



(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) 
1-0021426

(51)⁷ **A61K 31/445**, C07D 401/06, 413/12,
211/36

(13) **B**

(21) 1-2011-01933

(22) 21.12.2009

(86) PCT/US2009/068941 21.12.2009

(87) WO2010/075257 01.07.2010

(30) 61/139,919 22.12.2008 US

(45) 26.08.2019 377

(43) 27.02.2012 287

(73) **CHEMOCENTRYX, INC. (US)**

850 Maude Avenue, Mountain View, California 94043, United States of America

(72) **FAN, Pingchen (US), GREENMAN, Kevin Lloyd (US), LELETI, Manmohan Reddy (IN), LI, Yandong (CN), POWERS, Jay (US), TANAKA, Hiroko (JP), YANG, Ju (CN), ZENG, Yibin (CN)**

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

(54) **CHẤT ĐỐI KHÁNG THỤ THỂ C5A VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHẤT ĐỐI KHÁNG THỤ THỂ NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất là chất điều biến thụ thể C5a. Các hợp chất này là piperidin được thế và hữu ích trong dược phẩm, trong phương pháp điều trị bệnh và rối loạn có liên quan đến sự hoạt hóa có tính bệnh lý của thụ thể C5a.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất đối kháng thụ thể C5a. Các hợp chất này là piperidin được thế và hữu ích trong dược phẩm, trong điều trị bệnh và rối loạn có liên quan đến sự hoạt hóa có tính bệnh lý của thụ thể C5a.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hệ bổ thể đóng vai trò quan trọng trong việc thanh thải các phức chất miễn dịch và trong đáp ứng miễn dịch với các chất lây nhiễm, các kháng nguyên lạ, các tế bào nhiễm virus và các tế bào khối u. Sự hoạt hóa không thích hợp hoặc sự hoạt hóa quá mức của hệ bổ thể có thể dẫn đến hậu quả có hại, và thậm chí có khả năng đe dọa sự sống do hiện tượng viêm nghiêm trọng và dẫn đến phá hủy mô. Các hậu quả này được biểu thị về mặt lâm sàng trong nhiều rối loạn khác nhau bao gồm sốc do nhiễm trùng; cơ tim, cũng như tổn thương tái tưới máu – thiếu máu cục bộ đường ruột; sự đào thải mảnh ghép; suy cơ quan; viêm thận; viêm bệnh lý; và bệnh tự miễn.

Hệ bổ thể bao gồm nhóm các protein thường có mặt trong huyết thanh ở trạng thái bất hoạt. Sự hoạt hóa hệ bổ thể bao gồm chủ yếu ba con đường riêng biệt, tức là con đường cổ điển, con đường thay thế, và con đường lectin (V. M. Holers, In Clinical Immunology: Principles and Practice, ed. R. R. Rich, Mosby Press; 1996, 363-391): 1) Con đường cổ điển là thác phụ thuộc canxi/magie, mà thường được hoạt hóa bằng cách tạo thành phức chất kháng nguyên-kháng thể. Nó cũng có thể được hoạt hóa theo cách không phụ thuộc vào kháng thể nhờ sự liên kết của protein phản ứng C, được tạo phức chất với phối tử, và bởi nhiều mầm bệnh bao gồm vi khuẩn gram âm. 2) Con đường thay thế là thác phụ thuộc vào magie được hoạt hóa nhờ sự lắng đọng và hoạt hóa của C3 trên một số bề mặt miễn dịch nhất định (ví dụ, polysacarit thành tế bào của nấm men và vi khuẩn, và một số nguyên liệu polyme sinh học nhất định). 3) Con đường lectin bao gồm sự liên kết ban đầu của lectin liên kết mannoza và sự hoạt hóa tiếp theo của C2 và C4, mà phổ biến đối với con đường cổ điển (Matsushita, M. et al., J. Exp. Med. 176: 1497-1502 (1992); Suankratay, C. et al., J. Immunol. 160: 3006-3013 (1998)).

Sự hoạt hóa của con đường bổ thể tạo ra các mảnh có hoạt tính sinh học của các protein bổ thể, ví dụ, độc tố phản vệ C3a, C4a và C5a và phức chất tấn công màng (MAC) C5b-9, tất cả các protein này đều điều tiết các đáp ứng viêm bằng cách tác động đến quá trình hóa ứng động bạch cầu; hoạt hóa đại thực bào, bạch cầu trung tính, tiểu cầu, tế bào mast và tế bào nội mô; và làm tăng khả năng thấm qua mạch, sự thoái hóa tế bào và tổn thương mô

Bổ thể C5a là một trong số các chất điều tiết tiền viêm hiệu nghiệm nhất của hệ bổ thể. (peptit C5a quá mẫn hiệu nghiệm hơn 100 lần, tính theo mol, trong việc gây ra các đáp ứng viêm so với C3a.) C5a là dạng đã được hoạt hóa của C5 (phân tử lượng 190 kD). C5a có mặt trong huyết thanh người ở mức xấp xỉ 80µg/ml (Kohler, P. F. et al., J. Immunol. 99: 1211-1216 (1967)). Nó bao gồm hai mạch polypeptit, α và β , với phân tử lượng lần lượt khoảng 115 kD và 75 kD, (Tack, B. F. et al., Biochemistry 18: 1490-1497 (1979)). Được sinh tổng hợp dưới dạng tiền phân tử mạch đơn, C5 được phân cắt bằng enzym thành cấu trúc hai mạch trong quá trình xử lý và tiết. Sau khi phân cắt, hai mạch này được giữ cùng nhau bởi ít nhất một liên kết disulphua cũng như các tương tác không cộng hóa trị (Ooi, Y. M. et al., J. Immunol. 124: 2494-2498(1980)).

C5 được phân cắt thành các mảnh C5a và C5b trong quá trình hoạt hóa các con đường bổ thể. Các enzym convertaza chịu trách nhiệm cho việc hoạt hóa C5 là các phức chất đa tiểu đơn vị của C4b, C2a, và C3b đối với con đường cổ điển và của (C3b)₂, Bb, và P đối với con đường thay thế (Goldlust, M. B. et al., J. Immunol. 113: 998-1007 (1974); Schreiber, R. D. et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 75: 3948-3952 (1978)). C5 được hoạt hóa bằng cách phân cắt ở vị trí 74-75 (Arg-Leu) trong mạch α . Sau khi hoạt hóa, peptit C5a gồm 74 axit amin từ phần đầu tận amino có phân tử lượng 11,2 kD của mạch α được giải phóng. Cả C5a và C3a đều là các chất kích thích hiệu nghiệm của bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân to (Schindler, R. et al., Blood 76: 1631-1638 (1990); Haeffner-Cavaillon, N. et al., J. Immunol. 138: 794-700 (1987); Cavaillon, J. M. et al., Eur. J. Immunol. 20: 253-257 (1990)).

Ngoài các tính chất độc tố phản vệ của nó, C5a còn gây ra sự di trú hóa ứng động của các bạch cầu trung tính (Ward, P. A. et al., J. Immunol. 102: 93-99 (1969)), tế bào ưa eosin (Kay, A. B. et al., Immunol. 24: 969-976 (1973)), bạch cầu ưa kiềm (Lett-Brown, M. A. et al., J. Immunol. 117: 246-252 1976)), và bạch cầu đơn nhân to (Snyderman, R.

et al., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 138: 387-390 (1971)). Cả C5a và C5b-9 đều hoạt hóa các tế bào nội mô để biểu hiện phân tử bám dính cần thiết cho sự càng hóa của bạch cầu đã được hoạt hóa, mà điều tiết viêm và tổn thương mô (Foreman, K. E. et al., *J. Clin. Invest.* 94: 1147-1155 (1994); Foreman, K. E. et al., *Inflammation* 20: 1-9 (1996); Rollins, S. A. et al., *Transplantation* 69: 1959-1967 (2000)). C5a cũng điều tiết phản ứng viêm bằng cách gây ra sự co cơ trơn, làm tăng khả năng thấm qua mạch, gây ra sự mất hạt nhỏ của bạch cầu ưa kiềm và tế bào mast và gây ra sự giải phóng proteaza thể sinh tan và gốc oxy hóa tự do (Gerard, C. et al., *Ann. Rev. Immunol.* 12: 775-808 (1994)). Hơn nữa, C5a còn điều biến sự biểu hiện gen pha cấp tính ở gan và làm tăng đáp ứng miễn dịch tổng cộng bằng cách làm tăng sự sản xuất TNF- α , IL-1- β , IL-6, IL-8, prostaglandin và leukotrien (Lambris, J. D. et al., In: *The Human Complement Health and Disease*, Volanakis, J. E. ed., Marcel Dekker, New York, pp. 83-118).

Tác dụng phản vệ và hóa hướng của C5a được tin là được điều tiết thông qua sự tương tác của nó với thụ thể C5a. Thụ thể C5a (C5aR) của người là thụ thể liên hợp protein G được liên kết màng có phân tử lượng 52 kD, và được biểu hiện trên các bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân to, bạch cầu ưa kiềm, tế bào ưa eosin, tế bào gan, tế bào nội mô và cơ trơn của phổi, và mô cầu thận của thận (Van-Epps, D. E. et al., *J. Immunol.* 132: 2862-2867 (1984); Haviland, D. L. et al., *J. Immunol.* 154:1861-1869 (1995); Wetsel, R. A., *Immunol. Leff.* 44: 183-187 (1995); Buchner, R. R. et al., *J. Immunol.* 155: 308-315 (1995); Chenoweth, D. E. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75: 3943-3947 (1978); Zwirner, J. et al., *Mol. Immunol.* 36:877-884 (1999)). Vị trí liên kết phối tử của C5aR là phức tạp và gồm ít nhất hai miền liên kết có thể tách rời về mặt vật lý. Một miền liên kết với đầu tận cùng amino C5a (axit amin 1-20) và lõi được liên kết disulfua (axit amin 21-61), trong khi miền thứ hai liên kết đầu tận cùng carboxy C5a (axit amin 62-74) (Wetsel, R. A., *Curr. Opin. Immunol.* 7: 48-53 (1995)).

C5a đóng vai trò quan trọng trong hiện tượng viêm và tổn thương mô. Trong dùng tim-phổi nhân tạo và thẩm tách máu, C5a được tạo thành do sự hoạt hóa của con đường bổ thể thay thế khi máu người tiếp xúc với bề mặt nhân tạo của máy tim-phổi hoặc máy thẩm tách thận (Howard, R. J. et al., *Arch. Surg.* 123: 1496-1501 (1988); Kirklin, J. K. et al., *J. Cardiovasc. Surg.* 86: 845-857 (1983); Craddock, P. R. et al., *N. Engl. J. Med.* 296: 769-774 (1977)). C5a gây ra khả năng thấm mao quản tăng và bệnh phù, chứng co phổi, chứng co thất phế quản, sự hoạt hóa bạch cầu và tiểu cầu và sự thấm vào mô, cụ thể là

phổi (Czermak, B. J. et al., J. Leukoc. Biol. 64: 40-48 (1998)). Việc sử dụng kháng thể đơn dòng kháng C5a được thấy là làm giảm dòng tim-phổi nhân tạo và sự loạn chức năng nội mô dạng vành do sự làm liệt tim gây ra (Tofukuji, M. et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 116: 1060-1068 (1998)).

C5a cũng có liên quan đến hội chứng suy hô hấp cấp tính (acute respiratory distress syndrome - ARDS), rối loạn phổi tắc nghẽn mạn tính (Chronic Obstructive Pulmonary Disorder - COPD) và suy đa cơ quan (multiple organ failure - MOF) (Hack, C. E. et al., Am. J. Med. 1989; 86: 20-26; Hammerschmidt DE et al. Lancet 1980; 1: 947-949; Heideman M. et al. J. Trauma 1984; 4: 1038-1043; Marc, MM, et al., Am. J. Respir. Cell and Mol. Biol., 2004: 31: 216-219). C5a làm tăng sự sản xuất bạch cầu đơn nhân của hai xytokin tiền viêm quan trọng, TNF- α và IL-1. C5a cũng đã được thấy là đóng vai trò quan trọng trong việc phát triển tổn thương mô, và cụ thể là tổn thương phổi, trong mô hình thử nghiệm ở động vật về chứng sốc do nhiễm khuẩn (Smedegard G et al. Am. J. Pathol. 1989; 135: 489-497; Markus, S., et al., FASEB Journal (2001), 15: 568-570). Trong mô hình nhiễm khuẩn sử dụng chuột cống, lợn và động vật linh trưởng không phải là người, các kháng thể kháng C5a được sử dụng cho các động vật trước khi xử lý bằng endotoxin hoặc E. coli làm giảm sự tổn thương mô, cũng như làm giảm sự sản xuất IL-6 (Smedegard, G. et al., Am. J. Pathol. 135: 489-497 (1989); Hopken, U. et al., Eur. J. Immunol. 26: 1103-1109 (1996); Stevens, J. H. et al., J. Clin. Invest. 77: 1812-1816 (1986)). Quan trọng hơn, sự phong bế hoặc C5a với các kháng thể đa dòng kháng C5a đã được cho thấy là cải thiện một cách đáng kể tỷ lệ sống sót trong mô hình nối/chọc thùng ruột tịt về bệnh nhiễm khuẩn ở chuột (Czermak, B.J. et al., Nat. Med. 5: 788-792 (1999)). Mô hình này có chung nhiều khía cạnh về sự biểu lộ lâm sàng với bệnh nhiễm khuẩn ở người. (Parker, S.J. et al., Br. J. Surg. 88: 22-30 (2001)). Trong cùng mô hình nhiễm khuẩn, kháng thể kháng C5a được thấy là ức chế sự gây chết tế bào theo chương trình của tế bào tuyến ức (Guo, R.F. et al., J. Clin. Invest. 106: 1271-1280 (2000)) và ngăn ngừa MOF (Huber-Lang, M. et al., J. Immunol. 166: 1193-1199 (2001)). Kháng thể kháng C5a cũng có tính bảo vệ trong mô hình thử nghiệm yếu tố nọc độc rắn hổ mang của chứng tổn thương phổi ở chuột cống, và trong tổn thương phổi do phức chất miễn dịch gây ra (Mulligan, M. S. et al. J. Clin. Invest. 98: 503-512 (1996)). Tầm quan trọng của C5a trong chứng tổn thương phổi được điều tiết bởi phức chất miễn dịch được xác nhận sau này ở chuột (Bozic, C. R. et al., Science 26: 1103-1109 (1996)).

C5a được thấy là chất điều tiết chính trong tổn thương tái tưới máu – thiếu máu cục bộ cơ tim. Việc làm nghèo bỏ thể làm giảm kích thước vùng nhồi máu cơ tim ở chuột nhắt (Weisman, H. F. et al., *Science* 249: 146-151 (1990)), và việc điều trị bằng kháng thể kháng C5a làm giảm tổn thương trong mô hình thử nghiệm ở chuột cống của bệnh thiếu máu cục bộ chi sau-tái tưới máu (Bless, N. M. et al., *Am. J. Physiol.* 276: L57-L63 (1999)). Tổn thương do tái tưới máu trong chứng nhồi máu cơ tim cũng được làm giảm đáng kể ở lợn đã được xử lý bằng IgG đơn dòng kháng C5a (Amsterdam, E. A. et al., *Am. J. Physiol.* 268:H448-H457 (1995)). Chất đối kháng C5aR tái tổ hợp ở người làm giảm kích thước vùng nhồi máu trong mô hình thử nghiệm ở lợn về sự tái phân bố mạch do phẫu thuật (Riley, R. D. et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 120: 350-358 (2000)).

Bạch cầu trung tính được điều khiển bởi C5a cũng góp phần gây ra nhiều bệnh có bọt nước (ví dụ, dạng pemphigut có bọt nước, bệnh pemphigut thể thông thường và pemphigut tróc). Các bệnh này là các rối loạn viêm mạn tính và hay tái phát được đặc trưng về mặt lâm sàng bởi các vết bong rộp vô trùng xuất hiện trong khoảng trống dưới biểu bì của da và niêm mạc. Trong khi các tự kháng thể đối với các tế bào sừng nằm ở màng nền của da được tin là làm nền tảng cho sự tách rời của các tế bào sừng nền biểu bì khỏi màng nền nằm dưới, các vết bong rộp cũng được đặc trưng bởi sự tích tụ bạch cầu trung tính ở cả lớp da trên và trong khoang bong rộp. Trong mô hình thử nghiệm, sự giảm bạch cầu trung tính hoặc sự vắng mặt bỏ thể (tổng cộng hoặc chọn lọc C5) có thể ức chế sự tạo thành các vết bong rộp dưới lớp biểu bì, thậm chí ngay cả khi có mặt của các hiệu giá tự kháng thể cao.

Mức bỏ thể là cao ở các bệnh nhân mắc chứng viêm đa khớp dạng thấp (Jose, P. J. et al., *Ann. Rheum. Dis.* 49: 747-752 (1990); Grant, E.P., et al., *J. of Exp. Med.*, 196(11): 1461-1471, (2002)), viêm thận luput (Bao, L., et al., *Eur. J. of Immunol.*, 35(8), 2496-2506, (2005)) và luput ban đỏ hệ thống (systemic lupus erythematosus - SLE) (Porcel, J. M. et al., *Clin. Immunol. Immunopathol.* 74: 283-288 (1995)). Mức C5a có liên quan đến mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh. Bệnh khớp bị kích ứng bởi collagen ở chuột nhắt và chuột cống giống với bệnh viêm khớp dạng thấp ở người. Chuột nhắt thiếu thụ thể C5a đã cho thấy sự bảo vệ hoàn toàn khỏi bệnh khớp bị kích ứng bởi việc tiêm Ab đơn dòng kháng collagen (Banda, N.K., et al., *J. of Immunol.*, 2003, 171: 2109-2115). Do đó, sự ức chế C5a và/hoặc thụ thể C5a (C5aR) có thể hữu dụng để điều trị các bệnh mạn tính này.

Hệ bổ thể được tin là được hoạt hóa ở các bệnh nhân mắc bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease - IBD) và được tin là đóng vai trò trong việc phát sinh bệnh. Sản phẩm bổ thể đã được hoạt hóa được phát hiện thấy ở mặt khoang của tế bào biểu mô bề mặt, cũng như trong mạch máu màng cơ nhĩ và dưới niêm mạc ở bệnh nhân IBD (Woodruff, T.M., et al., J of Immunol., 2003, 171: 5514-5520).

Sự biểu hiện C5aR được điều tiết tăng trên tế bào dạng sao để phản ứng, vi tế bào thần kinh, và tế bào nội mô trong hệ thần kinh trung ương bị viêm của người (Gasque, P. et al., Am. J. Pathol. 150: 31-41 (1997)). C5a có thể có liên quan trong bệnh thoái hóa thần kinh, như bệnh Alzheimer (Mukherjee, P. et al., J. Neuroimmunol. 105: 124-130 (2000); O'Barr, S. et al., J. Neuroimmunol. (2000) 105: 87-94; Farkas, I., et al. J. Immunol. (2003) 170:5764-5771), bệnh Parkinson, bệnh Pick và bệnh não dạng xốp truyền nhiễm. Sự hoạt hóa của C5aR thuộc neuron có thể gây ra sự chết tế bào theo chương trình (Farkas I et al. J. Physiol. 1998; 507: 679-687). Do đó, sự ức chế C5a và/hoặc C5aR cũng có thể hữu dụng để điều trị bệnh thoái hóa thần kinh.

Có một số bằng chứng cho thấy rằng sự sản xuất C5a làm tệ hơn chứng viêm có liên quan đến bệnh viêm da dị ứng (Neuber, K., et al., Immunology 73:83-87, (1991)), và bệnh mày đay mạn tính (Kaplan, A.P., J. Allergy Clin. Immunol. 114; 465-474, (2004)).

Bệnh vẩy nến hiện nay được biết là bệnh được điều tiết bởi tế bào T (Gottlieb, E. L. et al., Nat. Med. 1: 442-447 (1995)). Tuy nhiên, bạch cầu trung tính và các tế bào mast cũng có thể có liên quan đến việc phát sinh bệnh này (Terui, T. et al., Exp. Dermatol. 9: 1-10; 2000); Werfel, T. et al., Arch. Dermatol. Res. 289: 83-86 (1997)). Sự tích tụ bạch cầu trung tính dưới lớp sừng được quan sát thấy trong diện tích viêm mức độ cao của các mảng vẩy nến, và dịch từ vết thương (vảy) do bệnh vẩy nến chứa mức tăng cao của C5a và thể hiện hoạt tính hóa ứng động hiệu nghiệm đối với bạch cầu trung tính, tác động mà có thể được ức chế bằng cách bổ sung kháng thể C5a. Tế bào T và bạch cầu trung tính được hấp dẫn hóa học bởi C5a (Nataf, S. et al., J. Immunol. 162: 4018-4023 (1999); Tsuji, R. F. et al., J. Immunol. 165: 1588-1598 (2000); Cavaillon, J. M. et al., Eur. J. Immunol. 20: 253-257 (1990)). Ngoài ra, sự biểu hiện của C5aR đã được chứng tỏ ở các tế bào tua trong tương bào huyết (plasmacytoid dendritic cells - pDC) được tách ra từ các tổn thương của luput ban đỏ ở da và các tế bào này được thấy biểu lộ hoạt động hóa ứng động đối với C5a, gợi ý rằng sự phong bế C5aR trên pDC có thể có hiệu quả trong việc

làm giảm sự thấm pDC vào da bị viêm trong cả SLE và bệnh vảy nến. Do đó, C5a có thể là đích trị liệu quan trọng để điều trị bệnh vảy nến.

Phức chất miễn dịch chứa globulin miễn dịch G (IC) góp phần vào sinh lý bệnh học ở nhiều bệnh tự miễn, như luput ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp, bệnh Sjogren, hội chứng Goodpasture, và chứng viêm phổi quá mẫn (Madaio, M. P., Semin. Nephrol. 19: 48-56 (1999); Korganow, A. S. et al., Immunity 10: 451-459 (1999); Bolten, W. K., Kidney Int. 50: 1754-1760 (1996); Ando, M. et al., Curr. Opin. Pulm. Med. 3: 391-399 (1997)). Các bệnh này có tính không đồng nhất cao và nhìn chung ảnh hưởng đến một hoặc nhiều các cơ quan sau: da, mạch máu, khớp, thận, tim, phổi, hệ thần kinh và gan (bao gồm xơ gan và chứng xơ hóa gan). Mô hình thử nghiệm động vật cổ điển đối với đáp ứng viêm ở các bệnh IC này là phản ứng Arthus, mà đặc trưng bởi sự thấm của tế bào nhiều dạng nhân, chứng xuất huyết, và sự rỉ huyết tương (Arthus, M., C.R. Soc. Biol. 55: 817-824 (1903)). Các nghiên cứu gần đây cho thấy rằng chuột nhắt thiếu C5aR được bảo vệ khỏi tổn thương mô do IC gây ra (Kohl, J. et al., Mol. Immunol. 36: 893-903 (1999); Baumann, U. et al., J. Immunol. 164: 1065-1070 (2000)). Các kết quả này phù hợp với sự quan sát thấy rằng chất đối kháng kháng C5aR dạng peptit nhỏ ức chế đáp ứng viêm do sự lắng đọng IC gây ra (Strachan, A. J. et al., J. Immunol. 164: 6560-6565 (2000)). Cùng với thụ thể của nó, C5a đóng vai trò quan trọng trong việc phát sinh bệnh của bệnh IC. Chất ức chế của C5a và C5aR có thể hữu dụng để điều trị các bệnh này.

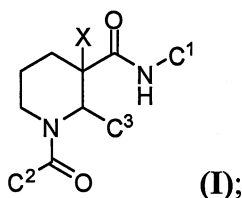
Mô tả tình trạng kỹ thuật có liên quan:

Chỉ gần đây, các chất đối kháng thụ thể C5a gốc không phải peptit mới được mô tả trong các tài liệu chuyên ngành: (ví dụ Sumichika, H., et al., J. Biol. Chem. (2002), 277, 49403-49407). Chất đối kháng thụ thể C5a gốc không phải peptit đã được báo cáo là có hiệu quả để điều trị sốc nội độc tố ở chuột cống (Strachan, A.J., et al., J. of Immunol. (2000), 164(12): 6560-6565); và để điều trị IBD trong mô hình thử nghiệm ở chuột cống (Woodruff, T.M., et al., J of Immunol., 2003, 171: 5514-5520). Chất điều biến thụ thể C5a gốc không phải peptit cũng đã được mô tả trong tài liệu patent bởi Neurogen Corporation, (ví dụ, WO2004/043925, WO2004/018460, WO2005/007087, WO03/082826, WO03/08828, WO02/49993, WO03/084524); Dompe S.P.A. (WO02/029187); và The University of Queensland (WO2004/100975).

