị lọc màng; và dung dịch đã hòa tan được phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. Điều kiện tách trong phân tích định tính sử dụng HPLC là như sau. Thành phần tiêu đề được cho là hợp chất A trong sắc ký đồ có pic ở thời gian lưu (RT) là 25,4 đến 26,0 phút.

[Điều kiện tách trong phân tích định tính sử dụng HPLC]

Thiết bị: Shimadzu Corp., sắc ký lỏng hiệu năng cao Prominence

Cột: hai cột được ghép đôi, Shodex RSpak KC-811 (300 mm × 8,0 mm)

Pha động: 10mM dung dịch nước axit perchloric

Tốc độ dòng: 0,5 mL/phút

Nhiệt độ cột: 30°C

Thể tích bơm: 20 µL

Bước sóng phát hiện: 210 nm

[Ví dụ 3]

(Quy trình tinh chế hợp chất A và kết tinh hợp chất A)

Khi 900 mL metanol (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) được bổ sung vào 600 mL chất lỏng phản ứng sau phản ứng gia nhiệt để tạo ra dung dịch 60% metanol, axit L-aspartic chưa phản ứng trong chất lỏng phản ứng này lắng đọng từ từ và kết tủa dưới dạng kết tủa trắng. Ở đây, trong trường hợp sử dụng dung dịch etanol trong bước

này, ngay cả khi các bước tương tự được làm cho phù hợp trong các bước tiếp theo, hợp chất A vẫn không kết tinh. Dung dịch này được để yên cả ngày và đêm ở nhiệt độ phòng để kết tủa axit L-aspartic nhiều nhất có thể, và sau đó được lọc với giấy lọc (Whatman plc, No. 114) để nhờ đó tách kết tủa và chất lỏng phản ứng (60% metanol) chứa hợp chất A. Axit L-aspartic thu được dưới dạng kết tủa, bằng cách làm bay hơi và loại bỏ metanol và làm khô kết tủa này, có thể được sử dụng lại làm nguyên liệu tổng hợp thô để tổng hợp hợp chất A. Chất lỏng phản ứng (60% metanol) chứa hợp chất A thu được dưới dạng dịch lọc được pha loãng hai lần bằng nước tinh khiết (nước tinh khiết theo được điển Nhật) để tạo ra dung dịch 30% metanol. 136 g (228 mg mỗi 1 mL của chất lỏng phản ứng khởi đầu) bột canxi cacbonat (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) được bổ sung từ từ vào dung dịch trong khi khuấy, nhờ đó kết tủa trắng canxi xitrat có độ tan thấp lắng đọng. Mặc dù lúc đầu, canxi cacbonat hòa tan kèm theo tạo bọt (khí cacbon dioxit), sau đó từ từ, canxi xitrat có độ tan thấp lắng đọng từ dung dịch này. Khi dung dịch này được để yên cả ngày và đêm, axit xitric chưa phản ứng kết tủa phần lớn dưới dạng canxi xitrat để tạo ra dung dịch đục màu trắng sệt. Dung dịch đục màu trắng được tách bằng cách ly tâm (nhiệt độ phòng, 1.500×g, 30 phút) để nhờ đó được tách thành kết tủa và dung dịch nổi bề mặt, và dung dịch nổi bề mặt (chứa 30% metanol) chứa hợp chất A được thu gom. Metanol được chưng cất ra khỏi dung dịch nổi bề mặt đã thu gom trong khi được cô đặc bằng thiết bị làm bay hơi (Tokyo Rikakikai Co., Ltd.) để nhờ đó tạo ra dung dịch nhớt sệt. Nước tinh khiết được bổ sung vào dung dịch nhớt chứa hợp chất A đã cô đặc để có cùng thể tích dung dịch là 600 mL với chất lỏng phản ứng khởi đầu. Một mol/L (2 N) axit sulfuric được bổ sung từ từ vào dung dịch này và độ pH của dung dịch bằng 1,3 đến 1,6, nhờ đó ion Ca trong dung dịch này lắng đọng và kết tủa dưới dạng muối canxi sulfat. Kết tủa này được tách ra bằng cách lọc và dịch lọc được thu gom. Dịch lọc chứa hợp chất A và được axit hóa bằng axit sulfuric. Dung dịch (khoảng 600 mL) được cô đặc bằng thiết bị làm bay hơi trong khi gia nhiệt trong bể nước ở 40°C để có thể tích là khoảng 250 mL (đến 200 mL). Dung dịch là dịch cái để kết tinh hợp chất A được làm nguội đến nhiệt độ phòng, và sau đó bề mặt thành thủy tinh được cọ xát bằng que trộn hoặc tương tự, nhờ đó lắng đọng hợp chất A dạng tinh thể tạo thành; và dung dịch này được để yên như vậy trong cả ngày và đêm, thu được

kết tủa trắng. Kết tủa này được tách ra khỏi dịch cái bằng cách lọc, và được thu gom sau khi rửa bằng một lượng nhỏ nước tinh khiết để thu được hợp chất A dạng tinh thể.

Quy trình trên đây từ chất lỏng phản ứng tổng hợp đến chuỗi tinh chế và kết tinh hợp chất A dạng tinh thể được thực hiện lặp lại để nhờ đó thu được khoảng 130 g (khối lượng ướt) của hợp chất A dạng tinh thể từ 3 L chất lỏng phản ứng tổng hợp. Lượng nhỏ của tinh thể này (tinh thể mầm) được tách riêng, và phần còn lại của tinh thể này được hòa tan (trong bể nước ấm ở 40°C) trong nước tinh khiết với lượng nhỏ nếu có thể, và sau đó dung dịch tạo thành được cô đặc cao bằng thiết bị làm bay hơi, và sau đó được để nguội; và tinh thể này lại được thu gom bằng cách bổ sung tinh thể mầm vào dung dịch này. Tinh thể này được thu gom bằng cách lọc hút, và được làm khô để thu được 113 g hợp chất A đã kết tinh. Để xác nhận độ chính xác của tinh thể hợp chất A thu được, đánh giá được thực hiện (Fig.2) bằng cách sử dụng tương tự phân tích định tính HPLC để xác nhận hợp chất A trong dung dịch tổng hợp (Fig.1). Fig.2 thể hiện sắc ký đồ HPLC của tinh thể hợp chất A mà được kết tinh trong dung dịch nước. Cụ thể là, hợp chất A được tinh chế từ chất lỏng phản ứng tổng hợp sau phản ứng gia nhiệt được kết tinh trong dung dịch nước, và tinh thể thu được được tinh chế bằng cách kết tinh lại, và sau đó được đánh giá bằng HPLC. 70 mg hợp chất A đã kết tinh được cân, và được hòa tan trong 1 mL nước tinh khiết. Dung dịch thu được được pha loãng 160 lần bằng dung môi pha động (10mM dung dịch axit percloric) của hệ phân tích HPLC, và được phân tích. Pic rõ ràng của hợp chất A được quan sát thấy, và các pic khác tương ứng với các tạp chất là các cường độ gần như rất nhỏ và không rõ ràng, do đó xác nhận được là hợp chất A được tinh chế cao.

Ngoài ra, dạng không kết tinh của hợp chất A có tính hút ẩm và khi được cô đặc và hóa rắn, được chuyển thành dạng hút ẩm và có độ nhớt cao (dính), mà khó được xử lý. Mặt khác, hợp chất A dạng tinh thể là bột không hút ẩm, mà được xử lý dễ dàng.

[Ví dụ 4]

(Tinh chế hợp chất A dạng không kết tinh)

Dung dịch mà hợp chất A dạng tinh thể được thu gom từ đó bằng quy trình được mô tả trên đây và trở thành dịch cái kết tinh thu được dưới dạng dịch lọc được sử dụng làm nguyên liệu để tinh chế hợp chất A chưa được kết tinh. Xác nhận được bằng phân

tích định tính sử dụng HPLC là hợp chất A vẫn còn trong dung dịch (Fig.3). Fig.3 thể hiện sắc ký HPLC của dịch lọc mà từ đó sau khi hợp chất A được kết tinh, tinh thể này được thu gom. Dịch lọc được pha loãng 400 lần bằng dung môi pha động (10mM dung dịch axit percloric) của phân tích định tính sử dụng HPLC, và được phân tích. Pic của hợp chất A được quan sát thấy là pic chính, và các pic của các thành phần khác là tạp chất cũng được quan sát thấy.

Khoảng 1 L dịch cái kết tinh thu được từ 3 L chất lỏng phản ứng tổng hợp được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi trong bể nước ở 40°C để thu được khoảng 200 mL chất lỏng cô đặc có độ nhớt cao. Khoảng 800 mL axeton (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) được bổ sung vào và được trộn với chất lỏng cô đặc, nhờ đó chất lỏng này trở nên trắng đục, và sau đó sau khoảng 1 giờ, thành phần trắng đục kết tủa và lắng đọng lỏng dính kết tủa. Dịch nổi bề mặt và lắng đọng nhớt được tách ra. Lắng đọng dạng tinh thể chứa canxi xitrat thu được từ lắng đọng nhớt này. Dịch nổi bề mặt lại được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi để tạo ra dung dịch cô đặc có độ nhớt cao. Việc cô đặc bằng cách chưng cất dung môi ra và hòa tan trong axeton được lặp lại ba lần để thay thế hơi ẩm nước trong dung dịch bằng axeton (khử nước dung dịch bằng axeton). Trong quy trình khử nước axeton, cùng với làm giảm hơi ẩm nước, lắng đọng tinh thể trắng tăng dần. Dung dịch thu được cuối cùng được tạo thành 500 mL dung dịch axeton, và sau khi dung dịch này được để yên cả ngày và đêm, lắng đọng dạng tinh thể trắng kết tủa. Kết tủa và dung dịch axeton trên bề mặt được tách ra bằng cách lọc. Đã phát hiện được bằng phân tích sau đó là lắng đọng trắng là hợp chất A dạng tinh thể (Fig.4). Fig.4 thể hiện sắc ký HPLC của hợp chất A dưới dạng tinh thể được tinh chế bằng cách kết tinh lại, mà đã được kết tinh trong axeton. Cụ thể là, tinh thể đã lọc được tinh chế bằng cách kết tinh lại với nước tinh khiết; tinh thể đã kết tinh lại (khoảng 20 mg) được hòa tan trong nước tinh khiết (khoảng 0,5 mL); và dung dịch thu được được pha loãng 40 lần bằng dung môi pha động (10mM dung dịch axit percloric) của phân tích định tính sử dụng HPLC, và được phân tích. Pic rõ ràng của hợp chất A được quan sát thấy, và pic của các tạp chất là các cường độ gần như rất nhỏ và không rõ ràng. Đến thời điểm này, bằng các quy trình này, gần như toàn bộ chất đồng phân không đối quang của hợp chất A dạng tinh thể trong dịch cái kết tinh được kết tinh, và gần như toàn bộ

hợp chất A hòa tan trong dung dịch axeton là chất đồng phân không đối quang của hợp chất A mà chủ yếu là dạng không kết tinh.

Sau đó, quy trình trong đó 500 mL nước tinh khiết được bổ sung vào dung dịch axeton chứa chất đồng phân không đối quang của hợp chất A mà không phải dạng kết tinh, và axeton được chưng cất ra bằng thiết bị làm bay hơi được lặp lại ba lần để chuyển dung môi của dung dịch thành nước. 100 g canxi clorua được bổ sung vào dung dịch nước thu được (thể tích dung dịch: khoảng 200 mL) và canxi hydroxit được bổ sung vào thêm để tạo thành dung dịch có độ pH=3,6. Bằng cách xử lý này, hợp chất A, hợp chất axit, tạo ra muối canxi. Dung dịch này được pha loãng bằng nước tinh khiết đến thể tích là 300 mL, và được bổ sung 700 mL etanol để tạo ra dung dịch 70% etanol, nhờ đó muối canxi của hợp chất A lắng đọng dưới dạng kết tủa trắng. Kết tủa này được tách ra từ dung dịch nổi bề mặt bằng cách tách ly tâm, và được tinh chế thêm bằng cách rửa với 70% etanol để thu được kết tủa đã tinh chế (muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1)). Mặt khác, khi kiểm tra bằng phân tích định tính sử dụng HPLC, dung dịch nổi bề mặt đã được tạo thành dung dịch 70% etanol chứa hợp chất A còn lại, và dung dịch này được điều chỉnh độ pH đến 6,0 như là điều kiện để tạo ra muối Ca mạnh hơn từ hợp chất A, và sau đó bằng cách làm cho dung dịch này trở thành dung dịch 80% etanol, thu được kết tủa. Kết tủa được rửa bằng etanol để tạo ra kết tủa đã tinh chế (muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (2)).

