



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

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

(11)



1-0048311

(51)^{2020.01} C07K 7/62; A61K 38/12

(13) B

(21) 1-2021-00038

(22) 25/06/2019

(86) PCT/EP2019/066819 25/06/2019

(87) WO 2020/002325 02/01/2020

(30) 62/689,602 25/06/2018 US

(45) 25/07/2025 448

(43) 26/07/2021 400A

(73) EVEREST MEDICINES (SINGAPORE) PTE. LTD. (SG)

30 Cecil Street #19-08, Prudential Tower, Singapore 049712

(72) Pamela BROWN (GB); Michael DAWSON (GB); Mona SIMONOVIC (GB); Steven BOAKES (GB); Esther DUPERCHY (FR); Dean RIVERS (GB); Roy LESTER (GB); Scott COLEMAN (US).

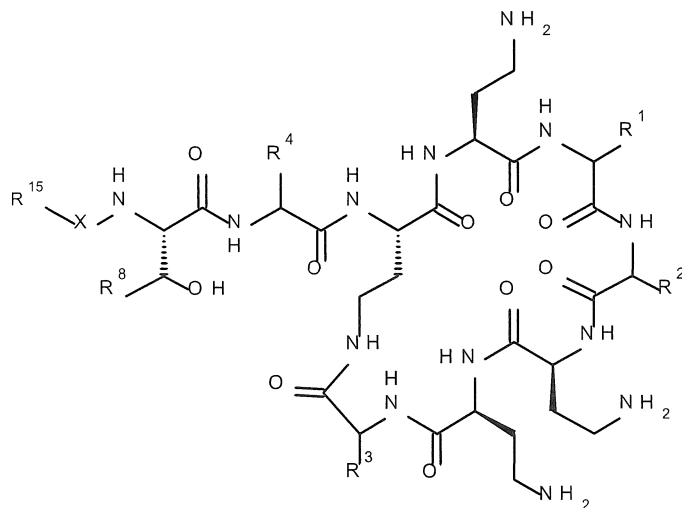
(74) Công ty cổ phần tư vấn Trung Thực (TRUNG THUC.,JSC)

(54) HỢP CHẤT POLYMYXIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

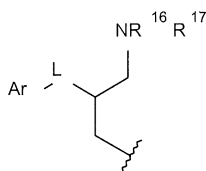
(21) 1-2021-00038

(57)

Sáng chế đề xuất hợp chất polymyxin có công thức (I) và các muối, các solvat và dạng được bảo vệ của nó, các dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), và sử dụng các hợp chất và các chế phẩm trong các phương pháp điều trị bệnh, như các phương pháp điều trị nhiễm vi sinh vật. Hợp chất có công thức (I) có công thức:



trong đó $-R^{15}$ là nhóm:



và $-R^{16}$ là hydro; $-R^{17}$ là hydro; $-L-$ là liên kết cộng hóa trị hoặc metylen; và $-Ar$ aryl tùy ý được thể. Các nhóm $-X-$, $-R^1$, $-R^2$, $-R^3$, $-R^4$, và $-R^8$ được xác định như đã nêu trong bản mô tả này.

Đơn liên quan

Đơn đăng ký sáng chế này yêu cầu hưởng lợi ích, và quyền ưu tiên, của US 62/689602 nộp ngày 25 tháng 6 năm 2018 (25,06,2018), nội dung của nó được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất polymyxin mới, các dược phẩm chứa các hợp chất này, và sử dụng các hợp chất này và các dược phẩm đó trong việc điều trị bệnh, ví dụ, điều trị nhiễm vi sinh vật, đặc biệt là nhiễm các vi khuẩn gram âm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

WO2013/072695 và WO2014/188178 bộc lộ các chất dẫn xuất của polymyxin, trong đó gốc axyl béo ở đầu tận cùng N và gốc axit diaminobutyric bên cạnh của polymyxin B hoặc colistin được thế bằng nhóm đầu tận cùng có phần tử thế amino. Các chất dẫn xuất này có hoạt tính diệt vi khuẩn tốt trong khi có mức độ tính tế bào giảm.

WO2015/135976 còn bộc lộ các chất dẫn xuất của polymyxin trong đó gốc axyl béo ở đầu tận cùng N và axit diaminobutyric bên cạnh của polymyxin B hoặc colistin cũng được thế bằng nhóm đầu tận cùng có phần tử thế amino. Trong bản mô tả này, vị trí cụ thể của phần tử thế amino và việc đặt các phần tử thế khác ở gốc đầu tận cùng N được thấy là quan trọng đối với hoạt tính diệt vi khuẩn mạnh đối với một loạt tác nhân gây bệnh then chốt, như *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Acinetobacter baumannii*. Các hợp chất đã được bộc lộ cũng duy trì độ tính tế bào thấp.

WO 2016/083531 bộc lộ các chất dẫn xuất của polymyxin, trong đó gốc axyl béo ở đầu tận cùng N và axit diaminobutyric bên cạnh của polymyxin B hoặc colistin cũng được thế bằng nhóm đầu tận cùng có phần tử thế amino, như các nhóm có mặt trong công bố đơn quốc tế số WO2013/072695, WO2014/188178 và WO2015/135976.

Ngoài ra, gốc axit amin ở vị trí 6 và/hoặc 7 được thể liên quan đến polymyxin B và colistin.

Để trở nên hữu ích hơn cho liệu pháp ngoài đường tiêu hóa đối với hiện tượng nhiễm toàn thân so với các polymyxin hiện có, các chất dẫn xuất mới của polymyxin ít nhất phải có hoạt tính ngang bằng các polymyxin đã biết này trong khi có độc tính *in vivo* ở thận thấp hơn đáng kể.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

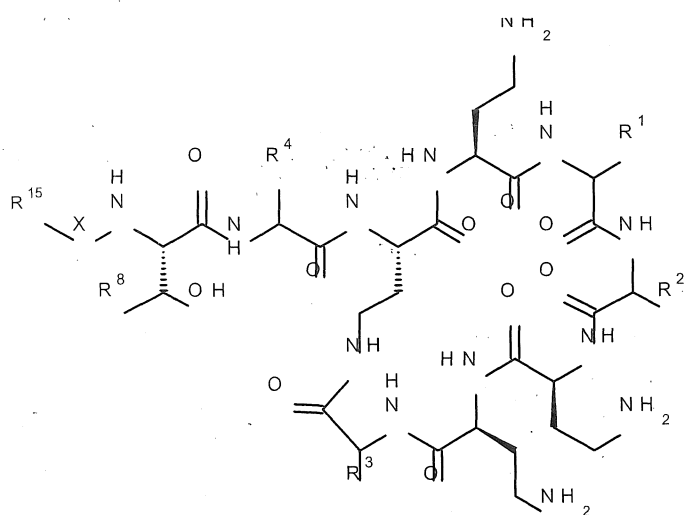
Theo khía cạnh chung, sáng chế đề xuất các hợp chất có lõi polymyxin đã được loại axyl, như lõi nonapetid của polymyxin B hoặc colistin với gốc axit amin ở vị trí 3 được thể bằng Dap, có nhóm $-X-R^{15}$, như được xác định trong bản mô tả này, ở đầu tận cùng N. Các hợp chất này có thể được dùng trong phương pháp điều trị hoặc phòng bệnh, tùy ý kết hợp với hoạt chất thứ hai. Các hợp chất có thể được dùng để điều trị nhiễm vi sinh vật, như nhiễm vi khuẩn Gram âm.

Đã thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có độc tính thấp đối với tế bào cân bằng với lượng thuốc chấp nhận được ở thận sau khi dùng liều ngoài đường tiêu hóa. Các hợp chất theo sáng chế đã được thấy là tốt hơn cả polymyxin B, cũng như các hợp chất polymyxin cải biến đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, kể cả các hợp chất đã được chủ đơn báo cáo trước đây. Tính vượt trội này là rõ ràng ở một hoặc nhiều đặc tính trong số các đặc tính dưới đây: độc tính thấp hơn đối với tế bào, lượng thuốc chấp nhận được ở thận (tức là độc tính ở thận chấp nhận được, là do lượng thuốc ở thận là không cao) sau khi dùng liều ngoài đường tiêu hóa, hiệu quả ở mô hình đui và phổi của chuột bé, và/hoặc MIC tốt hơn đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh, trong khi là tương đương với các hợp chất đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này về các khía cạnh khác.

Thông thường, các hợp chất đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này thể hiện một, hoặc có lẽ hai trong số các tính chất có lợi này, nhưng không tất cả. Ví dụ, hiện rất dễ tìm

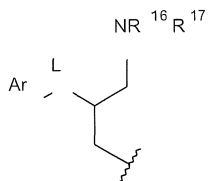
được các hợp chất polymyxin có độc tính thấp hơn đối với tế bào, nhưng độc tính thấp hơn đối với tế bào này thường đi kèm với hoạt tính diệt vi khuẩn thấp hơn. Tuy nhiên Ngoài ra, các hợp chất có độc tính thấp hơn đối với tế bào còn có thể được tìm thấy ở thận ở nồng độ cao sau khi dùng liều. Do đó, các hợp chất này vẫn là độc, và không hữu dụng trong các phương pháp điều trị bệnh.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), và các muối được dụng, các solvat, các dạng được bảo vệ và các dạng tiền được chất của nó. Hợp chất có công thức (I) được thể hiện như sau:



trong đó:

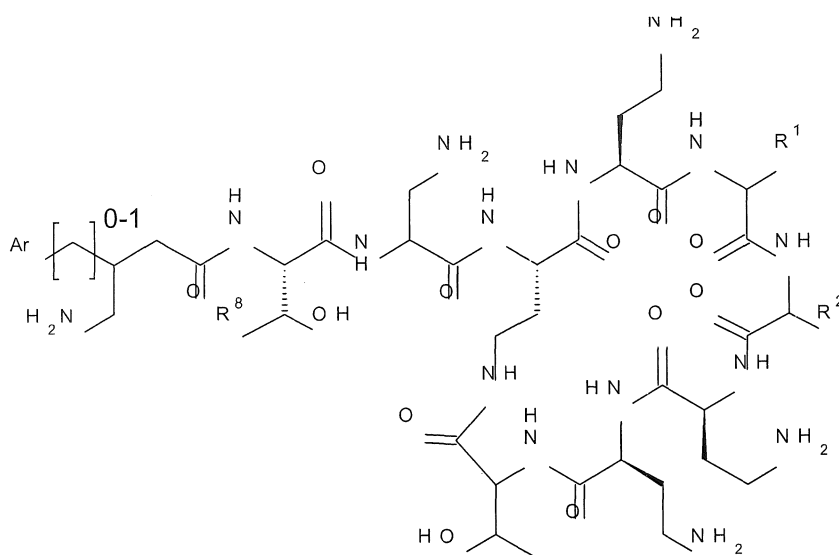
- X- biểu thị -C(O)-;
- R¹ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là gốc phenylalanin, leuxin, norleuxin, valin hoặc norvalin;
- R² là C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng một nhóm hydroxyl;
- R³ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là gốc threonin;
- R⁴ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là Dap, như L-Dap;
- R⁸ là hydro hoặc metyl; và
- R¹⁵ là nhóm:



trong đó:

- R¹⁶ là hydro;
- R¹⁷ là hydro;
- L- là liên kết cộng hóa trị hoặc metylen (-CH₂-);
- Ar aryl đã tùy ý được thế, như phenyl đã được thế.

Hợp chất có công thức (I) cũng có thể được thể hiện như sau:



trong đó -R¹, -R², -R⁸ và -Ar có cùng nghĩa như đã nêu trên đây,

và các muối được dụng, các solvat, các dạng được bảo vệ và các dạng tiền được chất của chúng.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), tùy ý cùng với một hoặc nhiều chất mang được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), để dùng trong phương pháp điều trị hoặc phòng bệnh.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi sinh vật.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị bệnh, phương pháp này bao gồm bước dùng hợp chất có công thức (I), hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), to đối tượng có nhu cầu. Phương pháp có thể được áp dụng để điều trị nhiễm vi sinh vật.

Nhiễm vi sinh vật có thể là nhiễm vi khuẩn, như nhiễm vi khuẩn Gram âm. Nhiễm vi khuẩn Gram âm có thể được chọn từ nhóm bao gồm *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., và các vi khuẩn đường ruột khác, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas*, và *Legionella*.

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp điều chế các hợp chất có công thức (I) cũng như các chất trung gian để dùng để điều chế các hợp chất có công thức (I).

Các khía cạnh này và các khía cạnh khác và phương án theo sáng chế được bộc lộ chi tiết hơn dưới đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I), bao gồm các hợp chất có công thức (II) và (III) như được bộc lộ chi tiết hơn dưới đây, để dùng trong việc điều trị bệnh, tùy ý cùng với hoạt chất thứ hai.

Nói chung, các hợp chất có công thức (I), (II) và (III) có lõi polymyxin, mà là lõi nonapeptit, và nhóm -X-R¹⁵ ở đầu tận cùng N của lõi polymyxin. Nhóm -R¹⁵ là nhóm γ -aminopropyl đã được thế. Nhóm γ -aminopropyl được thế ở vị trí β so với gốc -X- với aryl tùy ý được thế hoặc nhóm aralkyl. Gốc axit amin thứ nhất ở mạch ngoài vòng của các hợp chất theo sáng chế - tương ứng với vị trí 3 ở polymyxin - là gốc Dap (axit

điaminopropionic), như L-Dap, hơn là gốc L-Dab (axit L-điaminobutyric), như có mặt ở polymyxin B và colistin.

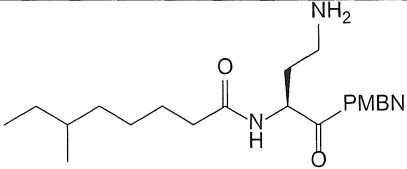
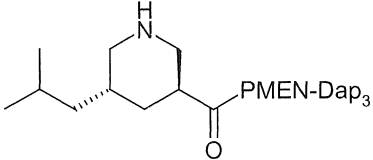
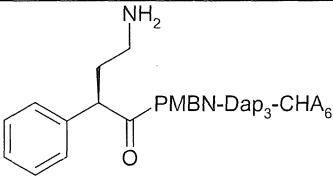
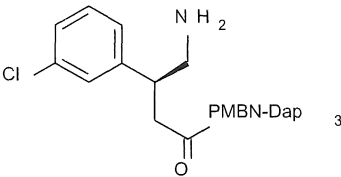
Các gốc axit amin ở vị trí 6 và 7 của hợp chất polymyxin (theo cách đánh số được áp dụng cho polymyxin) có thể tương ứng với các gốc axit amin có mặt ở polymyxin B và colistin. Các gốc axit amin ở vị trí 6 và/hoặc 7 có thể được thế bằng các gốc axit amin khác nhau so với các gốc ở polymyxin B và colistin.

Đề hữu dụng hơn ở phép trị liệu ngoài đường tiêu hóa đối với nhiễm toàn thân so với loạt hợp chất polymyxin đã biết, các chất dẫn xuất mới của polymyxin ít nhất phải có hoạt tính diệt vi khuẩn ngang bằng với các hợp chất polymyxin đã biết trong khi có độc tính *in vivo* ở thận thấp hơn đáng kể.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng là không đủ cho hợp chất polymyxin thể hiện độc tính thấp hơn đối với tế bào, vì điều này thường không liên quan đến độc tính *in vivo* giảm. Do đó, sự tích tụ thuốc ở thận và sự thanh thải nó ra khỏi đó cũng phải được thuận lợi. Nói cách khác, kết hợp mức độ độc đối với tế bào và lượng thuốc ở thận sau khi dùng liều ngoài đường tiêu hóa là cơ sở dẫn đến biên dạng độc tính *in vivo* thuận lợi.

Điều này có thể được thể hiện bằng so sánh làm ví dụ thể hiện trong bảng A dưới đây, trong đó PMBN chỉ lõi nonapeptit của polymyxin B và PMEN chỉ lõi nonapeptit của polymyxin E, với các thay thế cho các gốc axit amin ở vị trí 3 và 6 (theo cách đánh số ở polymyxin) được thể hiện, khi thích hợp (ví dụ, Dap thay thế Dab ở vị trí 3, và xyclohexylalanin (CHA) thay cho phenylalanin ở vị trí 6).

Bảng A

Hợp chất	Cấu trúc	Độc tính đối với tế bào	Lượng thuốc ở thận		Độc tính ở thận*
			4 giờ	16 giờ	
Polymyxin B		1,0	128	18	++
Ví dụ tham chiếu D77 ở WO2015/135976		23**	516	264	++++
Ví dụ tham chiếu 38 ở WO2016/083531		9,2***	567	333	+++
Ví dụ 5		11,6	170	19	+/-

Độc tính đối với tế bào chỉ IC₅₀ đo được so với mức ghi nhận được đối với Polymyxin B đối với dòng tế bào HK-2. Lượng thuốc chỉ lượng hợp chất (μg/g thận) phát hiện thấy ở thận tại thời điểm 4 giờ hoặc 16 giờ sau khi dùng liều 17,2mg/kg dưới da ở chuột.

* Các hợp chất được cho dùng liều thành 4 liều cách nhau 8 giờ ở mức 25mg bazơ tự do/kg/liều hoặc 4 ngày ba lần mỗi ngày cách nhau 4 giờ ở mức 17,2mg bazơ tự do/kg/liều. Sau khi dùng liều, nước tiểu được gom trong khoảng thời gian 16 giờ đến 24 giờ để xác định các chất đánh dấu sinh học trong nước tiểu có độc tính ở thận (KIM-1, albumin, xystatin C). Các hợp chất được phân loại thành – (không phân biệt được so với đối chứng là chất dẫn) đến ++++ (đáp ứng mạnh từ tất cả các chất đánh dấu sinh học).

** trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976 con số 13,3 được báo cho hợp chất này (theo Ví dụ D77). Đến nay, hợp chất này đã được thử nghiệm hai lần nữa và trị số tương đối đã được tính trên cơ sở trị số cho PMB trong cùng thử nghiệm. Trị số trung bình là 23

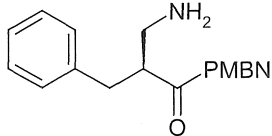
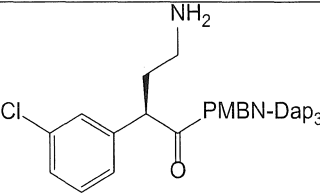
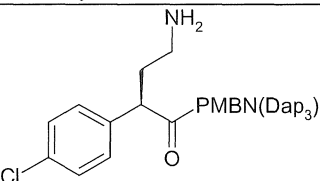
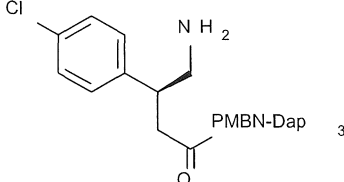
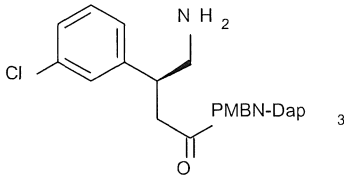
*** trong công bố đơn quốc tế số WO2016/083531 IC_{50} bằng 255 μ g/ml được báo cho hợp chất này (theo Ví dụ 38) so với 12 μ g/ml cho polymyxin B. Tuy nhiên, con số cho PMB được dùng trong đơn đó là trị số trung bình từ nhiều thử nghiệm. Con số 9,2 được báo trong bản mô tả bằng cách so sánh với trị số IC_{50} cho PMB xác định được trong cùng một thử nghiệm

Chủ đơn này đã từng bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976 polymyxin nonapeptit với nhóm γ -aminopropyl ở đầu tận cùng N được thế bằng gốc phenyl hoặc benzyl. Tuy nhiên, phần tử thế phenyl hoặc benzyl được đề xuất tại vị trí α , hơn là vị trí β , tương ứng với nhóm -X-. Công bố đơn quốc tế số WO2015/135976 còn bộc lộ polymyxin nonapeptit với nhóm β -aminoethyl ở đầu tận cùng N được thế tại vị trí α bằng nhóm benzyl. Trong bản mô tả này, nhóm chức amino được đề xuất tại vị trí β hơn là vị trí γ , tương ứng với nhóm -X-.

Trong khi các hợp chất đã biết này thể hiện hoạt tính hứa hẹn và độc tính đối với tế bào được cải thiện ở mức độ vừa phải so với polymyxin B, thì các hợp chất này là kém các hợp chất theo sáng chế ở chỗ chúng không thể hiện sự kết hợp độc tính thấp đối với tế bào cùng cân bằng với lượng chấp nhận được ở thận sau khi dùng liều.

Điều này được thể hiện ví dụ bằng các so sánh thể hiện trong Bảng B dưới đây, trong đó PMBN chỉ lõi nonapeptit của polymyxin B, với các thay thế cho gốc axit amin ở vị trí 3, khi thích hợp (ví dụ, Dap thay thế Dab ở vị trí 3).

Bảng B

Hợp chất	Cấu trúc	Độc tính đối với tế bào	Lượng thuốc ở thận ($\mu\text{g/g}$ thận, 4 giờ)	lượng ở thận sau 4 giờ/độc tính tương đối đối với tế bào
Hợp chất tham chiếu D6 WO2015/135976		4,4*	235	53
Hợp chất tham chiếu**		5,1	589	115
Hợp chất tham chiếu**		4,8	533	111
Ví dụ 1		8,8	268	30
Ví dụ 5		11,6	170	15

* hợp chất này là Ví dụ D6 trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976. Con số được thông báo trong tài liệu đó về độc tính tương đối đối với tế bào là 3,7. con số này là trung bình của hai lần xác định lặp lại.

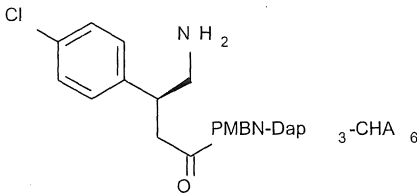
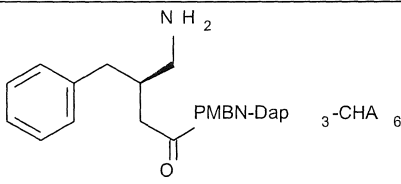
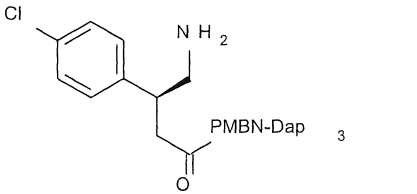
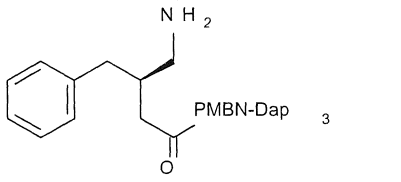
** Các hợp chất theo các ví dụ tham chiếu này có thể được điều chế theo các phương pháp đã bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976, nội dung của nó được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

Chủ đơn này đã từng bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2016/083531 polymyxin nonapeptit với các nhóm ở đầu tận cùng N đã được cải biến, đặc biệt là các

hợp chất bao gồm nhóm β -aryl hoặc nhóm β -aralkyl. Tuy nhiên, đã biết rằng các hợp chất này có gốc axit amin chất ưa béo ở vị trí 6, như gốc xyclohexylalanin, trong khi các hợp chất trong trường hợp này có, ví dụ, gốc phenylalanin, leuxin, norleuxin, valin hoặc norvalin ở vị trí 6. Các hợp chất đã biết này cũng là kém các hợp chất theo sáng chế vì tổ hợp kém của độc tính đối với tế bào và lượng thuốc ở thận sau khi dùng liều.

Điều này được thể hiện ví dụ bằng các so sánh thể hiện trong Bảng C dưới đây, trong đó PMBN chỉ lõi nonapeptit của polymyxin B, với các thay thế cho các gốc axit amin ở vị trí 3 và 6 được thể hiện, khi thích hợp (ví dụ, Dap thay thế Dab ở vị trí 3, và xyclohexylalanin (CHA) thay cho phenylalanin ở vị trí 6).

Bảng C

Hợp chất	Cấu trúc	Độc tính đối với tế bào	Lượng thuốc ở thận ($\mu\text{g/g}$ thận, 4 giờ)	lượng ở thận sau 4 giờ/độc tính tương đối đối với tế bào
Hợp chất tham chiếu 50 WO2016/083531		7,4	463	63
Hợp chất tham chiếu 58 WO2016/083531		5,2	212	32
Ví dụ 1		8,8	268	30
Ví dụ 9		12,0	159	13

Các hợp chất 50 và 58 là đã biết từ WO2016/083531, và đây là các hợp chất đã được xác định ở dạng chất đồng phân 1 trong trường hợp đó.

Các hợp chất polymyxin

Các hợp chất có công thức (I) là các chất dẫn xuất ở đầu tận cùng N của loạt hợp chất polymyxin nonapeptit. Lõi của hợp chất có công thức (I) là chất dẫn xuất của nonapeptit, như polymyxin B nonapeptit (PMBN, polymyxin B 2-10), trong đó gốc axit amin ở vị trí 3 được thế bằng Dap. Tùy ý, các gốc axit amin ở vị trí 6 và/hoặc vị trí 7 được thế bằng axit amin khác, như được bộc lộ trong bản mô tả này. Các hợp chất có công thức (I) có nhóm $-X-R^{15}$ ở đầu tận cùng N của lõi polymyxin. Điều này được bộc lộ một cách chi tiết dưới đây.

$-R^1$

Nhóm $-R^1$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, tương ứng với gốc axit amin ở vị trí 6 ở loạt hợp chất polymyxin.

Gốc axit amin ở vị trí 6 có thể là giống như gốc axit amin ở vị trí 6 của polymyxin B. Tức là, R^1 cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào có thể là gốc D-phenylalanin.

Gốc axit amin ở vị trí 6 có thể giống như gốc axit amin ở vị trí 6 của colistin. Tức là, R^1 cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào có thể là gốc D-leuxin.

Theo một phương án, $-R^1$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà được gắn vào, là gốc phenylalanin, leuxin, norleuxin, valin hoặc norvalin. Gốc axit amin có thể ở dạng D.

Theo một phương án, $-R^1$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà được gắn vào, là gốc axit amin, như phenylalanin, leuxin hoặc norleuxin. Gốc axit amin có thể ở dạng D.

Theo một phương án, $-R^1$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào là gốc phenylalanin, ví dụ, gốc D-phenylalanin, hoặc gốc leuxin, như gốc D-leuxin.

Nhóm thế của gốc axit amin ở vị trí 6 là đã biết, ví dụ, từ WO2016/083531.

$-R^2$

Nhóm $-R^2$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, tương ứng với gốc axit amin ở vị trí 7 ở loạt hợp chất polymyxin.

Nhóm $-R^2$ là C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng một nhóm hydroxyl.

Theo một phương án, $-R^2$ là C_{1-4} alkyl. Nhóm này không được thế.

Theo một phương án, $-R^2$ là C_{3-4} alkyl, như C_4 alkyl, tùy ý được thế bằng một nhóm hydroxyl, như không được thế.

Nhóm gốc axit amin ở vị trí 7 có thể giống như gốc axit amin ở vị trí 7 của polymyxin B và colistin. Tức là R^2 cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào có thể là gốc L-Leu.

Theo một phương án, $-R^2$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là gốc leuxin, iso-leuxin, phenylalanin, threonin, valin, nor-valin, alanin, threonin hoặc aminobutyrat. Gốc axit amin có thể là dạng L.

Theo một phương án, $-R^2$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là gốc leuxin, aminobutyrat, hoặc threonin. Gốc axit amin có thể là dạng L.

Theo các phương án khác, gốc axit amin ở vị trí 7 có thể được thế bằng gốc axit amin khác liên quan đến polymyxin B và colistin.

Theo một phương án, $-R^2$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào là gốc leuxin, threonin hoặc axit aminobutyric (Abu), như L-leuxin, L-threonin hoặc L-Abu.

Nhóm thế cho gốc axit amin ở vị trí 7 được bộc lộ, ví dụ, trong WO2016/083531 và Velkov *et al.*, trong số nhiều tài liệu khác.

$-R^3$

Nhóm $-R^3$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, tương ứng với gốc axit amin ở vị trí 10 ở loạt hợp chất polymyxin.

Nhóm $-R^3$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là threonin, như L-threonin.

$-R^4$

Nhóm $-R^4$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, tương ứng với gốc axit amin ở vị trí 3 ở loạt hợp chất polymyxin.

Ở các hợp chất theo sáng chế, gốc axit amin ở vị trí 3 không là L-Dab, mà là gốc axit amin ở vị trí 3 của polymyxin B và colistin. Ở các hợp chất theo sáng chế, $-R^4$ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là Dap, như L-Dap.

Các hợp chất mà trong đó $-R^4$ là mạch bên của Dap, như L-Dap, có thể được điều chế bằng cách áp dụng các phương pháp đã được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976.

Ở các hợp chất có công thức (I), nhóm amin ở mạch bên của Dap có thể được bảo vệ, ví dụ, nhóm amin có thể được bảo vệ bằng Boc.

$-R^8$

Nhóm $-R^8$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ beta so với cacbon mà nó được gắn vào qua phần tử đệm hydroxymetylen ($-\text{CH}(\text{OH})-$), tương ứng với gốc axit amin ở vị trí 2 ở loạt hợp chất polymyxin.

Gốc axit amin ở vị trí 2 có thể giống như gốc axit amin ở vị trí 2 của polymyxin B và colistin. Tức là, R^1 cùng với nhóm carbonyl và nitơ beta so với cacbon mà nó được gắn vào qua phần tử đệm hydroxymetylen có thể là gốc L-threonin.

Gốc axit amin kể cả nhóm $-R^8$ tương ứng với vị trí 2 ở loạt hợp chất polymyxin.

Theo một phương án, $-R^8$ là metyl. Theo đó, axit amin thu được là Thr.

Theo một phương án, $-R^8$ là H. Theo đó, axit amin thu được là Ser.

Thông thường $-R^8$ là metyl.

$-X-$

Nhóm $-X-$ là $-\text{C}(\text{O})-$.

Dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào NH, đầu tận cùng amin của lõi nonapeptit của polymyxin, như axit amin ở vị trí 2. Phía bên trái của nhóm $-X-$ này là điểm gắn vào $-R^{15}$.

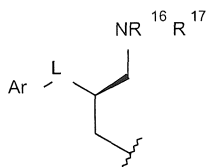
$-R^{15}$

Nhóm $-R^{15}$, cùng với $-X-$, là dạng cải biến đầu tận cùng N của lõi polymyxin.

Các hợp chất theo sáng chế chứa tâm lập thể tại vị trí β của nhóm γ -aminopropyl ở gốc đầu tận cùng N, $-R^{15}$. Đã phát hiện thấy rằng một trong số các chất đồng phân lập thể liên quan đến độc tính thấp hơn đối với tế bào và lượng thuốc thấp hơn ở thận. Chất đồng phân lập thể này là chất đồng phân lập thể mà rửa giải nhanh hơn trên sắc

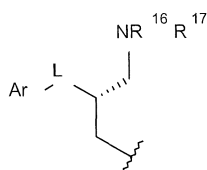
ký đảo pha, như đã được bộc lộ một cách chi tiết trong các ví dụ thực hiện trong trường hợp này.