Có bằng chứng thực nghiệm đáng kể trong các tài liệu chuyên ngành mà có liên quan đến mức tăng của C5a với nhiều bệnh và rối loạn, cụ thể là trong các bệnh và rối loạn tự miễn và viêm. Do vậy, vẫn cần có nhu cầu về các chất điều biến phân tử hữu cơ nhỏ mới, ví dụ, các chất chủ vận, tốt hơn nếu là chất đối kháng, chất chủ vận một phần, của thụ thể C5a (C5aR) trong lĩnh vực này mà hữu ích để ức chế các hiện tượng gây bệnh, ví dụ, quá trình hóa ứng động, có liên quan đến mức tăng của hoạt tính độc tố phản vệ. Sáng chế đáp ứng yêu cầu này và các yêu cầu khác nữa.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức:



và các muối, hydrat và rotame được dựng của chúng; trong đó

C¹ được chọn từ nhóm bao gồm aryl và heteroaryl, trong đó nhóm heteroaryl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O và S; và trong đó nhóm aryl và heteroaryl này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R¹;

C² được chọn từ nhóm bao gồm aryl và heteroaryl, trong đó nhóm heteroaryl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O và S; và trong đó nhóm aryl và heteroaryl này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R²;

C³ được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₈ alkyl, C₃₋₈ xycloalkyl, C₃₋₈ xycloalkyl-C₁₋₄ alkyl, aryl, aryl-C₁₋₄ alkyl, heteroaryl, heteroaryl-C₁₋₄ alkyl, heteroxycloalkyl hoặc heteroxycloalkyl-C₁₋₄ alkyl, trong đó nhóm hoặc phần heteroxycloalkyl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, và trong đó nhóm heteroaryl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O và S, và mỗi C³ tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R³;

mỗi R¹ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, -R^c, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -C(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a, -NR^bC(O)₂R^c, -NR^a-C(O)NR^aR^b, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -OR^a, và -S(O)₂NR^aR^b; trong đó mỗi R^a và R^b độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₈ alkyl, và C₁₋₈ haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ,

thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^a , R^b và R^c tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino; và tùy ý khi hai phần tử thế R^1 nằm trên các nguyên tử liền kề, được kết hợp để tạo thành vòng dạng vòng cacbon ngưng tụ có năm hoặc sáu cạnh;

mỗi R^2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-CN$, $-R^f$, $-CO_2R^d$, $-CONR^dR^e$, $-C(O)R^d$, $-OC(O)NR^dR^e$, $-NR^eC(O)R^d$, $-NR^eC(O)_2R^f$, $-NR^dC(O)NR^dR^e$, $-NR^dC(O)NR^dR^e$, $-NR^dR^e$, $-OR^d$, và $-S(O)_2NR^dR^e$; trong đó mỗi R^d và R^e độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^f độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^d , R^e và R^f tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino;

mỗi R^3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-CN$, $-R^i$, $-CO_2R^g$, $-CONR^gR^h$, $-C(O)R^g$, $-OC(O)NR^gR^h$, $-NR^hC(O)R^g$, $-NR^hC(O)_2R^i$, $-NR^gC(O)NR^gR^h$, $-NR^gR^h$, $-OR^g$, $-S(O)_2NR^gR^h$, $-X^4-R^j$, $-X^4-NR^gR^h$, $-X^4-CONR^gR^h$, $-X^4-NR^hC(O)R^g$, $-NHR^j$ và $-NHCH_2R^j$, trong đó X^4 là C_{1-4} alkylen; mỗi R^g và R^h độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O hoặc S và tùy ý được thế bằng một hoặc hai oxo; mỗi R^i độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl; và mỗi R^j được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl, pyrrolinyl, piperidinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, và tetrahydropyranyl, và trong đó phần béo và vòng của R^g , R^h , R^i và R^j tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, metyl, CF_3 , hydroxy, amino, alkylamino và dialkylamino; và

X là hydro hoặc CH_3 .

Ngoài các hợp chất được đề xuất ở đây, sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa một hoặc nhiều trong số các hợp chất này, cũng như phương pháp để sử dụng các hợp chất này trong phương pháp trị liệu, chủ yếu là để điều trị các bệnh có liên quan đến hoạt tính truyền tín hiệu C5a.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp chẩn đoán bệnh ở cá thể. Trong các phương pháp này, hợp chất được đề xuất ở đây được sử dụng ở dạng được đánh dấu cho đối tượng, tiếp đó là chụp hình chẩn đoán để xác định sự có mặt hoặc không có mặt của C5aR7. Theo khía cạnh có liên quan, phương pháp chẩn đoán bệnh được tiến hành bằng cách cho mẫu mô hoặc mẫu máu tiếp xúc với hợp chất đã được đánh dấu như được đề xuất ở đây và xác định sự có mặt, không có mặt, hoặc lượng C5aR trong mẫu.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện cấu trúc và hoạt tính của các hợp chất đại diện theo sáng chế. Các hợp chất này thường được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp như được mô tả chung dưới đây, cũng như các phương pháp được đưa ra trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

I. Chữ viết tắt và các định nghĩa

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "alkyl", một mình hoặc là một phần của phần tử thể khác, nghĩa là, gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có số lượng nguyên tử cacbon đã được chỉ rõ (tức là C₁₋₈ nghĩa là có từ một đến tám nguyên tử cacbon). Ví dụ về nhóm alkyl bao gồm metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, t-butyl, isobutyl, sec-butyl, n-pentyl, n-hexyl, n-heptyl, n-octyl, và các gốc tương tự. Thuật ngữ "alkenyl" dùng để chỉ nhóm alkyl không no có một hoặc nhiều liên kết đôi. Tương tự, thuật ngữ "alkynyl" dùng để chỉ nhóm alkyl không no có một hoặc nhiều liên kết ba. Ví dụ về nhóm alkyl không no như vậy bao gồm vinyl, 2-propenyl, crotyl, 2-isopentenyl, 2-(butadienyl), 2,4-pentadienyl, 3-(1,4-pentadienyl), etynyl, 1- và 3-propynyl, 3-butylnyl, và các chất đồng đẳng và chất đồng phân cao hơn. Thuật ngữ "xycloalkyl" dùng để chỉ vòng hydrocarbon có số lượng nguyên tử vòng đã được chỉ định (ví dụ, C₃₋₆xycloalkyl) và no hoàn toàn hoặc có không quá một liên kết đôi giữa các đỉnh vòng. "Xycloalkyl" còn dùng để chỉ vòng hydrocarbon dạng vòng đôi và đa vòng như, ví dụ,

bixyclo[2.2.1]heptan, bixyclo[2.2.2]octan, v.v.. Thuật ngữ "heteroxycloalkyl" dùng để chỉ nhóm xycloalkyl có chứa từ một đến năm nguyên tử khác loại được chọn từ N, O, và S, trong đó nguyên tử nitơ và lưu huỳnh tùy ý được oxy hóa, và (các) nguyên tử nitơ tùy ý được tạo bậc bốn. Heteroxycloalkyl có thể là hệ vòng đơn, vòng đôi hoặc đa vòng. Các ví dụ không giới hạn về nhóm heteroxycloalkyl bao gồm pyrrolidin, imidazolidin, pyrazolidin, butyrolactam, valerolactam, imidazolidinon, hydantoin, dioxolan, phtalimit, piperidin, 1,4-dioxan, morpholin, thiomorpholin, thiomorpholin-S-oxit, thiomorpholin-S,S-oxit, piperazin, pyran, pyridon, 3-pyrolin, thiopyran, pyron, tetrahydrofuran, tetrahydrothiophen, quinuclidin, và các chất tương tự. Nhóm heteroxycloalkyl có thể được gắn vào phần còn lại của phân tử qua nguyên tử cacbon của vòng hoặc nguyên tử khác loại.

Thuật ngữ "alkylen" một mình hoặc là một phần của phân tử thể khác nghĩa là gốc có hoá trị hai thu được từ alkan, được lấy làm ví dụ là $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$. Thông thường, nhóm alkyl (hoặc alkylen) sẽ có từ 1 đến 24 nguyên tử cacbon, trong đó các nhóm có 10 nguyên tử cacbon hoặc ít hơn là được ưu tiên theo sáng chế. "Alkyl bậc thấp" hoặc "alkylen bậc thấp" là nhóm alkyl hoặc alkylen mạch ngắn hơn, nhìn chung có bốn nguyên tử cacbon hoặc ít hơn. Tương tự, "alkenylen" và "alkynylen" lần lượt dùng để chỉ dạng không no của "alkylen" có liên kết đôi hoặc liên kết ba.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "heteroalkyl", một mình hoặc kết hợp với thuật ngữ khác, nghĩa là, gốc hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, hoặc vòng ổn định, hoặc các tổ hợp của chúng, gồm số lượng nguyên tử cacbon đã được nêu rõ và từ một đến ba nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm O, N, Si và S, và trong đó nguyên tử nitơ và lưu huỳnh có thể tùy ý được oxy hóa và nguyên tử nitơ khác loại có thể tùy ý được tạo bậc bốn. (Các) nguyên tử khác loại O, N và S có thể được đặt ở vị trí bên trong bất kỳ của nhóm heteroalkyl. Nguyên tử khác loại Si có thể được đặt ở vị trí bất kỳ của nhóm heteroalkyl, bao gồm vị trí mà tại đó nhóm alkyl được gắn vào phần còn lại của phân tử. Ví dụ bao gồm $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$, và $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$. Lên đến hai nguyên tử khác loại có thể liên tiếp nhau, như, ví dụ, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ và $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. Tương tự, trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "heteroalkenyl" và "heteroalkynyl" một mình hoặc kết hợp với thuật ngữ khác, nghĩa là, nhóm alkenyl hoặc nhóm alkynyl, một cách

tương ứng, chứa số lượng cacbon đã được nêu rõ và có từ một đến ba nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm O, N, Si và S, và trong đó nguyên tử nitơ và lưu huỳnh có thể tùy ý được oxy hóa và nguyên tử nitơ khác loại có thể tùy ý được tạo bậc bốn. (Các) nguyên tử khác loại O, N và S có thể được đặt ở vị trí bên trong bất kỳ của nhóm heteroalkyl.

Thuật ngữ "heteroalkylen" một mình hoặc là một phần của phân tử thể khác nghĩa là gốc có hoá trị hai, no hoặc không no hoặc không no ở nhiều vị trí, thu được từ heteroalkyl, như được lấy làm ví dụ là $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ và $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}(\text{H})\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ và $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-$. Đối với nhóm heteroalkylen, các nguyên tử khác loại cũng có thể chiếm một hoặc cả hai đầu tận cùng của mạch (ví dụ, alkylenoxy, alkylendioxy, alkylenamino, alkylendiamino, và các gốc tương tự).

Thuật ngữ "alkoxy," "alkylamino" và "alkylthio" (hoặc thioalkoxy) được sử dụng theo nghĩa thông thường của chúng, và dùng để chỉ các nhóm alkyl được gắn vào phần còn lại của phân tử qua nguyên tử oxy, nhóm amino, hoặc nguyên tử lưu huỳnh, một cách tương ứng. Ngoài ra, đối với nhóm dialkylamino, phần alkyl có thể giống nhau hoặc khác nhau và cũng có thể được kết hợp để tạo thành vòng có từ 3 đến 7 cạnh với nguyên tử nitơ mà mỗi phần được gắn vào. Do đó, nhóm được biểu thị dưới dạng $-\text{NR}^a\text{R}^b$ có nghĩa là bao gồm piperidinyl, pyrrolidinyl, morpholinyl, azetidinyl và các nhóm tương tự.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "halo" hoặc "halogen", một mình hoặc là một phần của phân tử thể khác, có nghĩa là, nguyên tử flo, clo, brom, hoặc iot. Ngoài ra, thuật ngữ như "haloalkyl," có nghĩa là bao gồm monohaloalkyl và polyhaloalkyl. Ví dụ, thuật ngữ " C_{1-4} haloalkyl" có nghĩa là bao gồm triflometyl, 2,2,2-trifloetyl, 4-clobutyl, 3-bromopropyl, và các gốc tương tự.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "aryl" nghĩa là, nhóm hydrocacbon không no ở nhiều vị trí, thường thơm, mà có thể là vòng đơn hoặc đa vòng (lên đến ba vòng) được ngưng tụ cùng với nhau hoặc được liên kết cộng hóa trị. Thuật ngữ "heteroaryl" dùng để chỉ nhóm (hoặc vòng) aryl có chứa từ một đến năm nguyên tử khác loại được chọn từ N, O, và S, trong đó nguyên tử nitơ và lưu huỳnh tùy ý được oxy hóa, và (các) nguyên tử nitơ tùy ý được tạo bậc bốn. Nhóm heteroaryl có thể được gắn vào phần còn lại của phân tử qua nguyên tử khác loại. Ví dụ không giới hạn về nhóm aryl bao gồm phenyl, naphtyl

và biphenyl, trong khi ví dụ không giới hạn về nhóm heteroaryl bao gồm pyridyl, pyridazinyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, triazinyl, quinoliny, quinoxaliny, quinazolinyl, xinoliny, phtalazinyl, benzotriazinyl, purinyl, benzimidazolyl, benzopyrazolyl, benzotriazolyl, benzisoxazolyl, isobenzofuryl, isoindolyl, indoliziny, benzotriazinyl, thienopyridinyl, thienopyrimidinyl, pyrazolopyrimidinyl, imidazopyridin, benzothiazolyl, benzofuranyl, benzothienyl, indolyl, quinolyl, isoquinolyl, isothiazolyl, pyrazolyl, indazolyl, pteridinyl, imidazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiadiazolyl, pyroryl, thiazolyl, furyl, thienyl và các nhóm tương tự. Các phần tử thể đối với mỗi một trong số các hệ vòng aryl và heteroaryl được lưu ý trên đây được chọn từ nhóm bao gồm các phần tử thể có thể chấp nhận được được mô tả dưới đây.

Nói ngắn gọn, thuật ngữ "aryl" khi được sử dụng kết hợp với các thuật ngữ khác (ví dụ, aryloxy, arylthioxy, arylalkyl) bao gồm cả vòng aryl và vòng heteroaryl như được xác định trên đây. Do vậy, thuật ngữ "arylalkyl" có nghĩa là bao gồm các gốc trong đó nhóm aryl được gắn vào nhóm alkyl (ví dụ, benzyl, phenetyl, pyridylmetyl và các gốc tương tự).

Các thuật ngữ trên đây (ví dụ, "alkyl", "aryl" và "heteroaryl"), theo một số phương án, sẽ bao gồm cả dạng được thế và không được thế của gốc được chỉ định. Các phần tử thể được ưu tiên đối với mỗi loại gốc được đưa ra dưới đây. Nói ngắn gọn, thuật ngữ aryl và heteroaryl sẽ dùng để chỉ các kiểu được thế hoặc không được thế như được đưa ra dưới đây, trong khi thuật ngữ "alkyl" và các gốc béo có liên quan có nghĩa là dùng để chỉ kiểu không được thế, trừ khi được chỉ rõ là được thế.

Các phần tử thể đối với gốc alkyl (bao gồm các nhóm thường được gọi là alkylen, alkenyl, alkynyl và xycloalkyl) có thể là nhiều nhóm khác nhau được chọn từ: -halogen, -OR', -NR'R'', -SR', -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR''R''', -NR''C(O)₂R', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -CN và -NO₂ với số lượng nằm trong khoảng từ 0 đến (2 m'+1), trong đó m' là tổng số lượng nguyên tử cacbon trong gốc này. Mỗi R', R'' và R''' độc lập chỉ hydro, C₁₋₈ alkyl không được thế, heteroalkyl không được thế, aryl không được thế, aryl được thế bằng từ 1 đến 3 halogen, C₁₋₈ alkyl không được thế, nhóm C₁₋₈ alkoxy hoặc C₁₋₈ thioalkoxy, hoặc nhóm aryl-C₁₋₄ alkyl không được thế. Khi R' và R'' được gắn vào cùng một nguyên tử

nitơ, chúng có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có 3, 4, 5, 6, hoặc 7 cạnh. Ví dụ, -NR'R'' có nghĩa là bao gồm 1-pyrrolidinyl và 4-morpholinyl. Thuật ngữ "axyl" như được sử dụng một mình hoặc dưới dạng một phần của nhóm khác dùng để chỉ gốc alkyl trong đó hai phần tử thế trên cacbon gần nhất với điểm gắn đối với gốc được thay bằng phần tử thế =O (ví dụ, -C(O)CH₃, -C(O)CH₂CH₂OR' và các gốc tương tự).

Tương tự, các phần tử thế đối với nhóm aryl và heteroaryl được thay đổi và thường được chọn từ: -halogen, -OR', -OC(O)R', -NR'R'', -SR', -R', -CN, -NO₂, -CO₂R', -CONR'R'', -C(O)R', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR''C(O)₂R', -NR'-C(O)NR''R''', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -N₃, perflo(C₁-C₄)alkoxy, và perflo(C₁-C₄)alkyl, với số lượng nằm trong khoảng từ 0 đến tổng số lượng hóa trị mở trên hệ vòng thơm; và trong đó R', R'' và R''' độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₈ alkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, C₂₋₈ alkenyl, C₂₋₈ alkynyl, aryl và heteroaryl không được thế, (aryl không được thế)-C₁₋₄ alkyl, và aryloxy-C₁₋₄ alkyl không được thế. Các phần tử thế thích hợp khác bao gồm mỗi một trong số các phần tử thế aryl trên đây được gắn vào nguyên tử vòng bởi dây alkylen có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon.

Hai trong số các phần tử thế trên các nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể tùy ý được thay bằng phần tử thế có công thức -T-C(O)-(CH₂)_q-U-, trong đó T và U độc lập là -NH-, -O-, -CH₂- hoặc liên kết đơn, và q là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2. Theo cách khác, hai trong số các phần tử thế trên các nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể tùy ý được thay bằng phần tử thế có công thức -A-(CH₂)_r-B-, trong đó A và B độc lập là -CH₂-, -O-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'- hoặc liên kết đơn, và r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 3. Một trong số các liên kết đơn của vòng mới được tạo thành như vậy có thể tùy ý được thay bằng liên kết đôi. Theo cách khác, hai trong số các phần tử thế trên các nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể tùy ý được thay bằng phần tử thế có công thức -(CH₂)_s-X-(CH₂)_t-, trong đó s và t độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3, và X là -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, hoặc -S(O)₂NR'-. Phần tử thế R' trong -NR'- và -S(O)₂NR'- được chọn từ hydro hoặc C₁₋₆ alkyl không được thế.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "nguyên tử khác loại" có nghĩa là bao gồm oxy (O), nitơ (N), lưu huỳnh (S) và silic (Si).

Thuật ngữ "chất lỏng dạng ion" dùng để chỉ chất lỏng bất kỳ chứa chủ yếu là các ion. Tốt hơn là, theo sáng chế, "chất lỏng dạng ion" dùng để chỉ các muối có điểm nóng chảy tương đối thấp (ví dụ, dưới 250°C). Ví dụ về các chất lỏng dạng ion bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 1-butyl-3-metylimidazolium tetrafloroborat, 1-hexyl-3-metylimidazolium tetrafloroborat, 1-octyl-3-metylimidazolium tetrafloroborat, 1-nonyl-3-metylimidazolium tetrafloroborat, 1-dexyl-3-metylimidazolium tetrafloroborat, 1-hexyl-3-metylimidazolium hexaflorophosphat và 1-hexyl-3-metylimidazolium bromua, và các chất tương tự.

Thuật ngữ "muối được dụng" có nghĩa là bao gồm các muối của hợp chất hoạt tính được điều chế với axit hoặc bazơ tương đối không độc, tùy thuộc vào phần tử thể cụ thể được tìm thấy trên hợp chất được mô tả ở đây. Khi hợp chất theo sáng chế có chứa độ chức tương đối axit, các muối cộng bazơ có thể thu được bằng cách cho dạng trung tính của hợp chất này tiếp xúc với đủ lượng bazơ mong muốn, nguyên chất hoặc trong dung môi trơ thích hợp. Ví dụ về các muối được dẫn xuất từ các bazơ vô cơ được dụng bao gồm nhôm, amoni, canxi, đồng, sắt (III), sắt (II), lithi, magie, mangan (III), mangan (II), kali, natri, kẽm và dạng tương tự. Các muối được dẫn xuất từ các bazơ hữu cơ được dụng bao gồm các muối của amin bậc một, bậc hai và bậc ba, bao gồm amin được thế, amin vòng, amin có trong tự nhiên và các amin tương tự, như arginin, betain, cafein, cholin, N,N'-dibenzyletylendiamin, dietylamin, 2-dietylaminioetanol, 2-dimetylaminioetanol, etanolamin, etylendiamin, N-etylmorpholin, N-etylpiperidin, glucamin, glucosamin, histidin, hydrabamin, isopropylamin, lysin, metylglucamin, morpholin, piperazin, piperadin, nhựa polyamin, procain, purin, theobromin, trietylamin, trimetylamin, tripropylamin, trometamin và dạng tương tự. Khi hợp chất theo sáng chế chứa độ chức tương đối bazơ, muối cộng axit có thể thu được bằng cách cho dạng trung tính của hợp chất này tiếp xúc với đủ lượng axit mong muốn, nguyên chất hoặc trong dung môi trơ thích hợp. Ví dụ về muối cộng axit được dụng bao gồm các muối được dẫn xuất từ axit vô cơ như axit clohydric, axit bromhydric, axit nitric, axit cacbonic, axit monohydrocacbonic, axit phosphoric, axit monohydrophosphoric, axit dihydrophosphoric, axit sulfuric, axit monohydrosulfuric, axit iothydric, hoặc axit phosphoric và các axit tương tự, cũng như các muối được dẫn xuất từ axit hữu cơ tương

đôi không độc như axit axetic, axit propionic, axit isobutyric, axit malonic, axit benzoic, axit succinic, axit suberic, axit fumaric, axit mandelic, axit phthalic, axit benzenesulfonic, axit p-tolylsulfonic, axit citric, axit tartaric, axit metanesulfonic, và các axit tương tự. Cũng được bao gồm là các muối của axit amin như arginat và các muối tương tự, và các muối của axit hữu cơ như axit glucuronic hoặc axit galacturonic và các axit tương tự (xem, ví dụ, Berge, S.M., et al, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, **1977**, 66, 1-19). Một số hợp chất cụ thể nhất định theo sáng chế có chứa cả độ chức bazơ và độ chức axit mà cho phép hợp chất được chuyển hóa thành muối cộng bazơ hoặc axit.

Dạng trung tính của hợp chất có thể được tái tạo bằng cách cho muối tiếp xúc với bazơ hoặc axit và phân tách hợp chất gốc theo cách thông thường. Dạng gốc của hợp chất này khác với các dạng muối khác nhau ở một số tính chất vật lý nhất định, như độ tan trong dung môi phân cực, nhưng theo cách khác, các muối này là tương đương với dạng gốc của hợp chất đối với các mục đích của sáng chế.

Ngoài dạng muối, sáng chế còn đề xuất hợp chất ở dạng tiền dược chất. Tiền dược chất của hợp chất được mô tả ở đây là các hợp chất mà dễ dàng trải qua các biến đổi hóa học trong các điều kiện sinh lý để tạo ra hợp chất theo sáng chế. Ngoài ra, tiền dược chất có thể được chuyển hóa thành hợp chất theo sáng chế bằng phương pháp hóa học hoặc hóa sinh trong môi trường *ex vivo*. Ví dụ, tiền dược chất có thể được chuyển hóa dần dần thành hợp chất theo sáng chế khi được đặt trong túi của miếng dán trên da với enzym hoặc chất phản ứng hóa học thích hợp.