Kết tủa đã tinh chế thu được ở độ pH=3,6 bằng quy trình trên đây và kết tủa đã tinh chế thu được ở độ pH=6,0 được đánh giá bằng phân tích định tính sử dụng HPLC (Fig.5, Fig.6). Mỗi kết tủa (khoảng 10 mg) được hòa tan trong nước tinh khiết (khoảng 1 mL), được pha loãng 40 lần bằng dung dịch axit perchloric 10mM là pha động của phân tích định tính sử dụng HPLC, và được phân tích (bằng cách được pha loãng với dung dịch axit perchloric 10mM, là dung môi axit, muối Ca của hợp chất A được chuyển thành hợp chất A, do đó việc phát hiện được thực hiện với hợp chất A). Fig.5 là sắc ký đồ HPLC của kết tủa được lắng đọng ở độ pH=3,6; và Fig.6 là sắc ký đồ HPLC của kết tủa được lắng đọng ở độ pH=6,0. Trong sắc ký đồ HPLC của kết tủa đã tinh chế (muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1)) thu được ở độ pH=3,6, mặc dù pic của các tạp chất được quan sát thấy, pic chính của hợp chất A được quan sát thấy rõ, cho thấy là kết tủa này được tinh chế. Mặt khác, trong sắc ký đồ HPLC của kết tủa đã tinh chế (muối

Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (2)) thu được ở độ pH=6,0, cùng với pic của hợp chất A (pic 2), quan sát thấy việc trộn lẫn hợp chất (pic chồng lên vai trái của pic của hợp chất A) được amit hóa bởi phản ứng thủy phân một phần cấu trúc imit của hợp chất A, và pic (pic 3) được cho là axit xitric tăng lên. Do đó, có thể hiểu rằng phản ứng thủy phân hợp chất A phát triển theo lượng kiềm, được bổ sung vào để độ pH=6,0, và điều kiện khi lắng đọng muối Ca của hợp chất A là rất khắt khe. Vì muối Ca của hợp chất A lắng đọng ở độ pH=3,6 chỉ có một lượng rất nhỏ bị trộn lẫn của sản phẩm thủy phân của hợp chất A, có thể hiểu là độ pH=3,6 là giới hạn của điều kiện kiềm.

Bằng cách hòa tan kết tủa của muối Ca của hợp chất A đã lắng đọng trong dung dịch etanol, trong nước, và bằng cách làm cho dung dịch thu được có tính axit bằng axit sulfuric (ví dụ, pH=1,3) để nhờ đó kết tủa canxi sulfat, hàm lượng canxi có thể được loại bỏ và hợp chất A dưới dạng dung dịch axit của axit sulfuric có thể được tạo ra. Bằng quy trình tinh chế này, thu được 192,7 g chất rắn khô của muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1) là kết tủa đã tinh chế thu được ở độ pH= 3,6 từ 3 L chất lỏng phản ứng tổng hợp.

[Ví dụ 5]

(Phân tích định tính sử dụng HPLC của chất đồng phân không đối quang của hợp chất A)

Tỉ lệ có mặt của các chất đồng phân không đối quang của hợp chất A dưới dạng các chất đã tinh chế thu được trong quy trình tinh chế từ dung dịch tổng hợp hợp chất A trên đây được xác nhận bằng phân tích định tính sử dụng HPLC sử dụng cột sau đây. Các dung dịch có nồng độ khác nhau của hợp chất A được pha loãng với chất lỏng hỗn hợp (pha động để phân tích định tính sử dụng HPLC) của dung dịch nước TFA 0,1% (98 theo thể tích) và metanol (2 theo thể tích); và các chất không được hòa tan được loại bỏ bằng thiết bị lọc màng; và dung dịch này được phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. Các điều kiện của phân tích định tính sử dụng HPLC là như sau. Thành phần mục tiêu được cho là hợp chất A trong sắc ký đồ được phát hiện là hai pic liền kề trong khoảng thời gian lưu (RT) từ 3,3 đến 3,7 phút (tuy nhiên, RT thay đổi nhẹ trong một số trường hợp, do ảnh hưởng như sự hư hại của vật liệu nhồi cột). Chất đồng phân không đối quang của hợp chất A dạng tinh thể được phát hiện là pic ở bên phải có thời gian lưu

dài hơn trong cột này; và chất đồng phân không đối quang của hợp chất A dạng không kết tinh được phát hiện là pic ở bên trái có thời gian lưu ngắn hơn.

(Điều kiện tách trong phân tích định tính sử dụng HPLC)

Thiết bị: Shimadzu Corp., Sắc ký lỏng hiệu năng cao Prominence

Cột: Phenomenex Kinetex F5 (100 mm × 4,6 mm)

Pha động: chất lỏng trộn lẫn của dung dịch nước 0,1% TFA (98 theo thể tích) và metanol (2 theo thể tích)

Tốc độ dòng: 0,8 mL/phút

Nhiệt độ cột: 30°C

Thể tích bơm: 5 µL

Bước sóng phát hiện: 200 nm

[Ví dụ 6]

(Kết quả của phân tích các chất đồng phân không đối quang trong các mẫu chứa hợp chất A)

Bằng phân tích định tính HPLC sử dụng cột được đề cập trên đây, trạng thái có mặt của các chất đồng phân không đối quang trong các mẫu đã tinh chế từ dung dịch tổng hợp hợp chất A được xác nhận.

(1) Dung dịch tổng hợp hợp chất A

Đã xác nhận được là trạng thái có mặt của chất đồng phân không đối quang của hợp chất A trong dung dịch tổng hợp hợp chất A đã tinh chế thô được tạo ra bằng cách loại bỏ phần lớn axit aspartic và axit xitric chưa phản ứng khỏi dung dịch tổng hợp hợp chất A (Fig.7). Fig.7 thể hiện sắc ký đồ HPLC của dung dịch tổng hợp hợp chất A đã tinh chế thô. Hai chất đồng phân không đối quang của hợp chất A được phát hiện là hai pic liền kề, và tỷ lệ có mặt của chúng là gần bằng nhau.

(2) Hợp chất A dạng tinh thể

Hợp chất A dạng tinh thể thu được bằng cách tinh chế từ dung dịch tổng hợp hợp chất A và được kết tinh trong dung dịch nước được hòa tan trong nước tinh khiết và

trạng thái có mặt của các chất đồng phân không đối quang của hợp chất A được đánh giá bằng phân tích định tính sử dụng HPLC (Fig.8). Fig.8 thể hiện sắc ký đồ HPLC (kết quả phân tích cho mẫu giống như trong Fig.2) của hợp chất A được kết tinh trong dung dịch nước. Hợp chất A dạng tinh thể được phát hiện là pic ở bên phải có thời gian lưu dài hơn trong khoảng phát hiện của hai chất đồng phân không đối quang của hợp chất A, và tỷ lệ có mặt của nó là 99% hoặc cao hơn theo tỉ lệ diện tích pic. Tỷ lệ trộn lẫn của chất đồng phân không đối quang còn lại là 0,36% (được tính từ tỷ lệ diện tích pic).

(3) Hợp chất A dạng tinh thể được kết tinh trong axeton

Hợp chất A dạng tinh thể thu được bằng cách tinh chế từ dung dịch tổng hợp hợp chất A và được kết tinh trong axeton được hòa tan trong nước tinh khiết và trạng thái có mặt của các chất đồng phân không đối quang của hợp chất A được đánh giá bằng phân tích định tính sử dụng HPLC (Fig.9). Fig.9 thể hiện sắc ký đồ HPLC (kết quả phân tích cho mẫu giống như trong Fig.4) của hợp chất A được kết tinh trong axeton. Hợp chất A dạng tinh thể được kết tinh trong axeton, tương tự với hợp chất A dạng tinh thể được kết tinh trong dung dịch nước, được phát hiện là pic ở bên phải có thời gian lưu dài hơn trong khoảng phát hiện của hai chất đồng phân không đối quang của hợp chất A, và tỷ lệ có mặt của nó là 98% hoặc cao hơn theo tỉ lệ diện tích pic. Tỷ lệ trộn lẫn của chất đồng phân không đối quang còn lại là 1,36% (được tính từ tỷ lệ diện tích pic).

(4) Muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1) kết tủa ở độ pH=3,6 trong 70% etanol (muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1))

Sau khi hợp chất A cần được kết tinh trong dung dịch tổng hợp hợp chất A được kết tinh, hợp chất A dạng không kết tinh vẫn còn trong dung dịch được chuyển thành muối Ca nhờ điều kiện độ pH=3,6, và được lắng đọng dưới dạng kết tủa trong 70% etanol; và trạng thái có mặt của các chất đồng phân không đối quang của hợp chất A của kết tủa này được đánh giá bằng phân tích định tính sử dụng HPLC (Fig.10) (mẫu lắng đọng giống như mẫu của Fig.5). Fig.10 thể hiện sắc ký đồ HPLC (kết quả phân tích cho mẫu giống như trong Fig.5) của muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1) được lắng đọng ở độ pH=3,6 (muối Ca của hợp chất A dạng không kết tinh (1)). Kết tủa lắng đọng trong 70% etanol được hòa tan trong nước tinh khiết, được phân tích định tính sử

dụng HPLC và được phát hiện là pic ở bên trái có thời gian lưu ngắn hơn trong khoảng phát hiện của hai chất đồng phân không đối quang của hợp chất A. Pic được phát hiện là pic trên RT khác biệt rõ ràng với pic của hợp chất A dạng tinh thể. Tỷ lệ có mặt của nó là 99% hoặc cao hơn theo tỷ lệ diện tích pic. Tỷ lệ trộn lẫn của chất đồng phân không đối quang còn lại (hợp chất A dạng tinh thể) là 0,45% (được tính từ tỷ lệ diện tích pic).

(Giải thích: vì các pic trong mỗi sắc ký đồ là dạng có đuôi ngược (hiện tượng mà chân của pic mở rộng), các tỷ lệ diện tích pic là nhỏ hơn so với các độ cao pic khả kiến của các pic trộn lẫn.)

[Ví dụ 7]

(Sản xuất hợp chất A dạng tinh thể bằng sắc ký trao đổi ion)

1. Tinh chế hợp chất khởi đầu

1-1. Điều chế hợp chất khởi đầu

Nước được bổ sung vào 75 g (0,59 mol) axit xitric (monohydrat) để tạo ra 83,3 mL dung dịch axit xitric đặc; 10 g (0,111 mol) L-asparagin và 1,5 g (0,019 mol) axit L-aspartic được bổ sung vào dung dịch này; và dung dịch thu được được pha loãng đến thể tích dung dịch là 100 mL. Chất lỏng phản ứng được đưa vào bình thủy tinh chịu áp suất và được đậy kín trong đó, và được gia nhiệt trong bể nước ở 90°C để hòa tan hoàn toàn L-asparagin và axit L-aspartic được bổ sung vào. Sau đó, chất lỏng phản ứng trong bình chịu áp suất được đặt vào nồi hấp được gia nhiệt ở khoảng 80°C, và được xử lý nhiệt ở 121°C trong 180 phút. Sau phản ứng, chất lỏng phản ứng được để tự nguội đến 25°C, và sau đó được lấy vào cốc có mỏ 1-L, và làm lạnh bằng đá.

Khoảng 20 g natri hydroxit được hòa tan trong 83 mL nước tinh khiết; dung dịch nước natri hydroxit này được làm lạnh bằng đá, và được bổ sung từ từ vào chất lỏng phản ứng trên đây để trung hòa chất lỏng phản ứng đến độ pH=5,8 (vì sự tạo nhiệt xảy ra do nhiệt của phản ứng trung hòa, phản ứng trung hòa được thực hiện trong khi kiểm tra nhiệt độ là 25°C). Sau khi trung hòa, thể tích của chất lỏng phản ứng được tạo thành 200 mL bằng nước tinh khiết. Sau đó, 33,3 g canxi clorua (dihydrat) được hòa tan trong 0,33 L nước tinh khiết để tạo ra dung dịch canxi clorua; khoảng một nửa thể tích của nó được bổ sung vào chất lỏng phản ứng trên đây, được khuấy kỹ và được để yên trong khoảng 16 giờ. Trong dung dịch này, kết tủa trắng (canxi xitrat) được lắng đọng. Vì khi

dung dịch canxi clorua được bổ sung thêm, kết tủa trắng mới được kết tủa, dung dịch canxi clorua được bổ sung từ từ vào và khoảng 333 mL (0,23 mol là lượng canxi clorua) thu được được bổ sung vào 200 mL chất lỏng phản ứng đã trung hòa. Nước tinh khiết được bổ sung vào dung dịch hỗn hợp thu được nhờ đó tổng thể tích lên đến 600 mL, và sau đó, kết tủa trắng là canxi xitrat được tách ra bằng cách tách ly tâm và dịch nổi bề mặt được thu hồi. Sau đó, 430 mL dịch nổi bề mặt được cô đặc thành 133 mL bằng thiết bị làm bay hơi (vì nhiệt được dự định không sử dụng, nhiệt độ bể được đặt bằng 25°C). 310 mL etanol được bổ sung vào dung dịch nước đã cô đặc và khuấy. Khi hỗn hợp chất lỏng thu được được để yên một lúc, hỗn hợp chất lỏng này được tách thành hai lớp, mà là lớp trên tương đối trong suốt (lớp etanol) và 50 mL dung dịch lớp dưới có màu và nhớt. Lớp dưới được tách và thu hồi, và được pha loãng với nước tinh khiết đến khoảng 130 mL; và sau đó, etanol còn lại trong dung dịch này được chưng cất ra bằng thiết bị làm bay hơi (vì nhiệt được dự định không sử dụng, nhiệt độ bể được đặt bằng 25°C) để tạo ra 55 mL dung dịch. Dung dịch này được tách ly tâm để thu được 45 mL dịch nổi bề mặt. Dịch nổi bề mặt được làm đông khô để thu được 32,67 g chất tạo thành. Chất tạo thành này được sử dụng làm chất khởi đầu.