Theo một phương án, nhóm $-R^{15}$ là:



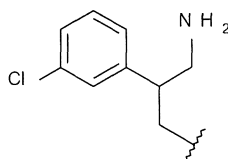
Dạng lập thể này là dạng lập thể rửa giải nhanh hơn trong sắc ký đảo pha.

Theo cách khác, nhóm $-R^{15}$ có thể là:

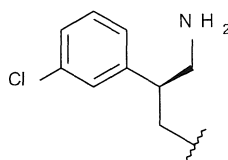


Dạng lập thể này là dạng lập thể rửa giải chậm hơn.

Theo một phương án, nhóm $-R^{15}$ là:



Theo một phương án, nhóm $-R^{15}$ là:



Các nhóm làm ví dụ trong $-R^{15}$ được thể hiện dưới đây.

$-R^{16}$ và $-R^{17}$

Cả hai nhóm $-R^{16}$ và $-R^{17}$ đều là hydro.

Ở các hợp chất có công thức (I), nhóm $-NR^{16}R^{17}$ có thể được bảo vệ, ví dụ, nhóm $-NR^{16}R^{17}$ có thể được bảo vệ bởi Boc.

-L-

Nhóm này có thể là metylen ($-\text{CH}_2-$) liên kết cộng hóa trị.

Một cách điển hình, *-L-* là liên kết cộng hóa trị.

-Ar

Nhóm *-Ar* là nhóm aryl, như carboaryl hoặc nhóm heteroaryl. Nhóm aryl tùy ý được thể.

Nhóm aryl có thể là nhóm C_6 aryl, như phenyl, hoặc nhóm C_5 aryl, như thiophen.

Nhóm *-Ar* có thể là phenyl, và nhóm này tùy ý được thể, như được thể. Theo một phương án, *-Ar* là phenyl không được thể.

Nhóm aryl có thể được thể bằng với một hoặc nhiều nhóm $-R^S$. Mỗi nhóm $-R^S$ độc lập được chọn từ halo, alkyl, haloalkyl và aryl, như halo và alkyl.

Nhóm aryl có thể được thể bằng một, hai hoặc ba nhóm $-R^S$, như một hoặc hai nhóm, như một nhóm (được thể một lần).

Nhóm halo có thể được chọn từ flo, clo, bromo và iodo, và có thể được chọn từ flo và clo, như clo.

Nhóm halo có thể là clo.

Nhóm alkyl có thể là C_{1-6} alkyl, như C_{1-4} alkyl, như C_{1-3} alkyl, như C_3 alkyl.

Nhóm alkyl có thể được chọn từ metyl, etyl, và propyl, bao gồm *n*-propyl và *i*-propyl.

Nhóm alkyl có thể là *i*-propyl.

Nhóm haloalkyl có thể là nhóm C_{1-6} alkyl, như C_{1-4} alkyl, như C_{1-2} alkyl, được thế bằng một hoặc nhiều nhóm halo. Nhóm alkyl có thể per-được thế bằng halo, như per-được thế bằng flo.

Nhóm haloalkyl có thể là triflometyl.

Khi $-R^S$ là nhóm aryl, thì nhóm này có thể là carboaryl hoặc heteroaryl. Aryl có thể là C_{5-6} aryl, như C_5 aryl. C_5 aryl có thể được chọn từ thiophenyl, furanyl, pyrrolyl, pyrazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, oxazolyl và isoxazolyl. C_6 aryl có thể là phenyl.

Nhóm aryl có thể là thiophenyl, như thiophen-2-yl.

Chính nhóm aryl có thể tùy ý được thế bằng một, hai hoặc ba nhóm $-R^{Ar}$, như một hoặc hai nhóm, như một nhóm (được thế một lần). Mỗi nhóm $-R^{Ar}$ độc lập được chọn từ halo, alkyl, haloalkyl và aryl, như halo và alkyl. Các nhóm này có thể có cùng nghĩa như các nhóm nêu trên, chỉ khác là nhóm aryl không được thế.

Nhóm $-Ar$ có thể là halophenyl hoặc alkylphenyl.

Halophenyl có thể được chọn từ 2-halophenyl, như 2-clophenyl, 3-halophenyl, như 3-clophenyl, và 4-halophenyl, như 4-clophenyl.

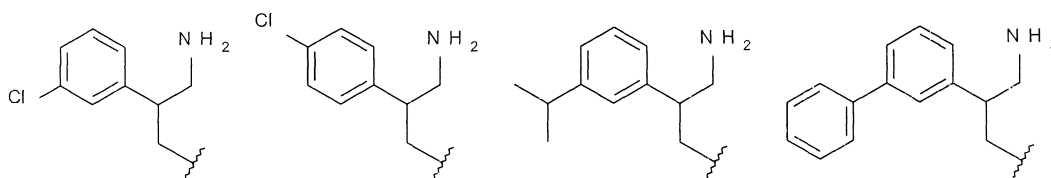
Alkylphenyl có thể được chọn từ 2-alkylphenyl, như 2-isopropylphenyl, 3-alkylphenyl, như 3-isopropylphenyl, và 4-alkylphenyl, như 4-isopropylphenyl

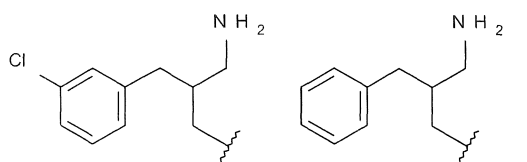
Nhóm $-Ar$ có thể là 2-clophenyl hoặc 3-isopropylphenyl.

Nhóm $-Ar$ có thể là 2-clophenyl.

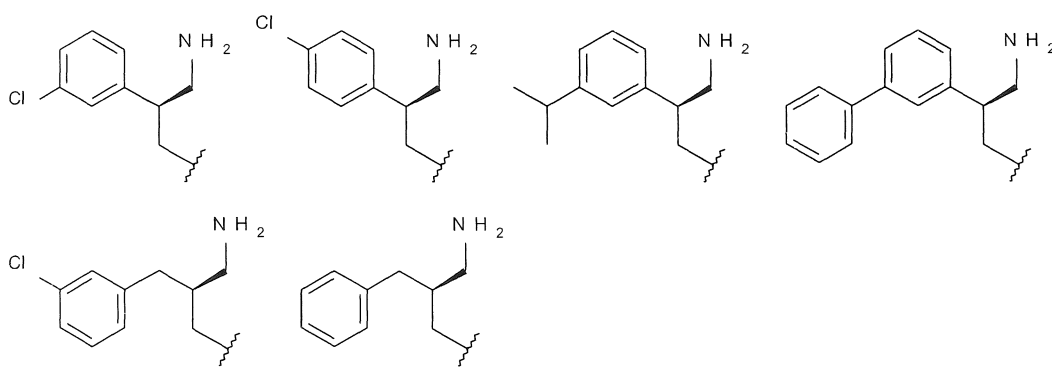
Nhóm $-R^{15}$ chọn lọc

Nhóm $-R^{15}$ có thể được chọn trong số các nhóm dưới đây:

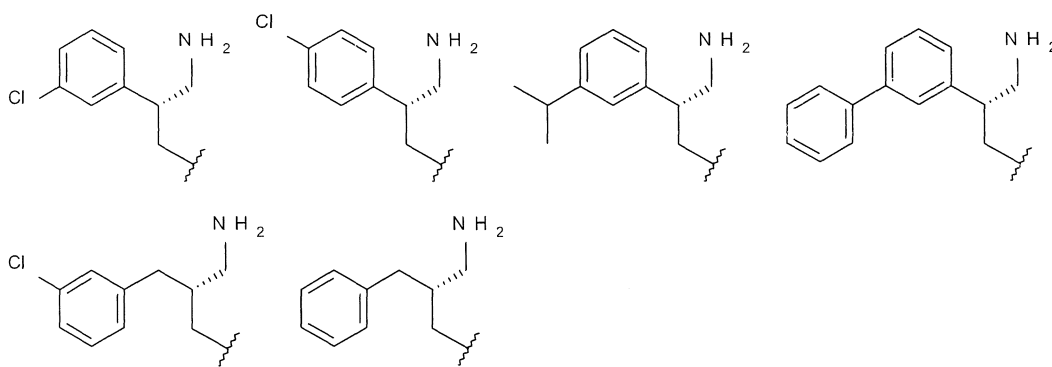




Nhóm $-R^{15}$ có thể được chọn trong số các nhóm dưới đây:

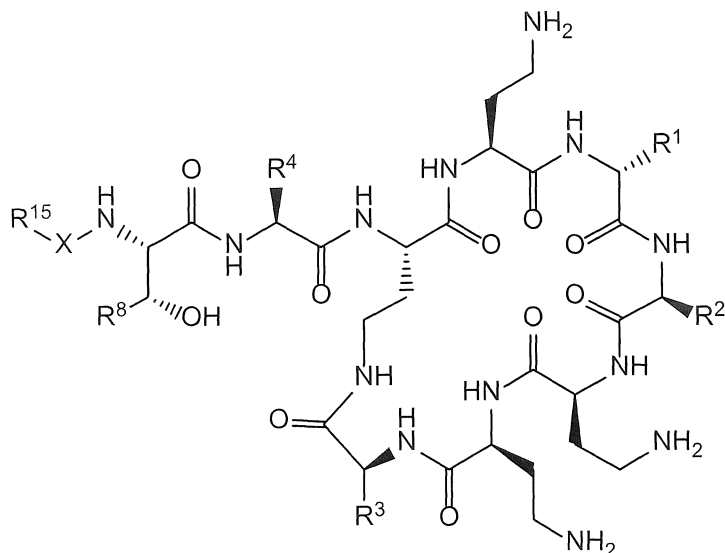


Nhóm $-R^{15}$ có thể được chọn trong số các nhóm dưới đây:



Các phương án liên quan đến các hợp chất có công thức (I)

Theo một số phương án, hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (Ia) có định hướng của các gốc R^1 , R^2 , R^3 , và R^4 như được thể hiện dưới đây:



trong đó -X-, -R¹, -R², -R³, -R⁴, -R⁸ và -R¹⁵ là như đã được xác định đối với các hợp chất có công thức (I),

hoặc muối được dung, solvat, dạng được bảo vệ hoặc dạng tiền dược chất của chúng.

Ở các hợp chất có công thức (Ia), -R¹ cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là D-phenylalanin, D-leuxin hoặc D-norleuxin.

Ở các hợp chất có công thức (Ia), -R² cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là gốc L-leuxin, L-aminobutyrat, hoặc L-threonin.

Các hợp chất có công thức (Ia) có thể là các hợp chất, trong đó -L- là liên kết cộng hóa trị hoặc -CH₂-, và -Ar là phenyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ nhóm bao gồm halo, C₁-C₆ alkyl, aryl tùy ý được thế và heteroaryl tùy ý được thế. Ví dụ, -Ar có thể là phenyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ nhóm bao gồm clo, bromo, thiophenyl, phenyl, metyl, isopropyl, và isobutyl.

Theo sáng chế, -Ar có thể được chọn từ phenyl, 3-clophenyl, 4-clophenyl, 3-isopropylphenyl, 3-isobutylphenyl, 3-metylphenyl, 3-bromophenyl, 1,1'-biphenyl-3-yl, 3,5-điclophenyl, và thiophen-3-ylphenyl.

Các hợp chất theo sáng chế có thể là các hợp chất có công thức (I), trong đó:

-R¹, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là D-phenylalanin, D-leuxin hoặc D-norleuxin;

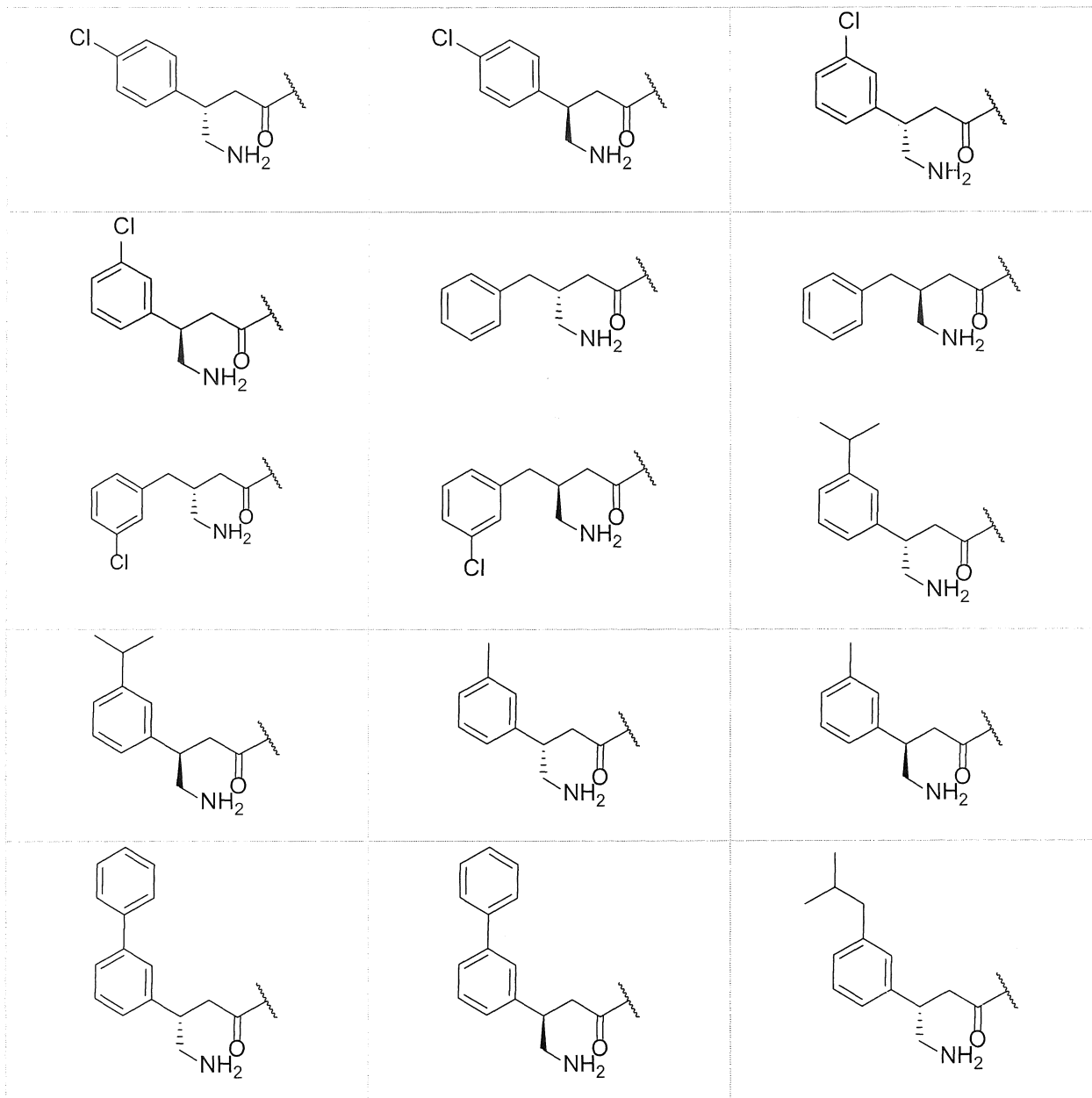
-R², cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là gốc L-leuxin, L-aminobutyrat, hoặc L-threonin;

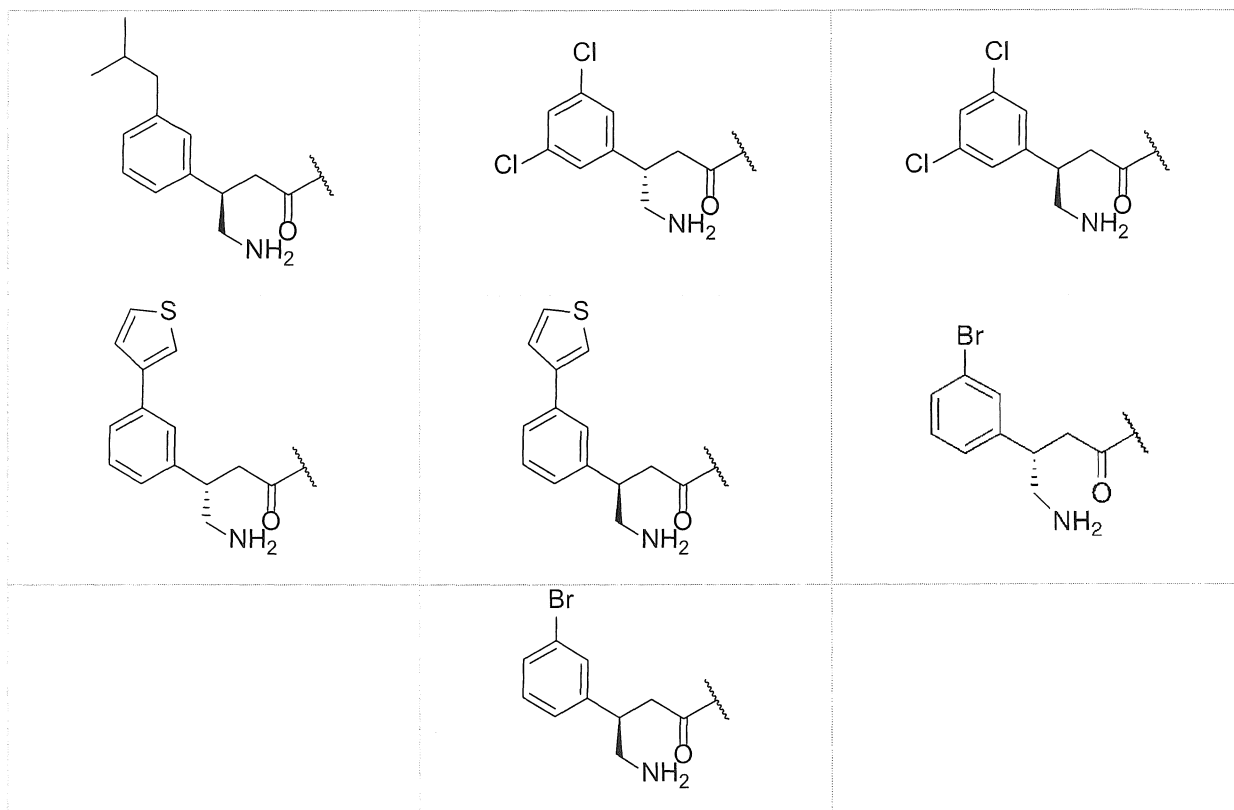
-R³ là L-threonin;

-R⁴ là L-Dap;

-R⁸ là metyl; và

R¹⁵-X- được chọn từ nhóm bao gồm:

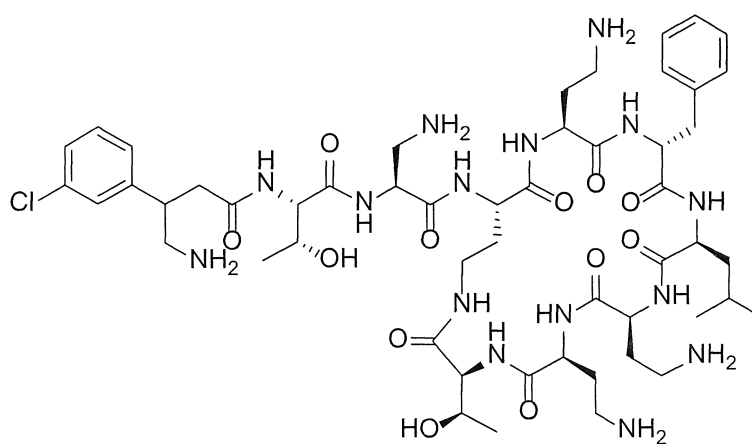




và các muối, các solvat, các dạng được bảo vệ và các dạng tiền dược chất của chúng.

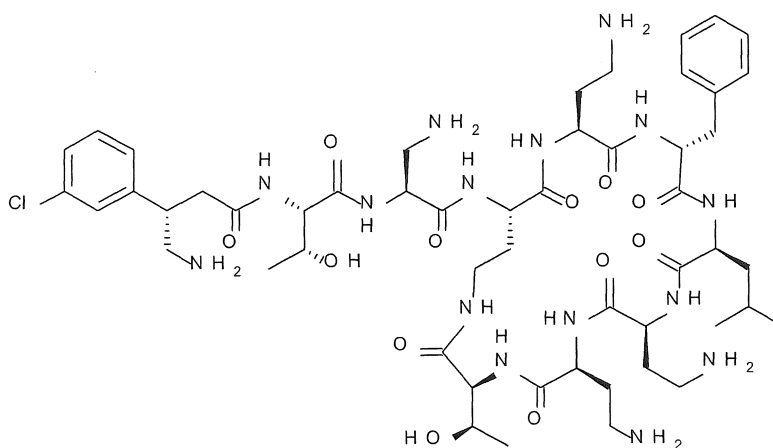
Hợp chất có công thức (II) và Hợp chất có công thức (III)

Hợp chất có công thức (I) có thể là hợp chất có công thức (II) như được thể hiện dưới đây:



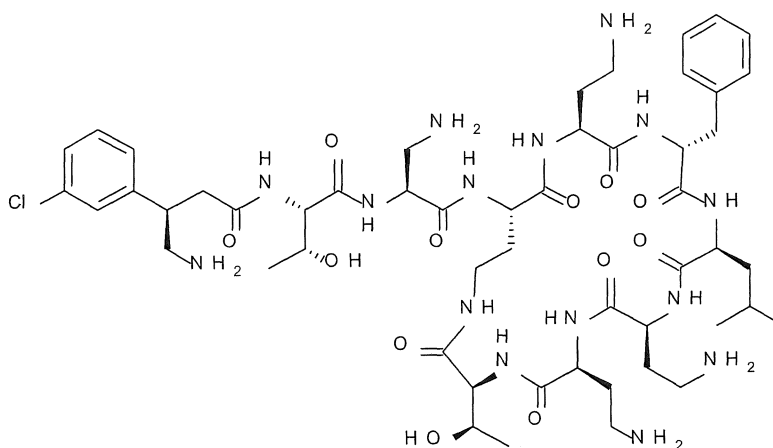
và các muối, các solvat và dạng được bảo vệ của chúng.

Hợp chất có công thức (I) có thể là hợp chất có công thức (IIa) như được thể hiện dưới đây:



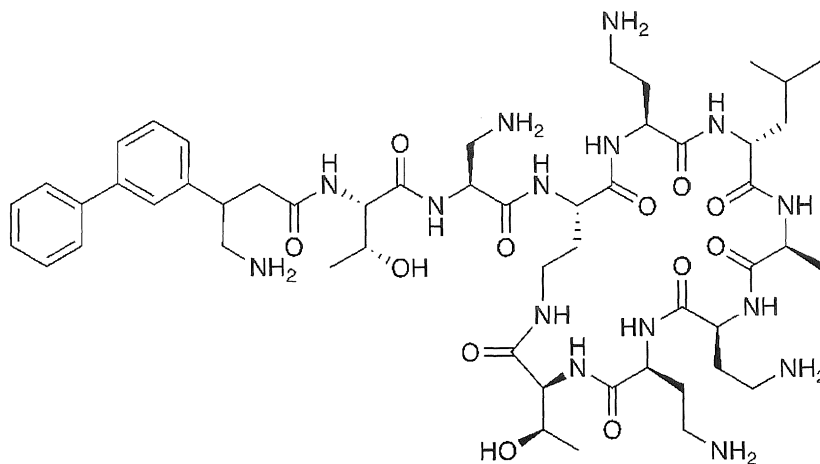
và các muối, các solvat và dạng được bảo vệ của chúng.

Hợp chất có công thức (I) có thể là hợp chất có công thức (IIb) như được thể hiện dưới đây:



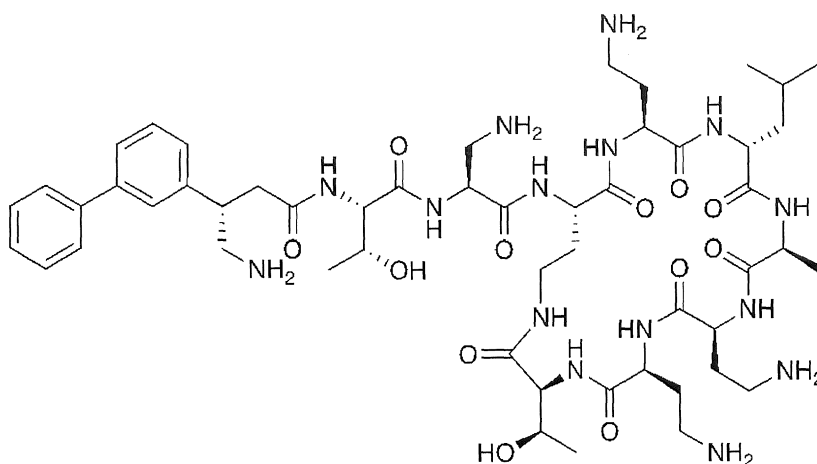
và các muối, các solvat và dạng được bảo vệ của chúng.

Hợp chất có công thức (I) có thể là hợp chất có công thức (III) như được thể hiện dưới đây:



và các muối, các solvat và dạng được bảo vệ của chúng.

Hợp chất có công thức (I) có thể là hợp chất có công thức (III) như được thể hiện dưới đây:

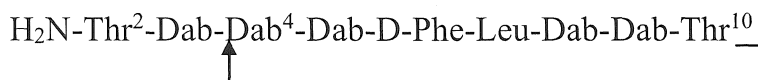


và các muối, các solvat và dạng được bảo vệ của chúng.

Các hợp chất polymyxin

Các hợp chất đề dùng theo sáng chế là dựa trên các dạng cải biến của các hợp chất polymyxin đã biết, như polymyxin B nonapeptit và colistin nonapeptit.

Polymyxin B nonapeptit có cấu trúc được thể hiện dưới đây:



trong đó các vị trí 2, 4 và 10 được biểu thị (tham chiếu hệ đánh số được áp dụng cho polymyxin B decapeptit), và các gốc axit amin có cấu hình L, trừ khi được chỉ rõ.

Các hợp chất theo sáng chế là các chất dẫn xuất của polymyxin B nonapeptit, trong đó (i) nhóm amin ở đầu tận cùng N, -NH₂, được thế bằng nhóm -NH-X-R¹⁵ như được bộc lộ trong bản mô tả này; (ii) gốc axit amin ở vị trí 3 được thế bằng Dap, và tùy ý (iii) các gốc axit amin ở các vị trí 2, 6 và/hoặc 7 được thế bằng gốc axit amin khác.

Để thuận tiện, các hợp chất theo sáng chế được thể hiện bằng công thức (I), trong đó các axit amin ở vị trí 2, 3, 6, 7 hoặc 10 được xác định lần lượt theo bản chất của các nhóm R⁸, R⁴, R¹, R² và R³. Các hợp chất theo sáng chế, mà bao gồm các biến thể nêu trên, là có hoạt tính sinh học.

Phương pháp tổng hợp

Việc điều chế các hợp chất theo sáng chế là quen thuộc đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, đặc biệt là người có hiểu biết về các phương pháp đã được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976 nhằm để điều chế polymyxin nonapeptit cải biến. Các phương pháp đã được bộc lộ trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng được làm thích ứng để áp dụng cho việc điều chế các hợp chất theo sáng chế, tính đến cả thế các nhóm mới ở đầu tận cùng N được sử dụng theo sáng chế.

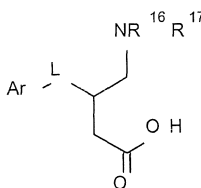
Nói chung, hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách liên hợp chất trung gian polymyxin nonapeptit được bảo vệ một cách thích hợp với axit carboxylic có nhóm -R¹⁵. Sản phẩm của phản ứng này thường là nhóm đã được bảo vệ của hợp chất có công thức (I). Việc loại bỏ nhóm bảo vệ có thể được áp dụng nếu muốn. Đây là chiến lược chung đã biết từ WO2015/135976.

Chính chất trung gian nonapeptit được bảo vệ một cách thích hợp chính nó có thể được điều chế theo các phương pháp đã bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976. Như được bộc lộ trong bản mô tả này, chất trung gian nonapeptit được bảo vệ một cách thích hợp còn có thể được điều chế theo quy trình tổng hợp pha rắn nonapeptit mạch thẳng, tiếp theo là phân cắt dạng mạch thẳng ra khỏi nền rắn và sau đó tạo vòng tiếp đối với dạng mạch thẳng giữa các gốc amino ở vị trí 4 và 10.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được tạo ra theo quy trình tổng hợp peptit thông thường, bằng cách áp dụng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Các phương pháp thích hợp bao gồm quy trình tổng hợp pha rắn như được mô tả bởi de Visser *et al*, *J. Peptid Res*, **61**, 2003, 298- 306, Vaara *et al*, *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*, **52**, 2008. 3229-3236, hoặc by Velkov *et al*. *ACS Chem. Biol.* **9**, 2014, 1172. Các phương pháp này bao gồm chiến lược bảo vệ thích hợp, và các phương pháp đối với bước đóng vòng.

Khi được yêu cầu, hợp chất có công thức (I) có thể là tinh khiết ít nhất là một phần, ví dụ, các dạng chất đồng phân không đối quang riêng rẽ của sản phẩm.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (X):



trong đó:

-R¹⁶ là hydro;

-R¹⁷ là hydro;

-L- là liên kết cộng hóa trị hoặc metylen;

-Ar là aryl đã tùy ý được thế, như phenyl đã được thế

và các muối, các solvat, các dạng được bảo vệ và các dạng hoạt hóa của chúng.

Hợp chất có công thức (X) có thể được dùng trong việc điều chế các hợp chất có công thức (I). Thông thường, hợp chất (X), như ở dạng được bảo vệ của nó, được liên hợp với polymyxin nonapetit đã được bảo vệ có công thức (XI) để tạo ra dạng được bảo vệ của hợp chất có công thức (I).

Các phương án đối với hợp chất có công thức (I) liên quan đến các nhóm -L- và -Ar cũng áp dụng cho các hợp chất có công thức (X).

Nói chung, nhóm chức amino, mà là nhóm $-NR^{16}R^{17}$, được bảo vệ.

Theo một phương án, nhóm chức amino ở hợp chất có công thức (X) được bảo vệ bằng Boc hoặc CBZ. Theo sáng chế, $-R^{16}$ là hydro và $-R^{17}$ là $-C(O)O-t-Bu$ hoặc $-C(O)O-Bn$.

Hợp chất có công thức (XI) là hợp chất có công thức (I), chỉ khác là nhóm $R^{15}-X-$ là hydro, và các muối, các solvat, và dạng được bảo vệ của chúng.

Các phương án chọn lọc cho hợp chất có công thức (I) liên quan đến các nhóm $-R^1$, $-R^2$, $-R^3$, $-R^4$ và $-R^8$ cũng áp dụng cho các hợp chất có công thức (XI).