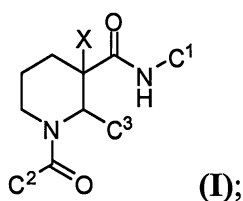
Một số hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng không được solvat hóa cũng như dạng được solvat hóa, bao gồm dạng hydrat hóa. Nói chung, dạng được solvat hóa là tương đương với dạng không được solvat hóa và được dự định để được bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Một số hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng đa tinh thể hoặc dạng vô định hình. Nói chung, tất cả các trạng thái vật lý là tương đương đối với các ứng dụng được đề xuất bởi sáng chế và được dự định là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Một số hợp chất nhất định theo sáng chế có nguyên tử cacbon không đối xứng (tâm quang học) hoặc liên kết đôi; chất triệt quang, chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân hình học, chất đồng phân vùng và chất đồng phân riêng lẻ (ví dụ, chất đồng phân đối ảnh tồn tại riêng rẽ), tất cả đều được dự định để được bao gồm trong phạm

vi của sáng chế. Hợp chất theo sáng chế có thể còn chứa tỷ lệ không tự nhiên của các chất đồng vị nguyên tử ở một hoặc nhiều nguyên tử cấu thành hợp chất này. Ví dụ, hợp chất có thể được đánh dấu phóng xạ bằng chất đồng vị phóng xạ, ví như triti (^3H), iot-125 (^{125}I) hoặc cacbon-14 (^{14}C). Tất cả các biến đổi đồng vị của hợp chất theo sáng chế, dù là có hoạt tính phóng xạ hay không, đều được dự định để được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

II. Hợp chất

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



và các muối, hydrat và rotame được dựng của chúng; trong đó

C^1 được chọn từ nhóm bao gồm aryl và heteroaryl, trong đó nhóm heteroaryl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O và S; và trong đó nhóm aryl và heteroaryl này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^1 ;

C^2 được chọn từ nhóm bao gồm aryl và heteroaryl, trong đó nhóm heteroaryl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O và S; và trong đó nhóm aryl và heteroaryl này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^2 ;

C^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{3-8} xycloalkyl, C_{3-8} xycloalkyl- C_{1-4} alkyl, aryl, aryl- C_{1-4} alkyl, heteroaryl, heteroaryl- C_{1-4} alkyl, heteroxycloalkyl hoặc heteroxycloalkyl- C_{1-4} alkyl, trong đó nhóm hoặc phần heteroxycloalkyl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, và trong đó nhóm heteroaryl có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O và S, và mỗi C^3 tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^3 ;

mỗi R^1 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-\text{CN}$, $-\text{R}^c$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, $-\text{CONR}^a\text{R}^b$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^b\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{NR}^b\text{C}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-\text{NR}^a-\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{C}(\text{O})\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, $-\text{OR}^a$, và $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^a\text{R}^b$; trong đó mỗi R^a và R^b độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh

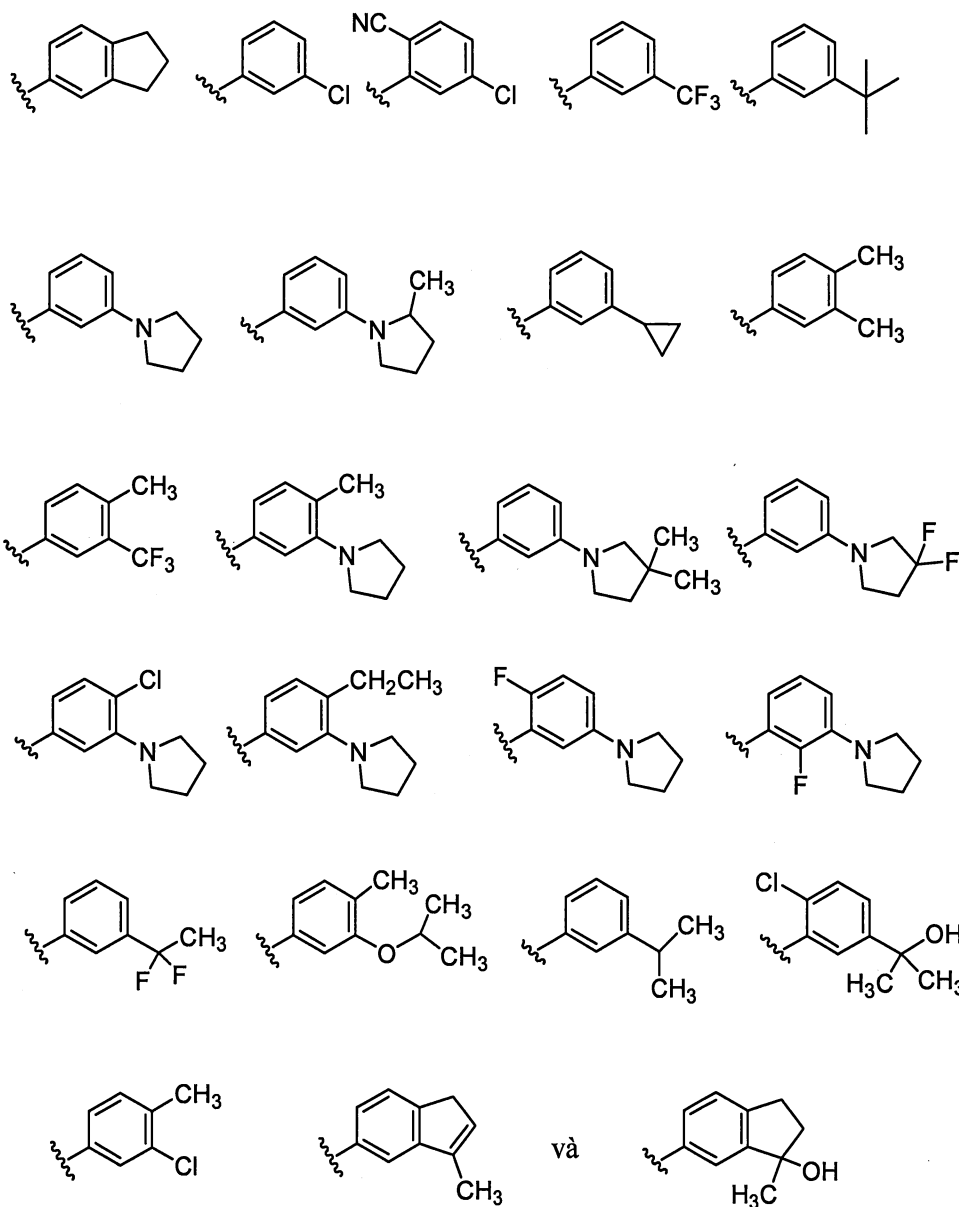
có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^a , R^b và R^c tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino; và tùy ý khi hai phần tử thế R^1 nằm trên các nguyên tử liền kề, được kết hợp để tạo thành vòng dạng vòng cacbon ngưng tụ có năm hoặc sáu cạnh;

mỗi R^2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, $-R^f$, $-CO_2R^d$, $-CONR^dR^e$, $-C(O)R^d$, $-OC(O)NR^dR^e$, $-NR^eC(O)R^d$, $-NR^eC(O)_2R^f$, $-NR^dC(O)NR^dR^e$, $-NR^dC(O)NR^dR^e$, $-NR^dR^e$, $-OR^d$, và $-S(O)_2NR^dR^e$; trong đó mỗi R^d và R^e độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^f độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^d , R^e và R^f tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino;

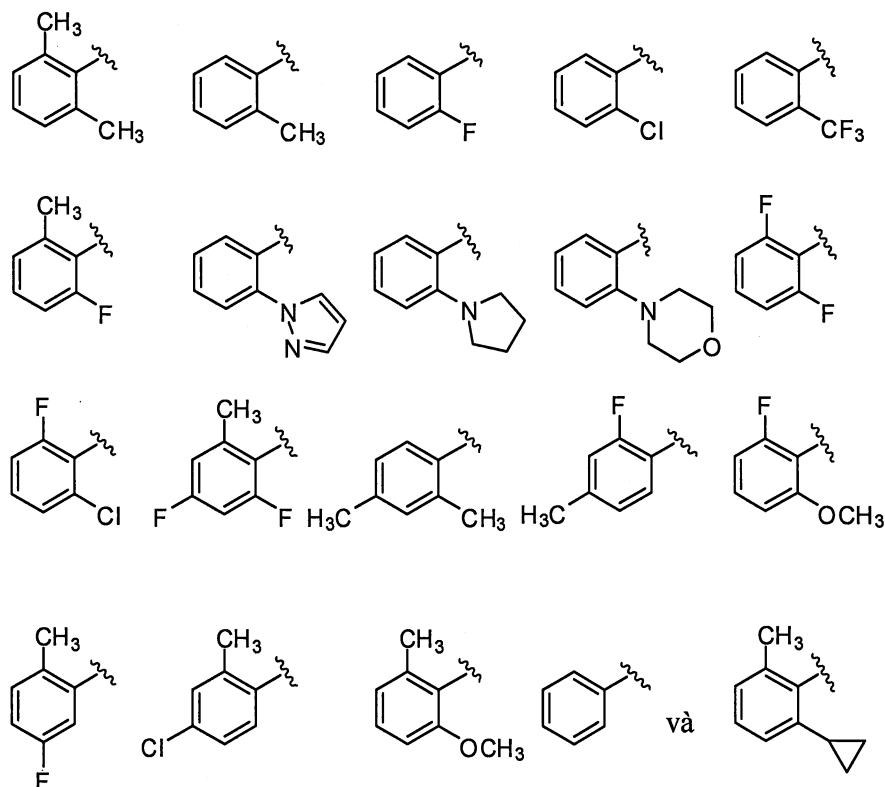
mỗi R^3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, $-R^i$, $-CO_2R^g$, $-CONR^gR^h$, $-C(O)R^g$, $-OC(O)NR^gR^h$, $-NR^hC(O)R^g$, $-NR^hC(O)_2R^i$, $-NR^gC(O)NR^gR^h$, $-NR^gR^h$, $-OR^g$, $-S(O)_2NR^gR^h$, $-X^4-R^j$, $-X^4-NR^gR^h$, $-X^4-CONR^gR^h$, $-X^4-NR^hC(O)R^g$, $-NHR^j$ và $-NHCH_2R^j$, trong đó X^4 là C_{1-4} alkylen; mỗi R^g và R^h độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O hoặc S và tùy ý được thế bằng một hoặc hai oxo; mỗi R^i độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl; và mỗi R^j được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl, pyrrolinyl, piperidinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, và tetrahydropyranyl, và trong đó phần béo và vòng của R^g , R^h , R^i và R^j tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, metyl, CF_3 , hydroxy, amino, alkylamino và dialkylamino; và

X là hydro hoặc CH_3 .

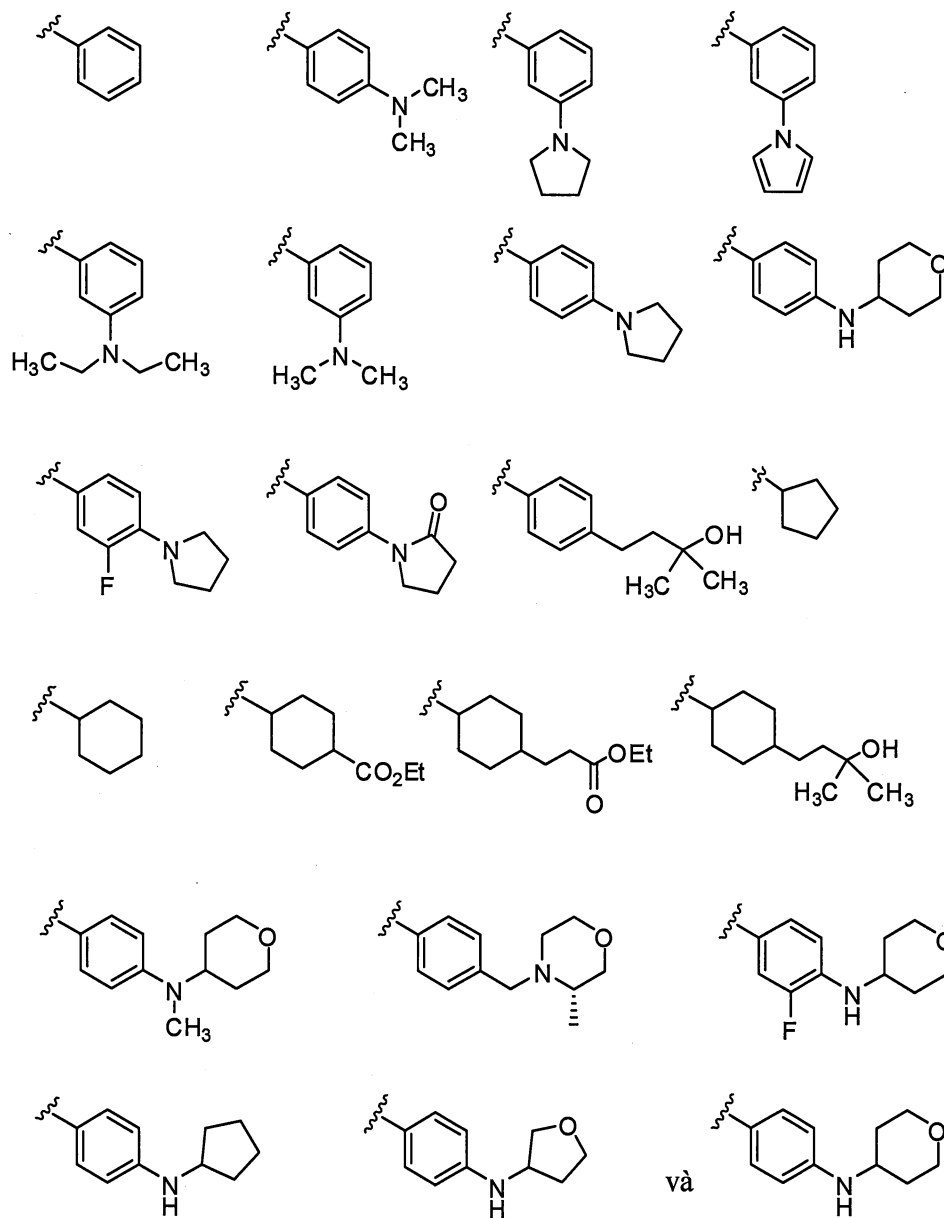
Trong công thức I, phần tử thế C^1 , theo một phương án, được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, pyridyl, indolyl và thiazolyl, mỗi phần tử thế này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^1 . Tốt hơn là, mỗi R^1 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, $-R^c$, $-NR^aR^b$ và $-OR^a$, và trong đó mỗi R^a và R^b độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ để tạo thành vòng pyrrolidin; mỗi R^c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl và C_{3-6} xycloalkyl, và trong đó phần béo và vòng của R^a , R^b và R^c tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino; và tùy ý khi hai phần tử thế R^1 nằm trên các nguyên tử liền kề, được kết hợp để tạo thành vòng dạng vòng cacbon ngưng tụ có năm hoặc sáu cạnh. Theo phương án được chọn của sáng chế, C^1 được chọn từ:



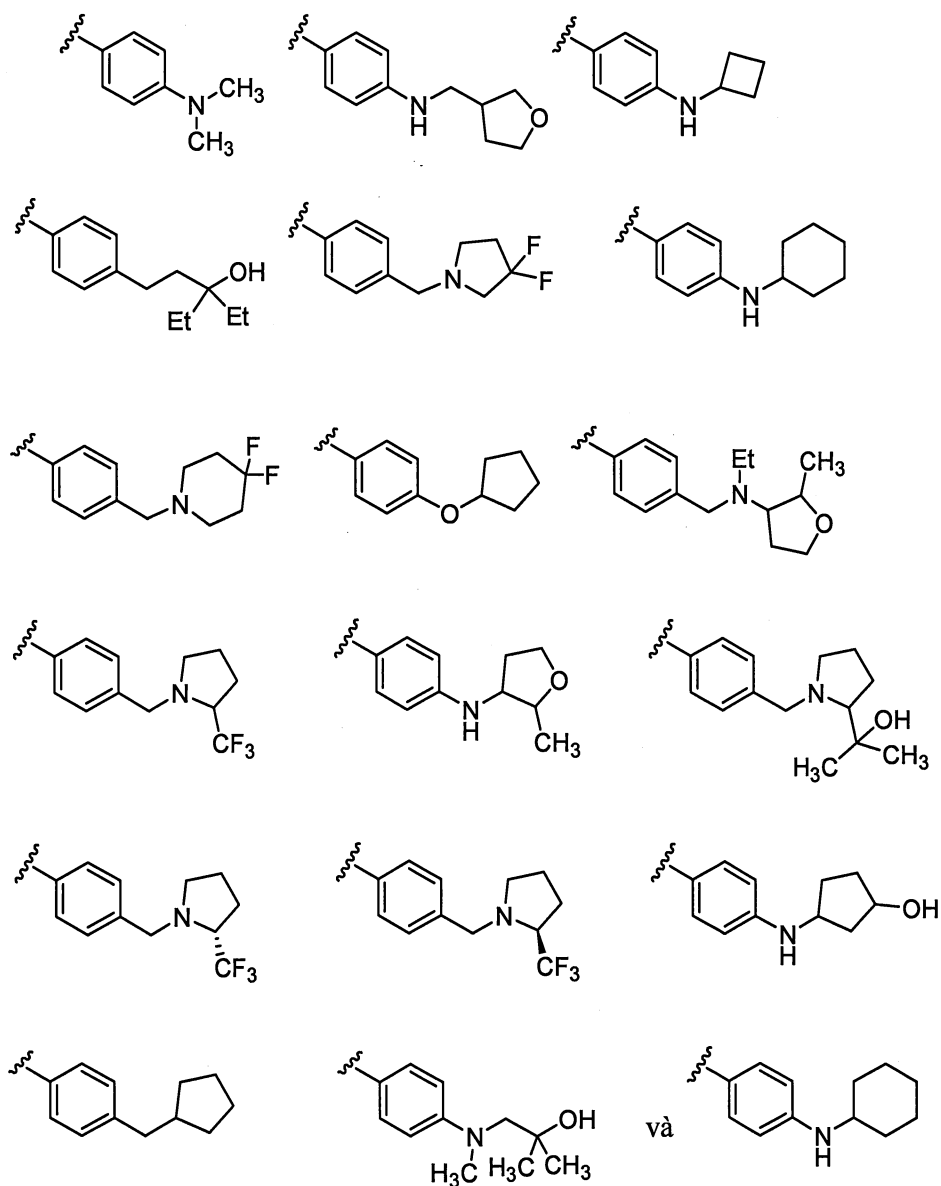
Quay trở lại công thức I, phần tử thế C^2 , theo một phương án, được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, naphthyl, pyridyl và indolyl, mỗi phần tử thế tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^2 . Tốt hơn là, mỗi R^2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-R^f$ và $-OR^d$; trong đó mỗi R^d độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl; mỗi R^f độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^d và R^f tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino. Theo các phương án được chọn của sáng chế, C^2 được chọn từ nhóm bao gồm:



Phần tử thế C^3 , theo một số phương án, được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl C_{1-2} alkyl, phenyl, pyridinyl, pyrazolyl, piperidinyl, pyrrolidinyl, piperidinylmetyl và pyrrolidinylmetyl, mỗi phần tử thế này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^3 . Tốt hơn là, mỗi R^3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-R^i$, $-\text{CO}_2R^g$, $-\text{CONR}^gR^h$, $-\text{NR}^h\text{C}(\text{O})R^g$, $-\text{NR}^h\text{C}(\text{O})_2R^i$, $-\text{NR}^gR^h$, $-\text{OR}^g$, $-\text{X}^4-R^j$, $-\text{X}^4-\text{NR}^gR^h$, $-\text{X}^4-\text{CONR}^gR^h$, $-\text{X}^4-\text{NR}^h\text{C}(\text{O})R^g$, $-\text{NHR}^j$ và $-\text{NHCH}_2R^j$, trong đó X^4 là C_{1-3} alkylen; mỗi R^g và R^h độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 1 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O hoặc S và tùy ý được thế bằng một hoặc hai oxo; mỗi R^i độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl; và mỗi R^j được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl, pyrrolinyl, piperidinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, và tetrahydropyranyl, và trong đó phần béo và vòng của R^g , R^h , R^i và R^j tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, metyl, CF_3 , hydroxy, amino, alkylamino và dialkylamino. Theo các phương án được chọn của sáng chế, C^3 được chọn từ nhóm bao gồm:



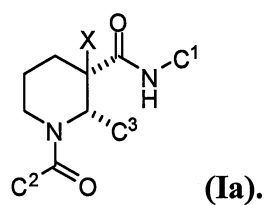
Theo các phương án khác, C³ được chọn từ nhóm bao gồm:



Quay trở lại công thức I, X tốt hơn là H.

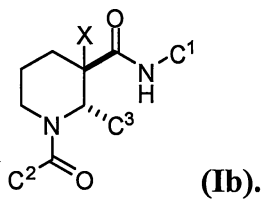
Các công thức phụ của công thức I:

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức I có công thức phụ **Ia**:

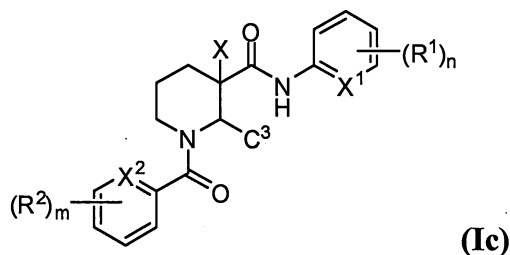


Theo phương án thứ hai của sáng chế, hợp chất có công thức I có công thức phụ

Ib:

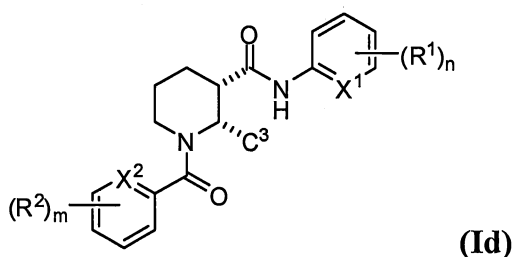


Theo phương án thứ ba của sáng chế, hợp chất có công thức I có công thức phụ **Ic**:



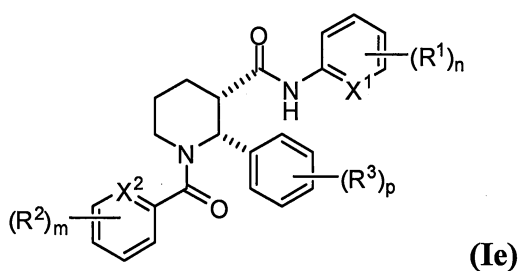
trong đó X^1 được chọn từ nhóm bao gồm N, CH và CR^1 ; chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2; X^2 được chọn từ nhóm bao gồm N, CH và CR^2 ; và chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2.

Theo phương án thứ tư của sáng chế, hợp chất có công thức I có công thức phụ **Id**:



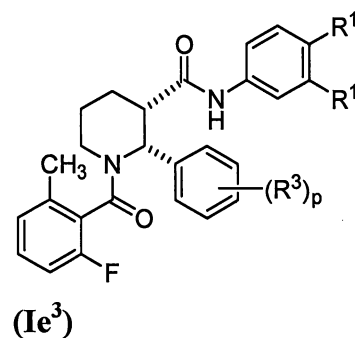
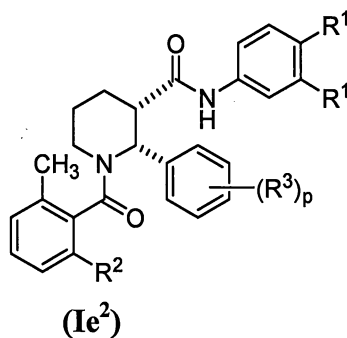
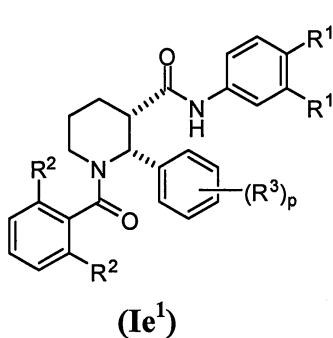
trong đó X^1 được chọn từ nhóm bao gồm N, CH và CR^1 ; chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2; X^2 được chọn từ nhóm bao gồm N, CH và CR^2 ; và chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2.

Theo phương án thứ năm của sáng chế, hợp chất có công thức I có công thức phụ **Ie**:



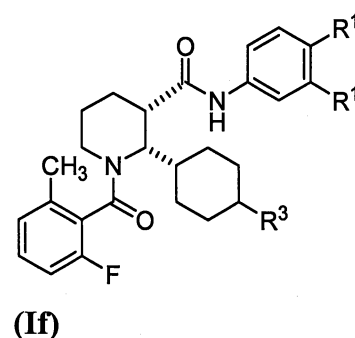
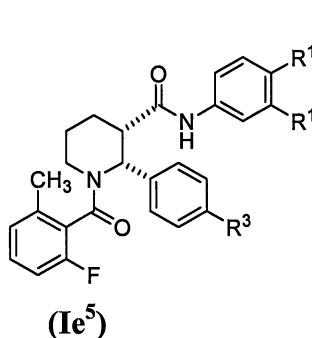
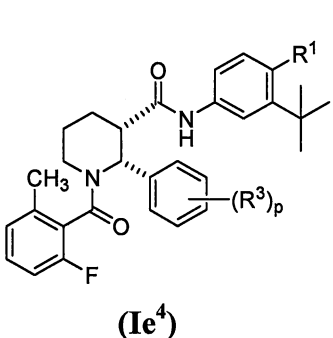
trong đó chỉ số dưới p là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3; X^1 được chọn từ nhóm bao gồm N, CH và CR^1 ; chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2; X^2 được chọn từ nhóm bao gồm N, CH và CR^2 ; và chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2.

Theo các phương án được chọn khác, hợp chất theo sáng chế được biểu thị bằng:



trong đó tất cả các phần tử thế R^1 , R^2 và R^3 , và chỉ số dưới p đều có nghĩa như được đưa ra đối với công thức I.

Theo các phương án được chọn khác, hợp chất theo sáng chế được biểu thị bằng:



trong đó tất cả các phần tử thế R^1 và R^3 , và chỉ số dưới p đều có nghĩa như được đưa ra đối với công thức I.

Theo nhóm phương án được đặc biệt ưu tiên, hợp chất theo sáng chế được biểu thị bằng công thức **(Ie⁵)**, trong đó R^3 là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm $-NR^gR^h$, $-NHR^j$ và $-NHCH_2R^j$, và mỗi R^g , R^h và R^j có nghĩa như được đưa ra đối với công thức I.

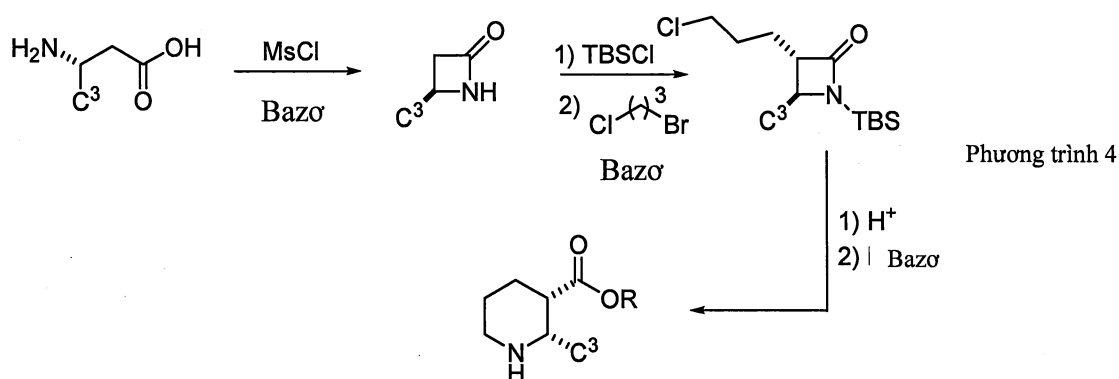
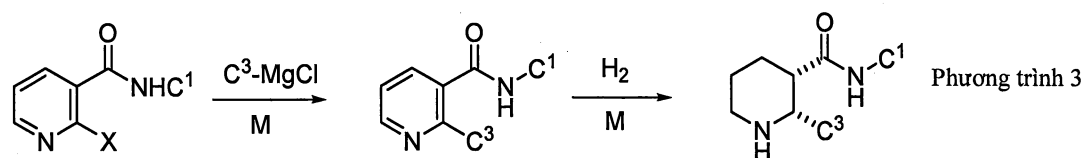
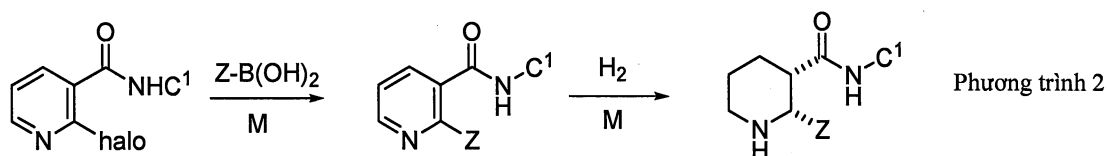
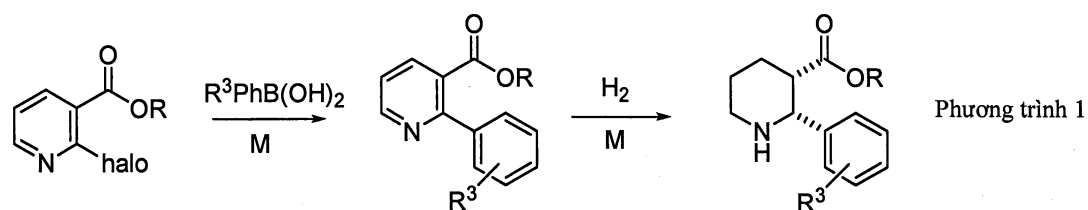
Theo nhóm phương án được đặc biệt ưu tiên khác, hợp chất theo sáng chế được biểu thị bằng công thức **(Ie⁵)**, trong đó R^3 là phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm $-X^4-NR^gR^h$, $-X^4-R^j$ và $-X^4-NR^hCOR^g$, và mỗi trong số X^4 , R^g , R^h và R^j có nghĩa như được đưa ra đối với công thức I.