1-2. Sắc ký cột trao đổi ion (SuperQ)

280 mL (dung dịch nước, hàm lượng chất rắn: 235 g) hợp chất khởi đầu được điều chế bằng quy trình trên đây được hòa tan trong 1 L nước tinh khiết; khoảng 13 mL dung dịch nước amoniac 25% và 19 L nước tinh khiết được bổ sung vào để điều chỉnh độ pH và độ dẫn điện để làm cho mẫu đưa vào được (pH=7,1, độ dẫn điện: 8,4 mS/cm). Dung dịch này được nạp vào sắc ký cột trao đổi ion (TOYOPEARL SuperQ-650M, $\phi 150 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$). Chi tiết về pha động và mỗi phân đoạn đã tách được chỉ ra trong Fig.11. Hai phân đoạn chứa hợp chất đích được làm đông khô để thu được các hợp chất đã chỉ ra trong Bảng 1 trong Fig.11. Hàm lượng ước tính của hợp chất đích trong hai phân đoạn chứa hợp chất đích (Fr (phân đoạn) 8 đến 12 và Fr13 được tính toán là 5,4 g, và tỷ lệ thu hồi đến 64,1 g của hàm lượng ước tính của hợp chất đích trong nguyên liệu thô là 86,4%. Ở đây, để thuận tiện số lô trong Bảng 1 là các số gắn với hai phân đoạn chứa hợp chất đích.

1-3. Loại bỏ amoni axetat bằng sắc ký cột trao đổi ion (DOWEX 50W×8), và làm đông khô

740,2 g của Fr8 đến 12 (số Lô 198-012-74-1) được hòa tan trong khoảng 600 mL nước tinh khiết, và được đưa vào xử lý theo mẻ với nhựa trao đổi ion (DOWEX 50W×8, loại H⁺, cỡ lưới 100 đến 200), và sau đó được làm đông khô. Sản phẩm đã đông khô lại được hòa tan trong 800 mL nước tinh khiết, và được chia thành hai phần và được đưa vào sắc ký cột trao đổi ion (DOWEX 50W×8, loại H⁺, 150 mm × 200 mm). Sau khi đưa vào, nước tinh khiết được nạp, và các phân đoạn chứa hợp chất đích được thu gom và được làm đông khô. Quy trình trong đó nước tinh khiết được bổ sung vào cặn đã sấy khô, và hợp chất thu được được làm đông khô được lặp lại vài lần để làm giảm axit axetic. Lần này, vì sự kết tinh xảy ra trong nước tinh khiết, tinh thể và dịch cái được tách bằng cách lọc hút. Các hợp chất tạo thành được làm đông khô để thu được sản phẩm sau đây.

Hợp chất A dạng tinh thể: 16,5 g (số Lô 198-012-078-1, tinh thể trắng, xem sắc ký HPLC của Fig.12, xem phổ ¹H NMR của Fig.13)

Dịch cái (chứa hợp chất A) sau khi hợp chất A dạng tinh thể đã được thu gom từng phần: 36,1 g (số lô 198-012-078-2, trạng thái vô định hình màu trắng sữa, xem sắc ký HPLC của Fig.14, xem phổ ¹H NMR của Fig.15).

2. Tóm tắt

Sản phẩm sau đây có thể thu được từ 280 mL (dung dịch nước, hàm lượng chất rắn: 235 g) hợp chất khởi đầu bằng sắc ký cột trao đổi ion. Được thể hiện trong Bảng 1 là hàm lượng ước tính của hợp chất đích (hợp chất A) được tính toán từ hàm lượng axit axetic được tính bởi ¹H NMR và trị số diện tích của HPLC. Tổng hàm lượng hợp chất đích của quy trình tinh chế của ba lô thu được lần này được tính toán là 54,2 g và tỷ lệ thu hồi từ hợp chất khởi đầu (hàm lượng ước tính của hợp chất đích: 64,1 g) là 84,5%.

Như được mô tả trên đây, được chỉ ra là bằng cách tinh chế bằng sắc ký cột trao đổi ion, tinh thể có thể được kết tinh ra khỏi dung dịch nước của hợp chất A.

[Bảng 1]

Tên đối tượng	Số lô	Khối lượng (g)	Hiệu suất (%) ^{*1}	Độ tinh khiết HPLC (%) ^{*4}	Tỷ lệ phần trăm hàm lượng ước tính của axit axetic (% theo khối lượng) ^{*2}	Hàm lượng ước tính của hợp chất đích (g) ^{*3}
Hợp chất A dạng tinh thể	198-012-078-1	16,5	7,0	99,5	-	16,5
Dịch cái sau khi thu gom từng phần hợp chất A dạng tinh thể	198-012-078-2	36,1	15,4	91,9	1	29,3
(Tham chiếu) Hợp chất khởi đầu	-	235	-	75,4	-	64,1

*1: Hiệu suất được tính toán tạo ra hàm lượng chất rắn của hợp chất khởi đầu là 235 g.

*2: Hàm lượng axit axetic được tính từ ¹H NMR.

*3: Hàm lượng ước tính của hợp chất đích được tính toán từ đường cong định cỡ một điểm của trị số diện tích HPLC với pic của hợp chất A dạng tinh thể thu được lần này được sử dụng làm tham chiếu.

*4: "Độ tinh khiết HPLC" thể hiện độ tinh khiết dưới dạng hợp chất A.

[Ví dụ 8]

(Đo nhiều xạ bột tia X)

Phép đo nhiễu xạ bột tia X được thực hiện bằng cách sử dụng hợp chất A dạng tinh thể và chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh của hợp chất A theo sáng chế bằng quy trình sau đây.

1. Mục đích

Hợp chất A dạng tinh thể và chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh của hợp chất A theo sáng chế thu được trong các ví dụ trên đây là dạng tinh thể hay dạng không kết tinh (vô định hình) được xác nhận.

2. Mẫu

Được sử dụng làm mẫu là hợp chất A dạng tinh thể thu được từ dung dịch nước bằng cách tinh chế cột trong ví dụ 7 (mẫu thử nghiệm 1), hợp chất A dạng tinh thể thu được từ dung dịch axeton trong ví dụ 4 (tinh thể được bảo quản dưới dạng tinh thể mềm và không kết tinh lại) (mẫu thử nghiệm 2), và muối Ca (1) của hợp chất A dạng không

kết tinh (chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh của hợp chất A) thu được trong quy trình sản xuất trong ví dụ 4 (mẫu thử nghiệm 3).

3. Quy trình phân tích

3.1. Thiết bị

Thiết bị đo nhiễu xạ tia X góc rộng loại RINT-TTRIII, được sản xuất bởi Rigaku Corp.

Nguồn tia X: Bức xạ $\text{CuK}\alpha$

Điện thế ống-dòng điện ống: 50 kV-300 mA

Độ rộng bước: 0,02 độ

Tốc độ đo: 5 độ/phút

Hệ thống khe: phân kỳ-thu-tán xạ

0,5 độ-0,15 mm-0,5 độ

Bộ đơn sắc tinh thể được uốn cong đường nhiễu xạ

3.2. Phương pháp

Bột của mẫu thử nghiệm 1 đến mẫu thử nghiệm 3 được đo nguyên trạng.

4. Kết quả

Fig.16 thể hiện so sánh bằng cách thấm tách nhiều lần các mẫu đo nhiễu xạ bột tia X của các hợp chất tương ứng của mẫu thử nghiệm 1 (tinh thể thu được từ dung dịch nước bằng cách tinh chế cột), mẫu thử nghiệm 2 (tinh thể thu được từ dung dịch axeton) và mẫu thử nghiệm 3 (muối Ca của chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh). Ngoài ra, danh sách pic của nhiễu xạ bột tia X của mẫu thử nghiệm 1 được chỉ ra trong Bảng 2; và của mẫu thử nghiệm 2, trong Bảng 3.

Rõ ràng từ Fig.16 (trong mẫu trên và trong mẫu giữa) và Bảng 2 và Bảng 3, trong mỗi mẫu thử nghiệm 1 và mẫu thử nghiệm 2, các pic rõ ràng được quan sát thấy trong mẫu nhiễu xạ này nhờ phép đo nhiễu xạ bột tia X, và đã xác nhận được là chúng là chất rắn dạng tinh thể. Ngoài ra, vì các mẫu nhiễu xạ bởi phép đo nhiễu xạ bột tia X của mẫu thử nghiệm 1 và mẫu thử nghiệm 2 trùng nhau, cũng xác nhận được là cả hai mẫu đều là tinh thể có cùng một hình thù.

Mặt khác, như rõ ràng từ Fig.16 (trong mẫu dưới), trong mẫu thử nghiệm 3 là chất rắn thu được bằng cách bổ sung etanol để hòa rắn chất đồng phân không đối quang

dạng không kết tinh dưới dạng muối Ca, không có pic rõ ràng nào được quan sát thấy trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, và xác nhận được là nó là chất rắn vô định hình (dạng không kết tinh).

[Bảng 2]

Góc nhiễu xạ (2θ)	Cường độ tương đối (%)	Góc nhiễu xạ (2θ)	Cường độ tương đối (%)
11,735	96,8	19,301	75,5
12,938	27,4	21,181	37,0
15,719	19,8	21,759	87,7
15,901	71,9	23,561	21,5
16,180	54,7	24,101	85,0
16,678	42,3	26,400	43,5
17,838	36,4	26,959	70,3
18,119	30,7	28,698	33,7
18,359	88,4	29,261	100
19,042	62,9	36,240	19,1

20 cường độ tương đối cao nhất được tách ra.

[Bảng 3]

Góc nhiễu xạ (2θ)	Cường độ tương đối (%)	Góc nhiễu xạ (2θ)	Cường độ tương đối (%)
11,741	100	19,337	65,0
12,938	22,4	21,198	32,8
15,959	81,3	21,742	70,1
16,196	40,4	23,582	23,0
16,682	35,7	24,081	65,1
17,859	37,2	26,441	39,3
18,158	31,6	26,941	54,5
18,359	66,7	29,238	87,0
19,038	55,6	29,644	28,9
19,200	35,3	36,258	20,2

20 cường độ tương đối cao nhất được tách ra.

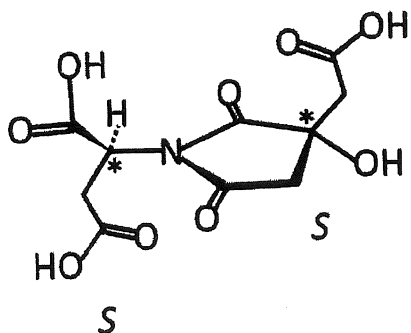
[Ví dụ 9]

(Xác định cấu hình của hợp chất A dạng tinh thể)

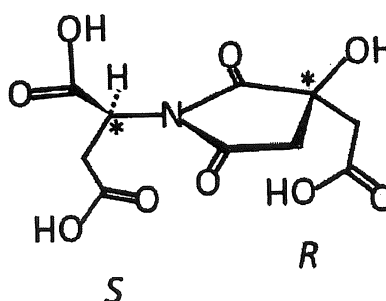
Tinh thể đơn của hợp chất A để phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn được sản xuất bằng quy trình sau đây và được đưa vào phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn.