Hợp chất có công thức (XI) thường được bảo vệ, và cụ thể hơn các nhóm amin ở các mạch bên của các gốc axit amin ở vị trí 3, 5, 8 và 9 được bảo vệ, ví dụ, mỗi axit amin ở vị trí 3, 5, 8 và 9 được bảo vệ bằng Boc hoặc được bảo vệ bằng CBZ, và các nhóm hydroxyl ở các mạch bên của các gốc axit amin ở vị trí 2 và tùy ý vị trí 10 được bảo vệ, ví dụ, mỗi axit amin này được bảo vệ bằng tBu.

Axit carboxylic hợp chất có công thức (X) có thể được liên hợp với hợp chất amino có công thức (XI) bằng cách sử dụng các điều kiện liên hợp amit thông thường. Hợp chất có công thức (X) có thể được dùng ở dạng hoạt hóa, mà dạng này có thể được tạo ra tại chỗ, cho phản ứng với hợp chất có công thức (XI).

Dạng đã được hoạt hóa có thể được tạo ra tại chỗ thông qua lựa chọn một cách thích hợp các tác nhân liên hợp trong phản ứng tạo liên kết amit, tùy ý khi có bazo.

Axit carboxylic có công thức (X) có thể được hoạt hóa theo phản ứng của tác nhân hoạt hóa chuẩn, như carbodiimide, như DIC (*N,N'*-diisopropylcarbodiimide) hoặc EDCI (carbodiimide hòa tan trong nước; 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide). Dạng được hoạt hóa của axit là O-acylisourea.

Axit carboxylic có thể được hoạt hóa bởi hydroxybenzotriazol hoặc hydroxyazabenzotriazol, như HOBt (1-hydroxy-benzotriazol) hoặc HOAt (1-hydroxy-7-aza-benzotriazol). Dạng được hoạt hóa của axit là este.

Este có thể được tạo thành thông qua dạng đã được hoạt hóa của carbodiimide, hoặc nó có thể được tạo ra một cách trực tiếp từ axit carboxylic, ví dụ, bằng cách sử dụng chất phản ứng thích hợp, như HATU, HBTU, PyBOP, PyBROP, hoặc TBTU.

Bazo hữu cơ có thể có mặt để tạo ra dạng đã được hoạt hóa, như DIPEA hoặc TEA.

Dạng đã được hoạt hóa

Các hợp chất theo sáng chế, như các hợp chất có công thức (I), (II) và (III), có thể được tạo ra ở dạng được bảo vệ. Trong bản mô tả này, nhóm chức có hoạt tính phản ứng, như nhóm chức amin, có thể được che giấu để ngăn ngừa phản ứng của nó ở bước tổng hợp. Nhóm bảo vệ được cung cấp để che giấu nhóm chức có hoạt tính phản ứng, và nhóm bảo vệ này có thể được loại bỏ ở giai đoạn muộn hơn của quy trình tổng hợp để lộ ra nhóm chức có hoạt tính phản ứng gốc.

Theo một phương án, dạng được bảo vệ là hợp chất mà trong đó nhóm chức amino, hydroxyl, thiol, và/hoặc carboxyl được bảo vệ (được che giấu) bởi nhóm bảo vệ. Theo một phương án, dạng được bảo vệ là hợp chất mà trong đó nhóm chức ở mạch bên của các gốc axit amin ở hợp chất này được bảo vệ.

Ở hợp chất có công thức (I), (II) và (III), các gốc axit amin ở vị trí 5, 8 và 9 là các gốc Dab, và mạch bên của gốc Dab bao gồm nhóm chức amin. nhóm chức axit amin của từng gốc Dab có thể được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ amino, như được bộc lộ trong bản mô tả này. Tương tự, gốc axit amin ở vị trí 3 là Dap, và mạch bên của gốc axit amin này bao gồm nhóm chức amin.

Nhóm $-R^{15}$ chứa nhóm chức amin ở dạng nhóm $-R^{16}R^{17}$, ví dụ, trong đó mỗi $-R^{16}$ và $-R^{17}$ là hydro. Nhóm chức amin có thể được bảo vệ bằng các nhóm bảo vệ amin, như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Các nhóm bảo vệ, như các nhóm bảo vệ cho gốc axit amin, là đã biết và đã được bộc lộ trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các axit amin có nhóm bên được bảo vệ, tùy ý cùng với việc bảo vệ amino và carboxy, có thể mua được trên thị trường. Do đó, hợp chất polymyxin được bảo vệ có thể được điều chế từ nguyên liệu ban đầu là axit amin đã được bảo vệ một cách thích hợp.

Velkov và các đồng tác giả đã bộc lộ quy trình theo bước điều chế các hợp chất polymyxin trên pha rắn bằng cách sử dụng axit amin đã được bảo vệ một cách thích hợp. Việc sử dụng dạng được bảo vệ của threonin và Dab đã được bộc lộ (xem thông tin bổ sung (Supplementary Information)).

Khi nhóm bảo vệ được sử dụng, nó dễ được loại bỏ trong các điều kiện mà hầu như không phá vỡ cấu trúc của lõi polymyxin, ví dụ, các điều kiện mà không làm thay đổi hóa học lập thể của các gốc axit amin.

Theo một phương án, các nhóm bảo vệ là không ổn định trong điều kiện axit, không ổn định trong điều kiện bazơ, hoặc dễ dàng được loại bỏ trong các điều kiện khử.

Ví dụ các nhóm bảo vệ cho nhóm chức amin bao gồm Boc (*tert*-butoxycarbonyl), Bn (benzyl, Bzl), Cbz (benzyloxycarbonyl, Z), 2-CL-Z (2-clo), ivDde (1-[4,4-đimetyl-2,6-đioxocyclohex-1-yliden]-3-metylbutyl), Fmoc (florenylmetyloxycarbonyl), HSO₃-Fmoc (Fmoc đã được sulfonyl hóa, như 2-sulfo-Fmoc, như đã được bộc lộ, ví dụ trong tài liệu: Schechter *et al*, *J.Med Chem* 2002, **45** (19) 4264), Dde (1-[4,4-đimetyl-2,6-đioxocyclohex-1-yliden]etyl), Mmt (4-metoxylityl), Mtt (4-metylityl), Nvoc (6-nitroveratroyloxycarbonyl), Tfa (trifluoroaxetyl), và Alloc (allyloxycarbonyl).

Các nhóm bảo vệ làm ví dụ cho nhóm chức thơm chứa nitơ bao gồm Boc, Mtt, Trt và Dnp (đinitrophenyl).

Theo một phương án, nhóm bảo vệ cho nhóm chức amin được chọn từ Boc, ivDde, Cbz, Bn và Fmoc và HSO₃-Fmoc.

Theo một phương án, nhóm bảo vệ cho nhóm chức amin là Boc, ivDde, Fmoc hoặc Cbz, như Boc, ivDde hoặc Cbz.

Việc bảo vệ bằng Boc có thể được thực hiện đối với nhóm chức amino có ở mạch bên của các gốc axit amin tại vị trí 5, 8 và 9, và tùy ý vị trí 3.

Ví dụ các nhóm bảo vệ cho nhóm chức hydroxyl bao gồm Trt (trityl), Bn (benzyl), và tBu (*tert*-butyl).

Theo một phương án, nhóm bảo vệ cho nhóm chức hydroxyl là tBu.

Các nhóm bảo vệ làm ví dụ khác nữa bao gồm các nhóm bảo vệ silyl ete, như TMS, TES, TBS, TIPS, TBDMS, và TBDPS. Các nhóm bảo vệ này dễ dàng loại bỏ được bằng TBAF, chẳng hạn.

Ví dụ các nhóm bảo vệ cho nhóm chức carboxyl bao gồm Bn (benzyl, Bz), tBu (*tert*-butyl), TMSET (trimethylsilyl etyl) và Dmb (1-[4,4-đimetyl-2,6-đioxocyclohex-1-yliden]-3-metylbutyl} amino benzyl).

Các nhóm bảo vệ làm ví dụ cho nhóm chức thơm chứa nitơ, ví dụ, khi nhóm chức này có mặt ở nhóm -Ar, bao gồm Boc, Mtt, Trt và Dnp (đinitrophenyl).

Theo một số phương án, chỉ một số loại nhóm chức được bảo vệ. Ví dụ, chỉ các nhóm amin có thể được bảo vệ, như các nhóm amin ở mạch bên của gốc axit amin.

Theo một phương án, các nhóm amin và các nhóm hydroxyl được bảo vệ.

LogP

Hợp chất theo sáng chế, như hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), có thể có hệ số riêng phần, như được thể hiện bằng trị số LogP, trong giới hạn nhất định. Hệ số riêng phần có thể là chỉ báo về mức độ ưa béo của hợp chất.

Các tác giả sáng chế đã thiết lập được rằng các hợp chất có mức độ ưa béo cao hơn thì có mức độ độc tính thấp hơn đối với tế bào. Các hợp chất theo sáng chế thường có trị số LogP mà liên quan đến độc tính thấp hơn đối với tế bào, như các trị số LogP bộc lộ dưới đây.

Trị số LogP đối với hợp chất có thể được xác định theo thử nghiệm (ví dụ bằng cách phân chia hợp chất này giữa octanol và nước), hoặc nó có thể được dự đoán bằng cách áp dụng các phương pháp tính toán chuẩn.

Ví dụ, đề cập đến LogP có thể là đề cập đến ALogP, mà có thể được xác định bằng cách áp dụng các phương pháp đã được bộc lộ trong tài liệu: Ghose *et al. J. Phys. Chem. A*, 1998, 102, 3762-3772, mà nội dung của nó được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn. Do đó, ALogP là dự đoán giúp theo nhóm Ghose/Crippen đối với LogP.

Theo một phương án, hợp chất có trị số LogP, như trị số ALogP, thấp nhất là -6,5, cao nhất là -6,6, cao nhất là -6,7, cao nhất là -6,8, cao nhất là -6,9, cao nhất là -7,0, cao nhất là -7,5, hoặc cao nhất là -8,0.

Theo một phương án, hợp chất có trị số LogP, như trị số ALogP, cao nhất là -6,4, cao nhất là -6,3, cao nhất là -6,2, cao nhất là -6,1, cao nhất là -6,0, cao nhất là -5,9, hoặc cao nhất là -5,8.

Theo một phương án, hợp chất có trị số LogP trong khoảng có giới hạn trên và giới hạn dưới được chọn một cách thích hợp từ các giới hạn nêu trên, ví dụ, nằm trong khoảng từ -5,8 đến -8,0, như -6,0 đến -6,7, như -6,3 đến -6,7. Các khoảng này có thể được chọn khi nhóm $-R^2$ không được thế alkyl.

Theo phương án khác, hợp chất có trị số LogP nằm trong khoảng từ -6,7 đến -7,4. Khoảng này có thể được chọn khi nhóm $-R^2$ là alkyl được thế bằng một nhóm hydroxyl.

Các hợp chất có trị số LogP, như các trị số ALogP, trong khoảng các giới hạn nêu trên được thấy là có hoạt tính tốt đối với cả các chủng vi khuẩn nhạy với polymyxin và các chủng vi khuẩn kháng polymyxin. Các hợp chất có thể có hoạt tính diệt vi khuẩn ngang bằng với polymyxin B. Một cách có lợi, các hợp chất này còn có thể có mức độc tính tế bào giảm so với polymyxin B.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng hợp chất có trị số LogP tối ưu có thể thu được bằng cách lựa chọn nhóm $-R^{15}$ theo sang chế, cùng với lựa chọn thích hợp về các gốc axit amin ở vị trí 6 và/hoặc 7 (như với lựa chọn thích hợp cho $-R^1$ và/hoặc $-R^2$).

Tác nhân có hoạt tính

Mỗi hợp chất trong số các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được sử dụng cùng với hoạt chất thứ hai. Các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng tổ hợp này có hoạt tính sinh học tốt hơn so với có thể mong đợi từ hoạt tính riêng của cả hai

hợp chất. Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được sử dụng để gây tiềm năng hoạt tính của hoạt chất thứ hai. Cụ thể, các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được sử dụng cùng với hoạt chất thứ hai để nâng cao hoạt tính diệt vi khuẩn của tác nhân đó, ví dụ, đối với vi khuẩn gram âm.

Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết tin rằng các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) tác động lên màng ngoài của tế bào, ví dụ, tế bào vi khuẩn gram âm, để tạo điều kiện thuận lợi cho việc hấp thụ hoạt chất thứ hai vào tế bào đó. Do đó, các tác nhân mà không có khả năng hoặc kém trong việc đi qua màng ngoài có thể được hấp thụ vào tế bào đích nhờ hoạt động của các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III).

Theo một phương án, việc kết hợp hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) với hoạt chất thứ hai có hoạt tính đối với vi khuẩn gram âm. Trong bản mô tả này, không nhất thiết rằng từng hợp chất trong số các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất thứ hai có hoạt tính đối với các vi khuẩn gram âm.

Theo một phương án, hoạt chất thứ hai là tác nhân có trị số MIC đo được đối với vi sinh vật cụ thể, như vi khuẩn, mà là thấp hơn 10 microgam/ml, thấp hơn 5 microgam/ml, hoặc thấp hơn 1 microgam/ml. Vi sinh vật có thể là vi khuẩn gram âm, như vi khuẩn Gram âm được chọn từ nhóm bao gồm *E. coli*, *S. enterica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*; *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa*, và *Stenotrophomonas maltophilia*.

Các ví dụ về các hoạt chất thứ hai mà có hoạt tính đối với vi khuẩn Gram âm bao gồm các beta-lactam, các tetracyclin, các aminoglycosit và quinolon.

Theo một phương án, hoạt chất thứ hai là tác nhân có trị số MIC đo được đối với vi sinh vật cụ thể, như vi khuẩn Gram âm, mà là cao hơn 4 microgam/ml, cao hơn 8 microgam/ml, cao hơn 16 microgam/ml hoặc cao hơn 32 microgam/ml. Theo phương án này, hoạt chất thứ hai có thể có hoạt tính đối với vi khuẩn Gram dương. Ví dụ, hoạt chất thứ hai là tác nhân có trị số MIC đo được đối với vi khuẩn Gram dương cụ thể mà

là thấp hơn 10 microgam/ml, thấp hơn 5 microgam/ml, hoặc thấp hơn 1 microgam/ml. Trong bản mô tả này, hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoạt động để tạo điều kiện thuận lợi cho việc hấp thụ hoạt chất thứ hai vào tế bào vi khuẩn gram âm. Do đó, hoạt chất thứ hai có khả năng tác động đến đích bên trong tế bào vi khuẩn gram âm, mà đích có thể là giống đích của hoạt chất thứ hai ở tế bào vi khuẩn Gram dương.

Vi khuẩn Gram dương có thể được chọn từ nhóm bao gồm vi khuẩn *Staphylococcus* và *Streptococcus*, như *S. aureus* (kể cả MRSA), *S. epidermis*, *E. faecalis*, và *E. faecium*.

Các ví dụ về hoạt chất thứ hai mà có hoạt tính đối với vi khuẩn Gram dương (ở trị số MIC nêu trên, chẳng hạn), và hoạt tính trung bình đối với các vi khuẩn Gram âm, bao gồm rifampixin, novobiocin, macrolit, pleuromutilin. Theo một phương án, hợp chất có hoạt tính trung bình đối với vi khuẩn Gram âm có thể có trị số MIC đo được đối với vi khuẩn Gram âm thấp hơn 32 microgam/ml, thấp hơn 64 microgam/ml, hoặc thấp hơn 128 microgam/ml.

Cũng là thích hợp để sử dụng là các tác nhân mà có hoạt tính đối với vi khuẩn Gram dương và về cơ bản không có hoạt tính đối với vi khuẩn gram âm. Các ví dụ bao gồm axit fusidic, oxazolidinon (ví dụ, linezolid), glycopeptit (ví dụ, vancomycin), daptomycin và lantibiotic. Theo một phương án, hợp chất về cơ bản không có hoạt tính đối với vi khuẩn Gram âm có thể có trị số MIC đo được đối với vi khuẩn Gram âm cao hơn 32 microgam/ml, cao hơn 64 microgam/ml, cao hơn 128 microgam/ml, cao hơn 256 microgam/ml.

Trong các điều kiện bình thường, các tác nhân này không nhất thiết thích hợp để sử dụng cho vi khuẩn Gram âm do khả năng của chúng tương đối kém trong việc đi qua màng ngoài của tế bào vi khuẩn gram âm. Như đã nêu trên, khi được sử dụng cùng với hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), các tác nhân này là thích hợp để dùng.

Theo một phương án, hoạt chất có thể được chọn từ nhóm bao gồm rifampixin (rifampin), rifabutin, rifalazil, rifapentin, rifaximin, aztreonam, oxaxilin, novobioxin, axit fusidic, azithromyxin, xiprofloaxacin, meropenem, tigexyclin, minoxycilin, erythromyxin, clarithromyxin và mupiroxin, và các muối được dụng, các solvat và các dạng tiền được chất của chúng.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng các hợp chất polymyxin có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được sử dụng cùng với một số hợp chất thuộc họ rifamycin để điều trị nhiễm vi sinh vật. Họ rifamycin bao gồm các rifamycin riêng biệt A, B, C, D, E, S và SV, và các phiên bản được tạo dẫn xuất theo cách tổng hợp của các hợp chất này, như rifampixin (rifampin), rifabutin, rifalazil, rifapentin, và rifaximin, và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo một phương án, hoạt chất là rifampixin (rifampin) và các muối được dụng, các solvat và các dạng tiền được chất của nó.

Muối, solvat và các dạng khác

Các ví dụ về muối của hợp chất có công thức (I), (II) và (III) bao gồm tất cả các muối được dụng, như nhưng không chỉ giới hạn ở, các muối cộng axit của các axit vô cơ mạnh như các muối HCl và HBr và các muối cộng của các axit hữu cơ mạnh như muối của axit metansulfonic. Các ví dụ khác nữa về muối bao gồm sulfat và axetat như axetat itself, trifloaxetat hoặc tricloaxetat.

Theo một phương án, các hợp chất theo sáng chế được tạo ra ở dạng muối sulfat hoặc muối của axit trifloaxetic (TFA). Theo một phương án, các hợp chất theo sáng chế được tạo ra ở dạng các muối axetat, như axetat.

Hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) còn có thể được điều chế ở dạng tiền được chất. Các tiền được chất có thể bao gồm hợp chất diệt vi khuẩn theo sáng chế đã được bộc lộ trong bản mô tả này, mà ở các tiền được chất này một hoặc nhiều nhóm amin

được bảo vệ bằng nhóm mà có thể được phân cắt *in vivo*, để giải phóng hoạt chất sinh học. Theo một phương án, tiền dược chất này là “tiền dược chất amin”. Các ví dụ về tiền dược chất amin bao gồm sulphomethyl, như đã được bộc lộ, ví dụ, trong tài liệu Bergen *et al*, *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*, 2006, **50**, 1953 hoặc HSO₃-Fmoc, như đã được bộc lộ, ví dụ, trong tài liệu Schechter *et al*, *J. Med. Chem.* 2002, **45**(19) 4264, và các muối của chúng. Các ví dụ khác nữa về tiền dược chất amin are được Krise và Oliyai bộc lộ trong tài liệu: *Biotechnology: Pharmaceutical Aspects*, 2007, **5**(2), 101-131.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) được cung cấp ở dạng tiền dược chất.

Việc đề cập đến hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), hoặc hợp chất bất kỳ khác theo sáng chế, cũng là đề cập đến solvat của hợp chất đó. Các ví dụ về solvat bao gồm các hydrat.

Hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), hoặc hợp chất bất kỳ khác theo sáng chế, bao gồm hợp chất trong đó một nguyên tử được thế bằng đồng vị có trong tự nhiên hoặc không có trong tự nhiên. Theo một phương án, đồng vị này là đồng vị ổn định. Do đó, hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này bao gồm, ví dụ, các hợp chất chứa đơteri và các loại tương tự. Ví dụ, H có thể là ở dạng đồng vị bất kỳ, bao gồm ¹H, ²H (D), và ³H (T); C có thể là ở dạng đồng vị bất kỳ, bao gồm ¹²C, ¹³C, và ¹⁴C; O có thể là ở dạng đồng vị bất kỳ, bao gồm ¹⁶O và ¹⁸O; và các loại tương tự.

Một số hợp chất nhất định có công thức (I), (II) hoặc (III), hoặc hợp chất bất kỳ khác theo sáng chế, có thể tồn tại ở một hoặc nhiều chất đồng phân dị hình, chất đồng phân quang học, chất đồng phân đối ảnh cụ thể, chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân epime, chất đồng phân atropic, chất đồng phân lập thể, chất đồng phân hỗn biến, cấu hình riêng, hoặc dạng anome bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dạng cis và dạng trans; dạng E và dạng Z; dạng c, dạng t, và dạng r; dạng endo và dạng exo; dạng R, dạng S, và dạng meso; dạng D và dạng L; dạng d và dạng l; dạng (+) và dạng (-);

dạng keto, dạng enol, và dạng enolat; dạng cùng bên và dạng ngược bên; dạng lõm và dạng lồi; dạng α và dạng β ; dạng trực và dạng xích đạo; dạng thuyền, dạng ghế, dạng xoắn, dạng bao, và dạng bán ghế; và tổ hợp của chúng, dưới đây được gọi chung là “các chất đồng phân” (hoặc “dạng đồng phân”).

Lưu ý rằng, trừ trường hợp như được bộc lộ dưới đây đối với các dạng hổ biến, đặc biệt là loại trừ khỏi thuật ngữ “chất đồng phân”, như được dùng trong bản mô tả này, là các chất đồng phân dị cấu (hoặc dị cấu) (tức là các chất đồng phân mà khác nhau về kết nối giữa các nguyên tử hơn là chỉ theo vị trí của các nguyên tử trong không gian). Ví dụ, việc đề cập đến nhóm metoxy, $-\text{OCH}_3$, không nên hiểu là đề cập đến chất đồng phân cấu trúc của nó, nhóm hydroxymetyl, $-\text{CH}_2\text{OH}$. Tương tự, việc đề cập đến ortho-clophenyl không nên hiểu là đề cập đến chất đồng phân cấu trúc của nó, meta-clophenyl. Tuy nhiên, việc đề cập đến nhóm bao gồm các cấu trúc có thể bao gồm các dạng đồng phân cấu trúc thuộc nhóm đó (ví dụ, C_{1-6} alkyl bao gồm n-propyl và isopropyl; butyl bao gồm n-, iso-, sec-, và tert-butyl; metoxyphenyl bao gồm ortho-, meta-, và para-metoxypheyl).

Trừ khi có quy định khác, việc đề cập đến hợp chất cụ thể bao gồm tất cả các dạng đồng phân này, kể cả các hỗn hợp (ví dụ, các hỗn hợp triệt quang) của chúng. Các phương pháp điều chế (ví dụ, tổng hợp bất đối xứng) và tách (ví dụ, kết tinh phân đoạn và cách sắc ký) các dạng đồng phân này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc dễ dàng đạt được bằng cách làm thích ứng các phương pháp đã được bộc lộ trong bản mô tả này, hoặc các phương pháp đã biết, theo cách đã biết.

Một khía cạnh của sáng chế liên quan đến các hợp chất ở dạng hầu như tinh khiết và/hoặc ở dạng hầu như không chứa các thành phần tạp nhiễm.

Theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết chiếm ít nhất là 50% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 60% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 70% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 80% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 90% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 95% trọng lượng, ví dụ,

ít nhất là 97% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 98% trọng lượng, ví dụ, ít nhất là 99% trọng lượng.

Trừ khi được chỉ rõ, dạng hầu như tinh khiết chỉ hợp chất ở dạng đồng phân lập thể hoặc dạng đồng phân đối ảnh bất kỳ. Ví dụ, theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết chỉ hỗn hợp gồm các chất đồng phân lập thể, tức là được tinh chế liên quan đến các hợp chất khác. Theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết chỉ một chất đồng phân lập thể, ví dụ, chất đồng phân lập thể tinh khiết quang. Theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết chỉ hỗn hợp gồm các chất đồng phân đối ảnh. Theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết chỉ hỗn hợp gồm các chất đồng phân đối ảnh (tức là hỗn hợp triệt quang, chất triệt quang) theo tỷ lệ phân tử gam ngang bằng. Theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết chỉ một chất đồng phân đối ảnh, ví dụ, chất đồng phân đối ảnh tinh khiết quang.

Theo một phương án, các thành phần tạp nhiễm chiếm không nhiều hơn 50% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 40% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 30% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 20% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 10% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 5% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 3% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 2% trọng lượng, ví dụ, không nhiều hơn 1% trọng lượng.

Trừ khi được chỉ rõ, các thành phần tạp nhiễm chỉ các hợp chất khác, tức là khác với các chất đồng phân lập thể hoặc các chất đồng phân đối ảnh. Theo một phương án, các thành phần tạp nhiễm chỉ các hợp chất khác và các chất đồng phân lập thể khác. Theo một phương án, các thành phần tạp nhiễm chỉ các hợp chất khác và chất đồng phân đối ảnh khác.

Theo một phương án, dạng hầu như tinh khiết có mức độ tinh khiết quang ít nhất là 60% (tức là 60% hợp chất này, tính theo phân tử gam, là chất đồng phân lập thể hoặc chất đồng phân đối ảnh mong muốn, và 40% là chất đồng phân lập thể hoặc chất đồng phân đối ảnh không mong muốn), ví dụ, tinh khiết quang ít nhất là 70%, ví dụ, tinh

khiết quang ít nhất là 80%, ví dụ, tinh khiết quang ít nhất là 90%, ví dụ, tinh khiết quang ít nhất là 95%, ví dụ, tinh khiết quang ít nhất là 97%, ví dụ, tinh khiết quang ít nhất là 98%, ví dụ, tinh khiết quang ít nhất là 99%.

Phương pháp điều trị bệnh

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), hoặc dược phẩm chứa các hợp chất này, là thích hợp để dùng trong phương pháp điều trị và phòng bệnh. Các hợp chất có thể được cho đối tượng có nhu cầu dùng bệnh. Các hợp chất là thích hợp để sử dụng cùng với hoạt chất ("hoạt chất thứ hai"), ví dụ, hoạt chất thứ hai mà là tác nhân diệt vi khuẩn.

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) là để dùng trong phương pháp điều trị bệnh cho cơ thể người hoặc động vật theo cách trị liệu. Theo một số khía cạnh của sáng chế, hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được dùng cho đối tượng động vật có vú, như người, để điều trị nhiễm vi sinh vật.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc (II) để bào chế dược phẩm để dùng trong việc điều trị bệnh. Theo một phương án, thuốc chứa hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III). Theo một phương án, thuốc là để dùng trong việc điều trị nhiễm vi sinh vật.

Thuật ngữ "nhiễm vi sinh vật" được dùng để chỉ sự thâm nhập của vi sinh vật gây bệnh vào động vật chủ. Hiện tượng này bao gồm sự sinh trưởng dư vi sinh vật mà thường có mặt trong hoặc trên cơ thể của động vật. Nói chung, nhiễm vi sinh vật có thể là tình huống bất kỳ, mà trong đó sự có mặt của (các) quần thể vi sinh vật là có hại cho động vật chủ. Do đó, động vật "bị" nhiễm vi sinh vật khi số lượng dư quần thể vi sinh vật có mặt trong hoặc trên cơ thể của động vật, hoặc khi sự có mặt của (các) quần thể vi sinh vật có hại đối với các tế bào hoặc mô khác của động vật.

Các hợp chất có thể được dùng để điều trị đối tượng bị nhiễm vi sinh vật, hoặc có nguy cơ nhiễm vi sinh vật, như vi khuẩn.

Nhiễm vi sinh vật có thể là nhiễm vi khuẩn như nhiễm vi khuẩn Gram âm.

Các ví dụ về vi khuẩn Gram âm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp., và các vi khuẩn đường ruột khác, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas*, và *Legionella* và nhiều vi khuẩn khác.

Các vi khuẩn hình que Gram âm liên quan về mặt y học bao gồm nhiều loài. Một vài trong số chúng chủ yếu gây ra các vấn đề về hô hấp (*Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*), chủ yếu các vấn đề tiết niệu (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*), và chủ yếu các vấn đề ở dạ dày-ruột (*Salmonella enterica*).

Vi khuẩn Gram âm liên quan đến nhiễm trùng bệnh viện bao gồm *Acinetobacter baumannii*, mà gây ra nhiễm khuẩn ở máu, bệnh viêm màng não thứ cấp, và bộ thông gió-associated bệnh viêm phổi ở bộ phận hồi sức cấp cứu của các cơ sở bệnh viện.

Theo một phương án, các chủng vi khuẩn gram âm được chọn từ nhóm bao gồm *E. coli*, *S. enterica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*; *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa*, và *Stenotrophomonas maltophilia*.

Theo một phương án, các chủng vi khuẩn gram âm được chọn từ nhóm bao gồm *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, và *A. baumannii*.

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc các chế phẩm chứa chúng có thể được dùng để điều trị nhiễm khuẩn ở da và mô mềm, nhiễm khuẩn ở dạ dày-ruột, nhiễm khuẩn đường tiết niệu, bệnh viêm phổi, hiện tượng nhiễm trùng, nhiễm khuẩn

dưới khoang bụng và nhiễm khuẩn sản khoa/phụ khoa. Nhiễm khuẩn có thể là nhiễm khuẩn Gram âm.

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc các chế phẩm chứa chúng có thể được dùng để điều trị nhiễm *Pseudomonas*, kể cả nhiễm *P. aeruginosa*, ví dụ, nhiễm khuẩn ở da và mô mềm, nhiễm khuẩn ở dạ dày-ruột, nhiễm trùng đường tiết niệu, bệnh viêm phổi và hiện tượng nhiễm trùng.

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc các chế phẩm chứa chúng có thể được dùng để điều trị nhiễm *Acinetobacter*, kể cả nhiễm *A. baumannii*, đối với bệnh viêm phổi, nhiễm khuẩn vết thương, nhiễm trùng đường tiết niệu và hiện tượng nhiễm trùng.

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc các chế phẩm chứa chúng có thể được dùng để điều trị nhiễm *Klebsiella*, kể cả nhiễm *K. pneumoniae*, đối với bệnh viêm phổi, nhiễm khuẩn dưới khoang bụng, nhiễm trùng đường tiết niệu, bệnh viêm màng não và hiện tượng nhiễm trùng.

Các hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc các chế phẩm chứa chúng có thể được dùng để điều trị nhiễm *E. coli*, kể cả nhiễm *E. coli*, đối với nhiễm khuẩn ở máu, bệnh viêm túi mật, bệnh viêm ống dẫn mật, nhiễm khuẩn dưới khoang bụng, nhiễm trùng đường tiết niệu, bệnh viêm màng não và bệnh viêm phổi sơ sinh.

Các hợp chất có công thức (I), (II), hoặc (III) hoặc các chế phẩm chứa chúng có thể được sử dụng cùng với hoạt chất trong các phương pháp điều trị bệnh.