Hợp chất theo sáng chế có công thức I có thể tồn tại ở các dạng đồng phân không đối quang khác nhau, ví dụ, phần tử thế C^1 và C^2 trong công thức phụ Ia và Ic có thể là cis đối với nhau hoặc trans đối với nhau. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ cis hoặc trans được sử dụng theo nghĩa thông thường của chúng trong lĩnh vực hóa học, tức là để chỉ vị trí của các phần tử thế với nhau so với mặt phẳng quy chiếu, ví dụ, liên kết đôi, hoặc hệ vòng, như hệ vòng loại decalin hoặc hệ vòng hydroquinolon: trong chất đồng phân cis, các phần tử thế nằm ở cùng một phía của mặt phẳng quy chiếu, trong chất đồng phân trans, các phần tử thế nằm trên các phía đối diện nhau. Ngoài ra, các cấu hình riêng khác nhau cũng được đề xuất bởi sáng chế, cũng như các rotame riêng biệt. Các cấu hình riêng là các chất đồng phân cấu hình riêng mà có thể khác nhau bởi sự quay khoảng một hoặc nhiều liên kết σ . Rotame là dạng cấu hình riêng mà khác nhau bởi sự quay khoảng chỉ một liên kết σ .

Điều chế các hợp chất

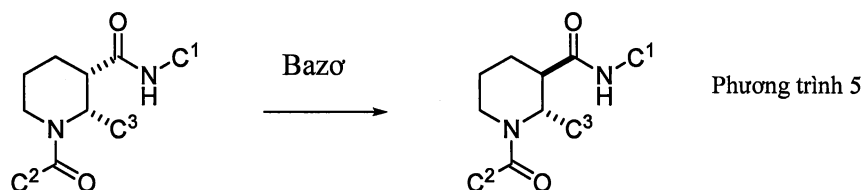
Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận thấy rằng có nhiều phương pháp sẵn có để tổng hợp các phân tử được nêu trong các điểm yêu cầu bảo hộ. Nhìn chung, phương pháp hữu ích để tổng hợp các hợp chất được nêu trong các điểm yêu cầu bảo hộ gồm bốn phần, mà có thể được tiến hành theo trình tự bất kỳ: tạo thành vòng piperidin, thiết lập hai amit liên kết, và thiết lập và/hoặc cải biến các nhóm chức trên C^1 , C^2 , và C^3 .

Một số phương pháp để điều chế hợp chất được bảo hộ được minh họa dưới đây (phương trình 1-6).

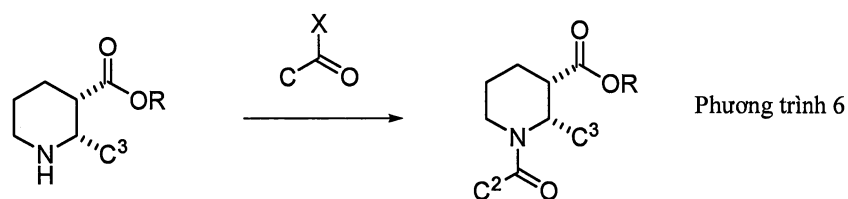


Các phương trình 1-4 biểu thị một số phương pháp tạo thành vòng piperidin. Việc liên hợp ở vị trí 2 của vòng pyridin có thể được thực hiện thông qua sự liên hợp qua trung gian kim loại chuyển tiếp như được thể hiện trên phương trình 1-2, hoặc phản ứng cộng được xúc tác bởi kim loại của loại kim loại hữu cơ như zincat hoặc muối magie (phương trình 3). Tiếp theo việc liên hợp ở vị trí 2, việc hydro hóa qua trung gian kim loại chuyển tiếp của vòng pyridin tạo ra hệ vòng piperidin (phương trình 1-3). Phương pháp khác tạo ra sự tinh tạo của β -axit amin đối với vòng piperidin như được mô tả trong phương trình 4. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận thấy rằng nhiều phương pháp tổng hợp có thể tạo ra piperidin được thể, bao gồm sự tạo vòng C-C hoặc C-N của các tiền chất không vòng thông qua sự alkyl hóa hoặc phản ứng trao đổi đóng vòng. Hóa học lập thể tương đối có thể được điều chỉnh bởi nhiều phương pháp, bao gồm tính chọn lọc bề mặt trong bước hydro hóa. Hóa học lập thể tuyệt đối

cũng có thể được điều chỉnh thông qua nhiều phương pháp, bằng cách sử dụng các phối tử không đối xứng hoặc chất phụ trợ không đối xứng, phân tách các chất đồng phân không đối quang không đối xứng, sử dụng nguyên liệu ban đầu không đối xứng, hoặc hòa tan lại theo cách cổ điển. Hợp chất với hóa học lập thể 2,3-trans có thể có hóa học lập thể tương đối được điều chỉnh trong quá trình tạo thành piperidin, hoặc có thể thu được thông qua sự epime hoá 2,3-cis piperidin như được minh họa trong phương trình 5.



Việc axyl hóa vòng piperidin được mô tả trong phương trình 6. Trong trường hợp phương trình 6, X có thể được chọn từ nhóm thích hợp như OH, Cl và F, hoặc từ nhóm bất kỳ có khả năng hoạt hóa nhóm cacbonyl để cộng amin (ví dụ, OSu, imidazol, v.v.). Các phản ứng liên hợp này có thể được trợ giúp bằng cách sử dụng các bazơ vô cơ hoặc hữu cơ, chất hoạt hóa như HBTU, và cả bằng các chất xúc tác, cụ thể là bằng các chất xúc tác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này mà trợ giúp việc tạo thành liên kết amit, như DMAP, HOBT, v.v.. Các thành phần liên hợp đi kèm thích hợp bao gồm axit carboxylic và piperidin, axyl florua và amin và v.v.. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận thấy rằng có thể có các hỗn hợp khác mà cũng sẽ tạo ra sản phẩm mong muốn.



Nhiều phương pháp được mô tả trên đây đã được sử dụng để điều chế hợp chất theo sáng chế, một số phương pháp trong đó được mô tả trong phần ví dụ.

Họ các hợp chất cụ thể được đặc biệt quan tâm có công thức I gồm hợp chất, muối, hydrat và rotame được dựng của chúng, như nêu trên Fig.1.

III. Dược phẩm

Ngoài hợp chất được đề xuất trên đây, dược phẩm để điều biến hoạt tính C5a ở người và động vật thường sẽ chứa chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

Thuật ngữ "dược phẩm" như được sử dụng ở đây được dự định gồm sản phẩm bao gồm các thành phần cụ thể với lượng cụ thể, cũng như sản phẩm bất kỳ mà tạo ra, trực tiếp hoặc gián tiếp, từ hỗn hợp của các thành phần cụ thể với lượng cụ thể. Thuật ngữ "dược dụng" có nghĩa là chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược phải tương thích được với các thành phần khác của dược phẩm và không độc với đối tượng nhận chúng.

Dược phẩm để sử dụng hợp chất theo sáng chế có thể có mặt một cách tiện lợi ở dạng đơn vị liều lượng và có thể được bào chế theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực dược phẩm và phân phối thuốc. Tất cả các phương pháp đều gồm bước đưa thành phần hoạt tính kết hợp với chất mang mà tạo thành một hoặc nhiều thành phần phụ. Nhìn chung, dược phẩm được bào chế bằng cách đưa một cách đồng đều và kỹ thành phần hoạt tính kết hợp với chất mang lỏng hoặc chất mang rắn đã nghiền mịn hoặc cả hai, và sau đó, nếu cần, tạo hình sản phẩm thành chế phẩm mong muốn. Trong dược phẩm, hợp chất hoạt tính được bao gồm với lượng đủ để tạo ra tác dụng mong muốn trong tiến trình hoặc tình trạng bệnh lý của bệnh.

Dược phẩm chứa thành phần hoạt tính có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng, ví dụ, dưới dạng viên nén, viên thuốc dẹt và tròn, viên thuốc hình thoi, hỗn dịch trong nước hoặc trong dầu, bột hoặc hạt dễ phân tán, nhũ tương và các thể tự nhũ hóa như được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2002-0012680, viên nang cứng hoặc mềm, sirô, cồn ngọt, dung dịch, cao dán má, gel dùng qua đường miệng, gôm nhai, viên nén nhai được, bột sủi bọt và viên nén sủi bọt. Dược phẩm được dự định để dùng qua đường miệng có thể được bào chế theo phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực bào chế dược phẩm và các dược phẩm như vậy có thể chứa một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm chất làm ngọt, chất tạo hương, chất tạo màu, chất chống oxy hóa và chất bảo quản để tạo ra chế phẩm dễ chịu và có vẻ ngoài ưa nhìn về mặt dược học. Viên nén chứa thành phần hoạt tính trong hỗn hợp với các tá dược được dụng không độc mà thích hợp để sản xuất viên nén. Các tá dược này có thể là, ví dụ, chất pha loãng trợ, như xenluloza, silic dioxit, nhôm oxit, canxi cacbonat, natri cacbonat, glucoza, manitol, sorbitol, lactoza, canxi phosphat hoặc natri phosphat; chất tạo hạt và chất làm phân rã, ví

dù, tinh bột ngô, hoặc axit alginic; chất liên kết, ví dụ, PVP, xenluloza, PEG, tinh bột, gelatin hoặc acacia, và chất làm trơn, ví dụ, magie stearat, axit stearic hoặc bột talc. Viên nén có thể không được bao hoặc chúng có thể được bao, tan trong ruột hoặc theo cách khác, bằng các kỹ thuật đã biết để làm chậm sự phân rã và hấp thu trong dải dạ dày-ruột và nhờ đó tạo ra tác động kéo dài trong khoảng thời gian lâu hơn. Ví dụ, nguyên liệu kéo dài thời gian như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat có thể được sử dụng. Chúng cũng có thể được bao bằng các kỹ thuật được mô tả trong các Patent Mỹ số 4,256,108; 4,166,452; và 4,265,874 để tạo ra viên nén trị liệu thẩm thấu để giải phóng có kiểm soát.

Dược phẩm để sử dụng qua đường miệng cũng có thể có mặt ở dạng viên nang gelatin cứng, trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng rắn trơ, ví dụ, canxi cacbonat, canxi phosphat hoặc cao lanh, hoặc ở dạng viên nang gelatin mềm trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc môi trường dầu, ví dụ, dầu lạc, parafin lỏng, hoặc dầu ôliu. Ngoài ra, nhũ tương có thể được điều chế với thành phần không trộn lẫn được với nước như dầu và được làm ổn định nhờ chất hoạt động bề mặt như monodiglyxerit, PEG este và các chất tương tự.

Hỗn dịch trong nước chứa nguyên liệu hoạt tính trong hỗn hợp với tá dược thích hợp để sản xuất hỗn dịch trong nước. Tá dược này là chất tạo hỗn dịch, ví dụ, natri carboxymetylxenluloza, metyloxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, natri alginat, polyvinyl-pyrrolidon, gôm tragacan và gôm acacia; chất phân tán hoặc chất thấm ướt có thể là phosphatit có trong tự nhiên, ví dụ, lexitin, hoặc sản phẩm ngưng tụ của alkylen oxit với axit béo, ví dụ, polyoxyetylen stearat, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo mạch dài, ví dụ, heptadecaetylenoxyxetanol, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este không hoàn toàn thu được từ axit béo và hexitol như polyoxyetylen sorbitol monooleat, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este không hoàn toàn thu được từ axit béo và hexitol anhydrit, ví dụ, polyetylen sorbitan monooleat. Hỗn dịch trong nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản, ví dụ, etyl, hoặc n-propyl, p-hydroxybenzoat, một hoặc nhiều chất tạo màu, một hoặc nhiều chất tạo hương, và một hoặc nhiều chất làm ngọt, như sucroza hoặc sacarin.

Hỗn dịch trong dầu có thể được phối trộn bằng cách tạo hỗn dịch thành phần hoạt tính trong dầu thực vật, ví dụ, dầu lạc, dầu ôliu, dầu vừng hoặc dầu dừa, hoặc trong dầu

khoáng như parafin lỏng. Hỗn dịch trong dầu này có thể chứa chất làm đặc, ví dụ, sáp ong, parafin rắn hoặc rượu xetylic. Có thể bổ sung chất làm ngọt như các chất nêu ở trên, và chất tạo hương để tạo ra chế phẩm dễ chịu dùng qua đường miệng. Các dược phẩm này có thể được bảo quản bằng cách bổ sung chất chống oxy hóa như axit ascorbic.

Bột và hạt phân tán được thích hợp để điều chế hỗn dịch trong nước bằng cách bổ sung nước tạo ra thành phần hoạt tính trong hỗn hợp với chất phân tán hoặc chất thấm ướt, chất tạo hỗn dịch và một hoặc nhiều chất bảo quản. Chất phân tán hoặc chất thấm ướt và chất tạo hỗn dịch thích hợp được lấy làm ví dụ là các chất đã được đề cập trên đây. Các chất phụ gia bổ sung, ví dụ, chất làm ngọt, chất tạo hương và chất tạo màu cũng có thể có mặt.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật, ví dụ, dầu ôliu hoặc dầu lạc, hoặc dầu khoáng, ví dụ, parafin lỏng hoặc hỗn hợp của các dầu này. Các chất nhũ hóa thích hợp có thể là gồm có trong tự nhiên, ví dụ, gồm acacia hoặc gồm tragacan, phosphatit có trong tự nhiên, ví dụ, đậu tương, lexitin, và este hoặc este không hoàn toàn thu được từ axit béo và hexitol anhydrit, ví dụ, sorbitan monooleat, và các sản phẩm ngưng tụ của este không hoàn toàn này với etylen oxit, ví dụ, polyoxyetylen sorbitan monooleat. Nhũ tương cũng có thể chứa chất làm ngọt và chất tạo hương.

Xi rô và cồn ngọt có thể được phối trộn với chất làm ngọt, ví dụ, glyxerol, propylen glycol, sorbitol hoặc sucroza. Chế phẩm này cũng có thể chứa chất làm dịu chứng viêm, chất bảo quản và chất tạo hương và chất tạo màu. Dung dịch dùng qua đường miệng có thể được điều chế kết hợp với, ví dụ, xyclodextrin, PEG và chất hoạt động bề mặt.

Dược phẩm có thể ở dạng hỗn dịch trong nước hoặc dầu vô trùng có thể tiêm được. Hỗn dịch này có thể được phối trộn theo lĩnh vực đã biết bằng cách sử dụng chất phân tán hoặc chất thấm ướt và chất tạo hỗn dịch thích hợp đã nêu ở trên. Chế phẩm vô trùng có thể tiêm được cũng có thể là dung dịch hoặc hỗn dịch vô trùng có thể tiêm được trong chất pha loãng hoặc dung môi không độc chấp nhận được ngoài đường tiêu hóa, ví dụ như dung dịch trong 1,3-butan diol. Trong số các chất dẫn thuốc và dung môi chấp nhận được, có thể được sử dụng là nước, dung dịch Ringer và dung dịch natri clorua đẳng trương. Ngoài ra, dầu không bay hơi, vô trùng thường được sử dụng làm dung môi

hoặc môi trường tạo hỗn dịch. Đối với mục đích này, có thể sử dụng dầu nhớt không bay hơi bất kỳ gồm mono- hoặc diglyxerit tổng hợp. Ngoài ra, có thể sử dụng axit béo như axit oleic để điều chế các chất có thể tiêm được.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng ở dạng thuốc đạn để dùng thuốc qua trực tràng. Các dược phẩm này có thể được bào chế bằng cách trộn thuốc với tá dược không kích thích thích hợp, tá dược này là chất rắn ở nhiệt độ bình thường nhưng là chất lỏng ở nhiệt độ của trực tràng và do đó sẽ tan chảy trong trực tràng để giải phóng thuốc. Các nguyên liệu này gồm bơ cacao và polyetylen glycol. Ngoài ra, hợp chất có thể được sử dụng bằng cách phân phối qua mắt nhờ dung dịch hoặc thuốc mỡ. Ngoài ra, sự phân phối qua da của hợp chất theo sáng chế có thể được thực hiện bằng miếng dán ion hóa và các miếng dán tương tự. Để sử dụng tại chỗ, có thể sử dụng kem, thuốc mỡ, gel, dung dịch hoặc hỗn dịch, v.v. chứa hợp chất theo sáng chế. Như được sử dụng ở đây, sử dụng tại chỗ cũng có nghĩa là bao gồm cả sử dụng thuốc súc miệng và rửa miệng.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được liên hợp với chất mang là polyme thích hợp để làm chất mang thuốc có thể nhắm đích. Các polyme này có thể bao gồm polyvinylpyrrolidon, pyran copolyme, polyhydroxy-propyl-metacrylamit-phenol, polyhydroxyetyl-aspartamit-phenol, hoặc polyetylenoxit-polylysin được thể bằng các gốc palmitoyl. Hơn nữa, hợp chất theo sáng chế có thể được liên hợp với chất mang là nhóm polyme dễ bị vi sinh vật phá hủy hữu dụng để đạt được được sự giải phóng thuốc có kiểm soát, ví dụ, axit polylactic, axit polyglycolic, copolyme của axit polylactic và axit polyglycolic, polyepsilon caprolacton, axit polyhydroxy butyric, polyorthoeste, polyaxetal, polydihydropyran, polyxyanoacrylat và copolyme khối được liên kết chéo hoặc lưỡng tính của hydrogel. Polyme và nền polyme bán thấm có thể được tạo thành vật phẩm được tạo hình, như van, ống nhân tạo, ống, bộ phận giả và các vật phẩm được tạo hình tương tự. Theo một phương án của sáng chế, hợp chất theo sáng chế được liên hợp với polyme hoặc nền polyme bán thấm mà được tạo thành dưới dạng ống nhân tạo hoặc thiết bị ghép ống nhân tạo.

IV. Phương pháp điều trị bệnh và rối loạn được điều biến bởi C5a

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng làm các chất chủ vận, (tốt hơn là) chất đối kháng, chất chủ vận một phần, chất chủ vận ngược, của thụ thể C5a trong nhiều trường hợp, cả in vitro và in vivo. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế là chất

đối kháng C5aR mà có thể được sử dụng để ức chế sự liên kết của phức tử thụ thể C5a (ví dụ, C5a) với thụ thể C5a in vitro hoặc in vivo. Nhìn chung, các phương pháp này gồm bước cho thụ thể C5a tiếp xúc với một hoặc nhiều chất điều biến thụ thể C5a như được đề xuất ở đây với lượng đủ, trong điều kiện có mặt phức tử thụ thể C5a trong dung dịch nước và theo cách khác trong các điều kiện thích hợp để phức tử này liên kết với thụ thể C5a. Thụ thể C5a có thể có mặt trong hỗn dịch (ví dụ, trong chế phẩm tế bào hoặc màng đã được phân lập), trong tế bào đã được nuôi cấy hoặc đã được phân lập, hoặc trong mô hoặc cơ quan.

Tốt hơn là, lượng chất điều biến thụ thể C5a được tiếp xúc với thụ thể này cần phải đủ để ức chế liên kết C5a với thụ thể C5a in vitro như được xác định, ví dụ, sử dụng thử nghiệm liên kết phức tử có tính phóng xạ, thử nghiệm huy động canxi, hoặc thử nghiệm hóa ứng động như được mô tả ở đây.

Theo một phương án của sáng chế, các chất điều biến C5a theo sáng chế được sử dụng để điều biến, tốt hơn nếu là ức chế, hoạt tính truyền tín hiệu của thụ thể C5a, ví dụ, bằng cách cho một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế tiếp xúc với thụ thể C5a (in vitro hoặc in vivo) trong các điều kiện thích hợp để liên kết (các) chất điều biến với thụ thể. Thụ thể có thể có mặt trong dung dịch hoặc hỗn dịch, trong chế phẩm tế bào đã được nuôi cấy hoặc đã được phân lập hoặc trong bệnh nhân. Sự điều biến bất kỳ hoạt tính truyền tín hiệu có thể được đánh giá bằng cách phát hiện sự ảnh hưởng đến sự huy động canxi ion canxi hoặc bằng cách phát hiện ảnh hưởng đến quá trình hóa ứng động tế bào được điều tiết bởi thụ thể C5a. Nhìn chung, lượng hữu hiệu của (các) chất điều biến C5a là lượng đủ để điều biến hoạt tính truyền tín hiệu thụ thể C5a in vitro trong thử nghiệm huy động canxi hoặc quá trình hóa ứng động tế bào được điều tiết bởi thụ thể C5a trong thử nghiệm di trú.

Khi hợp chất theo sáng chế được sử dụng để ức chế quá trình hóa ứng động tế bào được điều tiết bởi thụ thể C5a, tốt hơn nếu là quá trình hóa ứng động bạch cầu (ví dụ, bạch cầu trung tính), trong thử nghiệm hóa ứng động in vitro, phương pháp này gồm bước cho các tế bào máu trắng (cụ thể là các tế bào máu trắng của động vật linh trưởng, đặc biệt là các tế bào máu trắng của người) tiếp xúc với một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế. Tốt hơn nếu nồng độ này là đủ để ức chế quá trình hóa ứng động của các tế bào máu trắng trong thử nghiệm hóa ứng động in vitro, sao cho mức độ hóa ứng động được

quan sát thấy trong thử nghiệm đối chứng là cao hơn một cách đáng kể, như được mô tả trên đây, so với mức quan sát thấy trong thử nghiệm mà hợp chất theo sáng chế được bổ sung vào.

Theo phương án khác, hợp chất theo sáng chế còn có thể được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân mắc các tình trạng bệnh lý đáp ứng với sự điều biến thụ thể C5a. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị" hoặc "sự điều trị" gồm cả sự điều trị làm cải biến bệnh và sự điều trị triệu chứng, có thể là phòng ngừa (tức là, trước khi bắt đầu có các triệu chứng, để ngăn ngừa, làm chậm hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng) hoặc trị liệu (tức là, sau khi bắt đầu có các triệu chứng, để làm giảm mức độ nghiêm trọng và/hoặc khoảng thời gian kéo dài các triệu chứng). Như được sử dụng ở đây, tình trạng bệnh lý được xem là "đáp ứng với sự điều biến thụ thể C5a" nếu quá trình điều biến hoạt tính thụ thể C5a tạo ra sự giảm hoạt tính không thích hợp của thụ thể C5a. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bệnh nhân" bao gồm động vật linh trưởng (cụ thể là người), các động vật bầu bạn được nuôi (như chó, mèo, ngựa, và các động vật tương tự) và vật nuôi (như gia súc, lợn, cừu, và các vật nuôi tương tự), với liều như được mô tả ở đây.

Các tình trạng bệnh lý có thể được điều trị bằng cách điều biến C5a:

Rối loạn tự miễn-- ví dụ, viêm khớp dạng thấp, luput ban đỏ hệ thống, hội chứng Guillain-Barre, viêm tụy, viêm thận luput, viêm thận-tiểu cầu luput, bệnh vẩy nến, bệnh Crohn, viêm mạch, hội chứng ruột dễ bị kích ứng, bệnh viêm bì cơ, chứng xơ cứng rải rác, bệnh hen phế quản, pemphigut, dạng pemphigut, bệnh cứng da, bệnh nhược cơ năng, tình trạng tan máu và giảm lượng tiểu cầu tự miễn, hội chứng Goodpasture (và viêm thận-tiểu cầu và chứng xuất huyết phổi có liên quan), viêm mạch miễn dịch, sự đào thải mảnh ghép mô, sự đào thải mạnh cơ quan cấy ghép; và các bệnh tương tự.

Các rối loạn viêm và các tình trạng bệnh lý có liên quan-- ví dụ, giảm bạch cầu trung tính, bệnh nhiễm khuẩn, sốc nhiễm trùng, bệnh Alzheimer, chứng xơ cứng rải rác, bệnh đột quỵ, bệnh viêm ruột (IBD), chứng viêm có liên quan đến các vết bỏng nghiêm trọng, tổn thương phổi, và tổn thương tái tưới máu - thiếu máu cục bộ, viêm xương khớp, cũng như hội chứng suy hô hấp cấp (ở người trưởng thành) (ARDS), rối loạn tắc nghẽn phổi mạn tính (COPD), hội chứng đáp ứng viêm hệ thống (SIRS), bệnh về da dị ứng do di truyền, bệnh vẩy nến, bệnh mày đay mạn tính và hội chứng loạn chức năng đa cơ quan

(MODS). Cũng được bao gồm là di chứng bệnh lý có liên quan đến bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin (bao gồm bệnh vồng mạc tiểu đường), bệnh thận luput, viêm thận Heyman, viêm thận giống như màng và các dạng khác của viêm thận-tiểu cầu, đáp ứng nhạy cảm do tiếp xúc, và chứng viêm do sự tiếp xúc của máu với các bề mặt nhân tạo mà có thể gây ra sự hoạt hóa bổ thể, như xảy ra, ví dụ, trong quá trình tuần hoàn bên ngoài cơ thể của máu (ví dụ, trong quá trình thẩm tách máu hoặc qua máy tim-phổi, ví dụ, có liên quan đến phẫu thuật mạch như ghép đường tắt động mạch vành hoặc thay thế van tim), hoặc có liên quan đến sự tiếp xúc với các mạch nhân tạo hoặc các bề mặt vật chứa khác (ví dụ, thiết bị trợ giúp tâm thất, máy tim nhân tạo, ống truyền, túi giữ máu, phương pháp điều trị bằng huyết tương đã tinh chế, phương pháp thu gom tiểu cầu (plateletpheresis), và các thiết bị tương tự). Cũng được bao gồm là bệnh có liên quan đến tổn thương tái tưới máu/thiếu máu cục bộ, như các bệnh do các vật ghép gây ra, bao gồm cấy ghép cơ quan rắn, và các hội chứng như tổn thương tái tưới máu thiếu máu cục bộ, viêm ruột kết thiếu máu cục bộ và bệnh thiếu máu cục bộ tim. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu dụng để điều trị chứng thoái hoá điểm vàng có liên quan đến tuổi tác (Hageman et al, P.N.A.S.102: 7227-7232, 2005).