1. Mục đích

Khi hợp chất A được tổng hợp bằng quy trình được mô tả trong đoạn [0048] của ví dụ 3, axit xitric được liên kết với cấu trúc thu được từ axit L-aspartic (chất đồng phân S) bằng phản ứng imit hóa và tổng hợp được hai chất đồng phân không đối quang (chất đồng phân SS và chất đồng phân SR) được thể hiện dưới đây. Một trong số chúng có tính chất kết tinh được và chất còn lại có tính chất không kết tinh được. Mặc dù mỗi chất trong hai chất đồng phân không đối quang này có thể được tách riêng và được tinh chế nhờ sự khác biệt này, đến nay vẫn không thể xác định cụ thể một chất là chất đồng phân SS hay chất đồng phân SR. Để giải quyết vấn đề này, tạo ra tinh thể đơn có kích thước của khối lập phương 0,2 mm hoặc lớn hơn của hợp chất A dạng tinh thể, và đưa vào phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn.



Chất đồng phân SS



Chất đồng phân SR

(Dấu * trong công thức thể hiện vị trí của nguyên tử cacbon bất đối)

Ngay cả khi hợp chất A được kết tinh trong dung môi như nước hoặc axeton bằng quy trình được mô tả trong đoạn [0048] của ví dụ 3, không thể thu được tinh thể đơn ở kích thước mà có thể thực hiện phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn. Do đó, hệ dung môi và quy trình kết tinh để thu được tinh thể đơn của hợp chất A được nghiên cứu, và quy trình này được thiết lập để tạo ra tinh thể đơn có mức kích

thuốc có thể sử dụng để phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn, sau đó phân tích được thực hiện.

2. Nghiên cứu về điều kiện tạo ra tinh thể đơn của hợp chất A

Bằng cách sử dụng, làm nguyên liệu thô, hợp chất A thu được bằng cách tinh chế thêm hợp chất A dạng tinh thể đã được tổng hợp, tinh chế và được kết tinh trong dung dịch nước bằng quy trình được mô tả trong đoạn [0048] của ví dụ 3, bằng quy trình kết tinh lại được mô tả trong đoạn [0049] của ví dụ 3, sự tạo thành tinh thể đơn để phân tích cấu trúc bằng nhiễu xạ tia X tinh thể đơn được kiểm tra.

Bột tinh thể đã tinh chế cao của hợp chất A thu được bằng cách lặp lại ba lần cùng một quy trình như trong quy trình kết tinh lại được mô tả trong đoạn [0049] của ví dụ 3. 100 mL nước tinh khiết (nước tinh khiết theo được điển Nhật) được bổ sung vào 10 g bột tinh thể, mà sau đó được hòa tan bằng cách gia nhiệt dung dịch tạo thành trong bể nước ở 50°C. Dung dịch thu được được lọc bằng cách sử dụng bộ lọc màng (Merck Millipore) có cỡ lỗ 0,22 µm, và dịch lọc thu được được gom lại. Dịch lọc được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi trên bể nước ở 40°C để từ đó thu được sản phẩm ở dạng khoảng 50 ml dung dịch. Dung dịch này được cô đặc và để nguội đến nhiệt độ phòng để trở thành dung dịch ở trạng thái quá bão hòa. Dung dịch này nguyên trạng ở trạng thái được gia nhiệt (40°C) được phân chia vào các ống nghiệm có nắp để có tỷ lệ dung môi được chỉ ra trong Bảng sau đây (Bảng 4) để tạo ra các dung dịch có các hỗn hợp dung môi. Cụ thể là, bằng cách bổ sung 100 µL dung môi hữu cơ chứa metanol, etanol, axeton và dung môi tương tự vào 400 µL dung dịch quá bão hòa, tạo thành dung dịch có tỷ lệ nước trong hỗn hợp dung môi là 80%. Tương tự, bằng cách bổ sung 200 µL, 300 µL và 400 µL dung môi hữu cơ lần lượt là metanol, etanol, axeton và tương tự vào 300 µL (nước: 60%), 200 µL (nước: 40%) và 100 µL (nước: 20%) dung dịch quá bão hòa, tạo ra các dung dịch có hỗn hợp dung môi có tỷ lệ nước trong các hỗn hợp dung môi này lần lượt là 60%, 40% và 20%. Đối với dung dịch có 100% nước, 500 µL dung dịch quá bão hòa được pha vào. Đối với dung dịch có 100% dung môi hữu cơ là metanol, etanol, axeton và tương tự, 50 mg tinh thể đã tinh chế cao của hợp chất A được đưa vào ống nghiệm; 500 µL dung môi được bổ sung vào; và nhiều tinh thể nhất có thể được hòa tan bằng cách gia nhiệt ở 40°C. Trong các hệ hỗn hợp dung môi của isopropanol và

nước, khi tỷ lệ của isopropanol là 40% hoặc cao hơn, do độ tan của hợp chất A giảm và nhiều kết tủa lắng đọng nhanh, không thực hiện nghiên cứu nào trên nồng độ 40% hoặc cao hơn của isopropanol trong hệ hỗn hợp dung môi. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

[Bảng 4]

Tỷ lệ phần trăm nước	100%	80%	60%	40%	20%	0%
Nước	100%					
Metanol		20%	40%	60%	80%	100%
Etanol		20%	40%	60%	80%	100%
Isopropanol		20%	40%	-	-	-
Axeton		20%	40%	60%	80%	100%

Ống nghiệm chứa mỗi dung dịch của hợp chất A đã được tạo ra như vậy được đậy kín bằng nắp của ống nghiệm, và được để yên ở nhiệt độ phòng trong cả ngày và đêm hoặc lâu hơn để làm cho hợp chất A lắng đọng từ trạng thái quá bão hòa. Mỗi ống nghiệm được đưa vào tách ly tâm (nhiệt độ phòng, 3.000 vòng/phút, 10 phút) để làm cho các lắng đọng kết tủa xuống; và dịch nổi bề mặt của mỗi dung dịch được chuyển một cách thận trọng vào ống nghiệm sạch khác có nắp nhựa để tạo ra dung dịch bão hòa của mỗi dung dịch này. Ở trạng thái mà nắp của ống nghiệm chứa mỗi dung dịch bão hòa được đóng kín, một lỗ nhỏ được mở trên nắp nhựa này bằng kim tiêm, và ống nghiệm này được để yên ở nhiệt độ phòng trong khi dung môi bay hơi chậm qua lỗ nhỏ này và nhờ đó hợp chất A dạng tinh thể lắng đọng. Bằng cách quan sát hình thù và kích thước của tinh thể đã lắng đọng và trạng thái của sự phát triển tinh thể theo thời gian, đã phát hiện ra là quy trình kết tinh của tinh thể này bằng cách sử dụng hệ hỗn hợp dung dịch của nước và axeton là thích hợp. Đối với tỷ lệ dung môi, tỷ lệ axeton là 40% đến 80% (tỷ lệ nước từ 60% đến 20%) là tốt, và tốt nhất là tinh thể thu được bằng cách làm bay hơi dung dịch bão hòa cụ thể là có tỷ lệ axeton là 60% (tỷ lệ nước là 40%). Trong hệ dung môi nền rượu không phải hệ axeton, sự đa kết tinh có khả năng xảy ra, hoặc sự phát triển tinh thể là kém, do đó không thu được tinh thể đơn có thể sử dụng cho phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn.

3. Sản xuất tinh thể đơn của hợp chất A

Để phân tích cấu trúc của hợp chất A bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn, sử dụng tinh thể thu được bằng cách làm bay hơi chậm hỗn hợp dung môi nước-axeton (40%-60%) ở nhiệt độ phòng bằng cách mở một lỗ trên nắp của ống nghiệm mà trong đó dung dịch bão hòa của hỗn hợp dung môi được đưa vào. Các tinh thể được tạo ra để phát triển trong vài ngày đến khi các tinh thể đơn đã kết tinh phát triển đầy đủ, và thu gom trước khi các tinh thể đơn dung hợp và đa kết tinh. Quy trình thu gom các tinh thể bao gồm dốc ngược ống nghiệm cùng với dung dịch chứa tinh thể để nhỏ giọt dung dịch trên giấy lọc để làm cho dung dịch thấm vào giấy lọc và thu gom tinh thể còn lại trên giấy lọc bằng kim tiêm kim loại. Các tinh thể đơn đã thu gom được quan sát dưới kính có độ phân giải trung bình (mesoscope), và tinh thể đơn có kích thước và hình thù có thể sử dụng cho phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn được lấy ra, và được sử dụng cho phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn.

4. Phân tích cấu trúc của hợp chất A bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn

Phân tích cấu trúc bằng phép đo nhiễu xạ tia X tinh thể đơn được thực hiện để kiểm tra hợp chất A dạng tinh thể là chất đồng phân SS hay chất đồng phân SR. Tinh thể hình lăng trụ ($0,2 \text{ mm} \times 0,2 \text{ mm} \times 0,6 \text{ mm}$) có độ kết tinh tốt được lấy mẫu từ các tinh thể đơn được tạo ra theo quy trình trên đây để tạo ra các tinh thể đơn, sau đó được gắn lên sợi thủy tinh, và được đưa vào đo nhiễu xạ tia X bằng cách sử dụng loại RASA-7R của thiết bị đo nhiễu xạ bốn trục, được sản xuất bởi Rigaku Corp., sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$) được làm đơn sắc bằng bộ đơn sắc than chì.

Hằng số mạng tinh thể được xác định bằng phương pháp bình phương cực tiểu từ 25 phản xạ trong khoảng $50,0^\circ < 2\theta < 58,8^\circ$. Phép đo được thực hiện trên các phản xạ có các góc nhiễu xạ 2θ là $136,1^\circ$ hoặc thấp hơn bằng phương pháp quét ω - 2θ . Sau khi đo tất cả các số liệu phản xạ, đã phát hiện được bằng quy tắc dập tắt (tắt cường độ phản xạ hệ thống) là nhóm không gian là $P2_1/c$ (#14). Số liệu phép đo được thể hiện trong Bảng 5, và số liệu tinh thể được chỉ ra trong Bảng 6.

[Bảng 5] <Số liệu phép đo>

Thiết bị đo nhiễu xạ được sử dụng: Loại RASA-7R, được sản xuất bởi Rigaku Corp.

Phương pháp quét: ω - 2θ

Độ rộng quét: $1,79^\circ + 0,30^\circ \tan \theta$

Tốc độ quét (ω): $16,0^\circ/\text{phút}$

Khoảng thu thập số liệu: $2\theta_{\text{max}} 136,1^\circ$

Số lượng phản xạ: 2.552

Số lượng phản xạ độc lập: 1.902

Tiêu chuẩn được chấp nhận làm giá trị quan sát: $I > 3\sigma(I)$

Số lượng các phản xạ được chấp nhận làm giá trị quan sát: 1.899

Hiệu chỉnh: Hệ số Lorentz và hệ số phân cực

Hệ số hiệu chỉnh tác động tắt: $4,24060\text{e}+001$

[Bảng 6] <Số liệu tinh thể>

Công thức phân tử: $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_9 + \text{H}_2\text{O}$

Khối lượng phân tử: $289 + 18$

Hệ tinh thể: đơn nghiêng

Nhóm không gian: $\text{P2}_1/\text{c}(\#14)$

a: $11,685(2) \text{ \AA}$

b: $10,262(3) \text{ \AA}$

c: $11,129(2) \text{ \AA}$

α : 90°

β : $107,46(1)^\circ$

γ : 90°

Thể tích của tế bào đơn vị: $1.273,2(4) \text{ \AA}^3$

Tia X được sử dụng và bước sóng của nó: Bức xạ $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$)

Số lượng phân tử trong tế bào đơn vị: Z4

Giá trị tỷ trọng tính toán được: $1,603 \text{ g/cm}^3$

Hệ số hấp thụ tuyến tính ($\text{CuK}\alpha$): $12,99 \text{ m}^{-1}$

Hình thù và kích thước của tinh thể mẫu: hình lăng trụ ($0,20 \text{ mm} \times 0,20 \text{ mm} \times 0,60 \text{ mm}$)

F(000): 640,00

Nhiệt độ đo: 25°C

5. Xác định cấu trúc tinh thể của hợp chất A

Việc xác định cấu trúc được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp trực tiếp SIR92 sử dụng 280 phản xạ có các trị số tuyệt đối của các hệ số cấu trúc được chuẩn hóa E là lớn hơn 1,527. Tất cả các chỉ số phối trí nguyên tử có thể được xác định từ Emap được tính toán từ tập hợp các pha tạo ra hệ số chất lượng cao nhất ($FOM = 1,416$) và sự mở rộng cấu trúc bởi Fourier. Việc tinh chế được thực hiện bằng cách sử dụng 1.899 phản xạ có cường độ phản xạ I lớn hơn $3\sigma(I)$ và phương pháp bình phương cực tiểu ma trận đầy đủ. Hệ số R được tính toán bằng cách cân bằng tỷ lệ khối lượng của tất cả các phản xạ hội tụ đến 0,053. Trị số tối đa và trị số tối thiểu của mật độ điện tử trong biểu đồ D Fourier cuối cùng là 0,28 và $-0,25e-/Å^3$. Hệ số tán xạ nguyên tử được sử dụng là trị số được mô tả trong "International Tables for X-ray Crystallography", và tất cả các phép tính được thực hiện bằng cách sử dụng CrystalStructure là gói phần mềm tinh thể học của Rigaku Corporation và Rigaku/MSO. Số liệu phân tích được thể hiện trong Bảng 7.