Hoạt chất có thể là tác nhân mà có hoạt tính đối với vi sinh vật. Hoạt chất có thể có hoạt tính đối với vi khuẩn gram âm. Hoạt chất có thể có hoạt tính đối với vi sinh vật được chọn từ danh mục nêu trên.

Theo một phương án, hoạt chất thứ hai có trị số MIC bằng 10 microgam/ml hoặc thấp hơn đối với vi sinh vật như *E. coli*, khi không có hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III). Vi sinh vật có thể là vi sinh vật được chọn từ nhóm nêu trên.

Các hợp chất cụ thể để dùng làm các hoạt chất thứ hai được bộc lộ trong bản mô tả này và bao gồm:

rifampixin, rifabutin, rifalazil, rifapentin, và rifaximin;
 oxaxilin, methixilin, ampixilin, cloxaxilin, carbenixilin, piperaxilin, tricaxilin, flucloxacilin, và nafxilin;
 azithromyxin, clarithromyxin, erythromyxin, telithromyxin, cethromyxin, và solithromyxin;
 aztreonam và BAL30072;
 meropenem, doripenem, imipenem, ertapenem, biapenem, tomopenem, và panipenem;
 tigecyclin, omadaxyclin, eravacyclin, doxyxycyclin, và minoxycyclin;
 xiprofloxacxin, levofloxacxin, moxifloxacxin, và delafloxacxin;
 Axit fusidic;
 Novobioxin;
 teichoplanin, telavancin, dalbavancin, và oritavancin,

và các muối được dụng và các solvat của chúng;

Theo một phương án, các hợp chất cụ thể để dùng làm hoạt chất thứ hai được bộc lộ trong bản mô tả này và bao gồm rifampixin (rifampin), rifabutin, rifalazil, rifapentin, rifaximin, aztreonam, oxaxilin, novobioxin, axit fusidic, azithromyxin, xiprofloxacxin, meropenem, tigecyclin, erythromyxin, clarithromyxin và mupiroxin, và các muối được dụng và các solvat của chúng.

Theo khía cạnh khác, các hợp chất có công thức (I) là thích hợp để dùng trong việc điều trị nhiễm nấm, ví dụ, kết hợp cùng với yếu tố diệt nấm. Yếu tố diệt nấm có thể được chọn từ polyen diệt nấm, ví dụ, amphotericin B, imidazol, triazol, hoặc thiazol

diệt nấm, ví dụ, miconazol, fluconazol hoặc abafungin, alylamin, echinocandin, hoặc tác nhân khác, ví dụ, xiclopirox.

Điều trị bệnh

Thuật ngữ “điều trị bệnh” được dùng trong bản mô tả này trong phạm vi điều trị tình trạng bệnh lý thường liên quan đến việc điều trị và trị liệu, dù là người hoặc động vật (ví dụ, ở các ứng dụng trong thú y), mà bằng cách đó đạt được một số hiệu quả điều trị bệnh mong muốn, ví dụ, ức chế tiến triển của tình trạng bệnh lý, và bao gồm làm giảm mức độ tiến triển, hãm tốc độ tiến triển, làm thuyên giảm các triệu chứng của tình trạng bệnh lý, làm thuyên giảm tình trạng bệnh lý, và chữa trị tình trạng bệnh lý. Việc điều trị nhằm mục đích phòng ngừa (tức là phòng bệnh) cũng được bao gồm. Ví dụ, việc sử dụng với các bệnh nhân mà vẫn chưa phát triển tình trạng bệnh lý, nhưng là đối tượng có nguy cơ phát triển tình trạng bệnh lý, được bao hàm trong thuật ngữ “điều trị bệnh”.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu để điều trị bệnh” được dùng trong bản mô tả này, liên quan đến lượng của hợp chất, hoặc nguyên liệu, chế phẩm hoặc dạng liều chứa hợp chất, mà có hiệu quả tạo ra một số hiệu quả điều trị bệnh mong muốn, phù hợp với tỷ lệ hợp lý giữa lợi ích và nguy cơ, khi được dùng theo phác đồ điều trị bệnh mong muốn.

Thuật ngữ “điều trị bệnh” bao gồm việc điều trị kết hợp và phép trị liệu, như được bộc lộ trong bản mô tả này, trong đó hai hoặc nhiều cách điều trị hoặc các phép trị liệu được kết hợp, ví dụ, liên tục hoặc đồng thời.

Phép điều trị kết hợp

Hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được dùng kết hợp với hoạt chất. Cách dùng có thể là đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tục.

Phương pháp và cách dùng sẽ phụ thuộc vào dược động học của hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) và hoạt chất thứ hai.

Thuật ngữ dùng “đồng thời” có nghĩa là hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) và hoạt chất thứ hai được cho đối tượng dùng thành một liều theo cùng một đường dùng.

Thuật ngữ dùng “riêng rẽ” có nghĩa là hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) và hoạt chất thứ hai được cho đối tượng dùng theo hai đường dùng khác nhau mà xảy ra tại cùng một thời điểm. Điều này có thể xảy ra, ví dụ, khi một tác nhân được dùng bằng cách truyền và tác nhân còn lại đường dùng qua đường miệng trong quá trình truyền.

Thuật ngữ “liên tục” có nghĩa là hai tác nhân được dùng tại các thời điểm khác nhau, với điều kiện hoạt tính của tác nhân được dùng thứ nhất là đang hiện hữu và tiếp diễn ở đối tượng tại thời điểm hoạt chất thứ hai được dùng.

Nói chung, liều liên tục xảy ra sao cho tác nhân thứ hai trong số hai tác nhân được dùng trong vòng 48 giờ, như trong vòng 24 giờ, như trong vòng 12 giờ, 6 giờ, 4 giờ, 2 giờ hoặc 1 giờ sau tác nhân thứ nhất. Theo cách khác, hoạt chất có thể được dùng đầu tiên, tiếp theo là hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III).

Cuối cùng, thứ tự và thời điểm dùng hợp chất và hoạt chất thứ hai trong quá trình điều trị kết hợp sẽ phụ thuộc vào các tính chất dược động học của từng chất.

Lượng hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) sẽ được cho đối tượng dùng hẳn là phụ thuộc vào bản chất của đối tượng và bệnh cần được điều trị. Tương tự, lượng hoạt chất sẽ được cho đối tượng dùng hẳn sẽ phụ thuộc vào bản chất của đối tượng và bệnh cần được điều trị.

Chế phẩm

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) cùng với chất mang dược dụng. Dược phẩm còn có thể chứa hoạt chất thứ hai. Theo phương án khác, khi hoạt chất thứ hai được cấp để dùng trong điều trị, hoạt chất thứ hai có thể được bào chế một cách riêng rẽ từ hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III). Do đó, các lưu ý dưới đây được đưa ra liên quan đến hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) cũng có thể áp dụng cho hoạt chất thứ hai, như được bào chế một cách riêng rẽ.

Trong khi có thể đối với hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) sẽ được dùng riêng rẽ hoặc cùng với hoạt chất thứ hai, mong muốn trình bày nó ở dạng dược phẩm (ví dụ, hợp phần, chế phẩm, thuốc) chứa ít nhất là một hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), như được bộc lộ trong bản mô tả này, cùng với một hoặc nhiều thành phần dược dụng khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất mang dược dụng, các chất pha loãng, các tá dược, các tá dược, các chất độn, các dung dịch đệm, chất bảo quản, các chất chống oxy hóa, các chất làm trơn, các chất làm ổn định, các chất hòa tan, các chất hoạt động bề mặt (ví dụ, các tác nhân thấm ướt), các tác nhân giấu mùi vị, các tác nhân tạo màu, các tác nhân tạo vị, và các chất tạo ngọt. Chế phẩm có thể còn bao gồm hoạt chất khác, ví dụ, các tác nhân khác để điều trị bệnh hoặc phòng bệnh.

Do đó, sáng chế còn đề xuất các dược phẩm, như được định nghĩa trên đây, và các phương pháp tạo ra dược phẩm lẫn lộn ít nhất là một hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), như được bộc lộ trong bản mô tả này, cùng với một hoặc nhiều thành phần dược dụng khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, các chất mang, các chất pha loãng, các tá dược, v.v.. Nếu được bào chế ở dạng đơn vị riêng rẽ (ví dụ, viên nén, v.v.), thì mỗi đơn vị chứa lượng đã được định trước (liều lượng) của hợp chất này. Chế phẩm này còn tùy ý chứa hoạt chất thứ hai với lượng đã được định trước.

Thuật ngữ “dược dụng” được dùng trong bản mô tả này, liên quan đến các hợp chất, các thành phần, các nguyên liệu, các chế phẩm, các dạng liều, v.v., mà là thích hợp,

nằm trong phạm vi đánh giá y học hợp lý, để sử dụng tiếp xúc với mô của đối tượng liên quan (ví dụ, người) mà không độc tính, kích ứng, phản ứng dị ứng quá mức, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, phù hợp với tỷ lệ hợp lý giữa lợi ích và nguy cơ. Từng chất mang, chất pha loãng, tá dược, v.v. còn phải là “dược dụng” theo nghĩa là tương thích với các thành phần khác của chế phẩm.

Các chất mang, các chất pha loãng, các tá dược thích hợp v.v. có thể được thấy trong các sách giáo khoa về dược học, ví dụ, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, tái bản lần thứ 18, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990; và *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, tái bản lần thứ 5, 2005.

Các chế phẩm có thể được điều chế theo phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược. Các phương pháp này bao gồm bước cho hợp chất có công thức (I) hoặc (II) kết hợp với chất mang mà cấu thành một hoặc nhiều thành phần phụ trợ. Nói chung, các chế phẩm điều chế được theo kết hợp hợp chất này đồng đều và riêng rẽ với các chất mang (ví dụ, chất mang lỏng, chất mang rắn đã được nghiền mịn, v.v.), và sau đó tạo hình sản phẩm, nếu cần thiết.

Các chế phẩm có thể được bào chế để tạo ra để giải phóng nhanh hoặc chậm: giải phóng ngay lập tức, giải phóng theo cách trì hoãn, giải phóng hẹn giờ, hoặc giải phóng từ từ; hoặc tổ hợp của chúng.

Một cách thích hợp, các chế phẩm có thể ở dạng lỏng, dung dịch (ví dụ, trong nước, không nước), các loại huyền phù (ví dụ, trong nước, không nước), nhũ tương (ví dụ, dầu-trong-nước, nước-trong-dầu), cồn ngọt, siro, thuốc tễ, nước súc miệng, thuốc nhỏ giọt, viên nén (kể cả, ví dụ, viên nén đã được bao), hạt, bột, viên thuốc hình thoi, viên kẹo mềm nhỏ, viên nang (kể cả, ví dụ, viên nang gelatin cứng và mềm), viên con nhộng, viên tròn, ống thuốc tiêm, liều tiêm nhanh, viên đặt hậu môn, viên đặt âm đạo, cồn thuốc, gel, bột nhão, dầu bôi, kem bôi, nước xúc, dầu, bột, thuốc xịt, thuốc dạng sương mù, hoặc sol khí.

Các chế phẩm có thể được cung cấp ở dạng thích hợp như cao dán, thuốc dạng cao dán dính, băng, bang thuốc, hoặc dạng tương tự mà được tẩm một hoặc nhiều hợp chất và tùy ý một hoặc nhiều thành phần được dụng khác, kể cả, ví dụ, chất tăng cường thấm, tẩm qua, và hấp thụ. Các chế phẩm còn có thể được cung cấp một cách thích hợp ở dạng nơi chứa hoặc vật chứa.

Hợp chất có thể được hòa tan tạo huyền phù trong, hoặc được trộn với, một hoặc nhiều thành phần được dụng khác. Hợp chất có thể được trình bày trong liposom hoặc hạt cỡ micron khác mà được thiết kế để hướng đích hợp chất này, ví dụ, đến các thành phần máu hoặc một hoặc nhiều các cơ quan. Khi liposom được sử dụng, cần phải lưu ý rằng liposom có thể chứa cả hợp chất có công thức (I), (II), (III) và hoạt chất thứ hai.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng (ví dụ, bằng cách đưa vào) bao gồm chất lỏng, dung dịch (ví dụ, trong nước, không nước), các loại huyền phù (ví dụ, trong nước, không nước), nhũ tương (ví dụ, dầu-trong-nước, nước-trong-dầu), cồn ngọt, siro, thuốc tễ, viên nén, hạt, bột, viên nang, viên con nhộng, viên tròn, ống thuốc tiêm, liều tiêm nhanh.

Các chế phẩm thích hợp để dùng bằng cách đặt trong má bao gồm nước súc miệng, viên thuốc hình thoi, viên kẹo mềm nhỏ, cũng như cao dán, thuốc dạng cao dán dính, nơi chứa, và bình chứa. Viên thuốc hình thoi thường chứa hợp chất trong nền đã được tạo vị, thường là sucroza và acacia hoặc tragacanth. Viên kẹo mềm nhỏ thường bao gồm hợp chất trong nền trợ, như gelatin và glycerin, hoặc sucroza và acacia. Nước súc miệng thường chứa hợp chất trong chất mang lỏng thích hợp.

Các chế phẩm thích hợp để dùng dưới lưỡi bao gồm viên nén, viên thuốc hình thoi, viên kẹo mềm nhỏ, viên nang, và viên tròn.

Các chế phẩm thích hợp đối với qua đường miệng dùng qua màng nhầy bao gồm chất lỏng, dung dịch (ví dụ, trong nước, không nước), huyền phù (ví dụ, trong nước, không nước), nhũ tương (ví dụ, dầu-trong-nước, nước-trong-dầu), nước súc miệng, viên

thuốc hình thoi, viên kẹo mềm nhỏ, cũng như cao dán, thuốc dạng cao dán dính, nơi chứa, và bình chứa.

Các chế phẩm thích hợp để không dùng qua đường miệng mà qua màng nhầy bao gồm chất lỏng, dung dịch (ví dụ, trong nước, không nước), huyền phù (ví dụ, trong nước, không nước), nhũ tương (ví dụ, dầu-trong-nước, nước-trong-dầu), viên đặt hậu môn, viên đặt âm đạo, gel, bột nhão, dầu bôi, kem bôi, nước xúc, dầu, cũng như cao dán, thuốc dạng cao dán dính, nơi chứa, và bình chứa.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua da bao gồm gel, bột nhão, dầu bôi, kem bôi, các loại nước xúc, và dầu, cũng như cao dán, thuốc dạng cao dán dính, băng, băng thuốc, nơi chứa, và bình chứa.

Viên nén có thể được tạo ra theo cách thông thường, ví dụ, nén hoặc đúc, tùy ý với một hoặc nhiều thành phần phụ trợ. Các viên nén đã được nén có thể được điều chế bằng cách nén trong máy thích hợp hợp chất ở dạng chảy tự do như bột hoặc hạt, tùy ý đã được trộn với một hoặc nhiều chất kết dính (ví dụ, povidon, gelatin, acacia, sorbitol, tragacan, hydroxypropylmetyl xenluloza); các chất độn hoặc các chất pha loãng (ví dụ, lactoza, xenluloza vi tinh thể, canxi hydrophosphat); các chất làm trơn (ví dụ, magie stearat, talc, silic đioxit); các chất gây rã (ví dụ, natri tinh bột glycolat, liên kết ngang povidon, liên kết ngang natri carboxymetyl xenluloza); các tác nhân hoạt động bề mặt hoặc các tác nhân phân tán hoặc các tác nhân thấm ướt (ví dụ, natri lauryl sulfat); chất bảo quản (ví dụ, methyl p-hydroxybenzoat, propyl p-hydroxybenzoat, axit sorbic); các thành phần tạo vị, các tác nhân tăng vị, và các chất làm ngọt. Các viên nén đúc có thể được tạo ra bằng cách đúc trong máy thích hợp hỗn hợp gồm hợp chất đã được nghiền thành bột được làm ẩm với chất pha loãng lỏng trơn. Viên nén có thể tùy ý được bao hoặc được khía và có thể được điều chế sao cho tạo ra giải phóng chậm hoặc có kiểm soát hợp chất trong đó bằng cách sử dụng, ví dụ, hydroxypropylmetyl xenluloza theo các tỷ phần thay đổi để tạo ra biên dạng giải phóng mong muốn. Các viên nén có thể tùy ý được cung cấp với lớp bao, ví dụ, để tác động đến

quá trình giải phóng, ví dụ, lớp bao tan trong ruột, để gây giải phóng ở các phần của ruột hơn là ở dạ dày.

Dầu bôi thường được pha chế từ hợp chất và nền dầu bôi parafin hoặc có thể trộn lẫn được với nước.

Kem bôi thường được pha chế từ hợp chất và nền kem bôi dầu trong nước. Nếu muốn, pha nước của nền kem bôi có thể bao gồm, ví dụ, ít nhất là khoảng 30% trọng lượng rượu polyhydric, tức là rượu có hai hoặc nhiều nhóm hydroxyl như propylen glycol, butan-1,3-điol, manitol, sorbitol, glyxerol và polyetylen glycol và hỗn hợp của chúng. Các chế phẩm dùng khu trú có thể bao gồm hợp chất mà làm gia tăng mức độ hấp thụ hoặc thẩm của hợp chất thông qua da hoặc vùng bị tác động khác như mong muốn. Các ví dụ về chất tăng cường thẩm qua da này bao gồm đimetylsulfoxit và các chất tương tự liên quan.

Nhũ tương thường được pha chế từ hợp chất và dầu pha, mà có thể tùy ý chỉ bao gồm chất nhũ hóa (nói cách khác đã được biết là chất nhũ tương hóa), hoặc nó có thể chứa hỗn hợp gồm ít nhất là một chất nhũ hóa với chất béo hoặc dầu hoặc với cả chất béo và dầu. Chất nhũ hóa ưa nước có thể được đưa vào cùng với chất nhũ hóa ưa béo mà hoạt động như chất làm ổn định. Nó còn có thể bao gồm cả dầu và chất béo. Cùng nhau, (các) chất nhũ hóa có hoặc không có chất làm ổn định tạo nên cái được gọi là sáp nhũ hóa, và sáp này cùng với dầu và/hoặc chất béo tạo nên cái được gọi là nền dầu bôi nhũ hóa mà tạo nên pha dầu được phân tán của các chế phẩm kem bôi.

Các chất nhũ tương hóa và các chất làm ổn định nhũ tương thích hợp bao gồm Tween 60, Span 80, rượu xetostearylic, rượu myristylic, glyxeryl monostearat và natri lauryl sulfat. Việc lựa chọn dầu hoặc mỡ thích hợp cho chế phẩm là dựa trên việc đạt được các tính chất mỹ phẩm mong muốn, vì độ hòa tan của hợp chất này trong hầu hết các loại dầu có thể được dùng trong các dược phẩm ở dạng nhũ tương có thể là rất chậm. Do đó, kem bôi nên là sản phẩm không tron, không nhuộm màu và dễ rửa với độ đặc thích hợp để tránh thoát ra khỏi ống nghiệm hoặc vật chứa khác. Các alkyl este

monoaxit hoặc điaxit mạch thẳng hoặc mạch nhánh, như đi-isoađipat, isoxetyl stearat, propylen glycol dieste của các axit béo từ dừa, isopropyl myristat, dexyl oleat, isopropyl palmitat, butyl stearat, 2-etylhexyl palmitat hoặc hỗn hợp bao gồm các este mạch nhánh đã được biết là Crodamol CAP có thể được sử dụng. Chúng có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp tùy theo các tính chất cần thiết. Theo cách khác, lipid có nhiệt độ nóng chảy cao như parafin mềm trắng và/hoặc parafin lỏng hoặc dầu khoáng khác có thể được sử dụng.

Các chế phẩm thích hợp để dùng trong mũi, khi chất mang là chất lỏng, bao gồm, ví dụ, xịt mũi, thuốc nhỏ mũi, hoặc bằng cách dùng sol khí bằng máy khí dung, bao gồm dung dịch trong nước hoặc dung dịch dầu chứa hợp chất này. Làm phương pháp dùng thay thế khác, phân phối bột khô có thể được dùng làm phương án thay thế cho sol khí được khí dung.

Các chế phẩm thích hợp để dùng trong mũi, khi chất mang là chất rắn, bao gồm, ví dụ, các loại được trình bày ở dạng bột thô có cỡ hạt, ví dụ, nằm trong khoảng 20 đến 500 micron mà được dùng theo cách trong đó việc đưa lên mũi hít vào được thực hiện, tức là bằng cách khí dung nhanh thông qua đường qua mũi từ vật chứa bột được giữ gần với mũi.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường phổi (ví dụ, theo liệu pháp trị liệu xông hoặc bơm) bao gồm các loại được trình bày ở dạng xịt sol khí từ gói nén áp, bằng cách sử dụng chất đẩy thích hợp, như điclođiflometan, tricloflometan, điclo-tetrafloetan, cacbon đioxit, hoặc các khí thích hợp khác. Ngoài ra hoặc theo cách khác, chế phẩm để dùng qua đường phổi có thể được điều chế để dùng từ máy khí dung hoặc máy khí dung bột khô. Ví dụ, chế phẩm có thể được tạo ra với chất mang hoặc liposom để tạo ra cỡ hạt thích hợp để đến được phần thích hợp của phổi, để hỗ trợ sự phân phối liều thích hợp nhằm gia tăng mức độ lưu giữ ở mô phổi.

Các chế phẩm thích hợp để dùng trong mắt bao gồm thuốc nhỏ mắt, trong đó hợp chất được hòa tan hoặc được tạo huyền phù trong chất mang thích hợp, đặc biệt là dung môi nước cho hợp chất này.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường trực tràng có thể được trình bày ở dạng viên đặt trong hậu môn với nền thích hợp bao gồm, ví dụ, dầu tự nhiên hoặc đã được làm cứng, sáp, mỡ, polyol bán lỏng hoặc lỏng, ví dụ, bơ cacao hoặc salixylat; hoặc ở dạng dung dịch hoặc huyền phù để điều trị bằng thuốc thụt.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường âm đạo có thể được trình bày ở dạng viên đặt âm đạo, nút bông vệ sinh, kem bôi, gel, bột nhão, chế phẩm bột hoặc chế phẩm xịt mà ngoài hợp chất còn chứa, chất mang mà trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết rằng là thích hợp.

Các chế phẩm thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc truyền, qua đường tĩnh mạch hoặc dưới da), bao gồm chất lỏng trong nước hoặc không là nước, đẳng trương, không gây sốt, vô trùng (ví dụ, dung dịch, huyền phù), trong đó hợp chất này được hòa tan, được tạo huyền phù, hoặc được cung cấp theo cách khác (ví dụ, trong liposom hoặc hạt cỡ micron khác). Chất lỏng này có thể còn chứa các thành phần dược dụng khác, như chất chống oxy hóa, dung dịch đệm, chất bảo quản, chất làm ổn định, chất kháng khuẩn, tác nhân tạo huyền phù, tác nhân làm đặc, và chất tan mà khiến cho chế phẩm này đẳng trương với máu (hoặc dịch thể có liên quan khác) của người nhận dự kiến. Các ví dụ về tá dược bao gồm, ví dụ, nước, rượu, đường, polyol, glyxerol, dầu thực vật, và các loại tương tự. Các ví dụ về chất mang đẳng trương thích hợp để dùng trong các chế phẩm này bao gồm natri clorua dùng để tiêm, dung dịch Ringer, hoặc dung dịch Ringer Lactat dùng để tiêm. Nói chung, nồng độ của hợp chất trong chất lỏng nằm trong khoảng từ 1ng/ml đến 500µg/ml, ví dụ, khoảng 1ng/ml đến 100µg/ml, ví dụ, khoảng từ 10ng/ml đến 10µg/ml, ví dụ, khoảng từ 10ng/ml đến 1µg/ml. Các chế phẩm có thể được trình bày trong vật chứa bịt kín chứa một liều hoặc nhiều liều, ví dụ, ống thuốc tiêm và lọ, và có thể là được bảo quản ở điều kiện sấy khô ở nhiệt độ thấp (đông khô nhanh) chỉ cần bổ

sung chất mang lỏng vô trùng, ví dụ, nước dùng để tiêm, vào ngay trước khi dùng. Dung dịch và huyền phù để tiêm ngay tức thì có thể được chế biến từ bột, hạt, và viên nén vô trùng.

Liều lượng

Nói chung, các phương pháp theo sáng chế có thể bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) sao cho gây ra tác dụng diệt vi khuẩn. Hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) có thể được dùng với lượng đủ để gây tiềm năng cho hoạt tính của hoạt chất thứ hai. Hoạt chất thứ hai được cho đối tượng dùng với lượng hữu hiệu sao cho gây ra tác dụng diệt vi khuẩn.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu được rằng các liều lượng thích hợp của hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất, và các chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất, có thể thay đổi từ bệnh nhân này đến bệnh nhân khác. Việc xác định liều lượng tối ưu thường bao gồm việc cân bằng mức độ của lợi ích điều trị bệnh với nguy cơ hoặc tác dụng phụ có hại bất kỳ. Mức liều lượng được chọn sẽ phụ thuộc vào nhiều loại yếu tố bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hoạt tính của hợp chất cụ thể có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất, đường dùng, thời gian dùng, tốc độ bài tiết hợp chất, khoảng thời gian kéo dài điều trị, các thuốc khác, các hợp chất, và/hoặc các nguyên liệu được dùng kết hợp, mức độ nặng của tình trạng, và chủng, giới tính, lứa tuổi, thể trọng, tình trạng bệnh lý, tình trạng sức khỏe chung, và tiền bệnh sử của bệnh nhân. Lượng hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất và đường dùng cuối cùng sẽ được quyết định bởi bác sỹ điều trị, bác sỹ thú y, hoặc bác sỹ lâm sàng, mặc dù liều lượng thường được chọn để đạt được nồng độ tại chỗ tại vị trí hoạt động nơi đạt được tác dụng mong muốn mà không gây ra tác dụng phụ có hại hoặc bất lợi đáng kể.

Việc dùng có thể được thực hiện thành một liều, một cách liên tục hoặc theo từng đợt (ví dụ, thành các liều đã được chia nhỏ cách nhau khoảng thời gian thích hợp) trong suốt toàn bộ tiến trình điều trị bệnh. Các phương pháp xác định biện pháp và liều

lượng dùng hiệu quả nhất là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và sẽ thay đổi tùy theo chế phẩm được dùng cho việc trị liệu, mục đích của việc trị liệu, (các) tế bào đích được điều trị, và đối tượng được điều trị. Một hoặc nhiều lần dùng có thể được thực hiện với mức liều lượng và mô hình được chọn bởi thầy thuốc điều trị, bác sỹ thú y, hoặc bác sỹ lâm sàng.

Nói chung, liều lượng thích hợp của hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất nằm trong khoảng 10 μ g đến 250mg (thông thường hơn là khoảng 100 μ g đến 25mg) cho mỗi kilogam thể trọng của đối tượng hằng ngày. Khi hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) hoặc hoạt chất là muối, este, amit, tiền dược chất, hoặc dạng tương tự, thì lượng được dùng được tính theo hợp chất gốc và do đó trọng lượng thực tế được dùng tăng theo tỷ lệ.

Kit

Một khía cạnh của sáng chế liên quan đến kit bao gồm (a) hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), hoặc chế phẩm chứa hợp chất như được xác định theo công thức bất kỳ trong số các công thức (I), (II) hoặc (III), ví dụ, thường được cung cấp trong vật chứa thích hợp và/hoặc với bao gói thích hợp; và (b) hướng dẫn sử dụng, ví dụ, hướng dẫn cách dùng hợp chất hoặc chế phẩm này.

Hướng dẫn bằng văn bản có thể còn bao gồm danh mục gồm các chỉ định mà đối với chúng hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III) là cách điều trị thích hợp.

Theo một phương án, kit này còn bao gồm (c) hoạt chất thứ hai, hoặc chế phẩm chứa hoạt chất thứ hai. Trong bản mô tả này, hướng dẫn bằng văn bản có thể còn bao gồm danh mục gồm các chỉ định mà đối với chúng hoạt chất thứ hai, cùng với hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), là thích hợp để điều trị bệnh.

Đường dùng

Hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), hoạt chất thứ hai, hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), (II) hoặc (III), hoặc hoạt chất thứ hai có thể được cho đối tượng dùng theo đường dùng thuận tiện bất kỳ, dù qua đường nội hấp/ngoại biên hoặc qua đường khu trú (tức là tại vị trí hoạt động mong muốn).

Đường dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đường miệng (ví dụ, bằng cách ăn vào); đặt trong má; dưới lưỡi; qua da (bao gồm, ví dụ, bằng cao dán, thuốc dạng cao dán, v.v.); qua màng nhầy (bao gồm, ví dụ, bằng cao dán, thuốc dạng cao dán, v.v.); trong mũi (ví dụ, bằng cách xịt mũi); trong mắt (ví dụ, bằng thuốc nhỏ mắt); phổi (ví dụ, bằng cách phép trị liệu xông hoặc bơm bằng cách sử dụng, ví dụ, qua sol khí, ví dụ, thông qua miệng hoặc mũi); qua đường trực tràng (ví dụ, bằng cách dùng viên đặt trong hậu môn hoặc thuốc thụt); âm đạo (ví dụ, bằng vòng nâng); ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc truyền, kể cả dưới da, trong da, tiêm bắp, qua đường tĩnh mạch, trong động mạch, vào trong tim, nội tủy mạch, trong cột sống, trong bao, dưới bao, trong hốc mắt, trong khoang màng bụng, trong khí quản, dưới biểu bì, trong khớp, dưới màng nhện, và trong xương ức; bằng cách cấy dưới da của nơi chứa hoặc vật chứa, ví dụ, dưới da hoặc trong cơ.

Đối tượng/Bệnh nhân

Đối tượng/bệnh nhân có thể là động vật có dây sống, có xương sống, có vú, động vật có vú có nhau thai, thú có túi (ví dụ, con chuột túi, con gấu túi), động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột lang, chuột đồng, chuột to, chuột bé), loài chuột (ví dụ, chuột), bộ thỏ (ví dụ, thỏ), gia cầm (ví dụ, con chim), họ chó (ví dụ, con chó), họ mèo (ví dụ, mèo), họ ngựa (ví dụ, ngựa), họ lợn (ví dụ, con lợn), họ cừu (ví dụ, con cừu), họ bò (ví dụ, con bò), động vật linh trưởng, giống khỉ (ví dụ, khỉ hoặc khỉ không đuôi), khỉ (ví dụ, khỉ đuôi sóc, khỉ đầu chó), khỉ không đuôi (ví dụ, khỉ đột, con tinh tinh, con đười ươi, con vượn), hoặc người. Hơn thế nữa, đối tượng/bệnh nhân có thể là dạng bất kỳ của quá trình phát triển, ví dụ, bào thai.

Theo một phương án, đối tượng/bệnh nhân là người.