Rối loạn tim mạch và mạch máu não--ví dụ, chứng nhồi máu cơ tim, chứng huyết khối động mạch vành, chứng bít kín mạch, chứng tái bít kín mạch sau phẫu thuật, bệnh xơ vữa động mạch, tổn thương hệ thần kinh trung ương do chấn thương, và bệnh thiếu máu cục bộ tim. Theo một phương án, lượng hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế có thể được dùng cho bệnh nhân có nguy cơ bị nhồi máu cơ tim hoặc chứng huyết khối (tức là, bệnh nhân được nhận thấy là có một hoặc nhiều yếu tố nguy cơ đối với chứng nhồi máu cơ tim hoặc chứng huyết khối, như, nhưng không giới hạn ở, bệnh béo phì, hút thuốc lá, huyết áp cao, chứng tăng cholesterol-huyết, tiền sử trước đây hoặc do di truyền của chứng nhồi máu cơ tim hoặc chứng huyết khối) để làm giảm nguy cơ mắc chứng nhồi máu cơ tim hoặc chứng huyết khối.

Bệnh viêm mạch – Bệnh viêm mạch được đặc trưng bởi sự viêm các mạch. Sự thâm của bạch cầu dẫn đến việc phá huỷ thành mạch, và con đường bổ thể được tin là đóng vai trò chính trong việc khởi đầu sự di trú bạch cầu cũng như gây ra sự tổn hại được biểu lộ ở vị trí viêm (Vasculitis, Second Edition, Edited by Ball and Bridges, Oxford College Press, pp 47-53, 2008). Các hợp chất được đề xuất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị chứng viêm mạch hủy bạch cầu (leukoclastic vasculitis), bệnh u hạt

Wegener, viêm nhiều mạch hiển vi, hội chứng Churg-Strauss, ban xuất huyết Henoch-Schonlein, viêm đa động mạch, viêm thận-tiểu cầu tiến triển nhanh (RPGN), chứng cryoglobulin-huyết, chứng viêm động mạch tế bào khổng lồ (GCA), bệnh Behcet và chứng viêm động mạch Takayasu (TAK).

Nhiễm HIV và AIDS -- Các chất điều biến thụ thể C5a được đề xuất ở đây có thể được sử dụng để ức chế sự lây nhiễm HIV, làm chậm sự tiến triển của bệnh AIDS hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng hoặc lây nhiễm HIV và bệnh AIDS.

Rối loạn thoái hóa thần kinh và các bệnh có liên quan -- Theo các khía cạnh khác, chất đối kháng C5a được đề xuất ở đây có thể được sử dụng để điều trị bệnh Alzheimer, chứng xơ cứng rải rác, và suy giảm chức năng nhận thức có liên quan đến phẫu thuật đường tắt tim-phổi và các phương pháp có liên quan.

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các bệnh được chọn từ nhóm bao gồm bệnh nhiễm khuẩn (và các rối loạn có liên quan), bệnh COPD, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm thận luput và chứng xơ cứng rải rác.

Nhìn chung, phương pháp điều trị được đề xuất ở đây bao gồm bước cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều hợp chất được đề xuất ở đây. Bệnh nhân thích hợp bao gồm bệnh nhân mắc hoặc mắc cảm với (tức là, điều trị phòng ngừa) rối loạn hoặc bệnh được xác định ở đây. Bệnh nhân tiêu biểu cho việc điều trị như được mô tả ở đây bao gồm động vật có vú, cụ thể là động vật linh trưởng, đặc biệt là người. Bệnh nhân thích hợp khác bao gồm động vật bầu bạn được nuôi như chó, mèo, ngựa, và các động vật tương tự, hoặc động vật nuôi như gia súc, lợn, cừu và các động vật tương tự.

Nhìn chung, phương pháp điều trị được mô tả ở đây bao gồm cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều hợp chất được đề xuất ở đây. Theo phương án ưu tiên, (các) hợp chất theo sáng chế tốt hơn nếu được dùng cho bệnh nhân (ví dụ, người) qua đường miệng hoặc dùng khu trú. Lượng hữu hiệu có thể là lượng đủ để điều biến hoạt tính thụ thể C5a và/hoặc lượng đủ để làm giảm hoặc làm thuyên giảm các triệu chứng của bệnh nhân. Tốt hơn là, lượng được dùng là đủ để tạo ra nồng độ của hợp chất trong huyết tương (hoặc chất chuyển hoá có hoạt tính của nó, nếu hợp chất là tiền dược chất) đủ cao để ức chế theo cách phát hiện được quá trình hóa ứng động của các tế bào máu trắng (ví dụ, bạch cầu trung tính) in vitro. Các chế độ điều trị có thể thay đổi tùy

thuộc vào hợp chất được sử dụng và tình trạng bệnh lý cụ thể cần được điều trị; để điều trị hầu hết các rối loạn, ưu tiên tần suất sử dụng là bốn lần một ngày hoặc ít hơn. Nhìn chung, chế độ liều hai lần một ngày được ưu tiên hơn, trong đó liều mỗi ngày một lần được đặc biệt ưu tiên. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng mức liều và chế độ điều trị cụ thể đối với bệnh nhân cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng, độ tuổi, thể trọng, tình trạng sức khỏe chung, giới tính, chế độ ăn uống, thời gian sử dụng, đường dùng thuốc, tốc độ bài tiết, hỗn hợp thuốc (tức là, các thuốc khác được dùng cho bệnh nhân) và mức độ nghiêm trọng của bệnh cụ thể phải trải qua trị liệu, cũng như đánh giá của bác sĩ y khoa kê đơn. Nói chung, ưu tiên sử dụng liều tối thiểu đủ để tạo ra việc trị liệu hữu hiệu. Nhìn chung, bệnh nhân có thể được theo dõi về hiệu quả trị liệu bằng cách sử dụng các tiêu chuẩn y tế hoặc thú y thích hợp cho tình trạng bệnh lý cần được điều trị hoặc cần được ngăn ngừa.

Mức liều nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 140mg cho một kilogam thể trọng mỗi ngày là hữu ích trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa các tình trạng bệnh lý có liên quan đến hoạt tính C5a gây bệnh (khoảng từ 0,5mg đến 7g cho mỗi người bệnh mỗi ngày). Lượng thành phần hoạt tính mà có thể được kết hợp với nguyên liệu chất mang để tạo ra dạng liều đơn sẽ thay đổi tùy thuộc vào cơ thể vật chủ cần được điều trị và cách thức sử dụng cụ thể. Dạng đơn vị liều lượng nhìn chung sẽ chứa thành phần hoạt tính với lượng nằm trong khoảng từ 1mg đến 500mg. Đối với hợp chất được dùng qua đường miệng, qua da, trong tĩnh mạch, hoặc dưới da, sẽ tốt hơn nếu sử dụng đủ lượng hợp chất để đạt được nồng độ huyết thanh là 5ng (nanogram)/mL-10µg (microgam)/mL huyết thanh, tốt hơn nữa là nên sử dụng đủ lượng hợp chất để đạt được nồng độ huyết thanh là 20ng-1µg/ml huyết thanh, tốt nhất là nên sử dụng đủ lượng hợp chất để đạt được nồng độ huyết thanh là 50ng/ml-200ng/ml huyết thanh. Đối với việc tiêm trực tiếp vào màng hoạt dịch (để điều trị bệnh khớp), nên sử dụng đủ lượng hợp chất để đạt được nồng độ cục bộ xấp xỉ 1 micromol.

Tần số dùng liều cũng có thể thay đổi tùy thuộc vào hợp chất được sử dụng và bệnh cụ thể được điều trị. Tuy nhiên, để điều trị hầu hết các rối loạn, chế độ liều bốn lần một ngày, ba lần một ngày, hoặc ít hơn được ưu tiên, với chế độ liều một lần một ngày hoặc hai lần một ngày được đặc biệt ưu tiên. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng, mức liều cụ thể đối với bệnh nhân cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng, độ tuổi, thể trọng, sức khỏe chung, giới tính, chế độ ăn

uống, thời gian sử dụng, đường dùng thuốc, và tốc độ bài tiết, hỗn hợp thuốc (tức là, thuốc khác được dùng cho bệnh nhân), mức độ nghiêm trọng của bệnh cụ thể đang trải qua trị liệu, và các yếu tố khác, kể cả đánh giá của bác sĩ y khoa kê đơn.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong nhiều ứng dụng in vitro và in vivo không phải được phẩm. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được đánh dấu và được dùng làm mẫu dò để phát hiện và định vị thụ thể C5a (chế phẩm tế bào hoặc mẫu cắt mô). Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng làm đối chứng dương trong thử nghiệm về hoạt tính thụ thể C5a, tức là, ở dạng chuẩn để xác định khả năng liên kết của chất ứng viên với thụ thể C5a, hoặc để làm các vết phóng xạ cho việc chụp cắt lớp phát xạ positron (PET) hoặc cho kỹ thuật chụp cắt lớp vi tính phát xạ photon đơn (SPECT). Các phương pháp này có thể được sử dụng để xác định đặc điểm thụ thể C5a trong các cá thể sống. Ví dụ, chất điều biến thụ thể C5a có thể được đánh dấu bằng cách sử dụng kỹ thuật bất kỳ trong số nhiều kỹ thuật đã biết (ví dụ, đánh dấu phóng xạ bằng nuclit phóng xạ như triti), và được ủ với mẫu trong khoảng thời gian ủ thích hợp (ví dụ, được xác định bằng thử nghiệm thứ nhất về khoảng thời gian liên kết). Sau khi ủ, hợp chất chưa được liên kết được loại bỏ (ví dụ, bằng cách rửa), và hợp chất đã được liên kết được phát hiện bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ thích hợp cho nhãn đánh dấu được sử dụng (ví dụ, tự chụp bằng phóng xạ hoặc đếm nhấp nháy đối với hợp chất được đánh dấu phóng xạ; phương pháp quang phổ có thể được sử dụng để phát hiện nhóm phát quang và nhóm phát huỳnh quang). Để làm đối chứng, mẫu được làm phù hợp chứa hợp chất đã được đánh dấu và lượng lớn hơn (ví dụ, lớn hơn gấp 10 lần) của hợp chất chưa được đánh dấu có thể được xử lý theo cùng cách. Lượng lớn hơn của nhãn đánh dấu phát hiện được còn lại trong mẫu thử nghiệm so với trong mẫu đối chứng biểu thị sự có mặt của thụ thể C5a trong mẫu. Thử nghiệm phát hiện, bao gồm kỹ thuật tự chụp bằng phóng xạ thụ thể (ánh xạ thụ thể) của thụ thể C5a trong các tế bào đã được nuôi cấy hoặc mẫu mô có thể được thực hiện như được mô tả bởi Kuhar trong các đoạn từ 8.1.1 đến 8.1.9 của tài liệu *Current Protocols in Pharmacology* (1998) John Wiley & Sons, New York.

Các hợp chất được đề xuất ở đây cũng có thể được sử dụng trong nhiều phương pháp phân tách tế bào đã biết rõ. Ví dụ, các chất điều biến có thể được liên kết với bề mặt bên trong của đĩa nuôi cấy mô hoặc các giá đỡ khác, để sử dụng làm phối tử ái lực để cố định và nhờ đó phân lập thụ thể C5a (ví dụ, phân tách các tế bào biểu hiện thụ thể)

in vitro. Theo một ứng dụng được ưu tiên, chất điều biến được liên kết với chất đánh dấu phát huỳnh quang, như florescein, được tiếp xúc với các tế bào, mà sau đó được phân tích (hoặc được phân lập) bằng cách tuyển chọn các tế bào được hoạt hóa sự phát huỳnh quang (FACS).

Trên Fig.1, cấu trúc và hoạt tính được đưa ra đối với các hợp chất đại diện được mô tả ở đây. Hoạt tính được đưa ra đối với thử nghiệm liên kết như được mô tả ở đây là như sau: +, $500\text{nM} \leq \text{IC}_{50} < 2000\text{nM}$; ++, $50\text{nM} \leq \text{IC}_{50} < 500\text{nM}$; +++, $5\text{nM} \leq \text{IC}_{50} < 50\text{nM}$; và +++, $\text{IC}_{50} < 5\text{nM}$.

Ví dụ thực hiện sáng chế

V. Ví dụ

Các ví dụ sau được đưa ra nhằm mục đích minh họa, nhưng không nhằm mục đích làm giới hạn sáng chế được yêu cầu bảo hộ.

Các chất phản ứng và dung môi được sử dụng dưới đây có thể thu được từ các nguồn có trên thị trường như Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, USA). Phổ ^1H -NMR được ghi trên quang phổ kế Varian Mercury 400 MHz NMR. Các đỉnh ý nghĩa được đưa ra so với TMS và được lập thành bảng theo thứ tự: tính đa bội (s, vạch đơn; d, vạch đôi; t, vạch ba; q, vạch bốn; m, đa vạch) và số lượng proton. Kết quả của phép ghi phổ khối lượng được báo cáo dưới dạng tỷ số của khối lượng so với điện tích, tiếp theo là độ giàu tương đối của mỗi ion (trong dấu ngoặc đơn). Trong các ví dụ, giá trị đơn m/e được nêu cho ion $\text{M}+\text{H}$ (hoặc, khi được lưu ý, $\text{M}-\text{H}$) chứa các chất đồng vị nguyên tử phổ biến nhất. Mô hình chất đồng vị tương ứng với công thức được mong đợi trong tất cả các trường hợp. Phân tích phép ghi phổ khối ion hóa phun điện (ESI) được thực hiện trên khối phổ kế phun điện Hewlett-Packard MSD có sử dụng HP1100 HPLC để phân phối mẫu. Thông thường, chất phân tích được hòa tan trong metanol ở nồng độ $0,1\text{mg/mL}$ và 1 microlit được pha với dung môi phân phối vào khối phổ kế, dụng cụ này quét từ 100 đến 1500 dalton. Tất cả các hợp chất có thể được phân tích theo cách ESI dương, sử dụng axetonitril/nước với axit formic nồng độ 1% làm dung môi phân phối. Hợp chất được nêu dưới đây cũng có thể được phân tích theo cách ESI âm, sử dụng NH_4OAc nồng độ 2mM trong axetonitril/nước làm hệ phân phối.

Các chữ viết tắt dưới đây được sử dụng trong phần Ví dụ và trong toàn bộ bản mô tả sáng chế này:

EtOH:	Etanol
EtONa:	Natri etoxit
THF:	Tetrahydrofuran
TLC:	Sắc ký lớp mỏng
MeOH:	Metanol

Hợp chất trong phạm vi của sáng chế có thể được tổng hợp như được mô tả dưới đây, sử dụng nhiều phản ứng đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng sẽ nhận thấy rằng, có thể sử dụng các phương pháp thay thế để tổng hợp hợp chất đích theo sáng chế, và các phương pháp được mô tả trong toàn bộ tài liệu này là không có tính giới hạn, mà đưa ra các con đường thực tiễn và có khả năng áp dụng rộng rãi đối với các hợp chất được quan tâm.

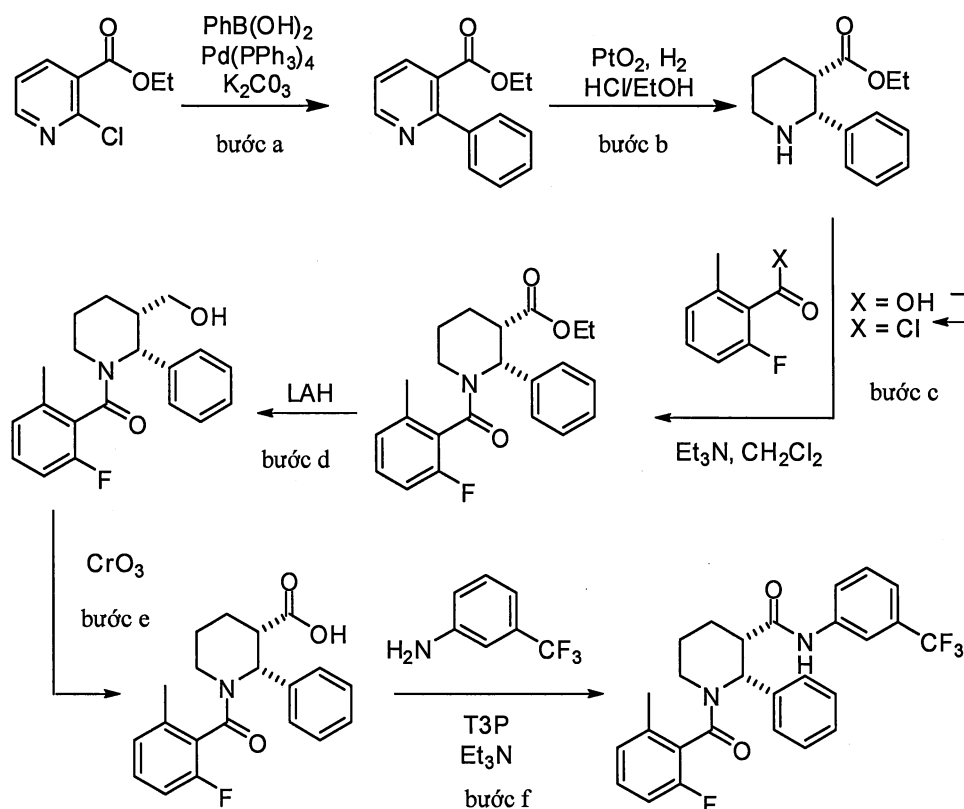
Các phân tử nhất định được yêu cầu bảo hộ trong đơn yêu cầu cấp patent này có thể tồn tại ở các dạng đồng phân đối ảnh và dạng đồng phân không đối quang khác nhau và tất cả các biến thể của các hợp chất này đều được yêu cầu bảo hộ.

Phần mô tả chi tiết về các quy trình thử nghiệm được sử dụng để tổng hợp hợp chất quan trọng trong bản mô tả này hướng đến các phân tử mà được mô tả bởi số liệu vật lý xác định chúng cũng như bởi sự mô tả cấu trúc có liên quan đến chúng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng sẽ nhận ra rằng trong các quy trình thao tác chuẩn trong hóa học hữu cơ, các axit và bazơ thường được sử dụng. Các muối của hợp chất gốc đôi khi được tạo ra, nếu chúng có độ axit hoặc độ bazơ bên trong cần thiết, trong các quy trình thử nghiệm được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent này.

Ví dụ 1

Tổng hợp (3-triflometylphenyl)amit của axit cis-1-(2-flu-6-metylbenzoyl)-2-phenylpiperidin-3-carboxylic



a) Bổ sung $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (3,0g, 2,6mmol) vào dung dịch chứa 2-clo-3-carboxyetylpyridin (25g, 134,7mmol), axit phenylboronic (21,04g, 172,6mmol) và K_2CO_3 (55,1g, 399mmol) trong 1,4-dioxan (200mL) và nước (200mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Sau đó, làm nguội dung dịch xuống nhiệt độ trong phòng và loại bỏ dioxan trong điều kiện áp suất giảm. Chiết lớp nước thu được bằng etyl axetat, và làm khô các lớp hữu cơ đã kết hợp (Na_2SO_4), lọc qua xelit, và cô trong điều kiện áp suất giảm, căn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , EtOAc/hexan 10-100%) để thu được dẫn xuất 2-phenylpyridin với hiệu suất 91% (27,98g). LC-MS R_t (thời gian lưu): 2,45 phút, MS: (ES) m/z 228 ($\text{M}+\text{H}^+$).

b) Bổ sung PtO_2 (800mg, 3,52mmol) vào dung dịch chứa etyl este của axit 2-phenyl-nicotinic (20g, 88mmol, được điều chế ở bước a trên đây) trong EtOH (60mL) và HCl đậm đặc (15mL). Hydro hóa hỗn hợp phản ứng bằng cách sử dụng máy lắc Parr ở áp suất 40-45psi (275,79kPa-310,26kPa), trong 1 giờ. Sau đó, lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit, rửa bằng EtOH, và cô phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng căn với CH_2Cl_2 và rửa bằng NaHCO_3 bão hòa, tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , 0-20% MeOH/ CH_2Cl_2) thu được sản phẩm mong muốn với hiệu suất 85% (17,4 g). LC-MS R_t (thời gian lưu): 1,73 phút, MS: (ES) m/z 234 ($\text{M}+\text{H}^+$).

c) Bổ sung oxalyl clorua (3,2mL, 30,75mmol) vào dung dịch chứa axit 2-flo-6-methylbenzoic (3,79g, 24,6mmol) trong CH_2Cl_2 (20mL) trong bình phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, sau đó bổ sung lượng có tác dụng xúc tác của DMF vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Loại bỏ dung môi và oxalyl clorua dư trong chân không và làm khô cặn trong môi trường có độ chân không cao trong 20 phút. Hòa tan axit clorua thu được trong CH_2Cl_2 khô (20mL) và làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó bổ sung piperidin đã được điều chế ở bước b (5,56g, 20,5mmol) và Et_3N (8,6mL, 61,5mmol) vào. Sau đó, hỗn hợp được để ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng CH_2Cl_2 và bổ sung nước vào. Tách các lớp và chiết lớp nước bằng CH_2Cl_2 . Làm khô các lớp hữu cơ đã kết hợp (MgSO_4) và cô trong điều kiện áp suất giảm trong điều kiện áp suất giảm, cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , 10-35% EtOAc /hexan) để tạo ra 7,47g hợp chất mong muốn với hiệu suất 99%). LC-MS R_t (thời gian lưu): 2,50 phút và 2,58 phút (hai rotame), MS: (ES) m/z 370 ($\text{M}+\text{H}^+$).