[Bảng 7] <Số liệu phân tích>

Phương pháp xác định cấu trúc gần đúng: phương pháp trực tiếp (SIR92)

Phương pháp bình phương cực tiểu được sử dụng: phương pháp ma trận đầy đủ

Loại hệ số nhiệt độ: hệ số nhiệt độ bất đẳng hướng

Xử lý nguyên tử hydro: hệ số nhiệt độ đẳng hướng

Chỉ số R cuối cùng: $R=0,053$, $wR=0,043$ (tỷ lệ khối lượng: $1/\sigma^2 (Fo)$)

Trị số tối đa D cuối cùng của mật độ điện tử tổng hợp: $0,28e-/Å^3$

Trị số tối thiểu D cuối cùng của mật độ điện tử tổng hợp: $-0,25e-/Å^3$

Tên của hệ thống chương trình được sử dụng: CrystalStructure

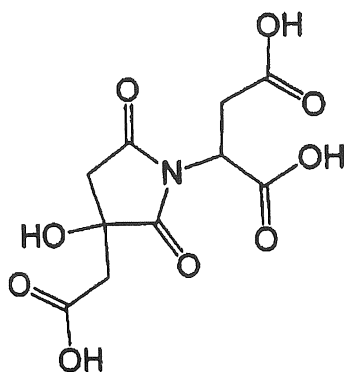
Nhờ phân tích này, đã làm rõ được là hợp chất A dạng tinh thể (hợp chất A dạng tinh thể) là các chất đồng phân đối quang gồm chất đồng phân SS và chất đồng phân RR trong hệ thống ký hiệu RS. Sau đó, vì axit aspartic được sử dụng trong quy trình tổng hợp hoàn toàn là axit L-aspartic (chất đồng phân S), đã phát hiện ra là hợp chất A dạng tinh thể là chất đồng phân SS. Sau đó, tương ứng với điều này, cũng phát hiện ra là hợp chất A có đặc điểm không kết tinh là chất đồng phân SR.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Mặc dù hỗn hợp chất đồng phân không đối quang của hợp chất A được biết là hoạt chất có tác dụng ức chế rối loạn gan, đến nay vẫn chưa biết về tác dụng sinh lý của hợp chất A dạng tinh thể và hợp chất A dạng không kết tinh trong các sinh vật. Để tách các hợp chất hữu cơ có cấu trúc tương tự, như các chất đồng phân không đối quang, không giới hạn ở hợp chất A, đòi hỏi các quy trình cần công nghệ tinh chế cao thường sử dụng các cột có khả năng tách cao. Ngoài ra, trong các phương pháp tinh chế thông thường sử dụng các cột này, việc tăng quy mô tinh chế là khó và việc cung cấp chúng với lượng lớn đòi hỏi chi phí cao trong nhiều trường hợp. Theo sáng chế, đã xác nhận được việc là chỉ một chất đồng phân không đối quang của hợp chất A có thể được kết tinh và đã chứng minh được là quy trình tinh chế chất đồng phân không đối quang này không đắt tiền và với lượng lớn theo công nghệ kết tinh. Cũng đã chứng minh được là phương pháp tinh chế chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh này không đắt tiền và với lượng lớn nhờ kết tinh gần như hoàn toàn chất đồng phân không đối quang dạng tinh thể bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ. Nhờ đó, mong đợi là quy mô cung cấp các chất đồng phân không đối quang đã tinh chế của hợp chất A có thể được mở rộng từ mức độ phân tích đến mức độ công nghiệp. Do đó theo sáng chế, cung cấp được hợp chất A dạng tinh thể và chất đồng phân không đối quang ở dạng không kết tinh có độ tinh khiết cao vượt trội của hợp chất A theo cách không đắt tiền và với lượng lớn, hợp chất A này được mong đợi là được sử dụng thích hợp cho lĩnh vực sản xuất thuốc, lĩnh vực sản xuất thực phẩm bao gồm thực phẩm chức năng và thực phẩm tốt cho sức khỏe và tương tự.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất dạng tinh thể được thể hiện bằng công thức (A) sau đây (sau đây, được gọi là hợp chất A):

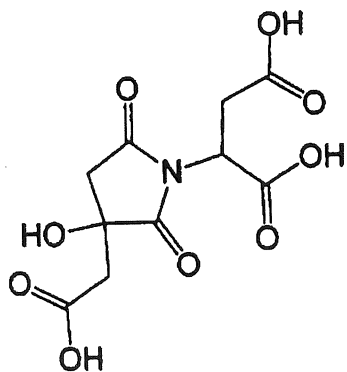


(A)

2. Hợp chất dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó hợp chất này có cấu trúc không gian của chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

3. Hợp chất dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó hợp chất này có các pic có góc nhiễu xạ (2 θ) ở $11,74 \pm 0,20^\circ$, $29,25 \pm 0,20^\circ$, $18,36 \pm 0,20^\circ$, $21,75 \pm 0,20^\circ$ và $15,95 \pm 0,20^\circ$ trong mẫu đo nhiễu xạ bột tia X sử dụng bức xạ CuK α làm nguồn tia X.

4. Quy trình sản xuất hợp chất A dạng tinh thể, được thể hiện bằng công thức (A) sau đây, bao gồm các bước từ (a) đến (f) sau đây:



(A)

(a) cho dung dịch nước chứa hợp chất A và/hoặc muối của nó và axit xitric và/hoặc muối của nó và có độ pH là 5,0 đến 8,5 đi qua cột được nhồi bằng nhựa trao đổi anion;

(b) cho dịch rửa giải đi qua cột này để nhờ đó thu được dung dịch nước không chứa axit xitric mà chứa hợp chất A;

(c) loại bỏ dịch rửa giải khỏi dung dịch nước thu được bởi bước (b);

(d) cô đặc dung dịch nước mà dịch rửa giải đã được loại bỏ ra khỏi đó;

(e) bổ sung nước vào cặn đã cô đặc để tạo ra dung dịch nước, và cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và

(f) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

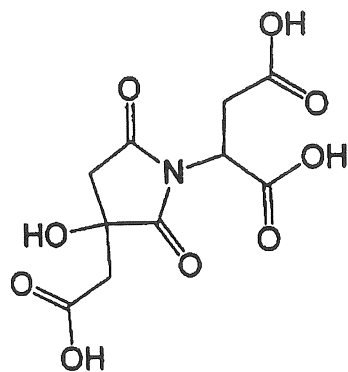
5. Quy trình sản xuất theo điểm 4, trong đó hợp chất A dạng tinh thể có cấu trúc không gian của chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

6. Quy trình sản xuất theo điểm 4 hoặc 5, trong đó dịch rửa giải này là dịch rửa giải được chọn từ nhóm bao gồm dung dịch nước amoni axetat, dung dịch nước natri clorua và dung dịch nước amoni format.

7. Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 4 đến 6, trong đó quy trình loại bỏ dịch rửa giải là quy trình sử dụng cột được nhồi bằng nhựa trao đổi cation.

8. Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 4 đến 7, trong đó quy trình cô đặc là quy trình đông khô.

9. Quy trình sản xuất hợp chất A dạng tinh thể, được thể hiện bằng công thức (A) sau đây, bao gồm các bước từ (a) đến (f) sau đây:



(A)

- (a) bổ sung canxi cacbonat vào dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;
- (b) loại bỏ canxi xitrat khỏi dung dịch nước;
- (c) bổ sung axit sulfuric vào dung dịch nước để tạo ra độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi sulfat;
- (d) loại bỏ canxi sulfat khỏi dung dịch nước;
- (e) cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và
- (f) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

10. Quy trình sản xuất theo điểm 9, trong đó hợp chất A dạng tinh thể có cấu trúc không gian của chất đồng phân SS trong hệ thống ký hiệu RS.

11. Quy trình sản xuất theo điểm 9 hoặc 10, trong đó nồng độ này là nồng độ chân không.

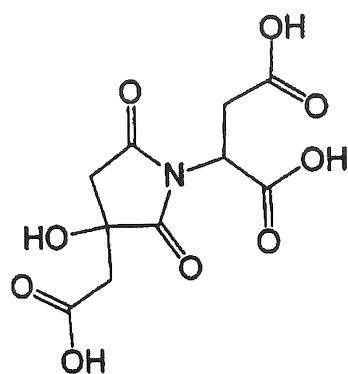
12. Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 9 đến 11, trong đó sau khi thu được hợp chất A dạng tinh thể, quy trình này còn bao gồm các bước từ (g) đến (j) sau đây:

- (g) bổ sung dung môi hữu cơ vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;
- (h) loại bỏ canxi xitrat khỏi hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ;
- (i) khử nước hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể; và

(j) thu được hợp chất A dạng tinh thể.

13. Quy trình sản xuất theo điểm 12, trong đó dung môi hữu cơ là axeton.

14. Quy trình sản xuất muối của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A, được thể hiện bằng công thức (A) sau đây, bao gồm các bước từ (a) đến (l) sau đây:



(A)

(a) bổ sung canxi cacbonat vào dung dịch nước chứa hợp chất A và axit xitric và có độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi xitrat;

(b) loại bỏ canxi xitrat khỏi dung dịch nước;

(c) bổ sung axit sulfuric vào dung dịch nước để tạo ra độ pH là 2,0 hoặc thấp hơn để nhờ đó kết tủa canxi sulfat;

(d) loại bỏ canxi sulfat khỏi dung dịch nước;

(e) cô đặc dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể;

(f) tách hợp chất A dạng tinh thể ra khỏi dung dịch nước;

(g) bổ sung dung môi hữu cơ vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể, và canxi xitrat;

(h) tách hợp chất A dạng tinh thể và canxi xitrat ra khỏi hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ;

(i) khử nước hỗn hợp chất lỏng của dung dịch nước và dung môi hữu cơ để nhờ đó kết tủa hợp chất A dạng tinh thể;

(j) tách hợp chất A dạng tinh thể ra khỏi dung dịch nước;

(k) bổ sung muối kim loại hoặc muối của axit amin và rượu vào dung dịch nước để nhờ đó kết tủa muối của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A; và

(l) thu được muối của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A.

15. Quy trình sản xuất theo điểm 14, trong đó muối của chất đồng phân không đối quang dạng không kết tinh của hợp chất A có cấu trúc không gian của chất đồng phân SR trong hệ thống ký hiệu RS.

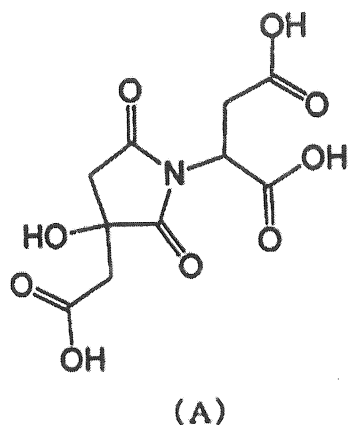
16. Quy trình sản xuất theo điểm 14, trong đó dung môi hữu cơ là axeton.

17. Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 14 đến 16, trong đó muối kim loại này là muối kim loại được chọn từ nhóm bao gồm muối natri, muối kali, muối magie và muối canxi.

18. Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 14 đến 16, trong đó muối của axit amin là muối của axit amin được chọn từ nhóm bao gồm muối của arginin, muối của xitrullin, muối của ornithin và muối của histidin.

19. Quy trình sản xuất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 14 đến 18, trong đó rượu này là etanol hoặc metanol.