Còn dự tính rằng sáng chế có thể được thực hiện trên động vật không phải là người bị nhiễm vi sinh vật. Động vật có vú không phải là người có thể là động vật gặm nhấm. Các động vật gặm nhấm bao gồm chuột to, chuột nhắt, chuột lang, con sóc sinsin và các động vật gặm nhấm nhỏ khác tương tự về kích cỡ được dùng trong nghiên cứu ở phòng thí nghiệm.

Các lựa chọn khác

Từng tổ hợp tương thích các phương án nêu trên được bộc lộ rõ trong bản mô tả này, như là từng tổ hợp được nêu một cách riêng rẽ và rõ ràng.

Các khía cạnh và các phương án khác nữa theo sáng chế là rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này khi xem bản mô tả này.

Thuật ngữ “và/hoặc” được dùng trong bản mô tả này được xem là bộc lộ cụ thể về từng dấu hiệu hoặc thành phần trong số hai dấu hiệu hoặc thành phần chỉ định có hoặc không có thành phần còn lại. Ví dụ, “A và/hoặc B” được xem là sự bộc lộ cụ thể về từng lựa chọn trong số (i) A, (ii) B và (iii) A và B, như là từng lựa chọn được nêu riêng lẻ.

Trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ khác, phần bộc lộ và định nghĩa về các dấu hiệu nêu trên không chỉ giới hạn ở khía cạnh hoặc phương án cụ thể bất kỳ theo sáng chế và áp dụng ngang bằng cho tất cả các khía cạnh và các phương án mà được bộc lộ. Khi thích hợp về mặt kỹ thuật, các phương án có thể được kết hợp và do đó phần bộc lộ này mở rộng đến mọi hoán vị và tổ hợp phương án theo sáng chế.

Các khía cạnh và các phương án nhất định theo sáng chế sẽ được minh họa bằng ví dụ và viện dẫn đến các hình nêu trên.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây được cung cấp chỉ để minh họa sáng chế và không nhằm để giới hạn phạm vi của sáng chế, như được bộc lộ trong bản mô tả này.

Chữ viết tắt

Chữ viết tắt	Nghĩa
PMBN	polymyxin B nonapeptit
PMB	polymyxin B
Thr	threonin
Ser	Serin
DSer	D-serin
Leu	leuxin
Ile	isoleuxin
Phe	phenylalanin
DPhe	D-phenylalanin
Val	Valin
Dab	axit α,γ -điaminobutyric
DIPEA	<i>N,N</i> -điisopropyletylamin
HATU	2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat
DCM	điclometan
TFA	axit trifloaxetic
ND	không được xác định
N/A	không áp dụng
DMF	<i>N,N</i> -đimetylformamit
PMBH	polymyxin B heptapeptit (3-10)
PMBD	polymyxin B đecapeptit
Pro	prolin
Dap	axit α,β -điaminopropionic

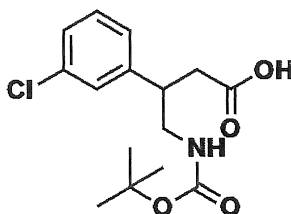
Chữ viết tắt	Nghĩa
Gly	glyxin
NorLeu	norleuxin
Ruphos	2-đixyclohexylphosphino-2',6'-điisopropoxybiphenyl
Xphos	2-đixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl
SFC	sắc ký lỏng siêu tới hạn
Fmoc	florenylmetyloxycarbonyl
Cbz	benzyloxycarbonyl
HCTU	O-(1H-6-clobenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat
Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl
PyBOP	(benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoni hexaflophosphat
NMM	<i>N</i> -metyl morpholin
THF	tetrahyrofuran
ivDde	1-(4,4-đimetyl-2,6-đioxoxyclohex-1-yliden)-3-metylbutyl
DPPA	điphenylphosporyl azit
TIS	tri-isopropyl silan
HOBt	1-hydroxybenzotriazol
IPA	isopropanol

Các ví dụ về quy trình tổng hợp

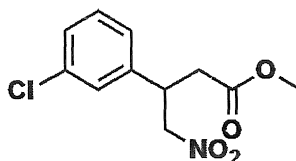
Tổng hợp axit ở đầu tận cùng N

Trong bản mô tả này, các axit 4-aminobutanoic được thể ở vị trí 3 được dùng ở dạng đã được bảo vệ một cách thích hợp. Việc tổng hợp các axit amin không chuẩn được bộc lộ chi tiết dưới đây, cùng với phương pháp học để tách chất đồng phân đối ảnh

axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic - chất đồng phân 1 và chất đồng phân 2



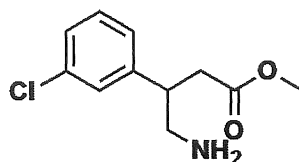
(i) Metyl 3-(3-clophenyl)-4-nitrobutanoat



Hỗn hợp gồm axit 3-cloxinamic (10g), metanol (100ml) và dung dịch axit sulfuric đậm đặc (4ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 giờ. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và cạn được phân bố giữa điclorometan (DCM) và nước. Pha nước được tách và chiết bằng DCM bổ sung. Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng magie sulfat, lọc và làm bay hơi đến khô, tạo ra metyl este ở dạng rắn màu trắng (10,19g). Chất rắn này được hòa tan trong nitrometan (32ml) và xử lý bằng 1,8-điazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) (8,5ml). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 giờ, sau đó được làm bay hơi đến khô và cạn được phân bố giữa dung dịch nước HCl 0,5M và dietyl ete. Pha nước được tách và chiết bằng dietyl ete bổ sung. Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô bằng magie sulfat, lọc và làm bay hơi đến khô. Cạn được tinh chế trên silic đioxit, rửa giải bằng hexan và etyl axetat (0% đến 100%). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp và làm bay hơi đến khô, tạo ra sản phẩm mong muốn ở dạng dầu màu vàng (9,93g, hiệu suất 70%).

^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ (ppm) 2,71-2,79 (2H, m), 3,66(3H, s), 3,93-4,01 (1H, m), 4,62 và 4,73 (2H, ABq, xuất hiện ở dạng 2x dd, J 12,8, 8,0 Hz), 7,11-7,28 (4H, m).

(ii) Metyl 4-amino-3-(3-clophenyl)butanoat



Kẽm bột (20,1g) được bổ sung từng phần vào dung dịch chứa metyl 3-(3-clophenyl)-4-nitrobutanoat (9,93g) trong axit axetic (90ml) được khuấy ở nhiệt độ khoảng 0°C (chú ý: tỏa nhiệt trễ). Hỗn hợp này được nâng nhiệt độ lên đến nhiệt độ trong phòng, khuấy trong thời gian 19 giờ. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và cặn được phân bố giữa dung dịch nước NaHCO₃ và etyl axetat. Tiếp đó, hỗn hợp này được lọc qua Celite và pha nước và pha hữu cơ được tách. Pha nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung. Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô bằng magie sulfat, lọc và làm bay hơi đến khô, tạo ra sản phẩm mong muốn ở dạng dầu màu cam (4,80g).

(iii) Hợp chất nêu ở đề mục - triệt quang

Hỗn hợp gồm metyl 4-amino-3-(3-clophenyl)butanoat (4,80g), đi-*tert*-butyl đi-cacbonat (5,28g) và diclometan (100ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và cặn được tinh chế trên silic đioxit, rửa giải bằng ete dầu mỏ 40 đến 60 và etyl axetat (0% đến 100%). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp và làm bay hơi đến khô, tạo ra este metyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoat đã được bảo vệ bằng Boc ở dạng kem bôi rắn (2,59g).

Hỗn hợp gồm metyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoat (2,49g), lithi hydroxit (546mg), 1,4-dioxan (40ml) và nước (40ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 64 giờ. Sau đó, hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô. Cặn được hòa tan trong nước, được trung hòa bằng dung dịch nước HCl 1M và chiết bằng etyl axetat (× 2). Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô bằng magie sulfat, lọc và làm bay hơi đến khô, tạo ra sản phẩm mong muốn ở dạng dầu màu vàng (2,51g).

m/z 314 (MH⁺) C₁₅H₂₀ClNO₄ yêu cầu 313,11. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ (ppm) 1,40 (9H, s), 2,42-2,73 (2H, m), 3,24-4,49 (4,4 H, m, bao gồm CH₃OD, CH₂, và CH), 7,17-7,38 (4H, m).

(iv) hợp chất nêu ở đề mục - tách các chất đồng phân - phương pháp 1

axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (2,09g) được hòa tan đến 60mg/ml trong metanol, và tiếp đó được tinh chế theo phương pháp SFC bằng cách áp dụng các điều kiện được mô tả dưới đây (các điều kiện tách điều chế 1). Các phân đoạn kết hợp chứa chất đồng phân 1 đã được làm giàu (chạy nhanh) và chất đồng phân 2 (chạy chậm) được kết hợp, cô và từng tổ hợp được tinh chế lại riêng rẽ ở cùng các điều kiện sắc ký.

Tiếp đó, các phân đoạn kết hợp của từng chất đồng phân 1 và chất đồng phân 2 được làm bay hơi tới gần khô bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi kiểu quay, được chuyển vào các bình cuối với DCM, mà được loại bỏ trong môi trường nitơ ở nhiệt độ 40°C trước khi được bảo quản trong lò chân không ở nhiệt độ 40°C và áp suất 5 mbar trong thời gian 16 giờ.

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (Chất đồng phân 1)

Chất rắn màu trắng, 883mg, mức dư chất đồng phân đối ảnh 95,6%. Thời gian lưu 2,89 phút trên hệ phân tích 1.

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (Chất đồng phân 2)

Chất rắn màu trắng, 876mg, mức dư chất đồng phân đối ảnh 98,6%. Thời gian lưu 3,29 phút trên hệ phân tích 1.

Các điều kiện tách điều chế 1:

Berger Multigram II SFC

Chi tiết về cột: Lux A1 (Phenomenex, 21,2mm × 250mm, 5μm)

Nhiệt độ của cột: 40°C

Lưu tốc: 50ml/phút

BPR: 125 BarG

Bước sóng phát hiện: 210nm

Thể tích nạp: 300μl (18mg)

Các điều kiện đẳng dung môi 12:88 EtOH: CO₂ (0,1% thể tích NH₃)

Các điều kiện phân tích 1:

Waters UPC2

Chi tiết về cột: Lux C4 (Phenomenex, 4,6mm × 250mm, 5μm)

Nhiệt độ của cột: 40°C

Lưu tốc: 4ml/phút

Bước sóng phát hiện: 210nm đến 400nm

Thể tích nạp: 1,0μl

BPR: 125 BarG

Các điều kiện đẳng dung môi 10:90 EtOH:CO₂ (0,1% thể tích NH₃)

(v) hợp chất nêu ở đề mục - tách các chất đồng phân - phương pháp 2

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic được tinh chế theo SFC bằng cách áp dụng các điều kiện được mô tả dưới đây (các điều kiện tách điều chế 2). Sau khi tách, các phân đoạn được sấy khô qua thiết bị làm bay hơi kiểu quay ở nhiệt độ của bể 40°C để thu được các chất đồng phân đối ảnh đã tách mong muốn. Chất đồng phân đối ảnh chạy chậm được tinh chế tiếp trên cùng cột rửa giải bằng 20% B.

Các điều kiện tách điều chế 2:

Dụng cụ: SFC điều chế Thar 200 (SFC-10)

Cột: Chiralpak AY, 300 × 50mm đường kính trong, 10μm

Pha động: A đối với CO₂ và B đối với IPA

Gradient: B 25%

Lưu tốc: 200ml/phút

Áp suất ngược: 100 bar

Nhiệt độ của cột: 38°C

Bước sóng: 220nm

Thời gian của chu trình: ~4,5 phút

Các điều kiện phân tích 2:

Dụng cụ: SFC phân tích Waters UPC2 (SFC-H)

Cột: Chiralpak AY, 150 × 4,6mm đường kính trong, 3μm

Pha động: A đối với CO₂ và B đối với IPA (0,05% DEA)

Gradient: B 5% đến 40%

Lưu tốc: 2,5ml/phút

Áp suất ngược: 100 bar

Nhiệt độ của cột: 40°C

Bước sóng: 220nm

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (Chất đồng phân 1) .

Thời gian lưu 2,796 phút. Chỉ định hóa học lập thể (*R*) bằng cách so sánh với chất đồng phân (2) dưới đây.

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (Chất đồng phân 2).

Thời gian lưu 3,264 phút. Chỉ định hóa học lập thể (*S*) theo phương pháp tinh thể học đối với phân tử nhỏ của nguyên liệu đã được bảo vệ bằng BOC, nêu dưới đây.

(vi) Xác nhận hóa học lập thể

Trifloaxetat muối của axit (*S*)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic

Axit trifloaxetic (5ml) được bổ sung vào dung dịch đã được làm nguội bằng nước đá chứa axit 4-(tert-butoxycarbonylamino)-3-(3-clophenyl)butanoic chất đồng phân 2 (thời gian lưu 3,264 phút theo phương pháp phân tích 2) (1,5g, 4,78mmol) trong điclometan (20ml). Sau khi bổ sung xong, hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ này trong thời gian 4 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng này được được cô. Hỗn hợp thô này được hòa tan trong nước (10ml) và làm đông khô nhanh để tạo ra sản phẩm; muối TFA của axit (S)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic (1,5g, hiệu suất 95%). LC-MS: m/z 214 ($M+H$)⁺

Axit (S)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic

Dung dịch amoni hydroxit loãng trong nước được bổ sung vào dung dịch chứa muối của axit trifloaxetic của axit (S)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic (0,5g, 1,53mmol) trong nước (10ml) cho đến khi độ pH đạt đến 7. Dung dịch thu được được bảo quản trong bình mở loại dung tích 25ml và được để ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 ngày. Sau khi kết tinh, nước cái được gạn, và tinh thể rắn được nghiên cứu nhiễu xạ tia X.

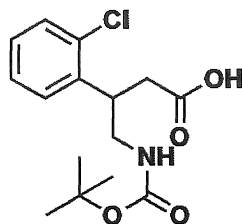
Nghiên cứu nhiễu xạ tia X cho thấy hợp chất này có hóa học lập thể (S).

Các điều kiện nhiễu xạ tia X:

Thiết bị nhiễu xạ Bruker APEX-II CCD được sử dụng.

Tinh thể được giữ ở 302,71K trong quá trình thu thập dữ liệu. Bằng cách sử dụng Olex2 (Dolomanov et al.), cấu trúc được giải bằng chương trình giải cấu trúc ShelXT [2] (Sheldrick A71) bằng cách áp dụng phân pha nội tại và được làm tinh với gói làm tinh ShelXL [3] bằng cách sử dụng Least Squares minimisation (Sheldrick C71).

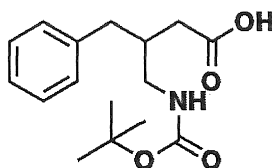
Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(2-clophenyl)butanoic



Hợp chất được điều chế từ axit 2-cloxinamic theo phương pháp học đối với axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic như đã được bộc lộ ở các bước (i) đến (iii) trên đây. Hợp chất này thu được ở dạng dầu không màu.

m/z 314 (MH^+), $C_{15}H_{21}ClNO_4$ khối lượng chính xác 313,11.

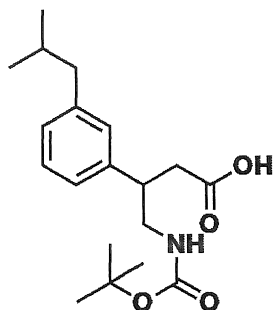
Axit 3-benzyl-4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanoic



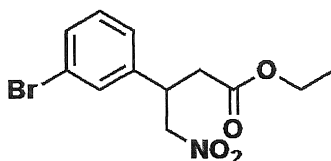
Metyl 3-benzyl-4-nitrobutanoat (*Tetrahedron Asymmetry*, **19**, 2008, 945) được chuyển hóa thành hợp chất nêu ở đề mục này theo phương pháp học đối với axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic như đã được bộc lộ ở các bước (i) đến (iii) trên đây.

m/z 294 (MH^+), $C_{16}H_{23}NO_4$ khối lượng chính xác 293,16.

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoic



(i) Etyl 3-(3-bromophenyl)-4-nitrobutanoat

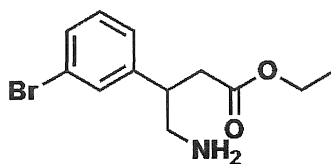


Hỗn hợp gồm natri hydrua (60%) trong dầu khoáng (394,26mg, 9,86mmol) và 1,2-dimetoxyetan (22,5ml) (DME) được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C. Triethylphosphonoaxetat (10,2ml, 51,43mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào và hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 10 phút. Dung dịch chứa 3-brombenzaldehyt (1,0ml, 8,57mmol) trong DME (5ml) được bổ sung nhỏ giọt vào. Hỗn hợp phản ứng này được nâng nhiệt độ lên đến nhiệt độ trong phòng và hồi lưu trong thời gian 3 giờ.

Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và cặn được phân bố giữa hexan và nước. Lốp nước được tách và chiết bằng hexan bổ sung. Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và làm bay hơi đến khô. Cặn được tinh chế trên silic đioxit rửa giải bằng ete dầu mỏ 40 đến 60 và etyl axetat (0% đến 100%). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp và làm bay hơi đến khô, tạo ra etyl (*E*)-3-(3-bromophenyl)prop-2-enoat ở dạng rắn màu trắng (1,44g, 65%). Nó được chuyển hóa thành etyl 3-(3-bromophenyl)-4-nitrobutanoat bằng cách áp dụng các điều kiện nitrat hóa theo quy trình điều chế axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic ở bước (i), như nêu trên, để tạo ra sản phẩm với hiệu suất 60%.

m/z 316, 318 (MH^+). $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{BrNO}_4$ yêu cầu 315,01.

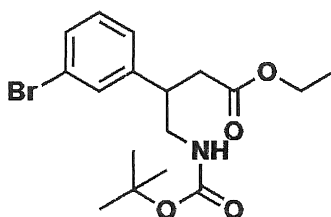
(ii) Ethyl 4-amino-3-(3-bromophenyl)butanoat



Ethyl 3-(3-bromophenyl)-4-nitrobutanoat (1,08g) được chuyển hóa thành ethyl 4-amino-3-(3-bromophenyl)butanoat bằng cách áp dụng các điều kiện nêu trên cho axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic ở bước (ii), để tạo ra sản phẩm với hiệu suất 67%.

m/z 286 và 288 (MH^+), $C_{12}H_{16}BrNO_2$ khối lượng chính xác 285,04.

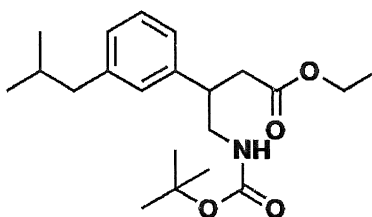
(iii) Ethyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-bromophenyl)butanoat



Ethyl 4-amino-3-(3-bromophenyl)butanoat (655mg) được chuyển hóa thành ethyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-bromophenyl)butanoat trong các điều kiện nêu trên đối với axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic ở bước (iii), để tạo ra sản phẩm với hiệu suất 72%.

m/z 386 và 388 (MH^+), $C_{17}H_{24}BrNO_4$ khối lượng chính xác 385,09.

(iv) Ethyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoat



Hỗn hợp gồm Ruphos (48,3mg, 0,1mmol), kali phosphat triaxit (330mg, 1,55mmol), ethyl 3-(3-bromophenyl)-4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanoat (200mg, 0,52mmol) và axit isobutylboronic (132mg, 1,29mmol) trong toluen (9ml) được loại khí bốn lần

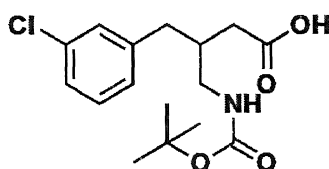
bằng cách tháo/sục nitơ trước khi bổ sung paladi (II) axetat (5,8mg, 0,03mmol) vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 110°C trong thời gian 100 phút. Hỗn hợp phản ứng được giảm nhiệt độ trước khi nó được lọc qua Celite và được để qua đêm trong dung dịch. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và tinh chế trên silic đioxit, rửa giải bằng ete dầu mỏ 40 đến 60 và etyl axetat (0% đến 100%). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp và làm bay hơi đến khô, tạo ra etyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoat ở dạng dầu không màu, (74mg, 39%).

m/z 364 (MH^+). $C_{21}H_{33}NO_4$ khối lượng chính xác 363,24.

(v) hợp chất nêu ở đề mục này

Hỗn hợp gồm etyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoat (74mg, 0,2mmol) và lithi hydroxit (15mg, 0,6mmol) trong 1,4-dioxan (3ml) và nước (3ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và cần được phân bố giữa etyl axetat và nước. Pha hữu cơ được tách và được gạn. Trong nước được axit hóa bằng 1M HCl (dung dịch nước) và chiết bằng etyl axetat (x2). Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng $MgSO_4$, lọc và làm bay hơi đến khô, tạo ra axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)-butanoic ở dạng dầu không màu (65mg). M/z 336 (MH^+) $C_{19}H_{29}NO_4$ khối lượng chính xác 335,21.

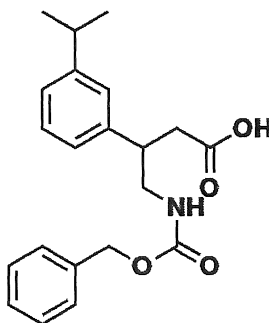
Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic



2-(3-clophenyl) axetalđehyt được chuyển hóa thành etyl 3-(3-clophenyl)-4-nitro-butanoat như được bộc lộ cho axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoic ở bước (i), như nêu trên. Việc khử và bảo vệ như ở bước (ii) và (iii), tiếp theo thủy phân như ở bước (v) nêu trên tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu không màu.

m/z 328 (MH^+). $C_{16}H_{22}ClNO_4$ khối lượng chính xác 327,12.

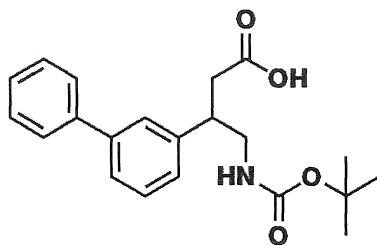
Axit 4-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-(3-isopropylphenyl)butanoic



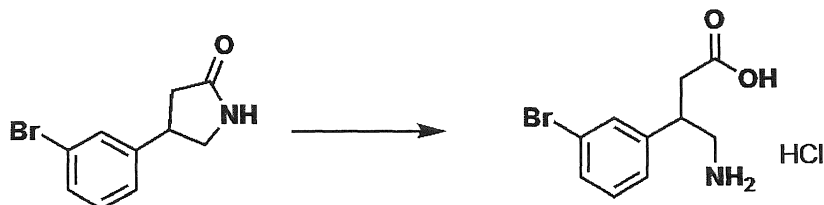
Hỗn hợp gồm etyl 4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoat (1,55g, 6,21mmol) (điều chế được bằng cách áp dụng phương pháp học đối với axit 4-(((*tert*-butoxycarbonyl)-amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoic, các bước (i) đến (ii), như nêu trên), và natri bicacbonat (0,783 g 9,32mmol) được hòa tan trong nước (10ml) và 1,4-đioxan (5ml). Hỗn hợp này được làm nguội trong bể nước đá, và xử lý bằng dung dịch chứa benzyl clorofomat (0,98ml, 6,84mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 10°C trong thời gian 1 giờ, sau đó được nâng nhiệt độ lên đến nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy trong thời gian 20 giờ, hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô, và cặn được phân bố giữa diethyl ete và trong nước 0,5M HCl. Lớp nước được tách và chiết bằng diethyl ete bổ sung. Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô trên $MgSO_4$ khan, và làm bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế trên silic đioxit, rửa giải bằng ete dầu mỏ 40 đến 60 và etyl axetat (0% đến 100%). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và làm bay hơi thành dầu màu vàng nhạt (1,74g, 73%). Etyl este được thủy phân với lithi hydroxit như đã được bộc lộ ở bước (iii) để điều chế axit 4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoic, tiếp theo là sắc ký trên silic đioxit rửa giải bằng ete dầu mỏ 40 đến 60 và etyl axetat (0% đến 100%) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng rắn màu trắng (60%).

m/z 356 (MH^+). $C_{21}H_{25}NO_4$ khối lượng chính xác: 355,18.

Axit 4-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-3-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)butanoic



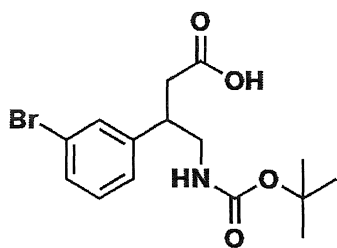
(i) hydroclorua của axit 4-amino-3-(3-bromophenyl)butanoic



Hỗn hợp gồm 4-(3-bromophenyl)pyrrolidin-2-on (1,0g, 4,16mmol) và dung dịch nước HCl 6M (15,0ml, 90mmol) được đun nóng ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô, làm bay hơi đồng thời với nước, tiếp theo là etyl axetat và tiếp đó là diclometan (DCM), tạo ra sản phẩm mong muốn ở dạng rắn màu trắng, với hiệu suất định lượng giả định.

m/z 258 và 260 (MH^+) $C_{10}H_{12}BrNO_2$ khối lượng chính xác: 257,01.

(ii) axit 3-(3-bromophenyl)-4-(tert-butoxycarbonylamino)butanoic



Hỗn hợp gồm hydroclorua của axit 4-amino-3-(3-bromophenyl)butanoic (1,31g, 4,45mmol), *tert*-butoxycarbonyl *tert*-butyl cacbonat (Boc-O-Boc, 1,41g, 6,45mmol), 1,4-dioxan (8ml) và dung dịch nước NaOH 1M (8,0ml, 8mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 64 giờ. Hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô. Cặn được hòa tan trong nước, được trung hòa bằng dung dịch nước HCl 1M và chiết bằng etyl axetat ($\times 2$). Các chiết phẩm hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng $MgSO_4$, lọc và

làm bay hơi đến khô, tạo ra sản phẩm mong muốn (1,60g, 86%) ở dạng dầu không màu.

m/z 357,5 và 359,4 (MH^+). $C_{15}H_{20}BrNO_4$ khối lượng chính xác: 357,06.

(iii) Hợp chất nêu ở đề mục này

Hỗn hợp gồm axit 3-(3-bromophenyl)-4-(*tert*-butoxycarbonylamino)butanoic (2,69g, 7,51mmol), axit phenylboic (2,3g, 18,8mmol), paladi (II) axetat (84mg, 0,38mmol), Xphos (716mg, 1,5mmol) và kali phosphat triaxit (4781,9mg, 22,53mmol) trong 1,4-dioxan (130ml) được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong khí quyển nitơ trong thời gian 2 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp này được để giảm nhiệt độ đến nhiệt độ trong phòng, lọc qua Celite, rửa bằng etyl axetat và làm bay hơi đến khô. Cặn được tinh chế trên silic đioxit, rửa giải bằng ete dầu mỏ và etyl axetat (0% đến 100%). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp và làm bay hơi đến khô, tạo ra sản phẩm mong muốn, 1,44g, ở dạng rắn màu xám (hiệu suất 42%).

m/z 355 (M^+), quan sát được. $C_{21}H_{25}NO_4$ khối lượng chính xác: 355,18.

(iv) tách không đối xứng

Axit 4-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)butanoic (1,44g) được hòa tan đến 30mg/ml trong MeOH và tiếp đó được tinh chế theo phương pháp SFC, bằng cách áp dụng phương pháp dưới đây. Tiếp đó, các phân đoạn kết hợp của từng chất đồng phân 1 (chạy nhanh) và chất đồng phân 2 (chạy chậm) được làm bay hơi tới gần khô bằng cách sử dụng thiết bị làm bay hơi kiểu quay, được chuyển vào các bình cuối với DCM, mà được loại bỏ ở điều kiện dòng khí nén ở nhiệt độ 40°C trước khi được bảo quản trong lọ chân không ở nhiệt độ 40°C và áp suất 5mbar đến khối lượng không đổi.

Chất đồng phân 1 axit 4-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-butanoic. Chất rắn màu trắng 523mg. Thời gian lưu: (các điều kiện phân tích 3) 2,70 phút. *Ee* 99,8%.

Chất đồng phân 2 axit 4-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-butanoic. Chất rắn màu trắng 537mg. Thời gian lưu: (các điều kiện phân tích 3) 3,46 phút. *Ee* 99,8%.

Các điều kiện tinh chế 3:

Berger Multigram II SFC

Chi tiết về cột: Lux A1 (Phenomenex, 21,2mm × 250mm, 5μm)

Nhiệt độ của cột: 40°C

Lưu tốc: 50ml/phút

BPR: 100 BarG

Bước sóng phát hiện: 215nm

Thể tích nạp: 1,000μl (30mg)

Các điều kiện đẳng dung môi 15:85 EtOH:CO₂ (0,2% thể tích NH₃)

Các điều kiện phân tích 3:

Waters UPC2

Chi tiết về cột: Amy-C (YMC Gmbh, 4,6mm × 250mm, 5μm)

Nhiệt độ của cột: 40°C

Lưu tốc: 4ml/phút

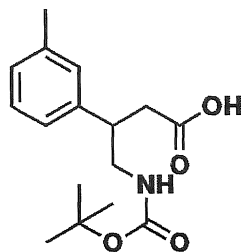
Bước sóng phát hiện: 210nm đến 400nm

Thể tích nạp: 1,0μl

BPR: 125 BarG

Các điều kiện đẳng dung môi 15:85 EtOH:CO₂ (0,2% thể tích NH₃)

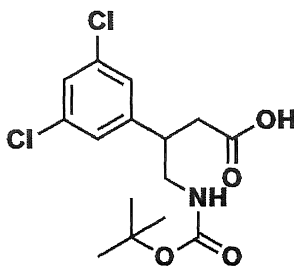
Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-methylphenyl)butanoic



4-(3-methylphenyl)pyrrolidin-2-on được chuyển hóa thành hợp chất nêu ở đề mục này bằng cách áp dụng phương pháp học nêu trên để điều chế axit 4-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)butanoic ở các bước (i) đến (ii). Hợp chất nêu ở đề mục này thu được ở dạng dầu không màu.

m/z 294 (MH^+). $C_{16}H_{23}NO_4$ khối lượng chính xác 293,16.

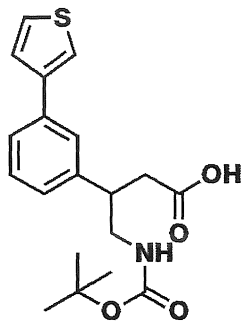
Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3,5-điclophenyl)butanoic



3,5-điclobenzaldehyt được chuyển hóa thành hợp chất nêu ở đề mục này bằng cách áp dụng phương pháp học nêu trên để điều chế axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-isobutylphenyl)butanoic trong các bước (i) thông qua (iii). Etyl este được thủy phân như được bộc lộ cho bước (v) theo quy trình điều chế axit (3-isobutylphenyl)butanoic, để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu không màu.

m/z 348. (MH^+). $C_{15}H_{19}Cl_2NO_4$ khối lượng chính xác 347,07.

Axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-(thiophen-3-yl)phenyl)butanoic



Etyl 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-bromophenyl)butanoat (207mg, 0,54mmol) được cho phản ứng với axit 3-thienylboronic bằng cách áp dụng phương pháp học nêu trên để điều chế axit (3-isobutylphenyl)butanoic ở bước (iv). Sản phẩm được thủy phân như được bộc lộ ở bước (v) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu không màu.

m/z 362 (MH^+). $C_{19}H_{23}NO_4S$ khối lượng chính xác 361,13.

Chất trung gian polymyxin nonapeptit và các hợp chất thành phẩm

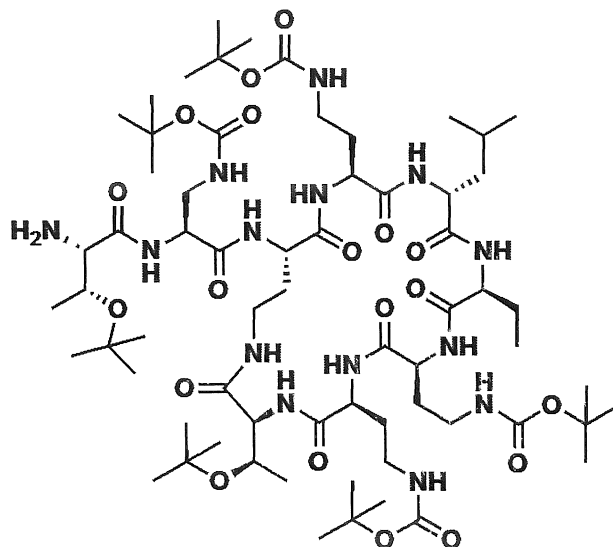
Chất trung gian 1: H-Thr(O-*t*Bu)-Dap(BOC)-xyclo[Dab-Dab(BOC)-DPhe-Leu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr]

Đã được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976 là chất trung gian 11 - Tetra-(N-Boc)-L-Thr(O-*t*Bu)-L-Dap-polymyxin B heptapeptit.

Chất trung gian 2: H-Thr(O-*t*Bu)- Dap(BOC)-xyclo[Dab-Dab(BOC)-Leu-Leu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr]

Đã được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976 là chất trung gian 14 - Tetra-(N-Boc)-L-Thr(O-*t*Bu)-L-Dap-polymyxin E heptapeptit.

Chất trung gian 3: H-Thr(O-^tBu)-Dap(BOC)-xyclo[Dab-Dab(BOC)-Dleu-L-Abu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr(O-^tBu)]



(i) CBZ-Thr(O-^tBu)-Dap(Boc)-Dab-Dab(Boc)-Dleu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-^tBu)-OH

Peptit tuyến tính CBZ-Thr(O-^tBu)-Dap(Boc)-Dab(ivDde)-Dab(Boc)-Dleu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-^tBu) được điều chế trên nhựa theo quy trình tổng hợp peptit pha rắn bằng cách áp dụng hóa học Fmoc, bằng cách áp dụng phương pháp học của phương pháp chung 3 nêu trên. Trình tự bắt đầu với nhựa clotrityl clorua (CTC) (2,0g), đã được nạp Fmoc-Thr(^tBu)-OH ở mức tải nạp 0,75mmol/g. Peptit liên kết nhựa (3,93g, tương ứng với 1,5mmol) được đặt trong bình nón loại dung tích 500ml và được xử lý bằng 4% hydrazin trong DMF (100ml). Hỗn hợp này được đặt trên máy lắc và được lắc nhẹ trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp này được rót vào cột nung, sau đó được rửa bằng DMF (3 × 100ml). Khí nén được áp dụng để loại bỏ lượng vết cuối cùng của DMF. Tiếp đó, quy trình này được lặp lại với THF và với DCM.

Sau đó, nhựa được xử lý bằng DCM: hexafloisopropanol theo tỷ lệ 4:1 (100ml) để phân cắt peptit ra khỏi nhựa. Sau thời gian 30 phút, cột được tháo kiệt và quy trình này được lặp lại. Tiếp đó, nhựa được rửa ba lần bằng DCM (100ml). Các nước rửa kết hợp và các nước rửa được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và làm khô trong chân không qua đêm. Thu được 724mg chất rắn màu trắng (2,35g, định lượng).

m/z 1552, C₇₃H₁₂₆N₁₄O₂₂ yêu cầu 1550,92.

(ii) CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-xyclo[Dab-Dab(Boc)-DLeu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)]

CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-Dab-Dab(Boc)-DLeu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)-OH thô (724mg, 0,466mmol) được hòa tan trong DMF (75ml), xử lý bằng diisopropyletylamin (DIPEA) (361mg 0,49ml, 2,8mmol), tiếp đó được làm nguội trong bể nước đá. Diphenyl phosphoryl azit (256mg, 0,2ml, 0,93mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào, sau đó hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 2 giờ và làm lạnh bằng bể nước đá. Bể nước đá được loại bỏ và dung dịch được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ nữa. Dung môi được làm bay hơi và cặn được dùng trên cột SiO₂ ISCO (40g) và được sắc ký với 0% đến 10% MeOH trong DCM. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và làm bay hơi thành bột màu trắng. Thu được 418mg (58%).

m/z 1534, C₇₃H₁₂₄N₁₄O₂₁ yêu cầu 1532,91.

(iii) Hợp chất nêu ở đề mục này

CBZ-Thr(O-tBu)-Dap(Boc)-xyclo[Dab-Dab(Boc)-DLeu-L-Abu-Dab(Boc)-Dab(Boc)-Thr(O-tBu)] (531mg, 0,346mmol) được hòa tan trong metanol (50ml) và xử lý bằng amoni format (545mg, 8,6mmol) và 10% Pd/C (173mg). Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, hỗn hợp phản ứng này được lọc qua Celite, và cặn được rửa bằng MeOH. Dung môi được làm bay hơi và cặn được hòa tan trong EtOAc, chứa 10% MeOH, rửa bằng nước × 3 và làm khô bằng magie sulfat. Dung môi được làm bay hơi để lại chất rắn màu trắng. Để loại bỏ lượng vết bất kỳ của format, chất rắn được hòa tan trong metanol (160ml) và được lọc với nhựa Ambersep 900 (12ml) trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp này được lọc và làm bay hơi đến khô, để thu được 464mg chất rắn màu trắng (96%).

m/z 1400, $C_{65}H_{118}N_{14}O_{19}$ yêu cầu 1398,87.

Các phương pháp chung

Toàn bộ quy trình tổng hợp các chất dẫn xuất của polymyxin nonapeptit được thực hiện như sau.

Peptit mạch thẳng có bảo vệ trực giao nhóm γ -amino của gốc Dab tham gia vào việc đóng vòng được dựng trên nhựa, với đầu tận cùng C axit amin (thường là Thr) đã được gắn vào pha rắn. Sau khi khử bảo vệ một phần đối với Dab tham gia vào việc đóng vòng (gốc 4 theo hệ đánh số polymyxin), tiếp theo loại bỏ khỏi nhựa, các peptit mạch thẳng thu được được đóng vòng bên ngoài nhựa. Hai phương pháp chung được áp dụng, nêu dưới đây.

Phương pháp chung 1: toàn bộ quy trình tổng hợp bằng cách áp dụng việc bảo vệ nhóm amin bằng CBZ

Quy trình tổng hợp peptit mạch thẳng được bảo vệ (các gốc 2 đến 10 và nhóm ở đầu tận cùng N) được thực hiện trên thiết bị tổng hợp peptit tự động bằng cách áp dụng hóa học peptit pha rắn Fmoc chuẩn. Đặc biệt, quy trình tổng hợp được thực hiện bằng cách sử dụng nhựa Fmoc-Thr(tBu)-PEG-PS làm nguyên liệu ban đầu. Việc ngẫu hợp các axit amin Fmoc và bảo vệ bằng CBZ trên các nhóm amin ở đầu tận cùng được thực hiện bằng cách sử dụng 5 đương lượng mol (tương ứng với tải nạp nhựa) axit amin Fmoc và HATU trong DMF bằng cách hoạt hóa tại chỗ, bằng cách sử dụng 10 đương lượng mol DIPEA. Việc khử bảo vệ Fmoc được thực hiện bằng cách sử dụng 20% piperidin trong dimethylformamid. BOC được dùng làm nhóm bảo vệ trực giao trên Dab tham gia vào việc đóng vòng.

Peptit liên kết nhựa mạch thẳng được xử lý bằng TFA/TIS/ H_2O (96/2/2v/v) trong thời gian 2 giờ. Để lộ gốc Dab tham gia vào việc đóng vòng, và để phân cắt peptit ra khỏi nhựa. Nguyên liệu này được đóng vòng bằng cách sử dụng PyBop/HOBt/NMM (4/4/8

đương lượng mol tương ứng với tải nạp ban đầu) trong DMF trong thời gian 3 giờ. Nguyên liệu thô được làm bay hơi một phần, taken up axetonitril/nước và làm đông khô nhanh qua đêm. CBZ các nhóm sau đó được loại ra bằng cách sử dụng 10% Pd/C trong axit axetic/MeOH/nước (theo tỷ lệ thể tích 5/4/1).

Sản phẩm thô được tinh chế và các chất đồng phân không đối quang được tách theo phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) điều chế (bảng 3). Lưu ý rằng, các điều kiện cụ thể được tối ưu hóa cho từng cặp chất đồng phân không đối quang.

Phương pháp chung 2: toàn bộ quy trình tổng hợp bằng cách áp dụng cách bảo vệ nhóm amin bằng Boc

Quy trình tổng hợp peptit mạch thẳng được bảo vệ (các gốc 2 đến 10 và nhóm ở đầu tận cùng N) được thực hiện trên thiết bị tổng hợp peptit tự động bằng cách áp dụng hóa học peptit pha rắn Fmoc chuẩn. Đặc biệt, quy trình tổng hợp được thực hiện bằng cách sử dụng nhựa clotrityl clorua (CTC), đã được nạp Fmoc-Thr(tBu)-OH (nạp ~0,78mmol/g), trên quy mô 0,05mmol đến 0,1mmol. Việc ngẫu hợp các axit amin Fmoc được thực hiện bằng cách sử dụng 5 đương lượng mol (tương ứng với tải nạp nhựa) axit amin Fmoc và HATU trong DMF bằng cách hoạt hóa tại chỗ, bằng cách sử dụng 10 đương lượng mol DIPEA. Việc khử bảo vệ Fmoc được thực hiện bằng cách sử dụng 20% piperidin trong dimetylformamit. Nhóm bảo vệ ivDde được dùng làm bảo vệ trực giao trên gốc Dab tham gia vào việc đóng vòng.

Để loại bỏ nhóm ivDde, peptit mạch thẳng được xử lý bằng 3% hydrazin trong DMF (100ml trong 100μmol, được lặp lại hai lần), tiếp theo rửa bằng DMF × 3, EtOH × 3 và diethyl ete × 3. Tiếp đó, peptit mạch thẳng đã được khử bảo vệ một phần được phân cắt ra khỏi nhựa bằng cách rửa nhựa bằng 20% HFIP trong DCM. Cặn thu được hòa tan trong 50% axetonitril/nước và sấy khô ở nhiệt độ thấp qua đêm. Peptit mạch thẳng đã được bảo vệ được hòa tan trong DMF (20ml/mmol nhựa) được đóng vòng với DPPA, (3 đương lượng mol tương ứng với tải nạp của nhựa) và DIPEA (6 đương lượng mol tương ứng với tải nạp của nhựa). Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ

trong phòng qua đêm. Nhóm Boc được loại bỏ bằng TFA, và peptit thô được làm khô lạnh.

Sản phẩm thô được tinh chế và các chất đồng phân không đối quang được tách theo phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) điều chế bằng cách áp dụng các điều kiện sắc ký lỏng cao áp điều chế 4 bộc lộ dưới đây. Lưu ý rằng, các điều kiện cụ thể được tối ưu hóa cho từng cặp chất đồng phân không đối quang.

Phương pháp chung 3: Ngẫu hợp axit vào nonapeptit và tách

Phương pháp liên hợp đầu tận cùng N của nonapeptit vào axit amin được bộc lộ dưới đây liên quan đến các hợp chất làm ví dụ 5 và 6. Các điều kiện này bộc lộ dễ được làm thích ứng cho tổ hợp nonapeptit và axit amin khác.

Bước 1

H-Thr(O-^tBu)-Dap(BOC)-xyclo[Dab-Dab(BOC)-DPhe-Leu-Dab(BOC)-Dab(BOC)-Thr]. (Chất trung gian 1) (0,07mmol) được hòa tan trong điclotetan (4ml), và xử lý bằng axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (1,5 đương lượng so với cơ chất polymyxin), *N,N*-điisopropyletylamin (3,0 đương lượng), tiếp theo là HATU (2,0 đương lượng). Sau thời gian 16 giờ, sự hoàn thành của phản ứng được xác nhận theo phương pháp LCMS và hỗn hợp phản ứng này được làm bay hơi đến khô. Nước (khoảng 10ml) được bổ sung vào và hỗn hợp này được nghiền, tiếp đó được khuấy kỹ trong thời gian 1 giờ. Chất kết tủa thu được gom bằng cách lọc và làm khô trong chân không qua đêm.

Bước 2

Chất dẫn xuất được bảo vệ bằng Boc thu được theo bước 1 được hòa tan trong điclotetan (3ml) và xử lý bằng TFA (1ml). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi LCMS xác nhận sự hoàn thành của bước khử bảo

vệ. Dung môi được làm bay hơi và cặn được sắc ký theo phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) điều chế bằng cách áp dụng các điều kiện sắc ký lỏng cao áp điều chế 4 nhất định để tách các chất đồng phân không đối quang. Các phân đoạn chứa chất đồng phân không đối quang ra sớm được kết hợp, làm bay hơi đến thể tích thấp, và làm đông khô nhanh để tạo ra hợp chất theo Ví dụ 5 ở dạng muối TFA. Các phân đoạn chứa chất đồng phân không đối quang ra muộn được kết hợp, làm bay hơi đến thể tích thấp, và làm đông khô nhanh để tạo ra hợp chất theo Ví dụ 6 ở dạng muối TFA.

Lưu ý rằng các điều kiện cụ thể được tối ưu hóa cho từng cặp chất đồng phân không đối quang.

Các điều kiện sắc ký lỏng cao áp điều chế 4:

Cột: Waters SunFire C18 OBD 5 μ m $\times$ 19 mm $\times$ 150mm

Pha động: A: nước/axetonitril 90/10, thể tích, 0,15% TFA.

B: axetonitril/nước 90/10, thể tích, 0,15% TFA

Lưu tốc: 10ml/phút

Gradient:	Thời gian (phút)	% pha động A
	0	100%
	3	100%
	8	85%
	13,5	85%
	15	75%
	18	0%
	23	100%
	25	100%

Phát hiện: 210nm

Điều kiện sắc ký lỏng cao áp phân tích 4:

Cột: Phenomenex Hyperclone C18 BDS 5 μ m $\times$ 4,6mm $\times$ 150mm

Pha động: A: nước/axetonitril 90/10, thể tích, 0,15% TFA.

B: axetonitril/nước 90/10, thể tích, 0,15% TFA

Lưu tốc:	1ml/phút	
Gradient:	Thời gian (phút)	% pha động A
	0	100%
	20	40%
	21	0%
	23	0%
	23,5	100
	25	100
Phát hiện:	210, 254 nm	
Thể tích nạp:	20 μ l	

Phương pháp chung 3b: Ngẫu hợp từng chất đồng phân đối ảnh vào nonapeptit

Các axit amin tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh được liên hợp với đầu tận cùng N của các hợp chất nonapeptit bằng cách sử dụng cùng các điều kiện như nêu trên ở phương pháp chung 3a đối với các axit amin hỗn hợp về mặt đồng phân đối ảnh.

Hợp chất làm ví dụ 5 và 6

Ngẫu hợp axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (chất đồng phân 2) (thời gian lưu 3,46 phút, phương pháp phân tích 1, hoặc 3,264 phút, phương pháp phân tích 2) trong các điều kiện của phương pháp chung 3a, tiếp theo là khử bảo vệ tạo ra hợp chất theo ví dụ 5. Hợp chất theo ví dụ (5) được chỉ định là hóa học lập thể (S) theo kết quả xác định bằng tia X cấu hình tuyệt đối đối với axit 4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic thu được từ axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)-butanoic (Chất đồng phân 2).

Việc ngẫu hợp axit 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (chất đồng phân 1, thời gian lưu 2,89 phút, phương pháp phân tích 1 hoặc 2,796 phút, phương pháp phân tích 2) trong các điều kiện của phương pháp chung 3a, tiếp theo là khử bảo vệ tạo ra hợp chất theo ví dụ 6. Hợp chất theo ví dụ (6) được chỉ định là hóa

học lập thể (R) theo kết quả xác định bằng tia X cấu hình tuyệt đối đối với axit 4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic thu được từ axit 4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(3-clophenyl)butanoic (chất đồng phân 1).

Phương pháp chung 4: chuyển hóa thành muối axetat

Dạng axetat của nhựa AG1-X2 (do Bio-Rad Laboratories Ltd cung cấp) 200-4-mesh, được tái tạo bằng cách rửa bằng dung dịch nước axetic 10%, tiếp theo là dung dịch nước axit axetic 1%, và đặt trong khay thủy tinh. Dung dịch chứa hợp chất này ở dạng muối TFA trong nước được đưa vào cột, bằng cách sử dụng tải nạp 30g nhựa cho 1g muối TFA, và cột được để nhỏ giọt theo trọng lực, rửa giải bằng nước. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và làm đông khô nhanh thành chất rắn màu trắng.

Việc phân tích các hợp chất cuối cùng được thực hiện theo phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) bằng cách áp dụng các điều kiện nêu trên (điều kiện sắc ký lỏng cao áp phân tích).

Dữ liệu phân tích làm ví dụ cho các hợp chất theo ví dụ 5 và ví dụ 6, như các muối axetat được nêu dưới đây.

Ví dụ 5: (chất đồng phân nhanh hơn) ^1H NMR của muối axetat (400MHz, D_2O): δ (ppm) 0,70 (3 H, d, J 6,1 Hz), 0,77 (3 H, d, J 6,3 Hz), 0,78-0,90 (1H, m), 1,13 (3H, d, J 6,3 Hz), 1,17 (3H, d, J 6,4Hz), 1,36-1,52 (2H, m), 1,75-2,06 (17 H, m, bao gồm 1,91, s, OAc), 2,10-2,30 (4H, m), 2,72-2,91 (4H, m), 3,02-3,49 (14H, m), 4,12-4,32 (8 H, m), 4,48 (1 H, dd, J 5,6, 9,0 Hz), 4,54-4,60 (1H, m), 4,63-4,68 (1H, m), 7,25-7,41(9H, m). M/z 1145 $[\text{MH}^+]$, 573 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$.

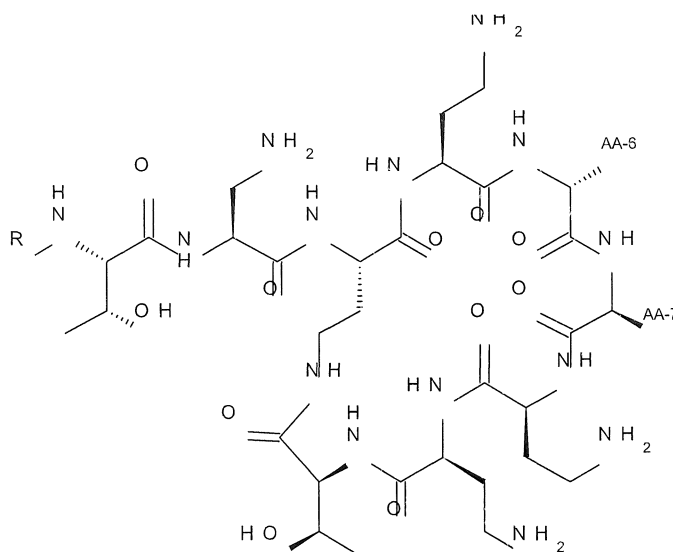
Ví dụ 6: (chất đồng phân chậm hơn) ^1H NMR của muối axetat (400MHz, D_2O): δ (ppm) 0,60- 0,67 (6 H, m), 0,69 – 0,84 (4 H, m), 1,16 (3H, d, J 6,4Hz), 1,33-1,50 (2 H, m), 1,76-2,04 (19 H, m, bao gồm 1,88, s, OAc), 2,06-2,26 (4 H, m), 2,67-2,86 (4 H, m), 3,00-3,46 (14 H, m), 3,98-4,04 (1 H, m) 4,14-4,30 (7H, m), 4,45 (1 H, dd, J

5,6, 9,0 Hz), 4,54 (1 H, xuất hiện như t, J 8,3 Hz), 4,72 (1 H, dd, J 5,0, 8,9 Hz), 7,20 đến 7,40 (9 H, m). m/z 1145 $[MH^+]$, 573 $[M+2H]^{2+}$.

Theo tất cả các ví dụ, các chất đồng phân không đối quang được chỉ định trên cơ sở của sắc ký lỏng cao áp thời gian lưu (các chất đồng phân rửa giải nhanh và chậm) cùng với độ dịch chuyển hóa học của gốc Thr mà di chuyển từ 1,13ppm ở chất đồng phân rửa giải nhanh, đến khoảng 0,65ppm ở chất đồng phân rửa giải chậm.

Các hợp chất làm ví dụ

Bảng 1 liệt kê các hợp chất làm ví dụ theo sáng chế. Chúng là các hợp chất có cấu trúc chung được thể hiện dưới đây:



Nhóm R tương ứng với $-X-R^{15}$ trong các hợp chất theo sáng chế, và nhóm này được thể hiện trong bảng cùng với các gốc axit amin ở vị trí 6 và 7 (lần lượt AA-6 và AA-7, bằng cách áp dụng hệ đánh số polymyxin), mà lần lượt tương ứng với các nhóm $-R^1$ và $-R^2$, khi được xem xét cùng với nhóm carbonyl và nitơ alpha so với cacbon mà chúng gắn vào.

Ở các hợp chất làm ví dụ này, nhóm $-R^3$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào là L-Thr, $-R^4$, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là L-Dap (do đó $-R^4$ là $-CH_2N-$

H₂), và -R⁸, cùng với nhóm carbonyl và nitơ ở vị trí alpha so với cacbon mà nó được gắn vào, là L-Thr (do đó -R⁸ là metyl).

Hóa học lập thể tuyệt đối ở mạch bên -R được quy bằng cách so sánh với các hợp chất theo ví dụ 5 và ví dụ 6 mà tương quan với nguyên liệu có hóa học lập thể tuyệt đối đã biết.

Theo các ví dụ 1 đến 6 và 15 đến 33, việc xác định được thực hiện bằng cách so sánh thời gian lưu tương đối và phổ ¹H NMR của các chất đồng phân không đối quang (ví dụ, tính đến cả độ dịch chuyển hóa học của gốc Thr ở vị trí 2).

Theo các ví dụ 7 đến 14, việc xác định được thực hiện bằng cách so sánh thời gian lưu tương đối theo sắc ký lỏng cao áp của các chất đồng phân không đối quang.

Bảng này cung cấp thời gian lưu theo sắc ký lỏng cao áp của các hợp chất làm ví dụ. Các điều kiện sắc ký lỏng cao áp mà được áp dụng cho phân tích được nêu dưới đây.

Cột: Phenomenex Hyperclone BDS C18, 4,6mm × 150mm, 5μm

Lưu tốc: 1ml/phút

Chất rửa giải:

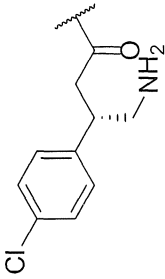
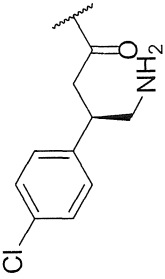
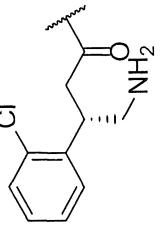
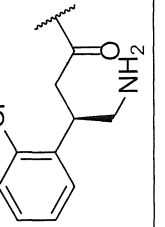
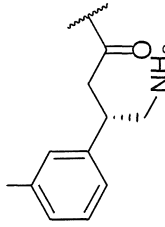
A = 10% AcN/90% Nước/0,15% TFA

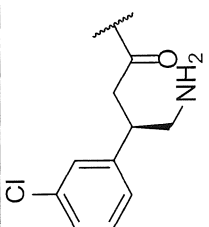
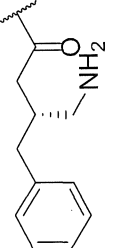
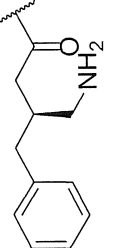
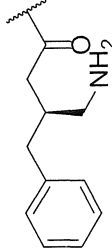
B = 90% AcN/10% nước/0,15% TFA

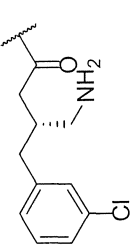
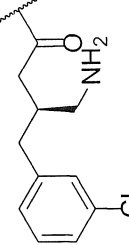
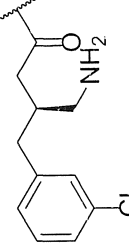
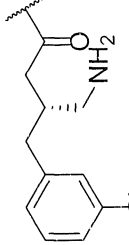
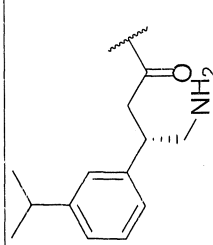
Gradient:	phút	% A	% B
	0	100	0
	20	40	60
	21	0	100
	23	0	100
	23,5	100	0
	25	100	0

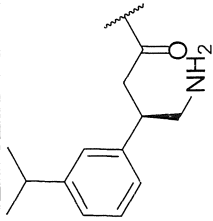
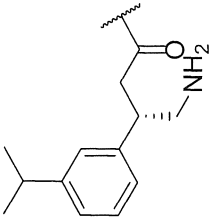
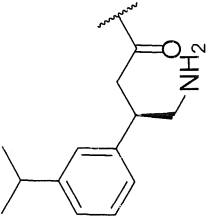
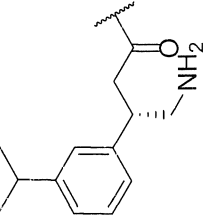
Phát hiện: 210, 254 nm

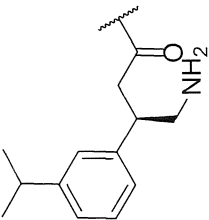
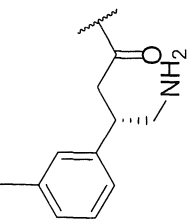
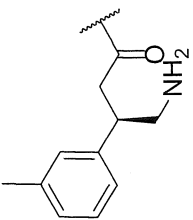
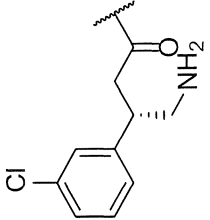
Bảng 1 - Các hợp chất làm ví dụ

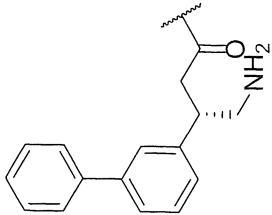
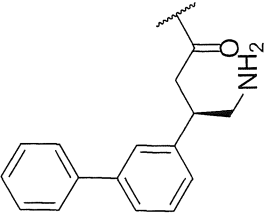
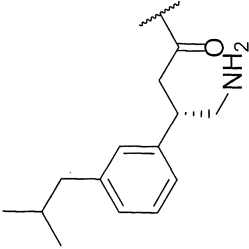
Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
1	(S)-4-amino-3-(4-clophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a	C ₅₂ H ₈₂ Cl N ₁₅ O ₁₂	1143,6	9,6	1145 [MH+] 573 [M+2H] ²⁺
2	(R)-4-amino-3-(4-clophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a	C ₅₂ H ₈₂ Cl N ₁₅ O ₁₂	1143,6	9,7	1145 [MH+] 573 [M+2H] ²⁺
3	(S)-4-amino-3-(2-clophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a	C ₅₂ H ₈₂ Cl N ₁₅ O ₁₂	1143,6	9,1	1145 [MH+] 573 [M+2H] ²⁺
4	(R)-4-amino-3-(2-clophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a	C ₅₂ H ₈₂ Cl N ₁₅ O ₁₂	1143,6	9,4	1145 [MH+] 573 [M+2H] ²⁺
5	(S)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a, 3b	C ₅₂ H ₈₂ Cl N ₁₅ O ₁₂	1143,6	9,6	1145 [MH+] 573 [M+2H] ²⁺

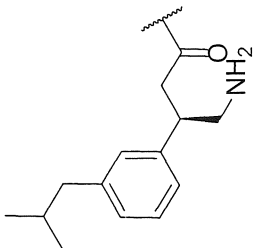
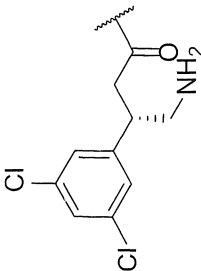
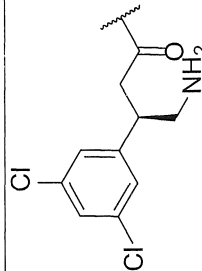
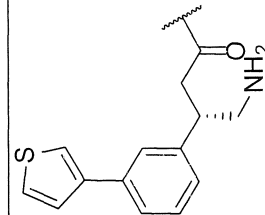
Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
6	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-clophenyl)-butanoyl-Thr-Dap-xyclo-[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a, 3b	C52H82ClN15O12	1143,6	9,8	1145 [MH+] 573 [M+2H] ²⁺
7	(<i>R</i>)-4-amino-3-benzylbutanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 1		Leu	Leu	3a	C50H87N15O12	1089,7	8,8	1091 [MH+] 546 [M+2H] ²⁺
8	(<i>S</i>)-4-amino-3-benzylbutanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 2		Leu	Leu	3a	C50H87N15O12	1089,7	9,1	1091 [MH+] 546 [M+2H] ²⁺
9	(<i>R</i>)-4-amino-3-benzylbutanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 1		Phe	Leu	3a	C53H85N15O12	1123,7	10,7	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
10	(<i>S</i>)-4-amino-3-benzylbutanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 2		Phe	Leu	3a	C53H85N15O12	1123,7	11,0	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺

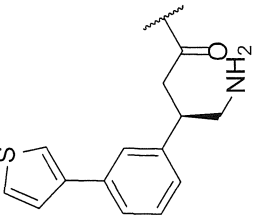
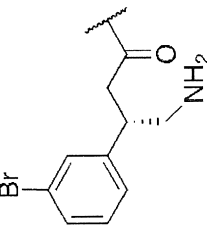
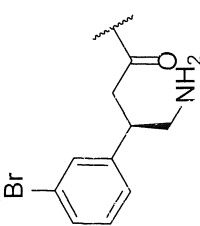
Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
11	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-clobenzyl)-butanoyl-Thr-Dap-xyclo-[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 1		Phe	Leu	3a	C53H84ClN15O12	1157,6	11,0	1159 [MH+] 580 [M+2H] ²⁺
12	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-clobenzyl)-butanoyl-Thr-Dap-xyclo-[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 2		Phe	Leu	3a	C53H84ClN15O12	1157,6	11,4	1159 [MH+] 580 [M+2H] ²⁺
13	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-clobenzyl)-butanoyl-Thr-Dap-xyclo-[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 2		Leu	Leu	3a	C50H86ClN15O12	1123,6	10,4	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
14	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-clobenzyl)-butanoyl-Thr-Dap-xyclo-[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]. Chất đồng phân 1		Leu	Leu	3a	C50H86ClN15O12	1123,6	9,9	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
15	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Leu	3a	C52H91N15O12	1117,7	10,7	1119 [MH+] 560 [M+2H] ²⁺

Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
16	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Leu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Leu	3a	C52H91N1 5O12	1117,7	10,9	1119 [MH+] 560 [M+2H] ²⁺
17	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Abu	1	C53H85N1 5O12	1123,7	9,2	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
18	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Abu	1	C53H85N1 5O12	1123,7	9,4	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
19	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Thr-Dab-Dab-Thr]		Leu	Thr	1	C50H87N1 5O13	1105,7	7,6	1107 [MH+] 554 [M+2H] ²⁺

Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
20	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-isopropylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Thr-Dab-Dab-Thr]		Leu	Thr	1	C50H87N1 5O13	1105,7	7,8	1107 [MH+] 554 [M+2H] ²⁺
21	(<i>S</i>)-4-amino-3-(<i>m</i> -tolyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a	C53H85N1 5O12	1123,7	8,7	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
22	(<i>R</i>)-4-amino-3-(<i>m</i> -tolyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DPhe-Leu-Dab-Dab-Thr]		Phe	Leu	3a	C53H85N1 5O12	1123,7	8,9	1125 [MH+] 563 [M+2H] ²⁺
23	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	2	C47H80Cl N15O12	1081,6	9,2	1083 [MH+] 542 [M+2H] ²⁺

Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
24	(S)-3-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-4-aminobutanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3b	C ₅₃ H ₈₅ N ₁ 5O ₁₂	1123,7	8,5	1125 [MH ⁺] 563 [M+2H] ²⁺
25	(R)-3-([1,1'-biphenyl]-3-yl)-4-aminobutanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3b	C ₅₃ H ₈₅ N ₁ 5O ₁₂	1123,7	8,7	1125 [MH ⁺] 563 [M+2H] ²⁺
26	(S)-4-amino-3-(3-isobutylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₅₁ H ₈₉ N ₁ 5O ₁₂	1103,7	8,9	1105 [MH ⁺] 553 [M+2H] ²⁺

Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
27	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-isobutylphenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₅₁ H ₈₉ N ₁ O ₁₂	1103,7	9,1	1105 [MH ⁺] 553 [M+2H] ²⁺
28	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3,5-điclophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DnorLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Norleu	Abu	2	C ₄₇ H ₇₉ Cl 2N ₁ O ₁₂	1115,5	8,0	1117 [MH ⁺] 559 [M+2H] ²⁺
29	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3,5-điclophenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DnorLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Norleu	Abu	2	C ₄₇ H ₇₉ Cl 2N ₁ O ₁₂	1115,5	8,1	1117 [MH ⁺] 559 [M+2H] ²⁺
30	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-(thiophen-3-yl)phenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₅₁ H ₈₃ N ₁ O ₁₂ S	1129,6	8,4	1131 [MH ⁺] 566 [M+2H] ²⁺

Ví dụ	Tên	-R	AA-6	AA-7	Phương pháp chung	Công thức	Khối lượng	t_R theo HPLC (phút)	m/z
31	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-(thiophen-3-yl)phenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₅₁ H ₈₃ N ₁ O ₁₂ S	1129,6	8,5	566 [M+2H] ²⁺
32	(<i>S</i>)-4-amino-3-(3-bromo-phenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr]		Leu	Abu	3a	C ₄₇ H ₈₀ Br N ₁₅ O ₁₂	1125,5	7,1	1128 [MH+] 564 [M+2H] ²⁺
33	(<i>R</i>)-4-amino-3-(3-bromo-phenyl)butanoyl-Thr-Dap-xyclo[Dab-Dab-DLeu-Abu-Dab-Dab-Thr].		Leu	Abu	3a	C ₄₇ H ₈₀ Br N ₁₅ O ₁₂	1125,5	7,5	1128 [MH+] 564 [M+2H] ²⁺

Kết quả sinh học

Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm, và các kết quả được so sánh với các ví dụ so sánh, mà bao gồm các hợp chất đã được thông báo trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Xác định MIC

Giống cây truyền được chuẩn bị bằng cách tạo huyền phù trực tiếp chứa các khuẩn lạc đã phân lập được (được chọn từ đĩa aga Mueller-Hinton đã nuôi được 18 giờ đến 24 giờ) được điều chỉnh đến chuẩn McFarland 0,5. Thử nghiệm MIC được thực hiện bằng cách pha loãng kháng sinh theo bậc hai lần trong nước cái Mueller-Hinton đã điều chỉnh bằng cation trong các đĩa vi chuẩn độ vô trùng loại 96 lỗ với tổng thể tích 170µl (150µl nước cái chứa tác nhân diệt vi khuẩn, 20µl giống cây truyền). Các thử nghiệm này được thực hiện lặp lại. Các đĩa được ủ trong điều kiện có khí không lắc trong thời gian 18 giờ đến 20 giờ ở nhiệt độ 35°C với MIC được xác định là nồng độ thuốc thấp nhất mà ngăn ngừa được sự sinh trưởng nhìn thấy được. Vài hợp chất trong số các hợp chất được đưa đến nhiều thử nghiệm, và trong trường hợp đó, MIC được thể hiện là trị số trung vị thu được. Các trị số MIC được thông báo theo µg/ml.

Thử nghiệm về độc tính đối với tế bào thận in vitro

Thử nghiệm về độc tính đối với tế bào thận *in vitro* được thực hiện theo quy trình dưới đây.

Các tế bào được HK-2 duy trì và được thử nghiệm trong môi trường tế bào sừng-SFM có bổ sung 5ng/ml yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGF) và 50µg/ml chiết xuất từ tuyến yên của bò (BPE). Các tế bào được cấy ở mật độ 7.500 tế bào trong mỗi lỗ trong đĩa loại 96 lỗ và được để bám dính qua đêm. Polymyxin B (PMB) và các hợp chất thử nghiệm được hòa tan trong dung dịch nước DMSO 10% để tạo ra dung dịch gốc lần lượt có nồng độ 20mg/ml và 60mg/ml. Các hợp chất thử nghiệm được pha loãng để tạo ra nồng độ đỉnh 3.000µg/ml hoặc 1.000µg/ml với dịch pha loãng bán logarit để tạo

ra khoảng nồng độ gồm 9 điểm cộng với đối chứng là chất dẫn. PMB cũng được pha loãng để tạo ra nồng độ đỉnh 1.000µg/ml với dịch pha loãng bán logarit. Nước và mức DMSO được giữ không đổi lần lượt ở 5% và 0,5%. Các hợp chất thử nghiệm được ủ với tế bào trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ 37°C 5% CO₂ trong khí quyển đã được tạo ẩm. CellTiter-Blue được pha loãng trong PBS (theo tỷ lệ 1:4) và được bổ sung 20% (thể tích) và ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 2 giờ trước khi huỳnh quang sản phẩm được phát hiện.

Các trị số nền chỉ có môi trường được trừ đi trước khi dữ liệu được phân tích bằng cách áp dụng GraphPad Prism. Từng trị số được chuẩn hóa theo các lỗ đối chứng chất dẫn cho từng hợp chất. Trị số nồng độ của hợp chất được dựng đồ thị theo trị số logarit để cho phép khớp đường cong đáp ứng-liều lượng. Đáy của đường cong được giữ ở không và các trị số IC₅₀ được xác định.

Các trị số IC₅₀ được biểu hiện cân xứng với các trị số đối với PMB trong cùng thử nghiệm. Khi thực hiện nhiều lần xác định, trị số trung vị được thể hiện.

Đo nồng độ bốn giờ ở thận

Các hợp chất được cho dùng liều dưới da ở mức 17,2mg/kg bazơ tự do cho chuột nhắt (n = 2 hoặc 3). Bốn giờ sau khi dùng liều, con vật được cho chết một cách nhẹ nhàng và thận được lấy ra, cắt bỏ mỡ và mô liên kết, được cân và ngay lập tức được đông lạnh nhanh. Sau khi già đông ở nhiệt độ trong phòng, hai quả thận từ từng con vật được đặt trong các ống nghiệm hình nón loại dung tích 2ml chứa hạt zirconi oxit đã cân trước và được làm ổn định bằng xeri. Axit trifloaxetic, TFA (0,25ml, 0,15% thể tích trong nước) được bổ sung vào và các ống nghiệm được nạp vào thiết bị đồng nhất FastPrep-24 (do MP Biomedicals Europe cung cấp), và được đưa đến 3 chu kỳ, mỗi chu kỳ 30 giây, ở tốc độ 6m/giây. Phần phân ước (200µl) của dịch đồng nhất được pha loãng bằng thể tích đã tính của dung dịch TFA (0,15% thể tích trong nước) để tạo ra nồng độ cuối cùng 0,167gam thận/gam dịch đồng nhất.

Dịch đồng nhất thận (100 μ l) được trộn với metanol (190 μ l) và TFA (110 μ l, 10% thể tích trong nước) và bảo quản qua đêm ở nhiệt độ -20°C để làm kết tủa protein. Sau thời gian 10 phút ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút và nhiệt độ 6°C, 200 μ l dịch nổi được chuyển vào vật lỏng vào bằng thủy tinh và được phân tích theo phương pháp LC-MS-MS.

Bảng 2 - Kết quả sinh học

Ví dụ	AlogP	E. coli		K. pneumoniae		P. aeruginosa			A. baumannii		HK-2 so với PMB	nồng độ 4 giờ ở thận (µg/g)*	nồng độ ở thận sau 4 giờ/so với HK-2
		CA58	ATCC 25922	CA64	ATCC 13822	CCUG 59347	ATCC 27853	NCTC 13424	ATCC BAA-747				
1	-6,3	4	0,125	8	0,125	0,25	0,06	0,06	0,06	8,8	267	30	
2	-6,3	8	0,25	2	0,25	0,5	0,25	0,25	0,25	7,2	538	75	
3	-6,3	32	1	65	0,5	0,5	0,5	1	2	ND	ND	ND	
4	-6,3	16	0,5	16	0,25	0,5	0,25	1	1	ND	ND	ND	
5	-6,3	8	0,125	16	0,125	0,25	0,25	0,06	0,125	11,6	170	15	
6	-6,3	8	0,125	8	0,125	0,5	0,125	0,5	0,5	7,8	381	49	
7	-6,9	16	0,25	32	ND	0,25	0,125	0,125	0,125	ND	ND	ND	
8	-6,9	16	0,125	32	ND	0,5	0,06	0,25	0,125	ND	ND	ND	
9	-6,5	8	0,25	64	0,25	0,5	0,125	0,125	0,25	12,0	159	13	
10	-6,5	8	0,125	16	0,5	0,25	0,125	0,25	0,25	8	346	43	
11	-5,9	4	0,5	16	0,5	0,5	0,25	0,25	0,5	5,2	163	32	
12	-5,9	4	0,5	8	0,5	0,5	0,125	0,25	0,25	ND	ND	ND	
13	-6,2	8	0,5	16	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	ND	ND	ND	
14	-6,2	8	1	32	0,5	1	0,5	0,5	0,5	ND	ND	ND	
15	-6,1	4	0,125	16	0,125	0,5	0,25	0,06	0,06	52,1	443	8,5	
16	-6,1	16	0,5	8	0,25	1	0,5	0,5	0,5	ND	ND	ND	
17	-6,5	8	0,125	16	0,125	0,25	0,125	0,06	0,06	29,0	231	8	
18	-6,5	16	0,25	8	0,25	0,25	0,25	0,125	0,125	32,8	535	16,3	
19	-7,9	32	0,25	64	0,25	1	0,25	0,25	0,25	101,4	386	4	
20	-7,9	64	1	64	2	2	0,5	1	2	ND	ND	ND	
21	-6,5	16	0,125	32	0,25	0,5	0,25	0,125	0,125	26,7	209	8	
23	-7,4	32	0,125	64	0,125	0,5	0,25	0,125	ND	>41	263	<6,4	
22	-6,5	16	0,25	8	0,25	0,5	0,25	1	1	ND	ND	ND	

Ví dụ	AlogP	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>A. baumannii</i>		HK-2 so với PMB	nồng độ 4 giờ ở thận ($\mu\text{g/g}$)*	nồng độ ở thận sau 4 giờ/so với HK-2
		CA58	ATCC 25922	CA64	ATCC 13822	CCUG 59347	ATCC 27853	NCTC 13424	ATCC BAA-747			
24	-6,5	4	0,125	16	0,25	0,25	0,125	0,06	0,03	21,8	203	9
25	-6,5	16	0,25	2	0,5	0,5	0,25	0,125	0,125	ND	ND	ND
26	-6,4	8	0,06	8	0,5	0,5	0,25	0,03	0,06	>58	353	<6,1
27	-6,4	16	0,25	2	0,25	0,5	0,5	0,125	0,125	ND	ND	ND
28	-6,5	16	0,125	8	0,125	0,25	0,25	0,06	0,125	68,5	408	6,0
29	-6,5	16	0,25	8	0,25	0,5	0,25	0,125	0,125	ND	ND	ND
30	-6,8	8	0,125	16	0,125	0,5	0,25	0,06	ND	37,5	252	6,7
31	-6,8	16	0,125	4	0,25	0,25	0,25	0,125	ND	ND	ND	ND
32	-7,3	32	0,25	32	0,5	0,5	0,5	0,125	0,125	ND	ND	ND
33	-7,3	64	0,5	16	0,5	0,5	0,5	1	1	ND	ND	ND

ND - không xác định được (không được thử)

Dữ liệu sinh học bổ sung

So sánh độc tính ở thận - Ví dụ 5 và các ví dụ tham chiếu D77 và 38

Con chuột bé ($n = 6$) được cho dùng ba lần mỗi ngày liều dưới da Polymyxin B, colistin sulphat, Ví dụ tham chiếu D77, Ví dụ tham chiếu 38 hoặc Ví dụ 5 ở mức 17,2mg bazơ tự do/kg. Bắt đầu ngay sau liều thứ nhất vào ngày thứ 4, chuột nhất được chuyển sang từng chuồng chuyển hóa và nước tiểu được gom trong khoảng thời gian 24 giờ tiếp theo để xác định lượng chất đánh dấu sinh học (albumin, xystatin C, KIM-1). Mức trung bình nhân của chất đánh dấu sinh học được thể hiện trong bảng dưới đây:

Hợp chất	Albumin ($\mu\text{g}/24$ giờ)	Cystatin C (ng/24 giờ)	KIM-1 (ng/24 giờ)
PMB	1,154 đến 1,912	1,155 đến 1,400	4 đến 22
Colistin	2,353 đến 2,548	1,266 đến 1,678	42 đến 89
Ví dụ tham chiếu D77	3,639	7,542	130
Ví dụ tham chiếu 38	2,362	14,015	79
Ví dụ 5	1,004	827	3

Các trị số PMB thể hiện khoảng từ 4 thử nghiệm và colistin từ 2 thử nghiệm.

Mức tăng albumin, xystatin C hoặc KIM-1 trong nước tiểu là các dấu hiệu về tổn thương của thận. Ví dụ 5 thể hiện mức độ thấp nhất của cả 3 chất đánh dấu sinh học về độc tính ở thận.

Ví dụ tham chiếu D77 được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2015/135976. Ví dụ tham chiếu 38 được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO2016/083531.

So sánh về mức độ độc ở thận – Các hợp chất theo các ví dụ 5, 9 và 17

Các con chuột ($n = 6$) được cho dùng liều dưới da PMB, các hợp chất theo Ví dụ 5, Ví dụ 9 hoặc Ví dụ 17 ở mức 25mg bazơ tự do/kg cho bốn liều với khoảng cách 8 giờ. Sau liều thứ tư, con vật được chuyển vào từng chuồng chuyển hóa và nước tiểu được

gom trong thời gian 24 giờ để xác định các chất đánh dấu sinh học trong nước tiểu. Sau khi gom nước tiểu, con chuột nhất được cho chết một cách nhẹ nhàng và thận được thu gom cho nghiên cứu mô bệnh học.

Hợp chất	Albumin ($\mu\text{g}/24$ giờ)	Xystatin C (ng/24 giờ)	KIM-1 (ng/24 giờ)
PMB	1,147	1,425	58
Ví dụ 5	343	448	1
Ví dụ 9	749	754	2

Không con vật nào ở các nhóm theo Ví dụ 5 hoặc Ví dụ 9 thể hiện bất kỳ dấu hiệu thoái hóa hoặc phục hồi nào theo nghiên cứu mô bệnh học. Trái lại, cả 6 con vật được điều trị bằng PMB thể hiện mức phục hồi ống tối thiểu.

Theo một thử nghiệm riêng rẽ, Ví dụ 17 được so sánh với PMB.

Hợp chất	Mức tăng so với đối chứng là chất dẫn		
	Albumin	Xystatin C	KIM-1
PMB	29 $\times$	2 $\times$	771 $\times$
Ví dụ 17	2,7 $\times$	1,8 $\times$	4,7 $\times$

Các dấu hiệu mô bệnh học cũng được đánh giá:

	PMB	Ví dụ 17
Thoái hóa/hoại tử ống	4 bình thường/1 tối thiểu	Tất cả đều bình thường
Ống bạch cầu ưa kiềm	4 tối thiểu/1 nhẹ	3 bình thường/2 tối thiểu

So sánh về mức độ độc ở thận của hợp chất theo Ví dụ 5 và PMB ở khi đầu chó

Các con khi đầu chó đực ($n = 3$) được cho dùng liều hợp chất theo Ví dụ 5 bằng cách truyền qua đường tĩnh mạch trong thời gian 1 giờ ở mức 20mg/kg/liều, 3 lần mỗi ngày trong thời gian 7 ngày. Trong một thử nghiệm riêng rẽ, khi đực ($n = 3$) được cho dùng liều PMB trong cùng khoảng thời gian ở mức 4mg/kg/liều. Ở cả hai thử nghiệm, con vật đối chứng được cho dùng liều nước muối 3 lần mỗi ngày.

Vào cuối giai đoạn 7 ngày, mẫu máu được lấy và lượng ure nitơ và creatinin trong máu ở huyết thanh được xác định là dấu hiệu chỉ báo về tổn thương ở thận. Trong

trường hợp Ví dụ 5 mức BUN và creatinin trung bình được nâng lên ít hơn 50% so với con vật đối chứng dùng nước muối. Tuy nhiên, đối với động vật đã được cho dùng liều PMB, mức BUN được nâng lên 76% so với con vật đối chứng và mức creatinin cao hơn gấp 2,6 lần.

Thận được gom khi kết thúc giai đoạn dùng liều 7 ngày và được xét nghiệm định kỳ. Trong số ba con vật đã được điều trị bằng PMB, 2 con thể hiện mức thoái hóa ống trung bình và 1 con thể hiện mức độ tối thiểu. Trong số các con vật đã được điều trị bằng Ví dụ 5, 1 con thể hiện mức thoái hóa ống trung bình và 2 con thể hiện mức thoái hóa tối thiểu.

Liều trong các thử nghiệm này cao gấp 5 lần đối với Ví dụ 5 so với PMB nhưng các dấu hiệu độc tính ở thận giảm. Mức độ tiếp cận thuốc từ một chu kỳ dùng liều vào ngày thứ 7 sau khi dùng liều (AUC₀ đến 8 giờ) là 234 μ g.giờ/ml đối với Ví dụ 5 và 117 μ g.giờ/ml đối với PMB.

Hiệu quả của các hợp chất ở mô hình đui của chuột giảm bạch cầu trung tính đã bị nhiễm E. coli ATCC 25922

Sau khi gây giảm bạch cầu trung tính (xyclophosphamit 150mg/kg d-4, 100mg/kg d-1), con chuột nhất CD-1 (n = 5) được cấy vào từng bên đui khoảng 105 đơn vị tạo khuẩn lạc *E. coli* ATCC25922. Con chuột nhất được cho dùng qua đường tĩnh mạch liều 0,125mg/kg, 0,5mg/kg, và 3mg/kg PMB sulphat hoặc hợp chất thử nghiệm (đương lượng bazơ tự do tính theo trọng lượng) tại thời điểm 1 giờ, 3,5 giờ và 6 giờ sau khi nhiễm. Tại thời điểm 9 giờ sau khi nhiễm, con chuột nhất được cho chết một cách nhẹ nhàng và đui được chuẩn bị đếm số khuẩn lạc.

Mức giảm số khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn được thể hiện trong bảng dưới đây. Trong từng trường hợp, mức giảm quan sát được đối với PMB trong cùng thử nghiệm được thể hiện trong ngoặc đơn:

Hợp chất	Mức giảm log đơn vị tạo khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn		
	0,125mg/kg	0,5mg/kg	3mg/kg
Ví dụ 5	0,1 (0,4)	2,2 (2,6)	3,4 (3,5)
Ví dụ 9	0,1 (0,4)	0,5 (0,6)	3,7 (3,9)
Ví dụ 17	0 (0,1)	1,3 (1,1)	3,7 (3,7)
Ví dụ 24	0 (0)	0,4 (0,5)	2,4 (2,9)

Tất cả các hợp chất đều có hiệu quả tương tự như PMB.

Hiệu quả của các hợp chất ở mô hình đui của con chuột giảm bạch cầu trung tính đã nhiễm K. pneumoniae ATCC 43816

Sau khi gây ra tình trạng giảm bạch cầu trung tính (xyclophosphamit 150mg/kg d-4, 100mg/kg d-1), con chuột nhất CD-1 (n = 5) được cấy vào từng bên đui khoảng 105 đơn vị tạo khuẩn lạc của *K. pneumoniae* ATCC43816. Con chuột nhất được cho dùng qua đường tĩnh mạch các liều lượng thích hợp PMB sulphat hoặc hợp chất thử nghiệm (tương đương trọng lượng bazơ tự do) tại thời điểm 2 giờ, 6 giờ và 10 giờ sau khi nhiễm. Tại thời điểm 16 giờ sau khi nhiễm, con chuột nhất được cho chết một cách nhẹ nhàng và đui được chuẩn bị để đếm số khuẩn lạc.

Mức giảm số khuẩn lạc so với đối chứng chất dẫn được thể hiện trong bảng dưới đây. Trong mỗi trường hợp, mức giảm quan sát được đối với PMB trong cùng thử nghiệm được thể hiện trong ngoặc đơn:

Liều lượng (mg/kg)	Mức giảm log đơn vị tạo khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn	
	Ví dụ 5	Ví dụ 24
0,125	0 (0,2)	0 (0,2)
0,25	ND	0,2 (0,2)
0,5	4,8 (4,9)	0,2 (0,9)
1	4,8 (5,2)	ND
2	ND	4,7 (4,0)
4	5,3 (5,6)	ND

ND = không xác định được

Cả hai hợp chất có hiệu quả tương tự đối với PMB.

Hiệu quả của các hợp chất ở mô hình đùi của chuột giảm bạch cầu trung tính đã bị nhiễm A. baumannii NCTC13301

Sau khi gây giảm bạch cầu trung tính (xyclophosphamit 150mg/kg d-4, 100mg/kg d-1), con chuột nhắt CD-1 (n = 5) được cấy vào từng bên đùi khoảng 105 đơn vị tạo khuẩn lạc *A. baumannii* NCTC13301. Con chuột nhắt được cho dùng qua đường tĩnh mạch PMB sulphat hoặc hợp chất thử nghiệm (tương đương trọng lượng bazơ tự do) với liều 0,125mg/kg, 0,5mg/kg, 1mg/kg và 4mg/kg tại các thời điểm 2 giờ, 6 giờ và 10 giờ sau khi nhiễm. Tại thời điểm 16 giờ sau khi nhiễm, con chuột nhắt được cho chết một cách nhẹ nhàng và đùi được chuẩn bị để đếm số khuẩn lạc.

Mức giảm số khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn được thể hiện trong bảng dưới đây. Trong mỗi trường hợp, mức giảm quan sát được đối với PMB trong cùng thử nghiệm được thể hiện trong ngoặc đơn:

Liều lượng (mg/kg)	Mức giảm log đơn vị tạo khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn	
	Ví dụ 5	Ví dụ 24
0,125	0,4 (0,3)	0,1 (0,1)
0,5	3,1 (4,2)	2,2 (4,1)
1	6,7 (5,8)	5,5 (5,0)
4	7,4 (6,5)	5,7 (5,3)

Cả hai hợp chất có hiệu quả tương tự đối với PMB.

Hiệu quả của các hợp chất ở mô hình phổi của chuột giảm bạch cầu trung tính đã bị nhiễm A. baumannii NCTC13301

Sau khi gây giảm bạch cầu trung tính (xyclophosphamit 200mg/kg d-4, 150mg/kg d-1), con chuột nhắt CD-1 (n = 8) được cấy trong mũi khoảng 107 đơn vị tạo khuẩn lạc mỗi bên phổi *A. baumannii* NCTC13301. Con chuột nhắt được cho dùng liều dưới da PMB sulphat (20mg/kg) hoặc các liều thích hợp của hợp chất thử nghiệm (tương đương trọng lượng bazơ tự do) tại các thời điểm 2 giờ, 6 giờ và 10 giờ sau khi nhiễm. Tại thời điểm 16 giờ sau khi nhiễm, con chuột nhắt được cho chết một cách nhẹ nhàng và phổi được chuẩn bị để đếm số khuẩn lạc.

Mức giảm số khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn được thể hiện trong bảng dưới đây. Trong mỗi trường hợp, mức giảm quan sát được đối với PMB trong cùng thử nghiệm được thể hiện trong ngoặc đơn:

Liều lượng (mg/kg)	Mức giảm log đơn vị tạo khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn	
	Ví dụ 5	Ví dụ 24
2,5	0	0,9
10	0	1,6
20	2,5 (0)	2,7 (0)
30	4,0	3,9

PMB không có hiệu quả ở mô hình này với liều tối đa dung nạp được. Hợp chất theo Ví dụ 5 hiệu quả hơn ở liều 20mg/kg và cũng có thể được dùng liều ở các mức cao hơn để đạt được hiệu quả tốt hơn nhờ độc tính thấp hơn.

Hiệu quả của các hợp chất ở mô hình phổi của chuột giảm bạch cầu trung tính bị nhiễm P. aeruginosa ATCC 27853

Sau khi gây giảm bạch cầu trung tính (xyclophosphamit 200mg/kg d-4, 150mg/kg d-1), con chuột nhất CD-1 (n = 8) được cấy trong mũi 104 đến 105 đơn vị tạo khuẩn lạc mỗi bên phổi *P. aeruginosa* ATCC27853. Con chuột nhất được cho dùng dưới da các liều lượng thích hợp PMB sulphat hoặc hợp chất thử nghiệm (trương đương trọng lượng bazơ tự do) tại các thời điểm 2 giờ, 6 giờ và 10 giờ sau khi nhiễm. Tại thời điểm 16 giờ sau khi nhiễm, con chuột nhất được cho chết một cách nhẹ nhàng và phổi được chuẩn bị để đếm số khuẩn lạc.

Mức giảm số khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn được thể hiện trong bảng dưới đây. Trong mỗi trường hợp, mức giảm quan sát được đối với PMB trong cùng thử nghiệm được thể hiện trong ngoặc đơn:

Liều lượng (mg/kg)	Mức giảm log đơn vị tạo khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn	
	Ví dụ 5	Ví dụ 24
2,5	0 (0)	0,8 (0,3)
5	0 (0)	ND
7,5	ND	3,2 (1,0)

Liều lượng (mg/kg)	Mức giảm log đơn vị tạo khuẩn lạc so với đối chứng dùng chất dẫn	
	Ví dụ 5	Ví dụ 24
10	2 (0,7)	ND
20	3,6 (2,6)	4,4 (3,7)
40	ND	5,7

ND = không xác định được

Cả hai hợp chất đều thể hiện hiệu quả tốt hơn so với PMB ở mẫu này.

Các trị số MIC theo Ví dụ 5 khi có Rifampixin

Sinh vật	Chủng số trong bộ sưu tập	Kiểu gen kháng đã biết	Polymyxin B (PMB)	PMB+Rif (1µg/ml)	Chất theo Ví dụ 5	Chất theo Ví dụ 5+Rif (1 µg/ml)
<i>E. coli</i>	ATCC 25922	NA	0,25	≤0,015	0,125	≤0,015
	CDF-1	MCR-1	4	0,06	8	0,06
	IHMA 940398	NA	16	0,06	32	0,125
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC 13882	NA	0,25	0,06	0,125	0,06
	IHMA 580884	NA	8	0,06	16	0,125
	IHMA 520329	SHV-12, KPC-2	64	0,125	>64	0,06
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	NA	0,5	0,125	0,25	0,125
	IHMA 517175	NA	8	0,25	8	0,5
	IHMA 644636	NA	32	0,5	32	1
<i>A. baumannii</i>	NCTC 13301	OXA-23	0,25	≤0,015	0,06	≤0,015
	IHMA 851735	OXA-23	8	0,03	0,25	≤0,015
	IHMA 517303	NA	>64	0,125	>64	0,03

Các trị số MIC (µg/ml) được xác định bằng nước cái pha loãng cỡ micro trong các điều kiện CLSI.

Cả PMB và hợp chất theo Ví dụ 5 thể hiện tính hiệp đồng mạnh với rifampixin cả cả đối với chủng có mức mẫn cảm thấp đối với polymyxin.