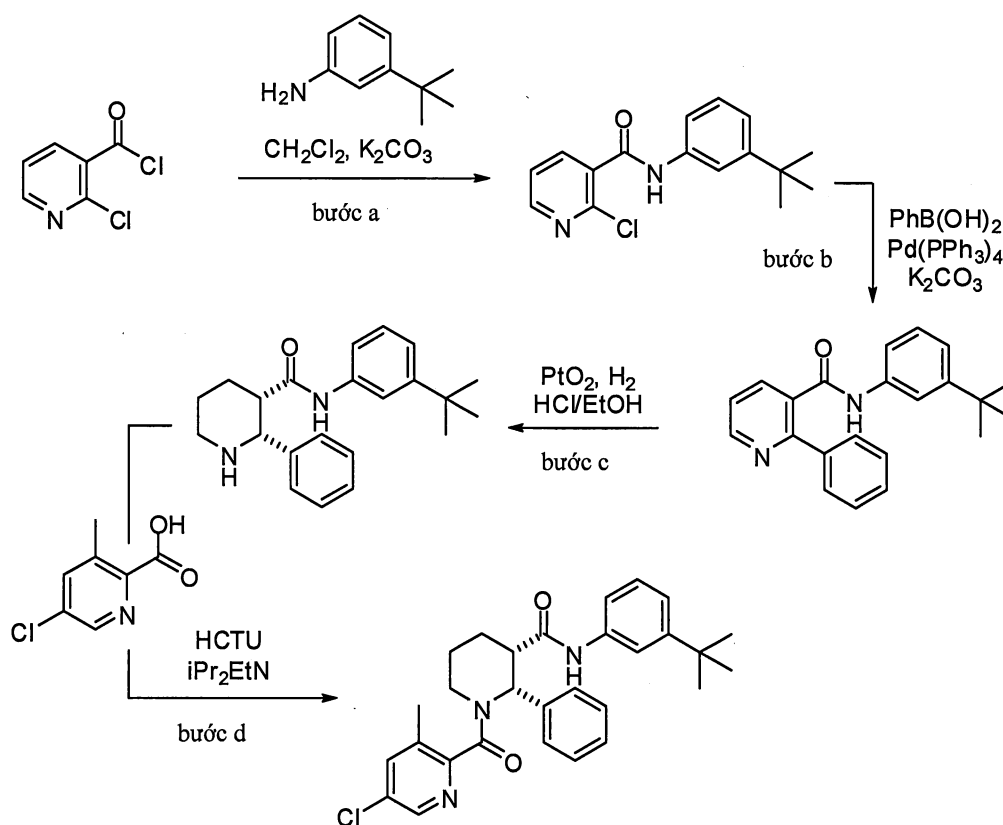
d) Bổ sung dung dịch lithi nhôm hydrua (2,0M trong THF, 8,2mL, 16,4mmol) vào dung dịch chứa este từ bước c (2,98g, 8,06mmol) trong THF (100ml) ở nhiệt độ 0°C . Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ, tại thời điểm này, phản ứng được hoàn thành. Bổ sung từng giọt NaOH gốc nước nồng độ 15% (625 μL) vào để làm dừng phản ứng, tiếp đó là H_2O (625 μL). Bổ sung thêm nước (1,85mL) vào hỗn hợp dạng keo đục, và khuấy hỗn hợp trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, lọc hỗn hợp qua nút xelit, và cô phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm trong điều kiện áp suất giảm, tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , 33-67% EtOAc /hexan) thu được 2,46g sản phẩm mong muốn (hiệu suất 93%). LC-MS: R_t (thời gian lưu): 1,90 phút và 2,09 phút (hai rotame), MS: (ES) m/z 328 ($\text{M}+\text{H}^+$).

e) Bổ sung dung dịch chứa rượu từ bước d (1,42g, 4,33mmol) trong axit axetic (65ml) vào huyền phù đặc chứa CrO_3 (2,61g, 26,1mmol) trong H_2O (16ml) ở nhiệt độ trong phòng. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi phản ứng được hoàn thành (90 phút). Lọc hỗn hợp qua nút xelit và cô phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm trong điều kiện áp suất giảm, tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , CH_2Cl_2 : MeOH 3-10%, tiếp đó là EtOAc /hexan 50-67%) thu được 1,03g sản phẩm mong muốn (hiệu suất 70%). LC-MS: R_t (thời gian lưu): 1,88 phút và 2,12 phút (hai rotame), MS: (ES) m/z 342 ($\text{M}+\text{H}^+$).

f) Bổ sung 3-triflometylanilin (16,2mg, 0,1mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch chứa axit được điều chế trên đây (34,2mg, 0,1mmol) và triethylamin (6 đương lượng) trong CH_2Cl_2 (1mL). Sau đó, bổ sung từ từ T3P (95,5mg, 0,15mmol) vào và khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng CH_2Cl_2 (1mL), rửa bằng HCl trong nước 1N tiếp đó là NaHCO_3 bão hòa trong nước. Lớp hữu cơ được tách làm khô trên MgSO_4 khan, và cô trong điều kiện áp suất giảm, tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , EtOAc/hexan 5-40%) thu được 35mg (hiệu suất 73%) sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,22-2,45 (m, 8 H), 2,93-3,32 (m, 3 H), 6,77-7,82 (m, 12 H), 9,10 (s, 0,38 H), 9,30 (s, 0,62 H). LC-MS: R_t (thời gian lưu) = 2,88 phút, MS: (ES) m/z 485 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ví dụ 2

Tổng hợp N-(3-tert-butylphenyl)-1-(5-clo-3-metylpicolinoyl)-2-phenylpiperidin-3-carboxamit



a) Bổ sung 2-clonicotinoyl clorua (1,05 đương lượng) đã hòa tan trong diclometan khan (0,5M) vào dung dịch chứa 3-tert-butylanilin (1 đương lượng) và K_2CO_3 trong nước nồng độ 2M (2,2 đương lượng) trong diclometan khan (0,5M) ở nhiệt độ 0°C trong thời

gian 30 phút, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ nữa. Tách các lớp và chiết lớp nước bằng diclometan. Rửa lớp hữu cơ đã kết hợp bằng nước muối, làm khô (MgSO_4), lọc và cô để tạo ra amit mong muốn dưới dạng chất rắn có bột mà được sử dụng như vậy trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. MS: (ES) m/z 289,1 ($\text{M} + \text{H}^+$).

b) Bổ sung $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2-5% mol) vào dung dịch chứa pyridin amit trên đây (1 đương lượng), axit phenylboronic (1,4 đương lượng) và K_2CO_3 trong nước nồng độ 2M (2,4 đương lượng) trong toluen (0,7M) và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C qua đêm (~12 giờ). Sau khi làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và rửa nút xelit bằng EtOAc. Pha loãng phần dịch lọc với nước và chiết bằng EtOAc, làm khô (MgSO_4), lọc và cô và cô trong điều kiện áp suất giảm, cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh tự động (SiO_2 , gradien từ 10% đến 100% của EtOAc-hexan) và làm khô trong chân không để tạo ra 2-phenyl-3-carboxyamitpyridin với hiệu suất 60-75%, MS: (ES) m/z 331,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

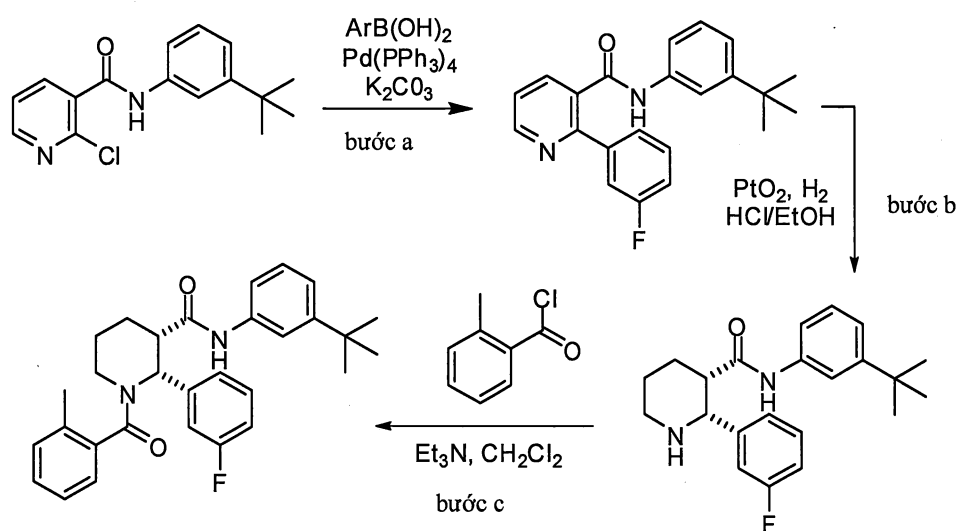
c) Bổ sung PtO_2 (10% mol) vào dung dịch chứa dẫn xuất 2-phenylpyridin được điều chế trên đây (1 đương lượng) trong EtOH và HCl đậm đặc (dư, tỷ lệ 4:1) và hydro hóa hỗn hợp phản ứng bằng cách sử dụng máy lắc Parr ở áp suất 40-45 psi (275,79kPa-310,26kPa), trong 1,5 giờ. Lọc hỗn hợp này qua xelit, rửa bằng EtOH, và cô phần dịch lọc. Pha loãng cặn với CH_2Cl_2 và rửa bằng NaHCO_3 bão hòa trong nước. Sau đó, cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh tự động (SiO_2 , gradien từ 1% đến 30% của CH_2Cl_2 -MeOH) và làm khô trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục với hiệu suất ~85% dưới dạng chất rắn có bột. MS: (ES) m/z 337,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

d) Hòa tan axit 5-clo-3-metylpicolinic (30mg, 0,16mmol) và N-(3-tert-butylphenyl)-2-phenylpiperidin-3-carboxamit (50mg, 0,15mmol, được điều chế ở bước c trên đây) trong DMF khan (1mL). Bổ sung N,N-diisopropyletylamin (0,15mL) vào ở nhiệt độ trong phòng tiếp đó là HCTU (67mg, 0,16mmol). Sau khi khuấy 2 giờ ở nhiệt độ môi trường, LC-MS và TLC cho thấy phản ứng xảy ra hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (50mL) và rửa bằng HCl nồng độ 1N (20mL), NaHCO_3 bão hòa (30mL), và nước muối (30mL) và cô dung dịch thu được trong điều kiện áp suất giảm, cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (gradien 20 → 95% của MeCN- H_2O với 0,1% TFA) và làm khô lạnh các phân đoạn tinh khiết để thu được hợp chất nêu ở đề mục (50mg, hiệu suất

67%). Thời gian lưu HPLC = 2,88 phút. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,42 (d, 1 H, $J = 0,8$ Hz), 7,97 (br, 1 H), 7,59 (d, 1 H, $J = 0,8$ Hz), 7,56 (d, 1 H, $J = 7,6$ Hz), 7,34 (m, 3 H), 7,20 (m, 3 H), 7,10 (d, 1 H, $J = 7,6$ Hz), 6,61 (hai tập hợp của br, 1 H), 3,12 (hai tập hợp của m, 2 H), 2,94 (ba tập hợp của m, 1 H), 2,36 (s, 3 H), 2,20 (hai tập hợp của br, 2 H), 1,74 (br phức hợp, 2 H), 1,29 (s, 9 H). MS: (ES) m/z 490,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

Ví dụ 3

Tổng hợp (3-tert-butylphenyl)amit của axit cis-1-(2-metylbenzoyl)-2-(3-flophenyl)piperidin-3-carboxylic



a) Bổ sung tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (234,5mg, 0,2mmol) vào hỗn hợp của N-(3-tert-butylphenyl)-2-clonicotinamit (570,2mg, 2mmol), axit 3-flophenylboronic (401,2mg, 2,8mmol), 3ml toluen, và 1ml kali cacbonat nồng độ 2N trong nước. Sau đó, gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ 90°C trong 3 giờ trong môi trường nitơ, trước khi nó được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 30ml nước và 150ml EtOAc. Lớp hữu cơ được tách rửa bằng nước muối, và làm khô (Na_2SO_4). Loại bỏ dung môi hữu cơ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được tinh chế bằng cột silicagel (EtOAc trong hexan 40%) để tạo ra N-(3-tert-butylphenyl)-2-(3-flophenyl)nicotinamit (691,4mg, 99%). MS: (ES) m/z 394,5 ($\text{M} + \text{H}^+$).

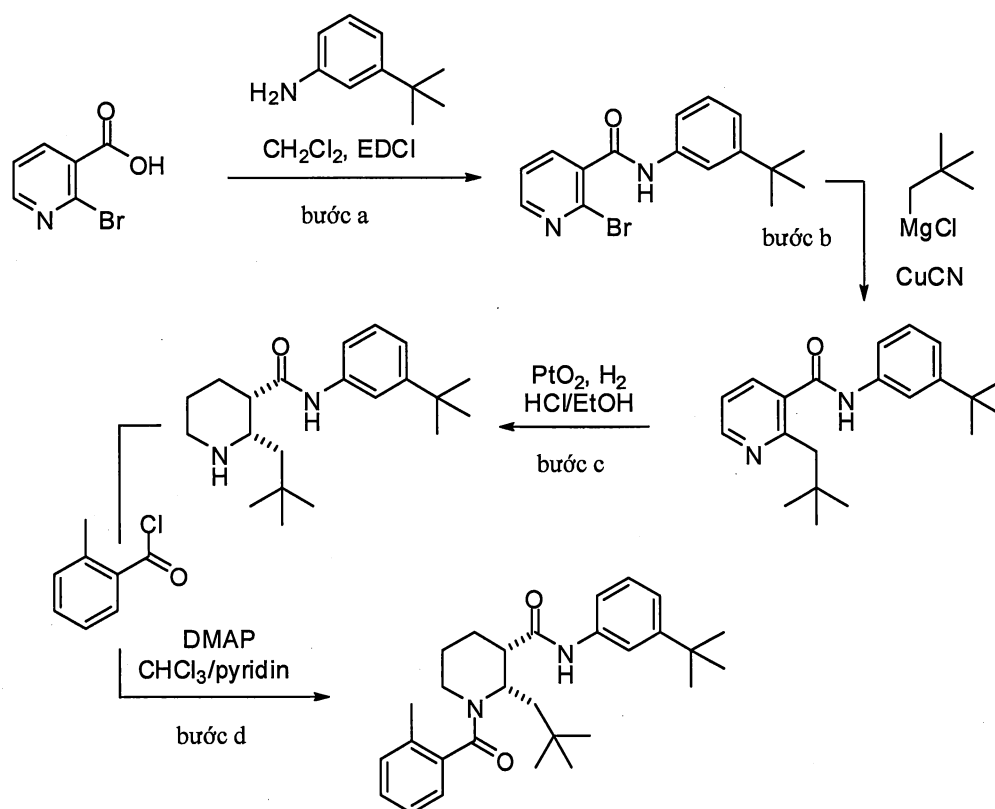
b) Khuấy mạnh hỗn hợp của N-(3-tert-butylphenyl)-2-(3-flophenyl)nicotinamit (501,2mg, 1,4mmol), platin oxit (51,9mg, 0,21mmol), và HCl đậm đặc (400 μL , 5,2mmol) trong 5ml etanol trong bình cầu hydro qua đêm. Lọc hỗn hợp, và rửa các chất rắn bằng 25ml metanol ba lần. Làm khô dung dịch đã kết hợp trong điều kiện áp suất

giảm. Bổ sung 30ml natri bicacbonat bão hòa và 150ml EtOAc vào căn. Lớp hữu cơ được tách và làm khô trên natri sulfat. Dung môi được cho bay hơi thu được (3-tert-butylphenyl)amit của axit 2-(3-flophenyl)piperidin-3-carboxylic thô dưới dạng chất rắn màu nâu, được dùng trực tiếp cho bước tiếp theo. MS: (ES) m/z 355,7 ($M+H^+$).

c) Bổ sung Et_3N (100 μ L, dư), và 2-metylbenzoyl clorua (92,3mg, 0,6mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa (3-tert-butylphenyl)amit của axit 2-(3-flophenyl)piperidin-3-carboxylic (được điều chế trên đây, 177,3mg, 0,5mmol) trong 2ml diclometan. Sau đó, khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ này cho đến khi phản ứng xảy ra hoàn toàn (10 phút). Sau đó, nạp trực tiếp hỗn hợp phản ứng lên trên cột silicagel, và tinh chế bằng cách sử dụng ISCO (EtOAc trong hexan 30%) để tạo ra sản phẩm cuối cùng (3-tert-butylphenyl)amit của axit 2-(3-flophenyl)-1-(2-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (151,2mg, hiệu suất 64%). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, hỗn hợp của các rotame): δ 7,91 (s, 0,6 H), 7,85 (s, 0,4 H), 7,18-7,46 (m, 9 H), 7,11 (m, 1 H), 6,95 (m, 1 H), 6,67 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 3,36 (d, $J = 1,6$ Hz, 0,4 H), 3,26 (d, $J = 1,6$ Hz, 1 H), 3,05 (m, 1 H), 2,89 (t, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 2,45 (s, 1 H), 2,02-2,40 (m, 4 H), 1,70-1,84 (m, 3 H), 1,44-1,64 (s, 1 H), 1,32 (s, 6 H), 1,25 (s, 1 H). MS: (ES) m/z 473,2 ($M+H^+$).

Ví dụ 4

Tổng hợp (3-tert-butylphenyl)amit của axit cis-1-(2-metylbenzoyl)-2-(2,2-dimethylpropyl)piperidin-3-carboxylic



a) Bổ sung EDCI (1,34g, 7mmol) và 3-tert-butylanilin (0,74g, 5mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch có khuấy chứa axit 2-bromonicotinic (1,01g, 5mmol) đã được hòa tan trong diclometan khan (8mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 12 giờ. Sau đó, hỗn hợp này được pha loãng bằng diclometan, tiếp đó là natri bicacbonat bão hòa và rửa bằng nước. Lớp diclometan được làm khô trên magie sulfat khan, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm, căn được tinh chế bằng sắc ký nhanh để thu được 2-bromo-N-(3-tert-butylphenyl)nicotinamit với hiệu suất 59% (950mg). Rt: 2,44 phút (phương pháp 20-100-5). MS: (ES) m/z 333, 335 ($M+H^+$).

b) Bổ sung 2,2-dimetylpropylmagie clorua (1M-dietylete, 4,8mL, 4,8mmol) vào huyền phù chứa đồng xyanua (215mg, 2,40mmol) trong THF (6mL) ở nhiệt độ -78°C . Sau khi khuấy ở nhiệt độ này trong 1 giờ, bổ sung toàn bộ một lần 2-bromo-N-(3-tert-butylphenyl)nicotinamit (200mg, 0,601mmol) dưới dạng chất rắn vào. Hỗn hợp phản ứng làm ấm dần dần đến nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm. Dung dịch amoni clorua bão hòa và etyl axetat được bổ sung, và hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và rửa bằng etyl axetat. Các lớp được tách và sản phẩm được chiết một lần nữa bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối và làm khô trên natri sulfat khan. Sau khi loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm, tinh

chế nguyên liệu thô bằng cách sử dụng sắc ký cột silicagel sử dụng gradien của etyl axetat trong hexan nkt 20% đến 50% để tạo ra N-(3-*tert*-butylphenyl)-2-(2, 2-dimetylpropyl)nicotinamit (168mg, 0,517mmol, 86%). $R_f = 0,45$ (toluen: etyl axetat = 2:1).

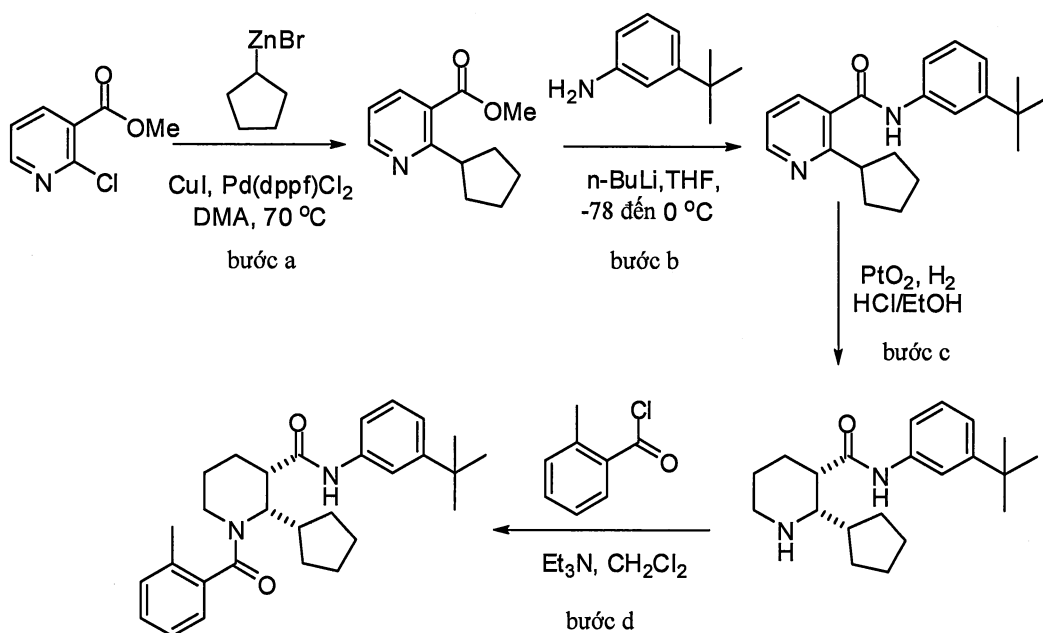
c) Hòa tan N-(3-*tert*-butylphenyl)-2-(2,2-dimetylpropyl)nicotinamit (168mg, 0,517mmol) trong etanol (5mL). Bổ sung platin oxit (11,6mg, 0,0511mmol) vào, tiếp đó là axit clohydric đậm đặc (250 μ L). Hydro hóa hỗn hợp phản ứng bằng cách sử dụng thiết bị Parr trong 1,5 giờ ở áp suất 45psi (310,26kPa). Phân tích hỗn hợp phản ứng cho thấy sự chuyển hóa không hoàn toàn, và trình tự này được lặp lại một lần nữa. Lọc sạch platin oxit và loại bỏ các dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Trung hòa nguyên liệu thô bằng cách sử dụng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và chiết bằng etyl axetat. Sau đó, rửa lớp hữu cơ bằng nước muối và làm khô trên magie sulfat khan. Việc loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm thu được (3-*tert*-butylphenyl)amit của axit 2,3-*cis*-2-(2,2-dimetylpropyl)piperidin-3-carboxylic thô (153mg) mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

d) Bổ sung 2-metylbenzoyl clorua (81,6mg, 0,528mmol) trong clorofom (415 μ L) vào dung dịch chứa (3-*tert*-butylphenyl)amit của axit 2,3-*cis*-2-(2,2-dimetylpropyl)piperidin-3-carboxylic (84,8mg, 0,257mmol) trong pyridin (415 μ L, 5,13mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung lượng có tác dụng xúc tác (không được cân) của dimetylaminopyridin vào để tăng cường phản ứng và khuấy hỗn hợp này trong ba ngày. Sau đó, bổ sung etyl axetat và nước vào hỗn hợp phản ứng và chiết sản phẩm bằng etyl axetat ba lần. Làm khô các lớp hữu cơ đã kết hợp trên magie sulfat khan. Sau khi loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm, tinh chế nguyên liệu thô qua sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat trong hexan 10% - 20% để tạo ra (3-*tert*-butylphenyl)amit của axit 2,3-*cis*-2-(2,2-dimetylpropyl)-1-(2-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (47,0mg, 0,105mmol, 41%). $R_f = 0,6$ (hexan:etyl axetat = 2:1). $R_t = 3,16$ phút, 3,26 phút. (hợp chất tồn tại dưới dạng hỗn hợp của một số dạng thích ứng. Phương pháp 20-100-5). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 9,68 (s, 1 H), 9,43 (s, 1 H), 8,33 (s, 1 H), 8,28 (s, 1 H), 6,97-7,79 (m, 8 H), 5,48 (br, 1 H), 5,39 (dd, $J = 4, 10$ Hz, 1 H), 5,33 (dd, $J = 6, 6$ Hz, 1 H), 3,38 (ddd, $J = 4, 14, 14$ Hz, 2 H), 3,25 (dd, $J = 13, 13$ Hz, 2H), 2,66 (dd, $J = 4, 8,4$ Hz, 1 H), 2,63 (ddd, $J = 2,8, 2,8, 8$ Hz, 1 H), 2,50 (s, 9 H), 2,40 (s, 9 H), 2,25 (s, 9 H), 2,13 (s, 9 H), 1,79-1,99 (m, 2 H), 1,23-1,56 (m,

2 H), 1,32 (s, 9 H), 1,07 (s, 9 H), 1,06 (s, 9 H), 0,97 (s, 9 H), 0,95 (s, 9 H). MS: (ES) m/z 449 ($M+H^+$).

Ví dụ 5

Tổng hợp (3-tert-butylphenyl)amit của axit cis-2-xyclopentyl-1-(2-metylbenzoyl)-piperidin-3-carboxylic



a) Bổ sung xyclopentyl kẽm bromua (0,5M, 6,5mL, 3,26mmol) vào dung dịch có khuấy ở nhiệt độ trong phòng chứa metyl este của axit 2-clonicotinic (400mg, 2,33mmol), CuI (19mg, 0,1mmol) và Pd(dppf)Cl₂ (42mg, 0,06mmol) trong dimetylaxetamid khan (1,7mL) trong môi trường nitơ. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 70°C trong 3,5 giờ, làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, lọc qua xelit, và bánh lọc được rửa bằng etyl axetat. Rửa phần dịch lọc bằng nước, nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm, cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO₂, EtOAc/hexan 10-100%) thu được hợp chất mong muốn với hiệu suất 83% (400mg). LC-MS R_t (thời gian lưu): 1,87 phút; MS: (ES) m/z 206 ($M+H^+$).

b) Bổ sung n-BuLi (1,47mL, 3,68mmol) vào 3-tert-butylanilin (580mg, 3,89mmol) ở nhiệt độ -78°C trong THF khô (2mL) trong môi trường nitơ và khuấy dung dịch ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút. Làm lạnh lại hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ -78°C và bổ sung metyl este của axit 2-xyclopentyl-nicotinic (400mg, 1,94mmol) được hòa tan trong THF khô (2mL) vào hỗn hợp này. Hỗn hợp phản ứng được để đạt được đến nhiệt độ 0°C trong

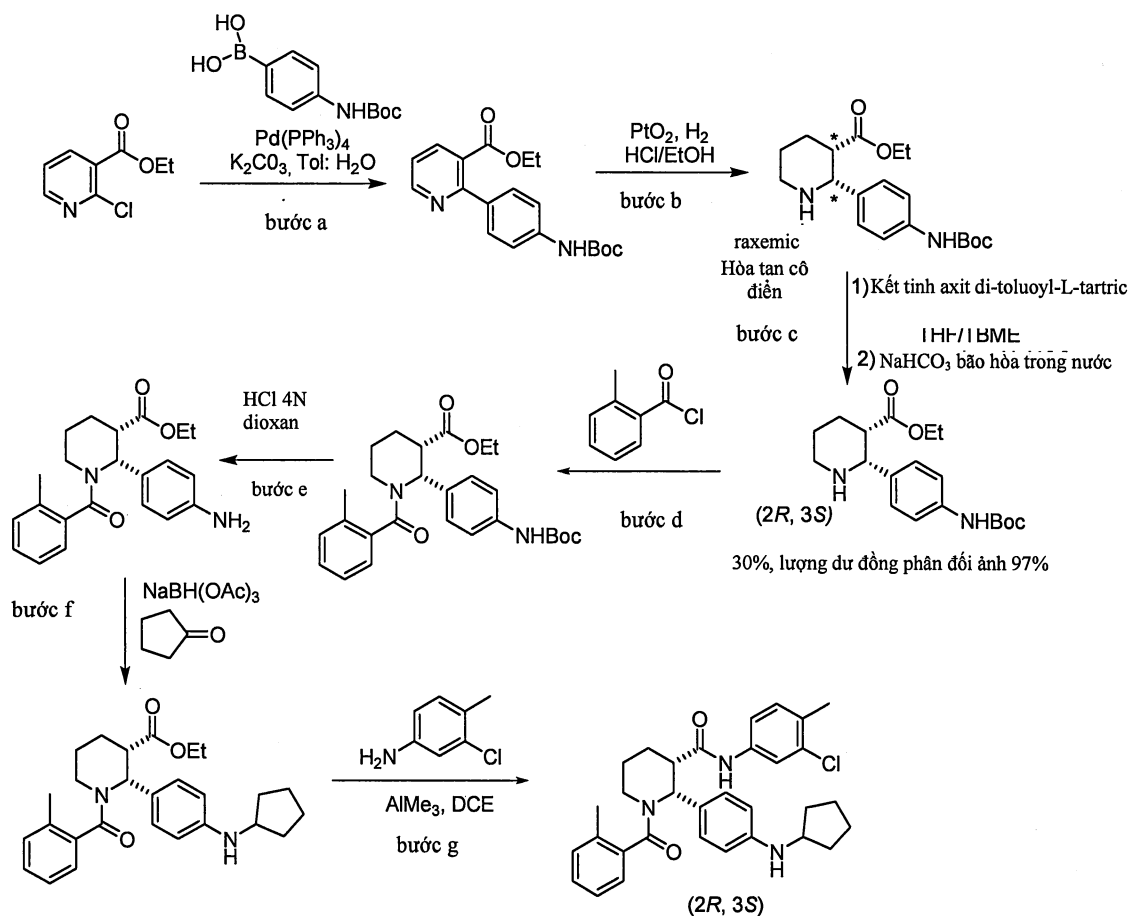
2 giờ, làm lạnh bằng NH_4Cl gốc nước bão hòa, và chiết bằng etyl axetat. Làm khô các lớp hữu cơ đã kết hợp (MgSO_4), lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm, cần được tinh chế bằng sắc ký nhanh (SiO_2 , EtOAc/hexan 10-100%) để tạo ra hợp chất tinh khiết với hiệu suất 91% (572mg). LC-MS R_t (thời gian lưu): 2,61 phút; MS: (ES) m/z 323 ($\text{M}+\text{H}^+$).

c) Bổ sung platin oxit (40mg, 0,17mmol) vào dung dịch chứa N-(3-tert-butylphenyl)-2-xyclopentylnicotinamit (570mg, 1,77mmol) trong etanol (10mL) chứa HCl đậm đặc (1mL) và hydro hóa dung dịch bằng cách sử dụng máy lắc Parr ở áp suất 40psi (275,79kPa) trong 1,5 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua Xelit, và rửa bánh lọc bằng etanol. Cô phần dịch lọc, và làm khô cần trong môi trường có độ chân không cao trong 2 giờ để thu được hiệu suất định lượng của piperidin mong muốn dưới dạng muối HCl. LC-MS R_t (thời gian lưu): 1,97 phút; MS: (ES) m/z 329 ($\text{M}+\text{H}^+$).

d) Bổ sung 2-metylbenzoyl clorua (53mg, 0,34mmol) vào dung dịch chứa (3-tert-butylphenyl)amit của axit cis-2-xyclopentylpiperidin-3-carboxylic được điều chế trên đây (123mg, 0,34mmol) trong CH_2Cl_2 khô (1mL) chứa Et_3N (142 μL , 1,02mmol) và khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (20mL), rửa bằng HCl trong nước 1N, nước, và nước muối. Lớp hữu cơ (MgSO_4) được làm khô, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cần được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo (gradient của $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ 20-95%) và làm khô (máy làm khô lạnh) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục với hiệu suất 65% (109mg). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,22-1,48 (m, 11 H), 1,56-1,80 (m, 5 H), 1,84-2,06 (m, 4 H), 2,10-2,23 (m, 1 H), 2,30 (s, 1,6 H), 2,39 (s, 1,4 H), 2,41-2,50 (m, 1 H), 2,71-2,76 (m, 1 H), 3,02-3,09 (m, 1 H), 3,25-3,39 (m, 1 H), 5,11 (bs, 1 H), 7,05-7,30 (m, 6 H), 7,47-7,55 (m, 2 H), 8,32 (bs, 1 H). LC-MS R_t (thời gian lưu): 3,16 phút; MS: (ES) m/z 447 ($\text{M}+\text{H}^+$). Phương pháp LC-MS: Agilent Zorbax SB-C18, 2,1 $\times$ 50mm, 5 μ , 35°C, tốc độ chảy 1mL/phút, gradient 2,5 phút từ 20% đến 100% B đồng thời rửa trong 1,0 phút ở 100% B; A= 0,1% axit formic/5% axetonitril/94,9 nước, B = 0,1% axit formic/5% nước/ 94,9 axetonitril.