20. Hợp chất A ở dạng chất đồng phân không đối quang không kết tinh được thể hiện bằng công thức (A) sau đây hoặc muối của nó



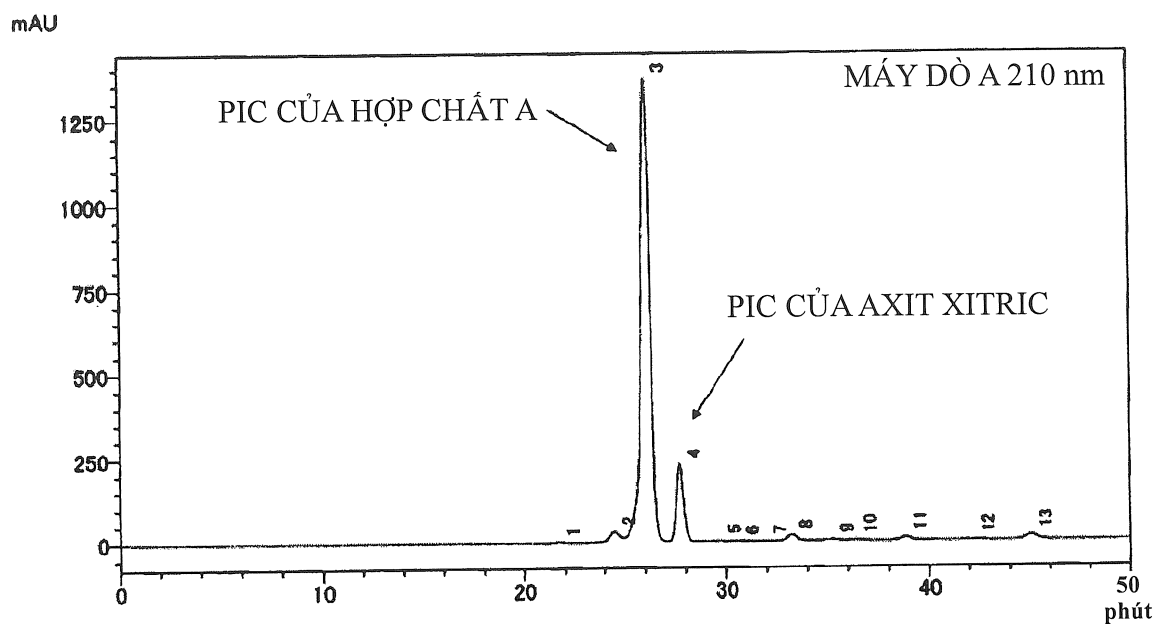
21. Hợp chất A ở dạng chất đồng phân không đối quang không kết tinh hoặc muối của nó theo điểm 20, trong đó hợp chất này có cấu trúc không gian của chất đồng phân SR trong hệ thống ký hiệu RS.

22. Hợp chất A ở dạng chất đồng phân không đối quang không kết tinh hoặc muối của nó theo điểm 20 hoặc 21, trong đó muối này là muối kim loại hoặc muối của axit amin của hợp chất A ở dạng chất đồng phân không đối quang không kết tinh.

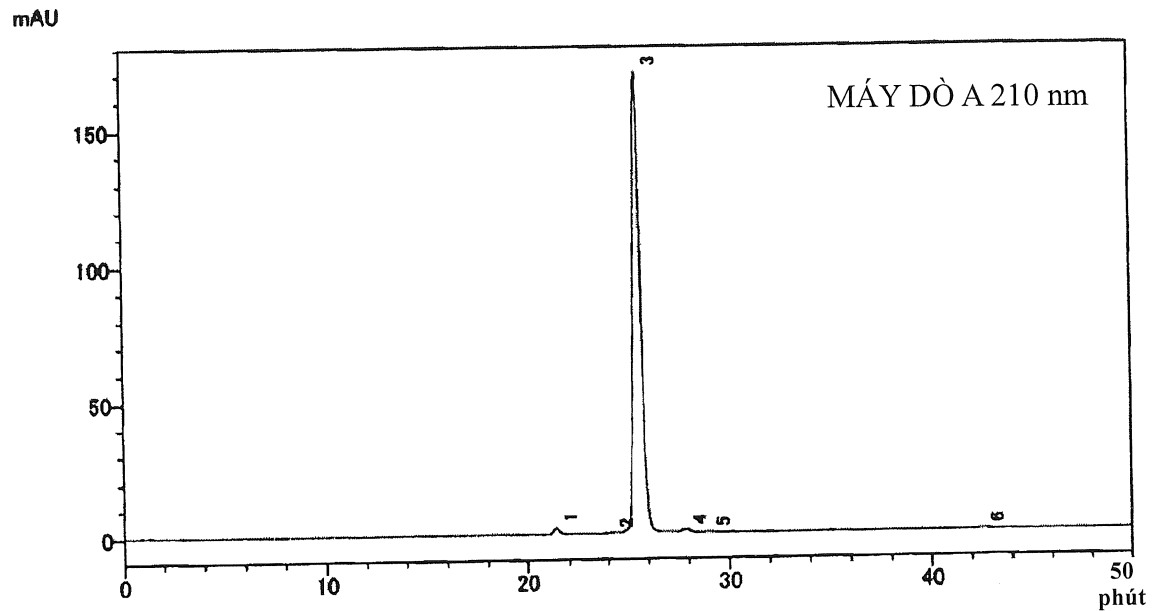
23. Hợp chất A ở dạng chất đồng phân không đối quang không kết tinh hoặc muối của nó theo điểm 22, trong đó muối kim loại này là muối kim loại được chọn từ nhóm bao gồm muối natri, muối kali, muối magie và muối canxi.

24. Hợp chất A ở dạng chất đồng phân không đối quang không kết tinh hoặc muối của nó theo điểm 22, trong đó muối của axit amin là muối của axit amin được chọn từ nhóm bao gồm muối của arginin, muối của xitrullin, muối của ornithin và muối của histidin.

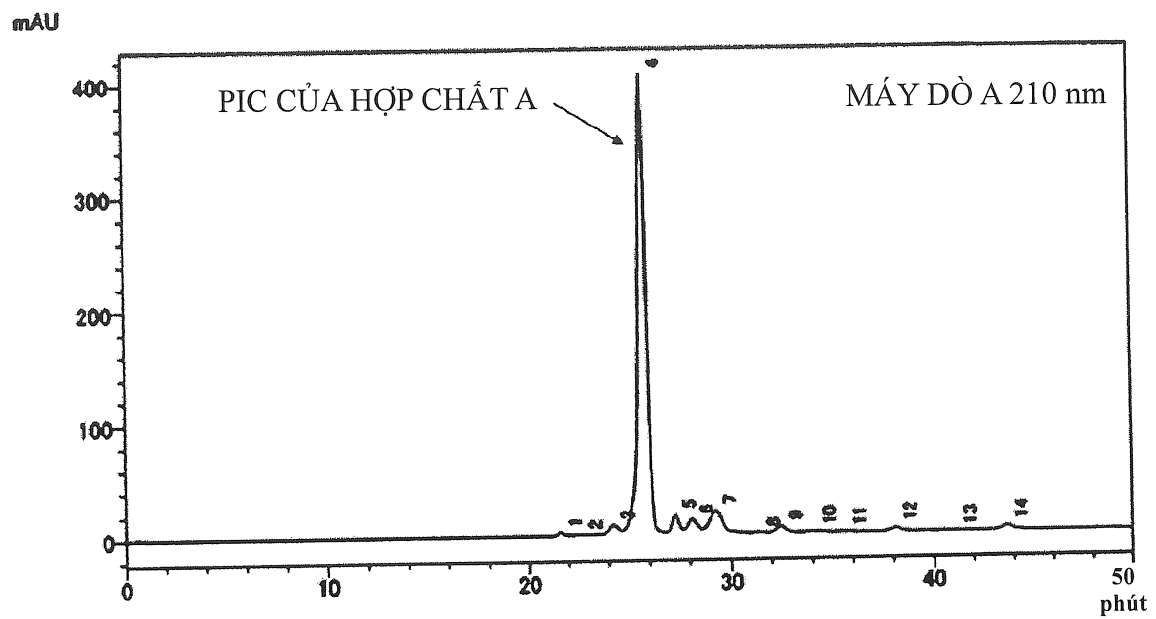
[Fig. 1]



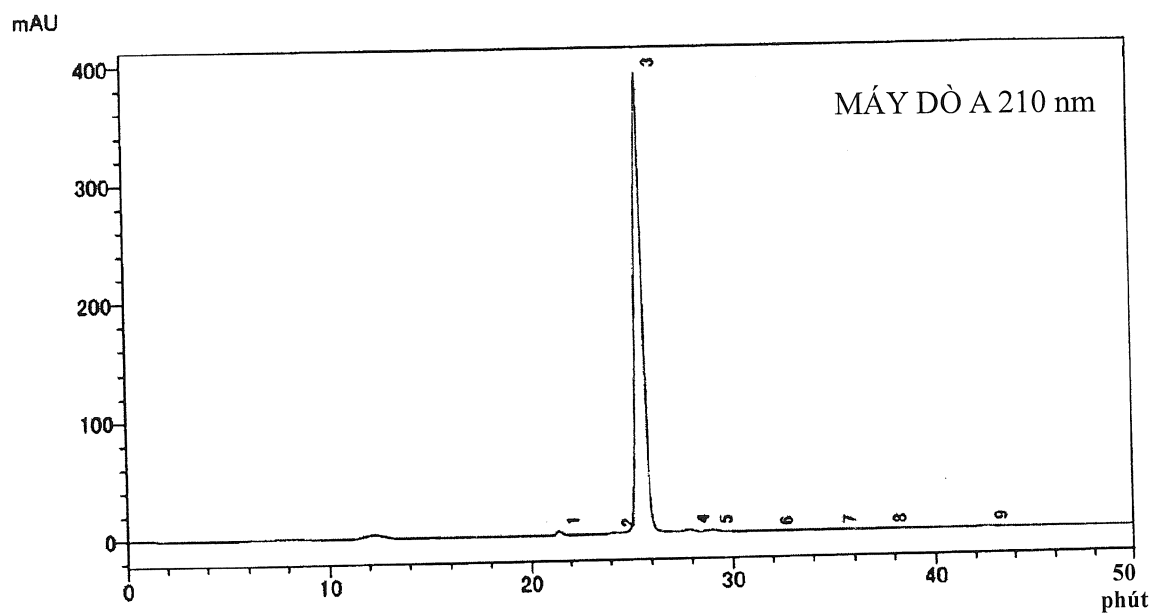
[Fig. 2]



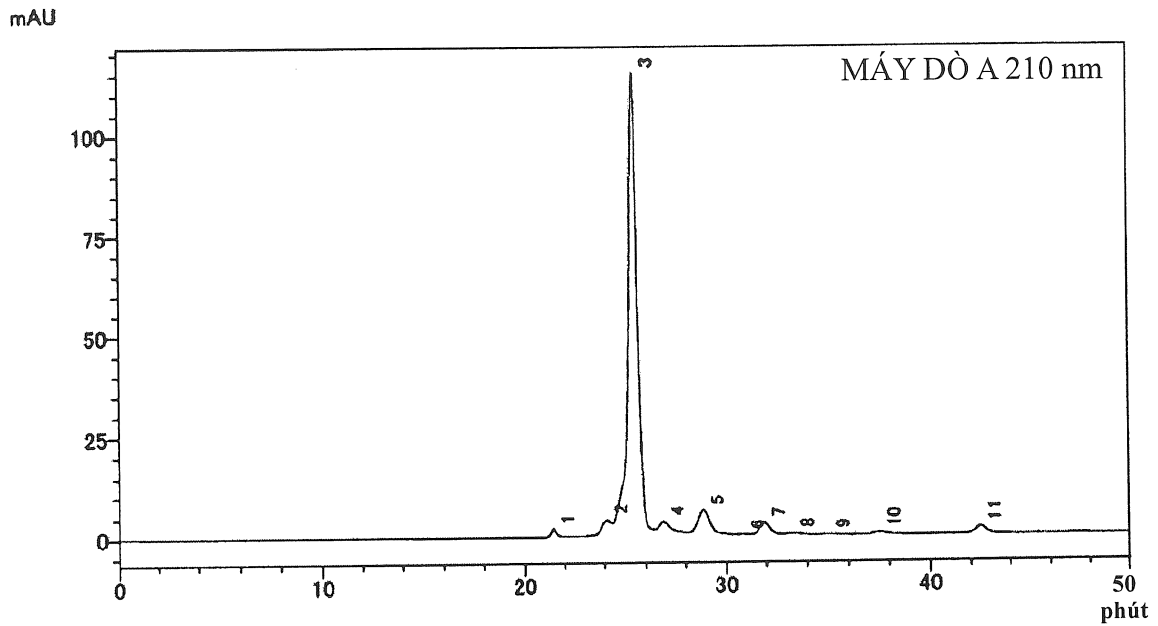
[Fig. 3]