Nghiên cứu hóa học lập thể

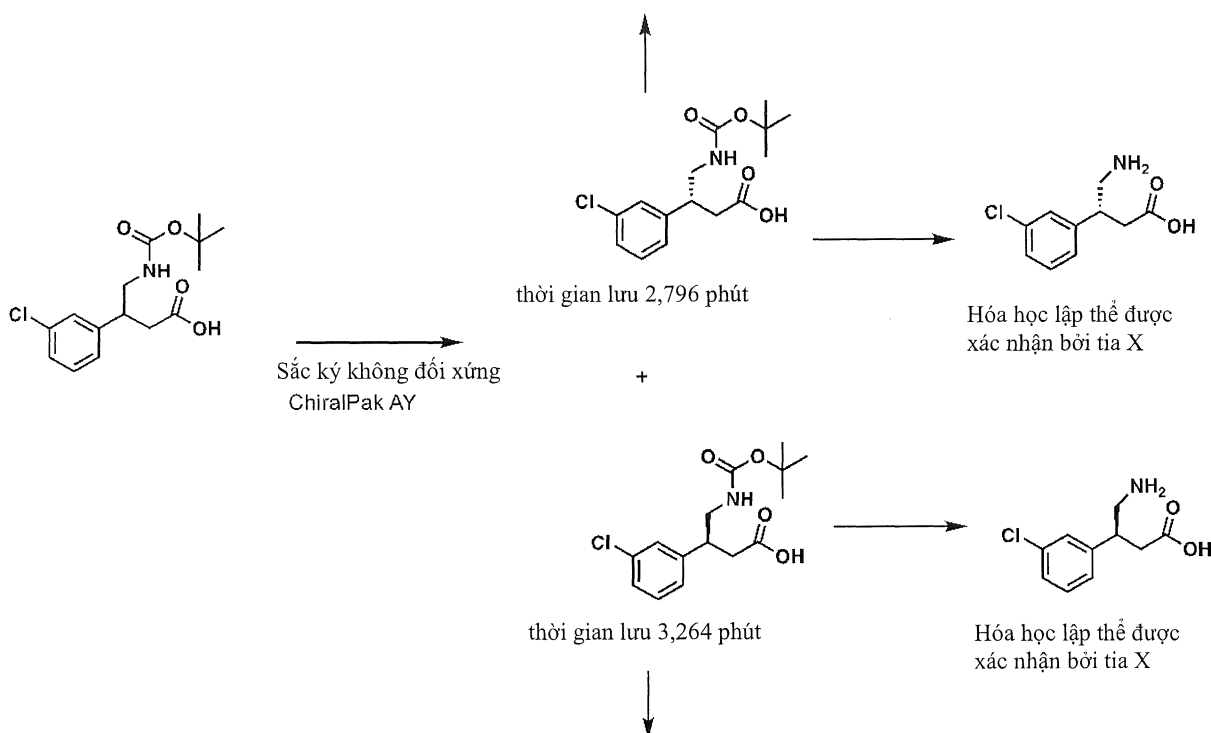
Các hợp chất theo sáng chế chứa tâm lập thể tại vị trí β của nhóm γ-aminopropyl ở gốc đầu tận cùng N. Thật ngạc nhiên đã phát hiện thấy rằng một trong số các chất đồng phân lập thể tại vị trí này thường liên quan đến độc tính thấp hơn đối với tế bào

và lượng thuốc thấp hơn ở thận. Đây là chất đồng phân lập thể mà rửa giải nhanh hơn trên sắc ký đảo pha.

Ví dụ, ở cặp chất đồng phân không đối quang liên quan đến Ví dụ 5 và Ví dụ 6, chất đồng phân không đối quang mà rửa giải nhanh hơn ra khỏi sắc ký lỏng cao áp (HPLC) đảo pha cột thể hiện mức tiếp cận thấp hơn ở thận và độc tính thấp hơn đối với tế bào so với chất đồng phân chậm hơn tương ứng. Chất đồng phân nhanh hơn không đối quang (theo Ví dụ 5) thu được từ axit (S)-4-amino-3-(3-clophenyl)butanoic, theo phân tích tia X phân tử nhỏ đối với axit amin tương ứng (như được thể hiện trên Sơ đồ dưới đây).

Sơ đồ 1

Chất đồng phân chậm trên sắc ký lỏng cao áp pha đảo (RP-HPLC)
so với Ví dụ 6

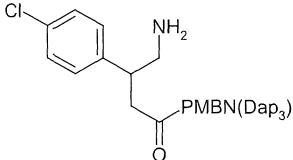
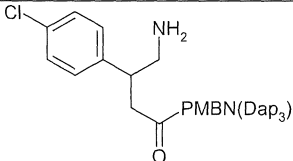
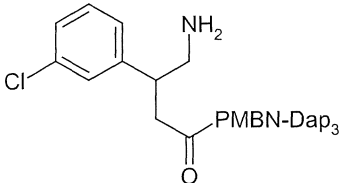
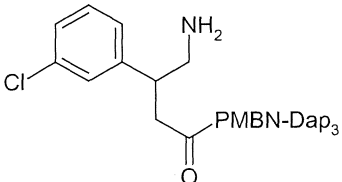
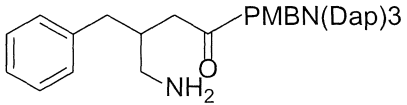


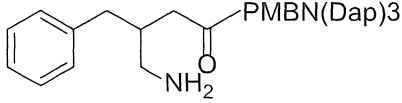
Chất đồng phân nhanh trên sắc ký lỏng cao áp pha đảo (RP-HPLC)
so với Ví dụ 5

Các so sánh tiếp nữa được thể hiện trong Bảng 3 dưới đây. Các chất đồng phân không đối quang (epime ở đầu tận cùng N nhóm) mà rửa giải nhanh hơn trên sắc ký đảo pha, và có độ dịch chuyển hóa học theo NMR tương tự các chất theo Ví dụ 5, có khả năng có cùng hóa học lập thể tuyệt đối như chất theo Ví dụ 5, như nêu trên.

Hóa học lập thể tuyệt đối chỉ định cho từng hợp chất trong số các hợp chất trong Bảng 3 được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 3 - Kết quả hóa học lập thể

Ví dụ	Cấu trúc	Độc tính đối với tế bào	Lượng thuốc ở thận	lượng ở thận sau 4 giờ/độc tính tương đối đối với tế bào
1	 chất đồng phân 'nhanh'	8,8	268	30
2	 chất đồng phân 'chậm'	7,2	538	75
5	 chất đồng phân 'nhanh'	11,6	170	15
6	 chất đồng phân 'chậm'	7,8	381	49
9	 Chất đồng phân nhanh	12,0	159	13

Ví dụ	Cấu trúc	Độc tính đối với tế bào	Lượng thuốc ở thận	lượng ở thận sau 4 giờ/độc tính tương đối đối với tế bào
10	 Chất đồng phân chậm	8,0	346	43

Độc tế bào để chỉ đo được IC_{50} tương ứng với mức ghi nhận được đối với polymyxin B đối với dòng tế bào HK-2.

L thuốc chỉ lượng hợp chất tìm thấy ở thận tại thời điểm 4 giờ sau khi dùng liều 17,2mg/kg ($\mu\text{g/g}$) dưới da ở mô hình chuột.

Dữ liệu bổ sung

Độc tính ở thận của hợp chất theo Ví dụ 24 so với PMB sau bốn liều ở chuột

Nhóm chuột nhất đực CD-1 ($n = 5$) được cho dùng dưới da bốn lần cách nhau 8 giờ polymyxin B (PMB) với liều 12,5mg hoặc 25mg bazơ tự do/kg, hoặc hợp chất theo Ví dụ 24 với liều 25mg, 50mg hoặc 75mg bazơ tự do/kg. Ngay sau liều thứ tư, con chuột nhất được chuyển sang chuồng chuyển hóa và nước tiểu được gom trong thời gian 24 giờ để xác định các chất đánh dấu sinh học trong nước tiểu. Sau khi gom nước tiểu, con chuột nhất bị giết để xét nghiệm mô bệnh học thận. Lượng trung bình của chất đánh dấu sinh học được thể hiện trong Bảng 4 dưới đây.

Bảng 4 - các chất đánh dấu sinh học trong nước tiểu

Hợp chất	liều lượng (mg/kg)	các chất đánh dấu sinh học trong nước tiểu				
		Xystatin C	β -2 microglobulin	Kim-1	NGAL	Albumin
Chất dẫn	-	22,24	0,05	17,01	0,00	3,44
PMB	12,5	29,45	3,43	21,89	0,30	3,75
PMB	25	44,51	43,83	3,446,42	4,37	7,73
Ex 24	25	31,04	0,05	27,61	0,00	4,78
Ex 24	50	33,97	13,22	171,59	0,63	6,95
Ex 24	75	81,44	68,51	1,203,41	3,71	10,93

Các chất đánh dấu sinh học nước tiểu được chuẩn hóa theo creatinin trong nước tiểu.

Đối với cả năm chất đánh dấu sinh học biểu hiện ở liều 50mg/kg ví dụ 24 là thấp hơn ở liều 25mg/kg PMB và ở hai (Kim-1, NGAL) trong số năm chất đánh dấu sinh học biểu hiện ở liều 75mg/kg là thấp hơn đối với PMB ở liều 25mg/kg.

Các kết quả mô bệnh học được thể hiện trong Bảng 5 dưới đây.

Bảng 5 – các kết quả mô bệnh học

Hợp chất	Liều lượng (mg/kg)	Mô bệnh học		
		Thoái hóa/hoại tử ống	Ổng bạch cầu ưa kiềm (vỏ não)	Số liệu gián phân tăng
Chất dẫn	-	0/5	0/5	0/5
PMB	12,5	0/5	0/5	0/5
PMB	25	5/5 (2 tối thiểu/2 nhẹ/1 vừa phải*)	5/5 (1 tối thiểu/2 nhẹ/2 vừa phải*)	3/5 (2 tối thiểu/1 nhẹ)
Ví dụ 24	25	0/5	0/5	0/5
Ví dụ 24	50	2/5 (2 tối thiểu)	2/5 (2 tối thiểu)	2/5 (2 tối thiểu)
Ví dụ 24	75	5/5 (1 tối thiểu/3 nhẹ/1 vừa phải)	5/5 (2 tối thiểu /1 nhẹ/1 vừa phải/1 nặng)	5/5 (5 tối thiểu)

* một động vật chết trong thử nghiệm

Mô bệnh học thận ở liều 50mg/kg hợp chất theo Ví dụ 24 là kém nghiêm trọng hơn so với PMB với liều 25mg/kg, và mô bệnh học thận là tương tự với liều 75mg/kg hợp chất theo Ví dụ 24 so với liều PMB ở mức 25mg/kg.

Tài liệu tham khảo

Tất cả các tài liệu được nêu trong bản mô tả này được đưa hoàn toàn vào đây bằng cách viện dẫn.

de Visser *et al. J. Peptide Res*, **61**, 2003, 298

Dolomanov *et al. J. Appl. Cryst.* **42**, 2009, 339

Felluga *et al. Tetrahedron Asymmetry*, **19**, 2008, 945

Sheldrick *Acta Cryst.* A71, 2015, 3-8

Sheldrick *Acta Cryst.* C71, 2015, 3-8

Vaara *et al.* *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*, **52**, 2008. 3229

Velkov *et al.* *ACS Chem. Biol.* **9**, 2014, 1172

Velkov *et al.* *ACS Chem. Biol.* **9**, 2014, 1172

WO 2014/188178

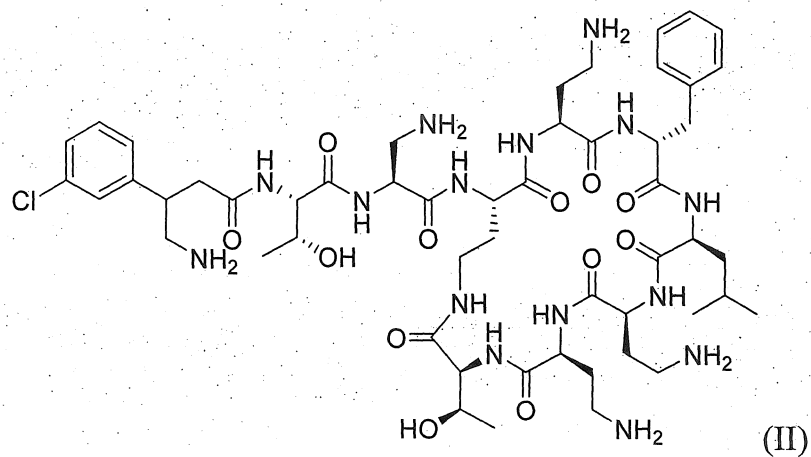
WO 2016/083531

WO2013/072695

WO2015/135976

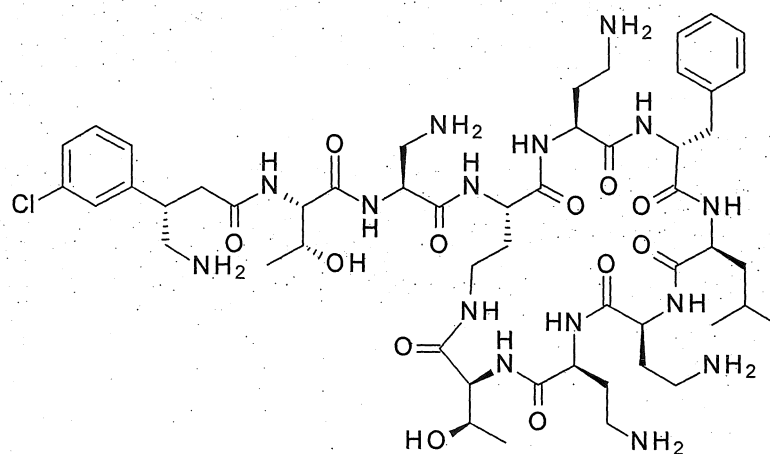
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (II):



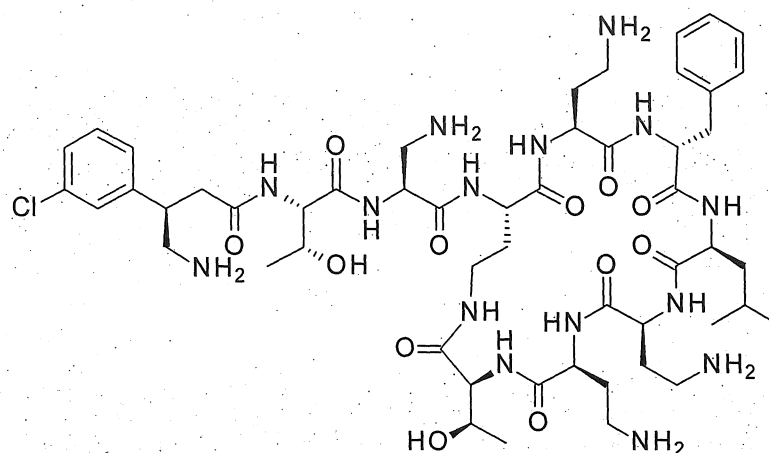
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

2. Hợp chất có công thức (II) theo điểm 1, mà là hợp chất:



và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

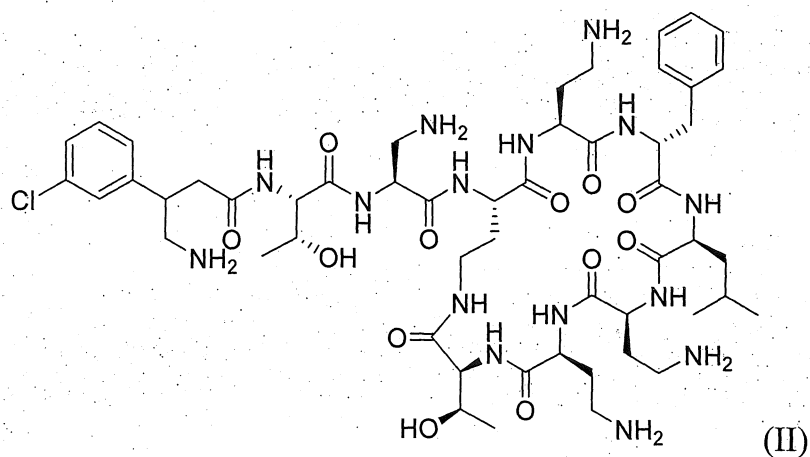
3. Hợp chất có công thức (II) theo điểm 1, mà là hợp chất:



và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

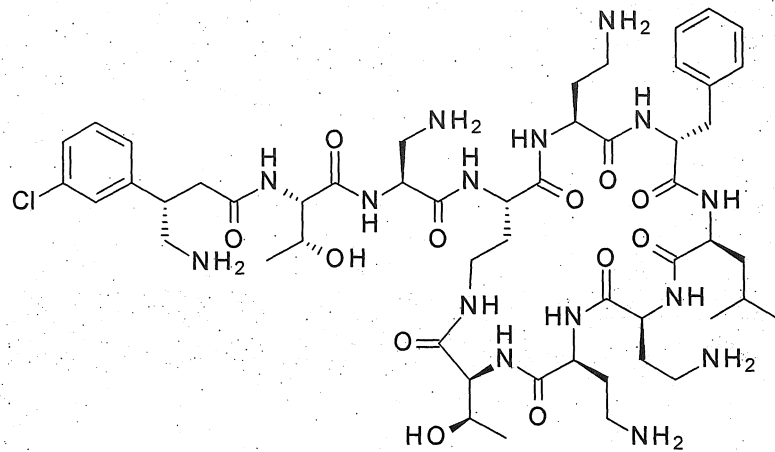
4. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, tùy ý cùng với một hoặc nhiều chất mang dược dụng.

5. Hợp chất để dùng trong phương pháp y học nhằm điều trị hoặc phòng bệnh, trong đó hợp chất có công thức (II):



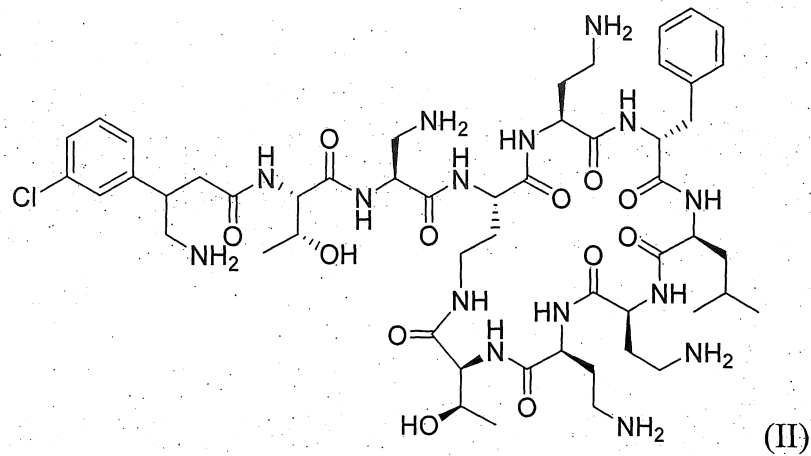
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

6. Hợp chất để dùng trong phương pháp y học nhằm điều trị hoặc phòng bệnh, trong đó hợp chất là:



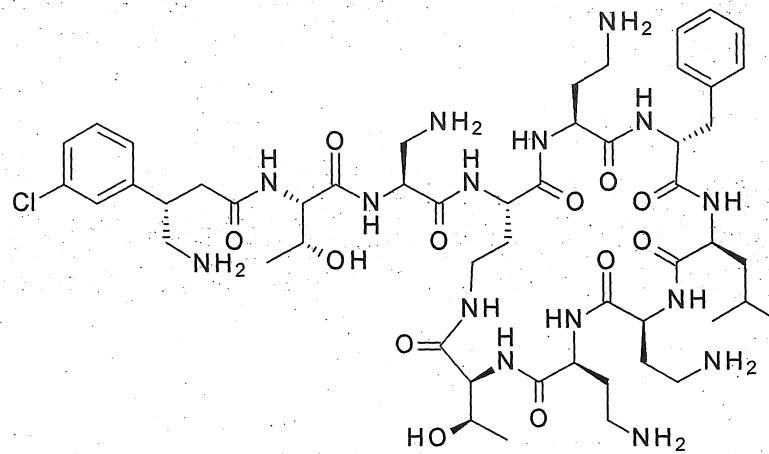
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

7. Dược phẩm chứa hợp chất để dùng trong phương pháp y học nhằm điều trị hoặc phòng bệnh, trong đó hợp chất có công thức (II):



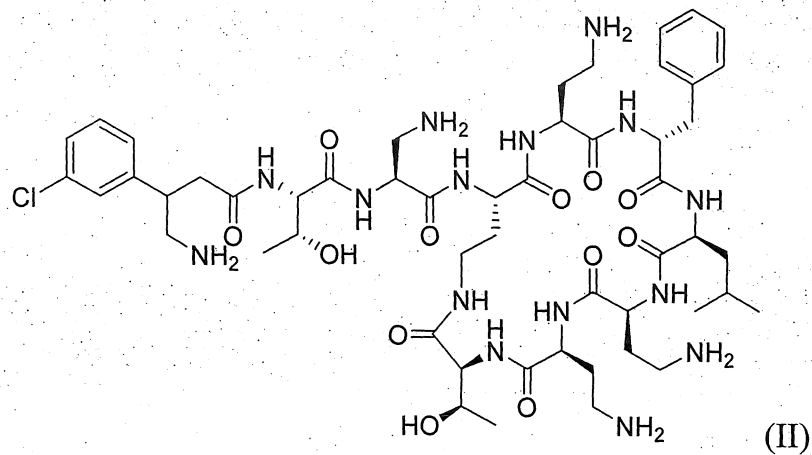
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó
cùng với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

8. Dược phẩm chứa hợp chất để dùng trong phương pháp y học nhằm điều trị hoặc phòng bệnh, trong đó hợp chất là



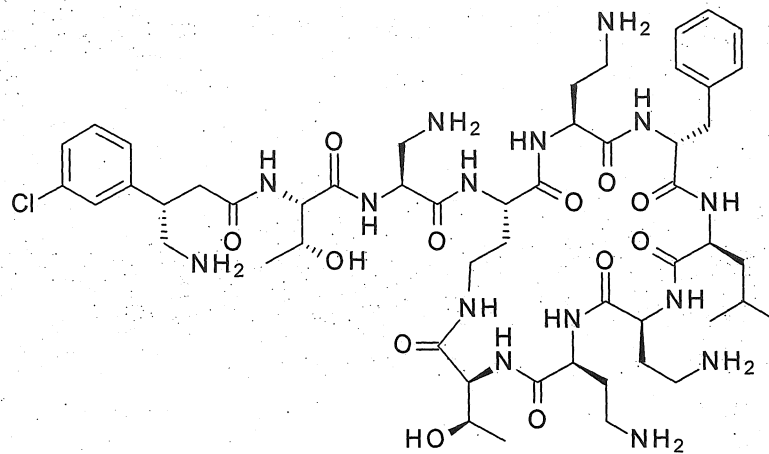
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó cùng với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

9. Hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi sinh vật, như nhiễm vi khuẩn, trong đó hợp chất có công thức (II)



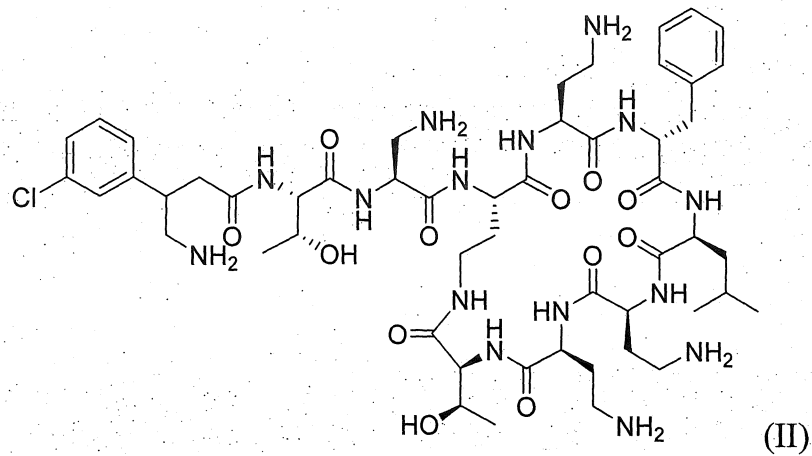
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

10. Hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi sinh vật, như nhiễm vi khuẩn, trong đó hợp chất là



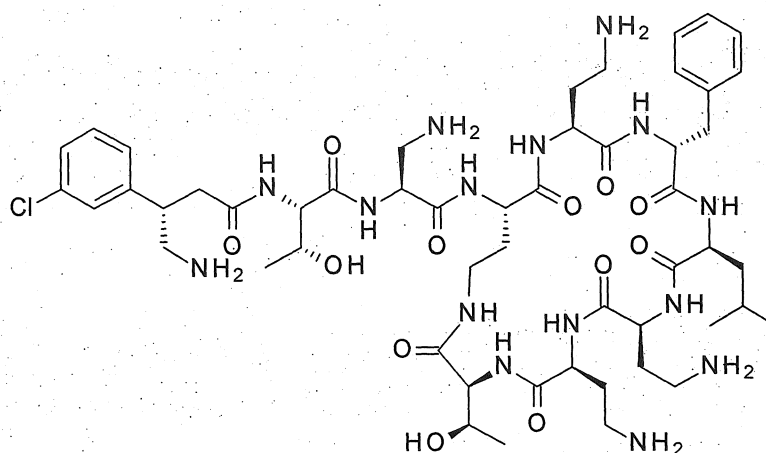
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

11. Dược phẩm chứa hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi sinh vật, như nhiễm vi khuẩn, trong đó hợp chất có công thức (II):



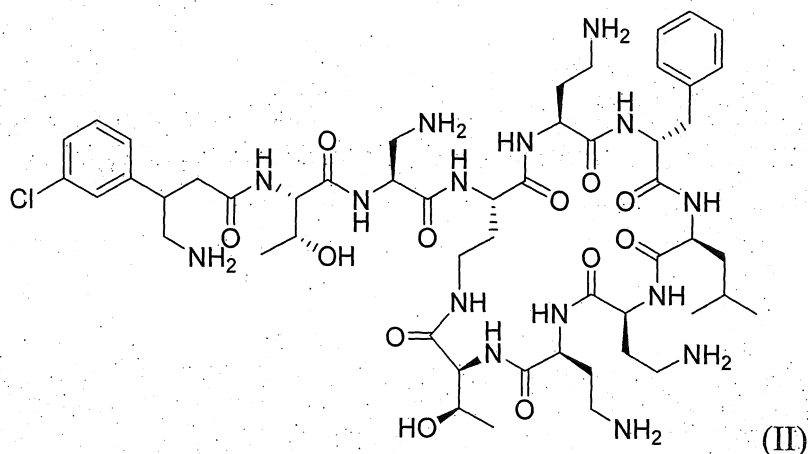
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó,
cùng với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

12. Dược phẩm chứa hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi sinh vật, như nhiễm vi khuẩn, trong đó hợp chất là:



và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó, cùng với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

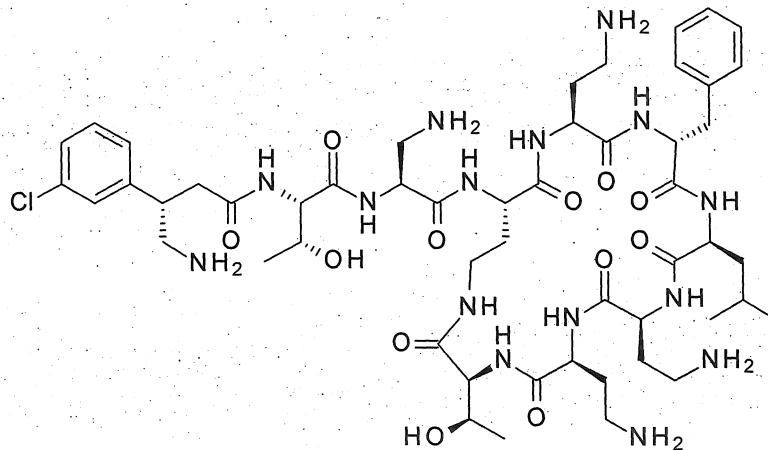
13. Hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi khuẩn Gram âm, như nhiễm vi khuẩn Gram âm được chọn trong số *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *Yersinia pseudotuberculosis* và các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* khác, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, vi khuẩn axit axetic, *Legionella* và vi khuẩn alpha-proteobacteria, trong đó hợp chất có công thức (II):



và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

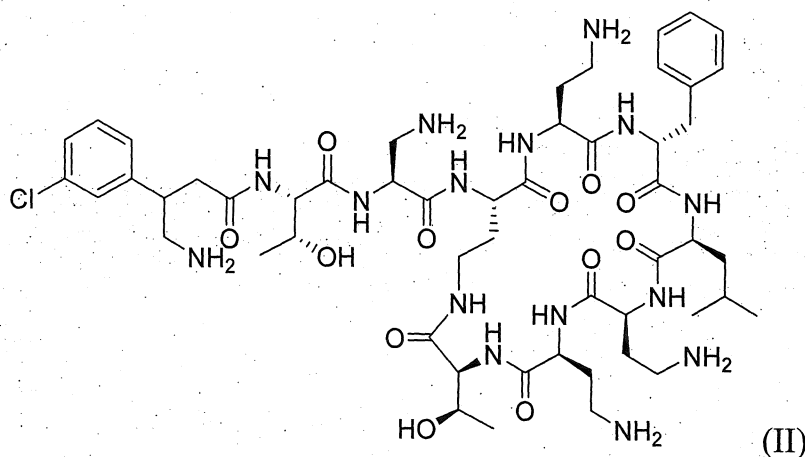
14. Hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi khuẩn Gram âm, như nhiễm vi khuẩn Gram âm được chọn trong số *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *Yersinia*

pseudotuberculosis và các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* khác, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, vi khuẩn axit axetic, *Legionella* và vi khuẩn alpha-proteobacteria, trong đó hợp chất là:



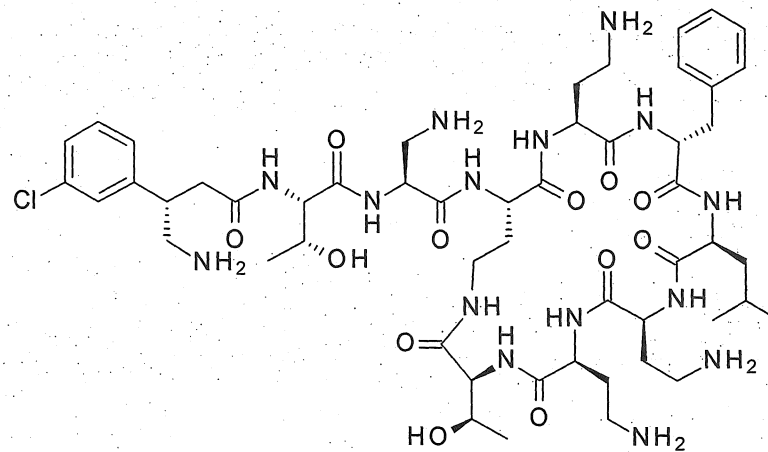
và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó.

15. Chế phẩm chứa hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi khuẩn Gram âm, như nhiễm vi khuẩn Gram âm được chọn trong số *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *Yersinia pseudotuberculosis* và các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* khác, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, vi khuẩn axit axetic, *Legionella* và vi khuẩn alpha-proteobacteria, trong đó hợp chất có công thức (II):



và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó, cùng với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

16. Chế phẩm chứa hợp chất để dùng trong phương pháp điều trị nhiễm vi khuẩn Gram âm, như nhiễm vi khuẩn Gram âm được chọn trong số *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *Yersinia pseudotuberculosis* và các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* khác, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, vi khuẩn axit axetic, *Legionella* và vi khuẩn alpha-proteobacteria, trong đó hợp chất là:



và các muối, các solvat và các dạng được bảo vệ của nó, cùng với một hoặc nhiều tá dược được dùng.