Ví dụ 6

Tổng hợp (3-clo-4-metylphenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylamino-phenyl)-1-(2-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic



b) Etyl este của axit cis-2-(4-tert-butoxycarbonylaminophenyl)piperidin-3-carboxylic được tổng hợp tương tự như được minh họa trong ví dụ 1.

c:1): Hòa tan etyl este của axit cis-2-(4-tert-butoxycarbonylaminophenyl)piperidin-3-carboxylic (61g, 174,8mmol) và axit di-p-toluoyl-L-tartric (62g, 174,8mmol) trong EtOH (500ml). Dung dịch trong suốt và bơm được cô để làm khô. Sau đó, hòa tan muối trắng thu được vào 250ml etyl axetat để tạo ra dung dịch trong suốt. Bổ sung từ từ 500ml TBME vào dung dịch này. Dung dịch thu được này được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 3 ngày. Tại thời điểm này, nhiều tinh thể màu trắng được tạo thành. Sau đó, lọc các tinh thể này và rửa bằng 100ml TBME để thu được chất rắn màu trắng (60g).

Hòa tan lại muối nêu trên trong ethanol, cô và bơm để làm khô. Hòa tan muối thu được vào 500ml THF, sau đó bổ sung TBME (500ml) vào. Dung dịch trong suốt thu được được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 2,5 ngày nữa. Các tinh thể màu trắng thu được được lọc để thu được 20,5g muối (tỷ lệ làm giàu 64:1).

c:2) Bổ sung dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước (100mL) vào hỗn dịch được khuấy ở nhiệt độ 0°C chứa muối (16,7 g) trong CH_2Cl_2 (150mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Tách các lớp và chiết lớp nước bằng CH_2Cl_2 (50mL). Rửa lớp hữu cơ đã kết hợp bằng NaHCO_3 bão hòa trong nước ($2 \times 100\text{mL}$), làm khô và cô để tạo ra etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-tert-butoxycarbonylaminophenyl)piperidin-3-carboxylic với hiệu suất 90% và lượng dư đồng phân đối ảnh $\sim 97\%$.

d) Bổ sung 2-methylbenzoyl clorua (266mg, 1,72mmol) vào dung dịch ở nhiệt độ 0°C chứa etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-tert-butoxycarbonylaminophenyl)-piperidin-3-carboxylic được điều chế trên đây (600mg, 1,72mmol) trong CH_2Cl_2 khô (5mL) chứa Et_3N (480 μL , 3,44mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng CH_2Cl_2 (20mL), rửa bằng HCl trong nước 1N, nước, và nước muối. Lớp hữu cơ (MgSO_4) được làm khô, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-tert-butoxycarbonylaminophenyl)-1-(2-methylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic với hiệu suất định lượng và sản phẩm thô được sử dụng như vậy trong bước tiếp theo.

e) Bổ sung từ từ HCl nồng độ 4N trong 1,4-dioxan (5mL, 20mmol) vào dung dịch ở nhiệt độ 0°C chứa sản phẩm thô etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-tert-butoxycarbonylaminophenyl)-1-(2-methylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (840mg, 1,72mmol) trên đây trong CH_2Cl_2 khô (4mL). Sau khi bổ sung HCl, để hỗn hợp phản ứng đạt tới nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng CH_2Cl_2 (30mL), làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C và trung hòa bằng NaHCO_3 bão hòa trong nước thu được etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-aminophenyl)-1-(2-methylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (612mg) với hiệu suất 97% qua hai bước.

f) Bổ sung $\text{Na}(\text{OAc})_3\text{BH}$ (495mg, 2,33mmol) vào dung dịch chứa etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-aminophenyl)-1-(2-methylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (612mg, 1,67mmol), xyclopentanon (140mg, 1,67mmol) và axit axetic (100mg, 1,67mmol) trong dicloetan khô ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong 4 giờ, làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 48 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng CH_2Cl_2 (30mL), rửa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước, làm khô và cô trong chân không. Cặn được tinh chế bằng cột ISCO

nhANH sử dụng etyl axete và hexan làm pha động (cột 40g, gradient 0-40%) để thu được etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)-1-(2-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (450mg).

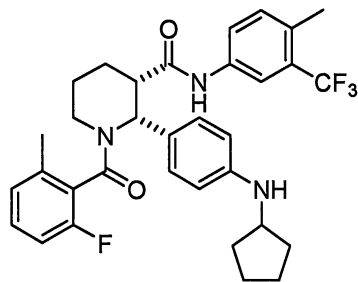
g) Bổ sung Me_3Al (290 μL , 0,57mmol, 2M trong toluen) vào dung dịch chứa 3-clo-4-metylphenylamin (65mg, 0,46mmol) trong dicloetan khô (1mL) ở nhiệt độ môi trường. Khuấy hỗn hợp này trong 20 phút, sau đó bổ sung etyl este của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)-1-(2-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic (100mg, 0,23mmol) đã được hòa tan trong dicloetan khô (1mL) vào hỗn hợp này. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 85°C trong 3 giờ, làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, pha loãng với CH_2Cl_2 (20mL), rửa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước. Chiết lớp nước bằng CH_2Cl_2 (20mL) và làm khô lớp hữu cơ đã kết hợp (MgSO_4) và cô. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo (gradient của $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ 20-95% với TFA 0,1% để làm chất phụ gia), các phân đoạn chứa sản phẩm được gộp lại cùng với nhau và cô. Pha loãng cặn với CH_2Cl_2 (30mL), rửa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước. Làm khô lớp CH_2Cl_2 (MgSO_4) và cô để thu được (3-clo-4-metylphenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)-1-(2-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic tinh khiết với hiệu suất 50%.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,4 (bs, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,37-7,05 (m, 9H), 6,55-6,52 (m, 2H), 3,77-3,70 (m, 1H), 3,30-3,16 (m, 1H), 3,04-2,91 (m, 2H), 2,43-1,94 (m, 8H), 1,71-1,46 (m, 11H).

Ví dụ 7

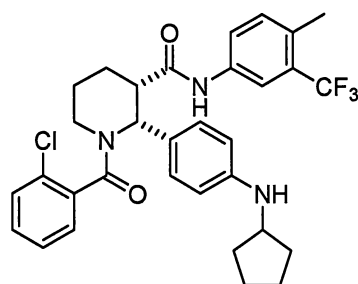
Các hợp chất sau là các hợp chất đại diện được điều chế và được đánh giá bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với các ví dụ ở đây. Số liệu đặc trưng của các hợp chất này được nêu dưới đây. Đánh giá sinh học được thể hiện trên Fig.1 đối với các hợp chất này và các hợp chất khác được điều chế như được mô tả ở đây.

(4-metyl-3-triflometylphenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic



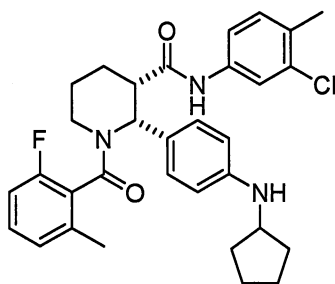
^1H NMR (400 MHz, TFA- d) δ 7,91 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 7,84 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 7,58-6,82 (m, 8 H), 6,75 (t, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 4,10-4,00 (m, 1H), 3,60-3,47 (m, 1H), 3,45-3,41 (m, 1H), 3,33-3,25 (m, 1H), 2,44-2,22 (m, 7H), 2,04-1,92 (m, 4H), 1,82-,169 (m, 7H)

(4-metyl-3-triflometylphenyl)amit của axit (2R,3S)-1-(2-clobenzoyl)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)piperidin-3-carboxylic



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,41 (bs, 0,5H), 9,03 (bs, 0,5H), 7,55 (s, 1H), 7,49-7,39 (m, 3H), 7,31-7,27 (m, 2H), 7,18-7,04 (m, 2H), 6,83-6,74 (m, 3 H), 3,76-3,64 (m, 1H), 3,22-2,90 (m, 5H), 2,39 (s, 3H), 2,32-2,20 (m, 1H), 2,16-2,04 (m, 1H), 2,0-1,86 (m, 2H) 1,80-1,72 (m, 3H), 1,56 (bs, 5H).

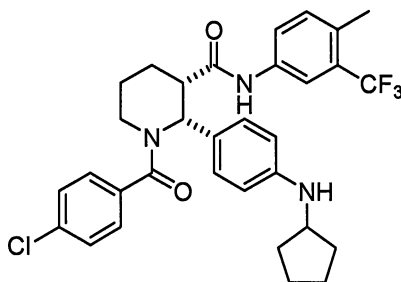
(3-clo-4-metylphenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic



^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 10,22 (s, 1H), 7,67 (dd, $J = 1,8$ Hz, $J = 11,0$ Hz, 1H), 7,04-7,33 (m, 9H), 6,30 (dd, $J = 5,8$ Hz, $J = 9,4$ Hz, 1H), 5,52 (br, 1H), 3,56-3,64 (m, 1H),

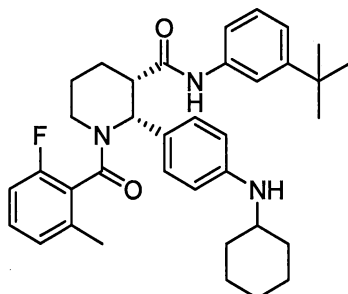
3,00-3,17 (m, 2H), 2,90-2,98 (m, 1H), 2,23 (2,24) (s, 3H), 1,97 (2,33) (s, 3H), 1,32-2,22 (m, 12H)

(4-metyl-3-triflometylphenyl)amit của axit (2R,3S)-1-(4-clobenzoyl)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)piperidin-3-carboxylic



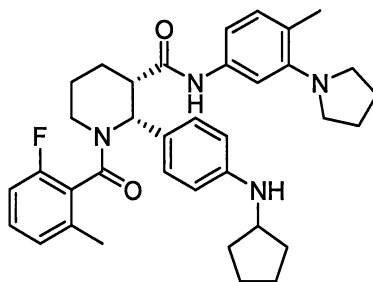
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,79 (bs, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,52-7,48 (m, 1H), 7,37-7,30 (m, 5H), 7,13 (d, $J = 8,4\text{Hz}$, 1H), 6,52-6,50 (m, 3H), 3,75-3,69 (m, 1H), 3,44 (bs, 1H), 3,09-2,97 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,37-2,30 (m, 1H), 2,13-2,08 (m, 1H), 2,10-1,93 (m, 2H), 1,80-1,59 (m, 7H), 1,48-1,42 (m, 2H)

(3- t -butylphenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclohexylaminophenyl)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic



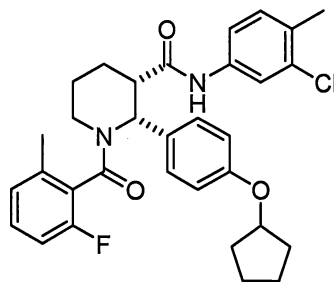
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,24 (m, 1H), 7,40-6,85 (m, 8H), 6,65-6,40 (m, 3H), 3,57 (s, 1H), 3,30- 2,90 (m, 4H), 2,50-1,85 (m, 9H), 1,80-1,50 (m, 5H), 1,40-1,00 (m, 13H)

(4-metyl-3-pyrolidin-1-yl-phenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclopentylaminophenyl)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic



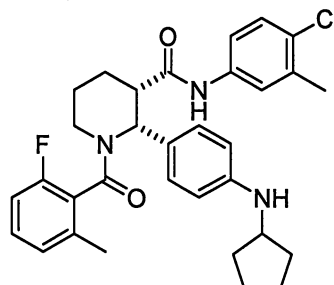
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,98 (m, 1H), 7,40-7,18 (m, 3H), 7,10- 6,80 (m, 4H), 6,64-6,40 (m, 3H), 3,80-3,50 (m, 2H), 3,30-2,90 (m, 6H), 2,50-2,10 (m, 7H), 2,10-1,80 (m, 8H), 1,80-1,20 (m, 9H)

(3-(4-chloro-3-methylphenyl)amino)-2-((2-(4-cyclopentylaminophenyl)-1-(2-fluoro-6-methylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic acid)



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,68 (bs, 0,6H), 8,58 (bs, 0,4H), 7,59-7,40 (m, 3H), 7,29-6,90 (m, 4H), 6,80 (m, 2H), 6,65 (m, 1H), 4,72 (m, 1H), 3,30-2,92 (m, 3H), 2,44 (s, 1H), 2,42-2,30 (m, 1H), 2,30 (s, 1H), 2,29 (s, 2H), 2,20 (s, 2H), 2,19-2,12 (m, 1H), 2,08-1,92 (m, 2H), 1,90-1,72 (m, 7H) 1,60 (m, 2H).

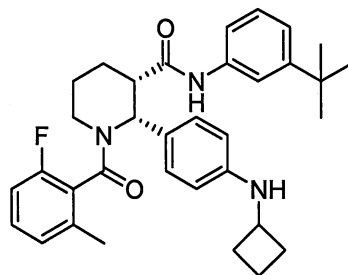
(4-chloro-3-methylphenyl)amino)-2-((2-(4-cyclopentylaminophenyl)-1-(2-fluoro-6-methylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic acid



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,25 (bs, 0,4H), 8,16 (bs, 0,6H), 7,44-7,20 (m, 6H), 7,06-6,84 (m, 2H), 6,59-6,50 (m, 2H), 3,75 (m, 1H), 3,66 (bs, 1H), 3,26-2,92 (m, 3H),

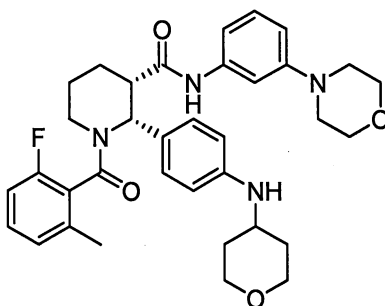
2,43 (s, 1H), 2,42-2,30 (m, 1H), 2,30 (s, 1H), 2,29 (s, 2H), 2,20 (s, 2H), 2,19-2,12 (m, 1H), 2,08-1,92 (m, 2H), 1,80-1,58 (m, 7H) 1,45 (m, 2H).

(3-*t*-butylphenyl)amit của axit (2R,3S)-2-(4-xyclobutylaminophenyl)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)piperidin-3-carboxylic



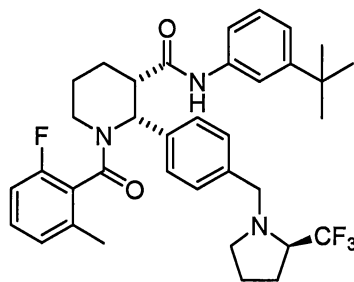
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,20 (s, 0,6 H), 8,39 (s, 0,4 H), 7,44-6,88 (m, 10 H), 6,25 (dd, $J = 12$ Hz, $J = 6$ Hz, 1 H), 6,45 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,87 (m, 1H), 3,26-2,95 (m, 3H), 2,46-2,05 (m, 8H), 1,86-1,61 (m, 5H), 1,34-1,11 (m, 9H)

(3-morpholin-4-yl-phenyl)amit của axit (2R,3S)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)-2-[4-(tetrahydropyran-4-ylamino)phenyl]piperidin-3-carboxylic



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,61 (s, 1 H), 7,34-6,92 (m, 10 H), 6,78-6,65 (m, 1 H), 6,62-6,53 (m, 1H), 3,98-3,85 (m, 4H), 3,83-3,70 (m, 1H), 3,55-3,30 (m, 3H), 3,27-2,98 (M, 4H), 2,42-1,92 (m, 8H), 1,81-1,45 (m, 7H)

(3-*t*-butylphenyl)amit của axit (2R,3S)-1-(2-flo-6-metylbenzoyl)-2-[4-((R)-2-triflo-metylpyrolidin-1-ylmetyl)phenyl]piperidin-3-carboxylic



^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,01 (bs, 0,5H), 7,96 (bs, 0,5H), 7,55-7,37 (m, 3H), 7,30-7,19 (m, 6H), 7,13-7,06 (m, 1H), 7,01-6,90 (m, 1H), 6,85-6,64 (m, 1H), 4,15-4,11 (m, 1H), 3,58-3,54 (m, 1H), 3,30-3,20 (m, 2H), 3,17-2,80 (m, 2H), 2,45-2,17 (m, 4H), 2,00-1,94 (m, 2H), 1,86-1,60 (m, 8H), 1,31-1,26 (m, 7H)

Ví dụ 8

Nguyên liệu và phương pháp

A. Các tế bào

1. Tế bào biểu hiện thụ thể C5a

a) Các tế bào U937

Các tế bào U937 là dòng tế bào bạch cầu đơn nhân to biểu hiện C5aR, và có sẵn từ ATCC (VA). Các tế bào này được nuôi cấy dưới dạng hỗn dịch trong môi trường RPMI-1640 có bổ sung L-glutamin 2mM, 1,5g/L natri bicacbonat, 4,5g/L glucoza, 10mM HEPES, 1mM natri pyruvat, và FBS 10%. Các tế bào được sinh trưởng trong điều kiện 5% CO_2 /95% không khí, độ ẩm 100% ở nhiệt độ 37°C và được cấy chuyển hai lần một tuần theo tỷ lệ 1:6 (các tế bào được nuôi cấy ở mật độ nằm trong khoảng từ 1×10^5 đến 2×10^6 tế bào/mL) và được thu hoạch ở 1×10^6 tế bào/mL. Trước khi thử nghiệm, các tế bào được xử lý qua đêm bằng 0,5mM AMP vòng (Sigma, OH) và rửa một lần trước khi sử dụng. Các tế bào U937 đã được xử lý bằng cAMP có thể được sử dụng trong thử nghiệm chức năng và liên kết phối tử C5aR.

b) Bạch cầu trung tính của người đã được phân lập

Tùy ý, bạch cầu trung tính của người hoặc chuột có thể được sử dụng để thử nghiệm về hoạt tính của hợp chất. Bạch cầu trung tính có thể được phân lập từ máu người tươi sử dụng phương pháp tách riêng và ly tâm theo tỷ trọng. Nói ngắn gọn, toàn bộ máu được ủ với phần tương đương 3% dextran và được để tách trong 45 phút. Sau khi

tách, lớp trên được đặt trên 15ml Ficoll (15ml Ficoll đối với mỗi 30ml hỗn dịch máu) và được ly tâm trong 30 phút ở tốc độ 400xg (4000m/s^2) mà không hãm. Viên tròn ở đáy ống sau đó được tách và được tái tạo huyền phù vào đệm phân giải PharmLyse RBC (BD Biosciences, San Jose, CA) sau đó, mẫu được ly tâm lại trong 10 phút ở tốc độ 400xg (4000m/s^2) có hãm. Viên tròn tế bào còn lại được tái tạo huyền phù nếu cần và gồm bạch cầu trung tính đã được phân lập.

B. Thử nghiệm

1. Sự ức chế liên kết phối tử C5aR

Các tế bào U937 đã được xử lý cAMP biểu hiện C5aR được ly tâm và được tái tạo huyền phù trong đệm thử nghiệm (20mM HEPES pH=7,1, 140mM NaCl, 1mM CaCl_2 , 5mM MgCl_2 , và với albumin huyết thanh bò 0,1%) đến nồng độ 3×10^6 tế bào/mL. Các thử nghiệm liên kết được thiết lập như sau. 0,1ml tế bào được bổ sung vào đĩa thử nghiệm chứa 5 μL hợp chất, tạo ra nồng độ cuối cùng bằng $\sim 2\text{-}10\mu\text{M}$ mỗi hợp chất để sàng lọc (hoặc một phần đáp ứng liều để xác định IC_{50} của hợp chất). Sau đó, bổ sung 0,1ml C5a đã được đánh dấu bằng ^{125}I (thu được từ Perkin Elmer Life Sciences, Boston, MA) đã được pha loãng trong đệm thử nghiệm đến nồng độ cuối cùng là $\sim 50\text{pM}$, tạo ra ~ 30000 cpm cho mỗi giếng, các đĩa được bít kín và được ủ trong xấp xỉ 3 giờ ở nhiệt độ 4°C trên nền rung. Phản ứng được hút trên bộ lọc thủy tinh GF/B đã được ngâm trước trong dung dịch polyetylenimin (PEI) 0,3%, trên thiết bị thu tế bào chân không (Packard Instruments; Meriden, CT). Chất lỏng nhấp nháy (40 μL ; Microscint 20, Packard Instruments) được bổ sung vào mỗi giếng, các đĩa được bít kín và hoạt tính phóng xạ được đo trong thiết bị đếm nhấp nháy Topcount (Packard Instruments). Các giếng đối chứng chỉ chứa chất pha loãng (đối với tổng số đếm) hoặc C5a dư ($1\mu\text{g/mL}$, đối với liên kết không đặc hiệu) được sử dụng để tính toán % ức chế tổng cộng đối với hợp chất. Chương trình máy tính Prism từ GraphPad, Inc. (San Diego, Ca) được sử dụng để tính các giá trị IC_{50} . Giá trị IC_{50} là nồng độ cần để làm giảm liên kết của C5a đã được đánh dấu phóng xạ với thụ thể xuống 50%. (Đối với các mô tả thêm nữa về sự liên kết phối tử và các thử nghiệm chức năng khác, xem tài liệu Dairaghi, et al., J. Biol. Chem. 274:21569-21574 (1999), Penfold, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96:9839-9844 (1999), và Dairaghi, et al., J. Biol. Chem. 272:28206-28209 (1997)).