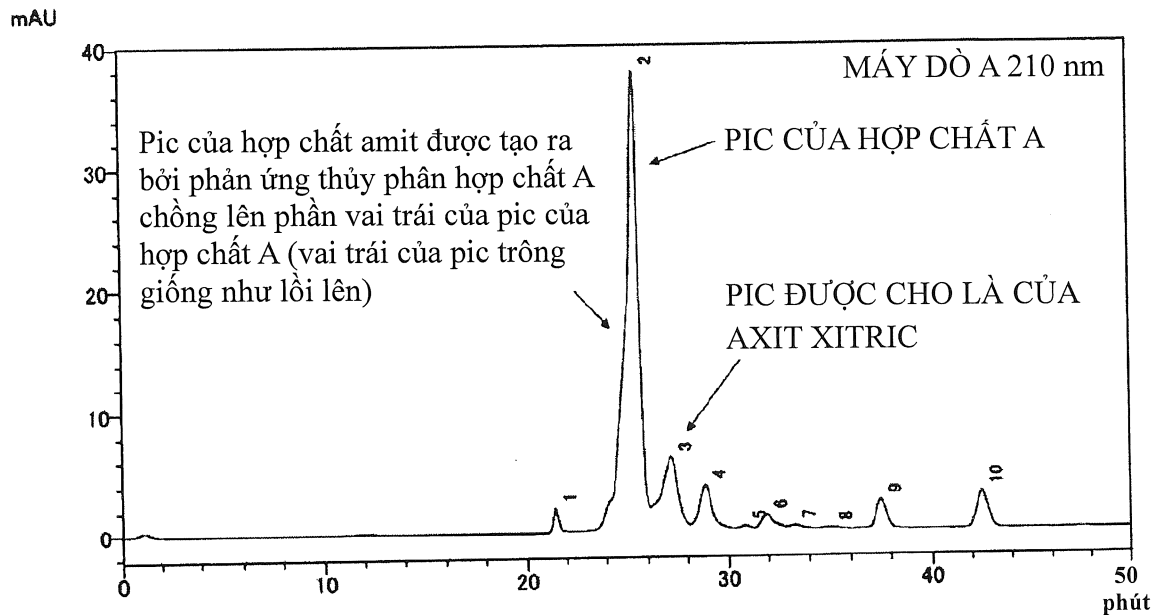
[Fig. 4]



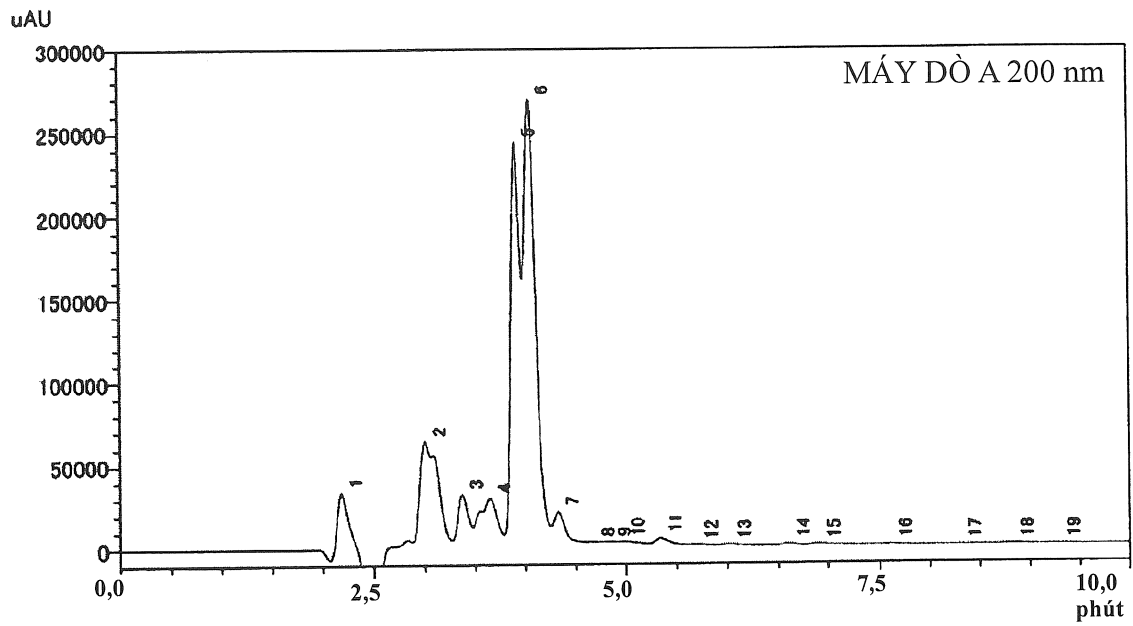
[Fig. 5]



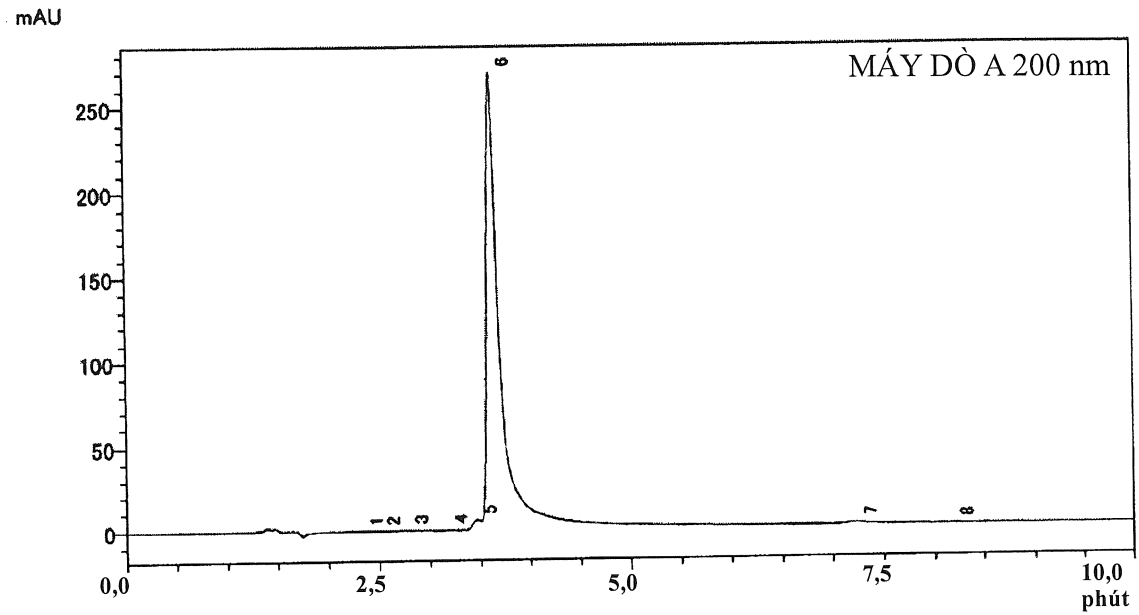
[Fig. 6]



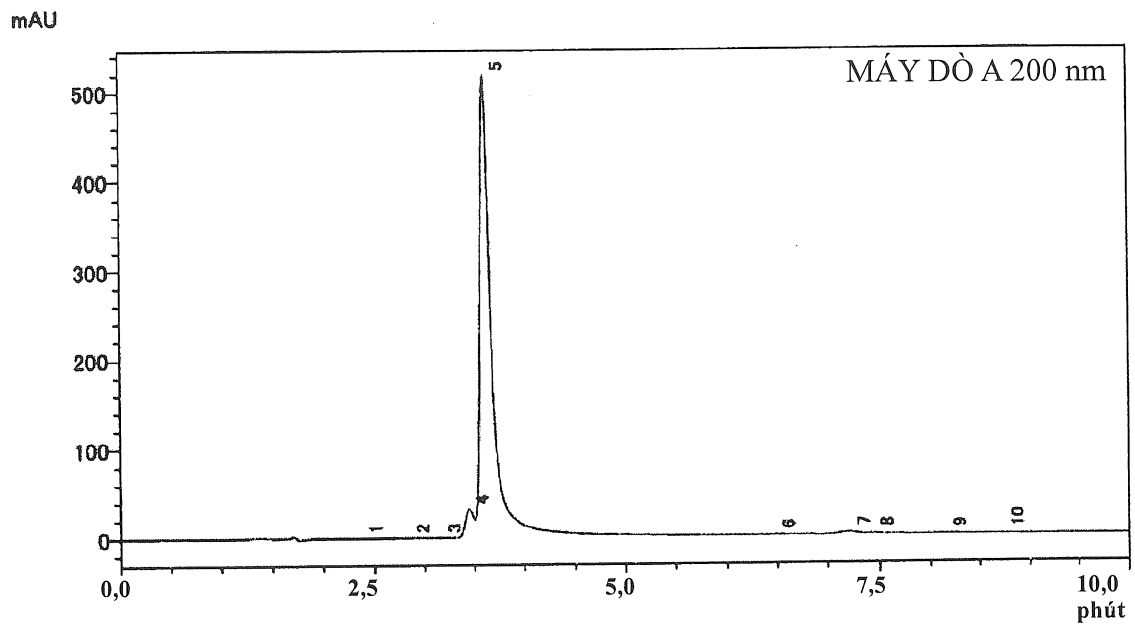
[Fig. 7]



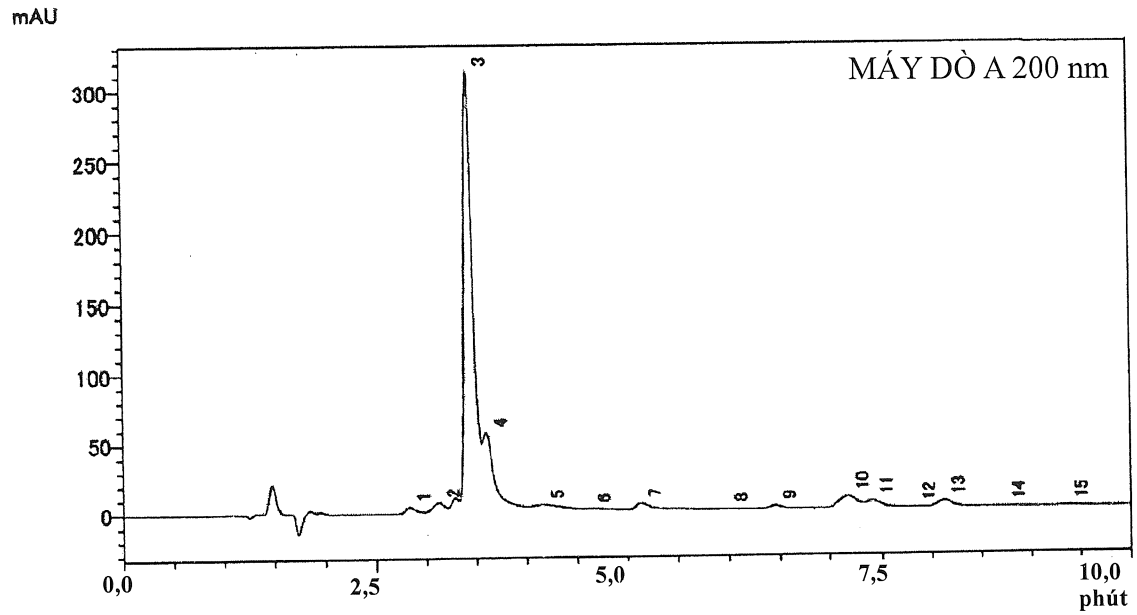
[Fig. 8]



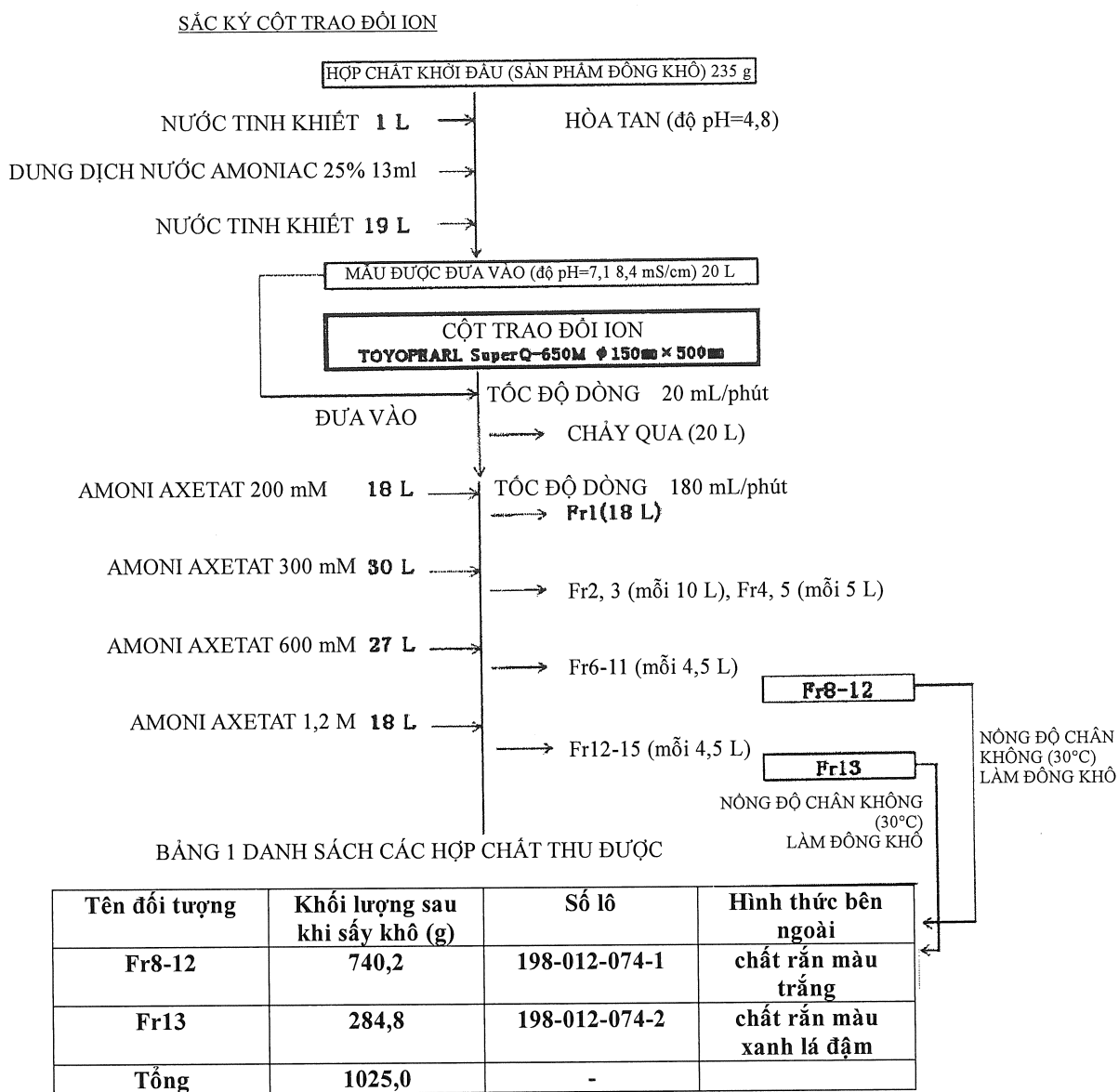
[Fig. 9]



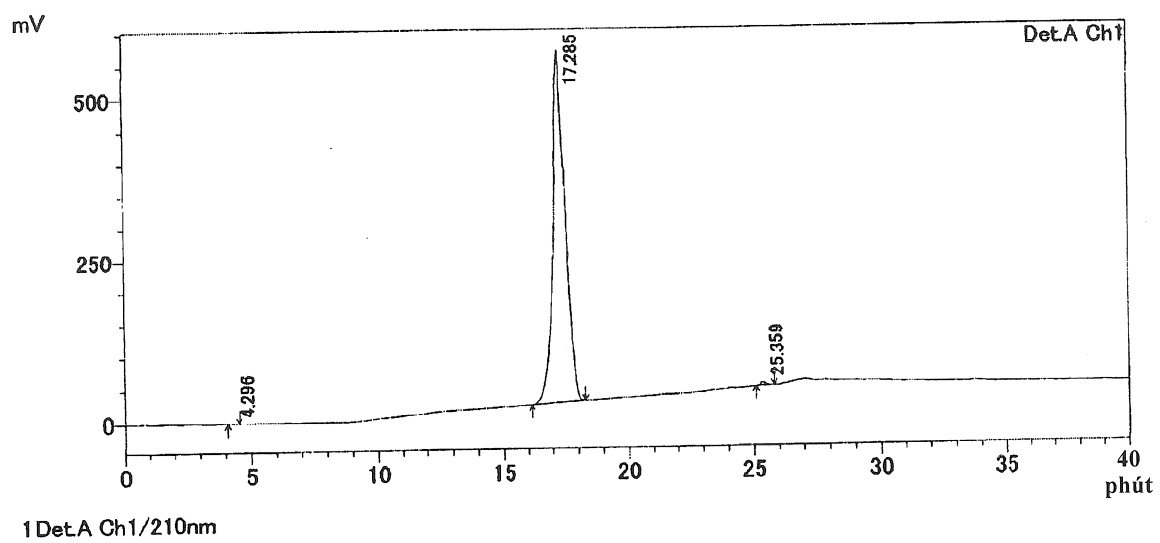
[Fig. 10]



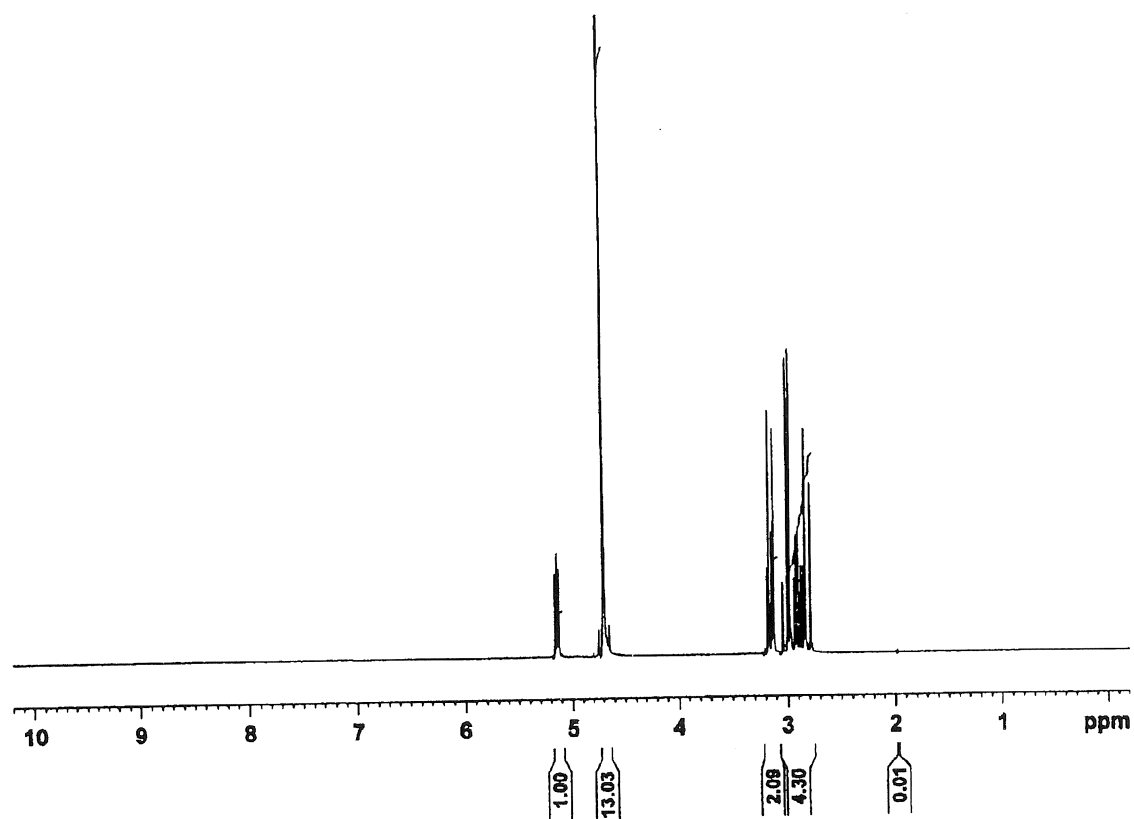
[Fig. 11]



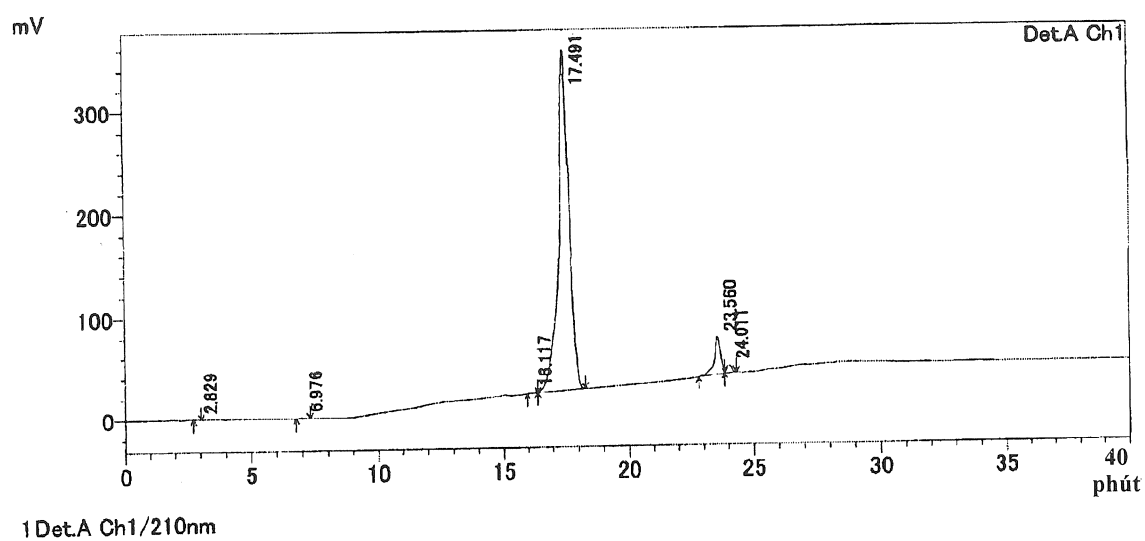
[Fig. 12]



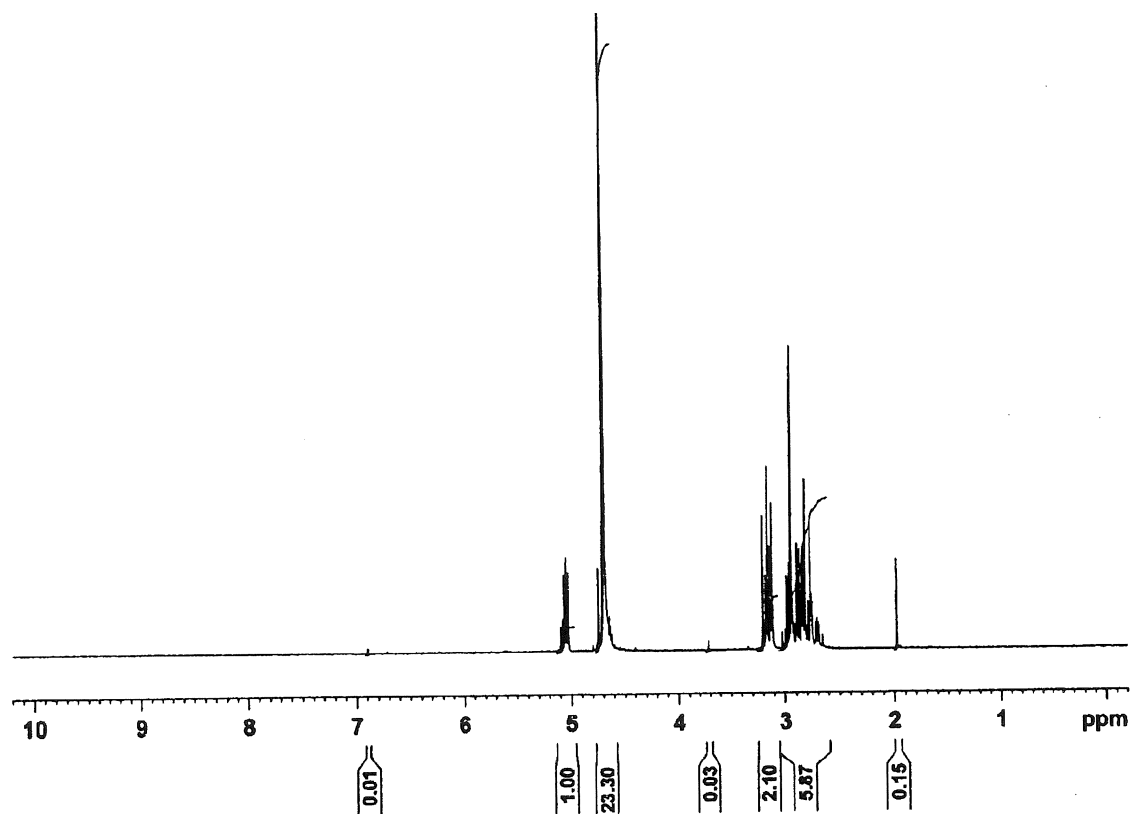
[Fig. 13]



[Fig. 14]



[Fig. 15]



[Fig. 16]