2. Sự huy động canxi

Tùy ý, các hợp chất có thể còn được thử nghiệm về khả năng ức chế dòng canxi của chúng trong các tế bào. Để phát hiện sự giải phóng các kho cất giữ canxi nội bào, các tế bào (ví dụ U937 được kích thích cAMP hoặc bạch cầu trung tính) được ủ với $3\mu\text{M}$ thuốc nhuộm INDO-1AM (Molecular Probes; Eugene, OR) trong môi trường tế bào trong 45 phút ở nhiệt độ trong phòng và được rửa bằng nước muối được đệm phosphat (PBS). Sau khi nạp INDO-1AM, các tế bào được tái tạo huyền phù trong đệm hồi lưu (dung dịch muối được cân bằng của Hank (HBSS) và FBS 1%). Sự huy động canxi được xác định bằng cách sử dụng phổ quang kế Photon Technology International (Photon Technology International; New Jersey) với sự kích thích ở bước sóng 350nm và ghi nhận kép đồng thời sự phát huỳnh quang ở bước sóng 400nm và 490nm. Mức canxi nội bào tương đối được biểu hiện dưới dạng tỷ số phát ánh sáng ở bước sóng 400nm/490nm. Thử nghiệm được tiến hành ở nhiệt độ 37°C có tiến hành trộn không đổi trong các cuvet, mỗi cuvet chứa 10^6 tế bào trong 2ml đệm hồi lưu. Các phối tử chemokin có thể được sử dụng trong khoảng từ 1 đến 100nM. Tỷ lệ phát sáng được vẽ đồ thị theo thời gian (thông thường 2-3 phút). Các hợp chất ứng viên phong bế phối tử (lên đến $10\mu\text{M}$) được bổ sung ở 10 giây, tiếp đó là chemokin ở 60 giây (tức là, C5a; R&D Systems; Minneapolis, MN) và chemokin đối chứng (tức là, SDF-1 α ; R&D Systems; Minneapolis, MN) trong thời gian 150 giây.

3. Thử nghiệm hóa ứng động

Tùy ý, các hợp chất có thể còn được thử nghiệm về khả năng ức chế quá trình hóa ứng động của chúng trong các tế bào. Các thử nghiệm hóa ứng động được thực hiện bằng cách sử dụng polycarbonat lỗ rỗng $5\mu\text{m}$, bộ lọc được phủ polyvinylpyrrolidon trong ngăn hóa ứng động gồm 96 giếng (Neuroprobe; Gaithersburg, MD) sử dụng đệm hóa ứng động (Dung dịch muối được cân bằng của Hank (HBSS) và FBS 1%). Các phối tử C5aR (tức là, C5a, R&D Systems; Minneapolis, MN) được sử dụng để đánh giá khả năng ức chế được điều tiết bởi hợp chất đối với sự di trú được điều tiết bởi C5aR. Các chemokin khác (tức là, SDF-1 α ; R&D Systems; Minneapolis, MN) được sử dụng để làm đối chứng về tính đặc hiệu. Ngăn dưới được nạp 29 μl chemokin (tức là, 0,03nM C5a) và thay đổi lượng của hợp chất; ngăn trên chứa 100.000 tế bào U937 hoặc bạch cầu trung tính trong 20 μl . Các ngăn này được ủ 1,5 giờ ở nhiệt độ 37°C , và số lượng tế bào trong ngăn dưới

được xác định bằng số đếm tế bào trực tiếp trong năm miền được cấp năng lượng cao cho mỗi giếng hoặc bằng thử nghiệm CyQuant (Molecular Probes), phương pháp nhuộm huỳnh quang xác định hàm lượng axit nucleic và quan sát bằng kính hiển vi.

C. Nhận biết các chất ức chế C5aR

1. Thử nghiệm

Để đánh giá các phân tử hữu cơ nhỏ mà ngăn không cho thụ thể C5a liên kết với phối tử, thử nghiệm được sử dụng để phát hiện được sự liên kết của phối tử có tính phóng xạ (tức là, C5a) với các tế bào biểu hiện C5aR trên bề mặt tế bào (ví dụ, các tế bào U937 được kích thích cAMP hoặc bạch cầu trung tính của người đã được phân lập). Đối với các hợp chất ức chế sự liên kết, cho dù cạnh tranh hay không, quan sát thấy lượng có hoạt tính phóng xạ ít hơn khi được so với đối chứng không bị ức chế.

Bổ sung số lượng tế bào bằng nhau vào mỗi giếng trong đĩa. Sau đó, các tế bào được ủ với C5a được đánh dấu phóng xạ. Phối tử chưa được liên kết được loại bỏ bằng cách rửa tế bào, và phối tử đã được liên kết được xác định bằng cách định lượng số đếm hoạt tính phóng xạ. Các tế bào không được ủ với hợp chất hữu cơ bất kỳ tạo ra tổng số đếm; liên kết không đặc hiệu được xác định bằng cách ủ các tế bào với phối tử chưa được đánh dấu và phối tử đã được đánh dấu. % ức chế được xác định bằng phương trình:

$$\% \text{ ức chế} = (1 - [(\text{cpm mẫu}) - (\text{cpm không đặc hiệu})] / [(\text{cpm tổng}) - (\text{cpm không đặc hiệu})]) \times 100.$$

2. Đường cong đáp ứng liều

Để xác định ái lực của hợp chất ứng viên đối với C5aR cũng như xác nhận khả năng ức chế liên kết phối tử của nó, hoạt tính ức chế được chuẩn trong khoảng nồng độ hợp chất từ 1×10^{-10} đến 1×10^{-4} M. Trong thử nghiệm này, lượng hợp chất được thay đổi; trong khi số lượng tế bào và nồng độ phối tử được giữ không đổi.

D. Mô hình thử nghiệm hiệu quả in vivo

Các hợp chất được quan tâm có thể được đánh giá về hiệu quả tiềm năng để điều trị các tình trạng bệnh lý được điều tiết bởi C5a bằng cách xác định hiệu quả của hợp chất này trong mô hình thử nghiệm ở động vật. Ngoài các mô hình thử nghiệm được mô

tả dưới đây, các mô hình thử nghiệm ở động vật thích hợp khác để nghiên cứu hợp chất được quan tâm có thể được tìm thấy trong Mizuno, M. et al., Expert Opin. Investig. Drugs (2005), 14(7), 807-821, được đưa vào phần mô tả này bằng cách viện dẫn.

1. Mô hình thử nghiệm về sự giảm bạch cầu do C5a gây ra

a) Sự giảm bạch cầu do C5a gây ra ở mô hình thử nghiệm trên chuột nhắt được gắn gen (knock-in) C5aR ở người

Để nghiên cứu hiệu quả của hợp chất theo sáng chế trong mô hình thử nghiệm ở động vật, chuột nhắt tái tổ hợp có thể được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật chuẩn, trong đó trình tự di truyền mã hoá cho C5aR của chuột nhắt được thay bằng trình tự mã hoá cho C5aR của người, để tạo ra chuột nhắt hC5aR-KI. Ở chuột này, việc sử dụng hC5a dẫn đến sự điều tiết tăng của phân tử bám dính trên thành mạch máu mà liên kết với bạch cầu trong máu, cô lập chúng từ dòng máu. Các con chuột được dùng 20ug/kg hC5a và 1 phút sau, bạch cầu được xác định trong máu ngoại vi bằng các kỹ thuật chuẩn. Việc xử lý sơ bộ chuột nhắt bằng các liều khác nhau của hợp chất theo sáng chế hầu như có thể phong bế hoàn toàn sự giảm bạch cầu do hC5a gây ra.

b) Sự giảm bạch cầu do C5a gây ra ở mô hình thử nghiệm trên khỉ Cynomolgus

Để nghiên cứu hiệu quả của hợp chất theo sáng chế trong mô hình thử nghiệm ở động vật linh trưởng không phải của người, sự giảm bạch cầu do C5a gây ra được nghiên cứu trong mô hình thử nghiệm trên khỉ cynomolgus. Trong mô hình thử nghiệm này, việc sử dụng hC5a dẫn đến sự điều tiết tăng của phân tử bám dính trên thành mạch máu mà liên kết với bạch cầu trong máu, do đó cô lập chúng từ dòng máu. Các con khỉ được dùng 10ug/kg hC5a và 1 phút sau, bạch cầu được xác định trong máu ngoại vi.

Mô hình thử nghiệm ở chuột nhắt về sự viêm mạch do ANCA gây ra

Vào ngày 0, chuột nhắt hC5aR-KI được tiêm trong tĩnh mạch với 50mg/kg kháng thể đã được tinh chế đối với myeloperoxidaza (Xiao et al, J. Clin. Invest. **110**: 955-963 (2002)). Chuột nhắt còn được cho dùng liều với liều hàng ngày qua đường miệng của hợp chất theo sáng chế hoặc chất dẫn thuốc trong bảy ngày, sau đó, chuột nhắt được giết và thận được thu gom để xét nghiệm mô học. Phân tích lát cắt thận có thể cho thấy số lượng và mức độ trầm trọng của các tổn thương hình lưỡi liềm và bị hoại tử trong các

cuộn tiêu cầu giảm một cách đáng kể so với các con chuột được điều trị bằng chất dẫn thuốc.

2. Mô hình thử nghiệm trên chuột nhắt về sự tạo mạch mới màng mạch

Để nghiên cứu hiệu quả của hợp chất theo sáng chế trong điều trị sự thoái hoá điểm vàng có liên quan đến tuổi tác (AMD), màng kết mạc mi dưới trong mắt của chuột nhắt hC5aR-KI bị làm vỡ bằng phương pháp ngưng kết quang học bằng laze (Nozika et al, PNAS **103**: 2328-2333 (2006)). Chuột nhắt được xử lý bằng chất dẫn thuốc hoặc liều trong thể kính thích hợp hoặc dùng hàng ngày qua đường miệng của hợp chất theo sáng chế trong từ một đến hai tuần. Việc sửa chữa sự tổn hại do laze gây ra và sự tạo mạch mới được đánh giá bằng nghiên cứu mô và chụp X quang mạch máu.

3. Mô hình thử nghiệm viêm khớp dạng thấp

a) Mô hình thử nghiệm trên thỏ về chứng viêm khớp phá hủy

Để nghiên cứu ảnh hưởng của các hợp chất ứng viên đến sự ức chế đáp ứng viêm của thỏ đối với việc tiêm trong khớp của thành phần màng vi khuẩn lipopolysaccharit (LPS), mô hình thử nghiệm ở thỏ về chứng viêm khớp phá hủy được sử dụng. Nghiên cứu này phỏng theo chứng viêm khớp phá hủy được thấy ở bệnh khớp. Việc tiêm LPS trong khớp gây ra đáp ứng viêm cấp tính, được đặc trưng bởi sự giải phóng xytokin và chemokin, nhiều chất trong số các chất này đã được xác định trong các khớp viêm khớp dạng thấp. Sự tăng đáng kể trong lượng bạch cầu xảy ra trong dòng hoạt dịch và trong màng hoạt dịch để đáp lại sự tăng cao của các chất điều tiết hóa ứng động này. Chất đối kháng chọn lọc của thụ thể chemokin đã cho thấy hiệu quả trong mô hình thử nghiệm này (xem Podolin, et al., J. Immunol. 169(11):6435-6444 (2002)).

Nghiên cứu LPS ở thỏ được tiến hành về cơ bản như được mô tả trong Podolin, et al. *ibid.*, thỏ cái Niu Di-lân (xấp xỉ 2 kilogam) được xử lý trong khớp ở một đầu gối bằng LPS (10 ng) cùng với chỉ có chất dẫn thuốc (nước muối được đệm phosphat với DMSO 1%) hoặc có bổ sung hợp chất ứng viên (liều 1 = 50 μ M hoặc liều 2 = 100 μ M) trong tổng thể tích là 1,0mL. 16 giờ sau khi tiêm LPS, rửa đầu gối và tiến hành đếm tế bào. Các tác dụng có lợi của việc xử lý được xác định bằng cách đánh giá mô bệnh học của chứng viêm hoạt dịch. Điểm số viêm được sử dụng để đánh giá mô bệnh học: 1 – tối thiểu, 2 - nhẹ, 3 – vừa phải, 4 – vừa phải – rõ rệt.

b) Đánh giá hợp chất trong mô hình thử nghiệm ở chuột cống về bệnh khớp do collagen gây ra

Nghiên cứu về bệnh khớp collagen typ II kéo dài 17 ngày được tiến hành để đánh giá ảnh hưởng của hợp chất ứng viên đến việc sưng mắt cá chân lâm sàng do bệnh khớp gây ra. Bệnh khớp collagen ở chuột cống là mô hình thử nghiệm về chứng viêm đa khớp đã được sử dụng rộng rãi để thử nghiệm tiền lâm sàng nhiều chất chống viêm khớp (xem Trentham, et al., J. Exp. Med. 146(3):857-868 (1977), Bendele, et al., Toxicologic Pathol. 27:134-142 (1999), Bendele, et al., Arthritis Rheum. 42:498-506 (1999)). Dấu hiệu phân biệt của mô hình thử nghiệm này là sự bắt đầu chắc chắn và sự tiến triển mạnh, chứng viêm đa khớp có thể xác định được một cách dễ dàng, sự phá huỷ sụn rõ rệt có liên quan đến sự tạo thành màng máu và sự tăng sinh xương màng xương và sự tái hấp thu xương từ nhẹ đến vừa.

Chuột Lewis cái (xấp xỉ 0,2 kilogam) được gây mê bằng isofluran và được tiêm tá được không hoàn chỉnh Freund chứa 2mg/mL collagen typ II của bò ở gốc đuôi và hai vị trí trên lưng vào ngày 0 và 6 của nghiên cứu 17 ngày này. Hợp chất ứng viên được cho dùng liều hàng ngày theo cách dưới da từ ngày 0 đến ngày 17 ở liều hiệu quả. Tiến hành đo bằng compa đường kính khớp mắt cá chân, và việc làm giảm sưng khớp được xem là thông số xác định hiệu quả.

4. Mô hình thử nghiệm ở chuột cống về sự nhiễm trùng

Để nghiên cứu mức độ ảnh hưởng của hợp chất được quan tâm đến sự ức chế đáp ứng viêm phổ biến có liên quan đến bệnh như nhiễm trùng, mô hình thử nghiệm ở chuột cống được châm thủng và nối ruột tịt (Cecal Ligation and Puncture (CLP)) về bệnh nhiễm khuẩn được sử dụng. Nghiên cứu CLP ở chuột cống được tiến hành về cơ bản như được mô tả trong Fujimura N, et al. (American Journal Respiratory Critical Care Medicine 2000; 161: 440-446). Được mô tả một cách ngắn gọn ở đây, chuột Wistar Albino đực và cái nặng khoảng 200-250g được để nhịn đói trong 12 giờ trước khi thử nghiệm. Các con vật được giữ trong chu kỳ 12 giờ sáng và tối thông thường và được cho ăn thức ăn chuẩn của chuột cho đến 12 giờ trước khi thử nghiệm. Sau đó, các con chuột được chia thành bốn nhóm; (i) hai nhóm phẫu thuật giả và (ii) hai nhóm CLP. Mỗi trong số hai nhóm này (tức là, (i) và (ii)) được chia thành nhóm đối chứng chất dẫn thuốc và nhóm hợp chất thử nghiệm. Sự nhiễm trùng được gây ra bởi phương pháp CLP. Dưới

điều kiện gây tê ngắn, thủ thuật mở bụng đường trung bình được tiến hành sử dụng sự mổ xẻ tối thiểu và manh tràng được buộc ngay dưới van ruột hồi-tịt bằng 3-0 tơ, vì vậy sự liên tục của ruột được duy trì. Bề mặt phần đối diện mạc treo ruột của manh tràng (antimesenteric surface of cecum) được đục lỗ bằng kim 18 gauge ở hai vị trí cách nhau 1 cm và manh tràng được bóp nhẹ cho đến khi phân được đùn ra. Sau đó, ruột được để lại vào bụng và chỗ rạch được đóng kín. Vào cuối quá trình mổ, tất cả các con chuột được làm tỉnh lại bằng nước muối, 3ml/100g thể trọng, được cung cấp dưới da. Sau khi mổ, chuột cống bị bỏ đói, nhưng có thể uống nước tự do trong 16 giờ tiếp theo cho đến khi chúng được giết. Nhóm được phẫu thuật giả được đưa ra thủ thuật mở bụng và manh tràng được thao tác bằng tay nhưng không được nối hoặc được đục lỗ. Tác dụng có lợi của việc điều trị được xác định bằng điểm số mô bệnh học của mô và cơ quan cũng như việc xác định một số chất chỉ thị quan trọng của chức năng gan, chức năng thận, và sự peroxy hóa lipid. Để thử nghiệm chức năng gan, aspartat transaminaza (AST) và alanin transaminaza (ALT) được xác định. Nồng độ nitơ ure và creatinin trong máu được nghiên cứu để đánh giá chức năng thận. Các xytokin tiền viêm như TNF-alpha và IL-1beta cũng được thử nghiệm bằng ELISA đối với các mức huyết thanh.

5. Mô hình thử nghiệm SLE ở chuột nhắt về chứng viêm thận luput thử nghiệm.

Để nghiên cứu mức độ ảnh hưởng của hợp chất được quan tâm đến chứng luput ban đỏ hệ thống (SLE), mô hình thử nghiệm SLE ở chuột MRL/lpr được sử dụng. Chuột MRL/Mp-Tmfrsf6^{lpr/lpr} (MRL/lpr) là mô hình thử nghiệm ở chuột nhắt thường được sử dụng về SLE ở người. Để thử nghiệm hiệu quả của hợp chất trong mô hình thử nghiệm này, chuột nhắt MRL/lpr được chia đều giữa nhóm chất đối kháng C5aR và nhóm đối chứng ở 13 tuần tuổi. Sau đó, trong 6 tuần tiếp theo, hợp chất hoặc chất dẫn thuốc được dùng cho các con chuột thông qua bơm thẩm thấu để duy trì lớp bảo vệ và làm giảm đến mức tối thiểu tác động ứng suất đến các con chuột. Các mẫu huyết thanh và nước tiểu được thu gom hai tuần một lần trong vòng sáu tuần bắt đầu và tiến triển bệnh. Trong phần nhỏ các con chuột này, chứng xơ cứng tiểu cầu thận phát triển dẫn đến cái chết của chuột do suy thận. Tỷ lệ tử vong sau đó như là dấu hiệu biểu thị của sự suy thận là một trong số các tiêu chuẩn được xác định và sự điều trị thành công thường làm chậm thời gian khởi phát cái chết đột ngột trong số các nhóm thử nghiệm này. Ngoài ra, sự có mặt và quy mô của bệnh thận cũng có thể được kiểm tra liên tục bằng các số đo nitơ ure

máu (BUN) và albumin – niệu. Mô và cơ quan cũng được thu gom tại thời điểm 19 tuần và được cho qua nghiên cứu mô bệnh học và hóa học mô miễn dịch và được tính điểm dựa trên cơ sở mức độ làm tổn hại mô và sự thâm tế bào.

6. Mô hình thử nghiệm ở chuột cống về COPD

Chứng viêm đường hô hấp do khói thuốc gây ra trong mô hình thử nghiệm ở loài gặm nhấm có thể được sử dụng để đánh giá hiệu quả của hợp chất trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD). Chất đối kháng chọn lọc của chemokin đã cho thấy hiệu quả trong mô hình thử nghiệm này (xem, Stevenson, et al., *Am. J. Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 288 L514-L522, (2005)). Mô hình thử nghiệm COPD cấp tính ở chuột cống được tiến hành như được mô tả bởi Stevenson et al. Hợp chất quan tâm được cấp toàn thân thông qua việc dùng liều qua đường miệng hoặc trong tĩnh mạch; hoặc được cấp tại chỗ hợp chất được bơm khí dung. Chuột Sprague-Dawley đực (350-400g) được đặt trong buồng Perspex và được tiếp xúc với khói thuốc lá hút vào thông qua bơm (50mL cứ 30 giây một lần với không khí sạch giữa các lần). Chuột cống được cho tiếp xúc với khói thuốc lá trong tổng thời gian là 32 phút. Chuột cống được giết 7 ngày sau khi phơi nhiễm ban đầu. Các tác dụng có lợi bất kỳ của việc điều trị được đánh giá bằng cách giảm thâm lọc tế bào viêm, giảm mức chemokin và xytokin.

Trong mô hình thử nghiệm mạn tính, chuột nhắt hoặc chuột cống được tiếp xúc với khói thuốc lá hàng ngày trong vòng 12 tháng. Hợp chất được cấp toàn thân thông qua việc dùng liều qua đường miệng một lần một ngày, hoặc có khả năng được cấp tại chỗ hợp chất được bơm khí dung. Ngoài hiện tượng viêm được quan sát thấy với mô hình thử nghiệm cấp tính (Stevensen et al.), các con chuột cũng có thể thể hiện các bệnh học khác tương tự với bệnh học được quan sát thấy trong COPD ở người như sự tràn khí (như được biểu thị bởi sự tăng phần mặt phẳng tuyến tính trung bình) cũng như thay đổi đặc tính hóa học của phổi (xem Martorana et al, *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 172(7): 848-53).

7. Mô hình thử nghiệm EAE ở chuột nhắt về chứng xơ cứng rải rác

Chứng viêm não-tủy tự miễn thử nghiệm (EAE) là mô hình thử nghiệm về chứng xơ cứng rải rác ở người. Các cải biến của mô hình thử nghiệm này đã được công bố, và đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong quy trình điển hình, chuột nhắt C57BL/6 (Charles River Laboratories) được sử dụng cho mô hình thử nghiệm EAE. Chuột nhắt

được gây miễn dịch bằng 200ug myelin oligodendrocyt glycoprotein (MOG) 35–55 (Peptit International) đã được nhũ hóa trong tá dược Freund hoàn chỉnh (CFA) chứa 4mg/ml vi khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*) (Sigma-Aldrich) dưới da (s.c.) vào ngày 0. Ngoài ra, vào ngày 0 và ngày 2 các con chuột được cho dùng 200 ng độc tố ho gà (Calbiochem) trong tĩnh mạch (i.v.). Điểm số lâm sàng được tính dựa trên tỷ lệ 0–5: 0, không có dấu hiệu của bệnh; 1, đuôi mềm; 2, yếu chi sau; 3, liệt chi sau; 4, yếu hoặc liệt chi trước; 5, sắp chết. Có thể bắt đầu việc cho dùng liều của hợp chất quan tâm cần được đánh giá vào ngày 0 (phòng ngừa) hoặc ngày 7 (trị liệu, khi dấu hiệu mô học của bệnh có mặt nhưng ít con chuột có các dấu hiệu lâm sàng) và được cho dùng liều một lần hoặc nhiều lần mỗi ngày ở các nồng độ thích hợp cho hoạt tính và các tính chất dược động học của chúng, ví dụ 100mg/kg s.c. Hiệu quả của hợp chất có thể được đánh giá bằng cách so sánh mức độ nghiêm trọng (điểm số lâm sàng trung bình cực đại trong điều kiện có mặt của hợp chất được so sánh với chất dẫn thuốc), hoặc bằng cách xác định sự giảm số lượng đại thực bào (F4/80 dương) được tách ra từ dây cột sống. Tế bào đơn nhân của dây cột sống có thể được phân lập thông qua qua gradien Percoll không liên tục. Các tế bào có thể được nhuộm màu bằng cách sử dụng F4/80-PE kháng chuột ở chuột cống hoặc IgG2b-PE ở chuột cống (Caltag Laboratories) và được định lượng bằng phân tích FACS sử dụng 10 ul Polybead cho mỗi mẫu (Polysciences).

8. Mô hình thử nghiệm ở chuột nhắt về sự cấy ghép thận

Mô hình thử nghiệm về sự cấy ghép có thể được tiến hành ở chuột nhắt, ví dụ mô hình thử nghiệm về cấy ghép thận dị gen từ chuột nhắt C57BL/6 sang chuột nhắt BALB/c được mô tả trong Faikah Gueler et al, JASN Express, Aug 27th, 2008. Nói ngắn gọn, chuột nhắt được gây tê và thận trái của chuột nhắt cho được gắn vào dải quần của động mạch chủ và tĩnh mạch thận với dải quần tĩnh mạch chủ nhỏ, và ống niệu được loại bỏ toàn bộ. Sau khi phẫu thuật cắt bỏ thận trái của thể nhận, dải quần mạch được nối với động mạch chủ và tĩnh mạch chủ ở bụng của thể nhận, một cách tương ứng, dưới mức của mạch thận nguyên gốc. Ống niệu được nối trực tiếp vào bàng quang. Thời gian thiếu máu cục bộ lạnh là 60 phút, và thời gian thiếu máu cục bộ ấm là 30 phút. Thận phải nguyên gốc có thể được loại bỏ tại thời điểm cấy ghép dị ghép hoặc vào ngày 4 sau cấy ghép để nghiên cứu về sự sống sót lâu dài. Tình trạng sinh lý chung của chuột nhắt được kiểm tra về dấu hiệu của sự đào thải. Có thể bắt đầu việc điều trị bằng hợp chất trước phẫu thuật hoặc ngay sau khi cấy ghép, ví dụ bằng cách tiêm dưới da một lần một ngày.

Chuột nhắt được nghiên cứu về chức năng thận và khả năng sống sót. Mức creatinin trong huyết thanh được xác định bằng phương pháp tự động hóa (Beckman Analyzer, Krefeld, Germany).

9. Mô hình thử nghiệm bệnh thiếu máu cục bộ/tái tưới máu ở chuột nhắt

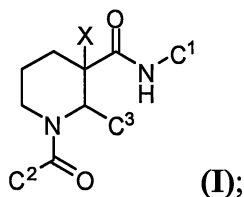
Mô hình thử nghiệm về tổn thương tái tưới máu/thiếu máu cục bộ ở chuột nhắt có thể được thực hiện như được mô tả bởi Xiufen Zheng et al, Am. J. Pathol, Vol 173:4, Oct, 2008. Nói ngắn gọn, chuột nhắt CD1 6-8 tuần tuổi được gây tê và được đặt trên miếng gia nhiệt để duy trì trạng thái ấm trong quá trình phẫu thuật. Sau khi rạch bụng, cuống thận được phẫu tích và kẹp vi mạch được đặt trên cuống thận trái trong thời gian từ 25 đến 30 phút. Sau hiện tượng thiếu máu cục bộ, các kẹp được loại bỏ cùng với thận phải, vết rạch được khâu, và các con chuột được để cho phục hồi. Máu được thu gom để phân tích creatinin và BUN trong huyết thanh để làm dấu hiệu chỉ thị về trạng thái sức khỏe của thận. Theo cách khác, sự sống sót của các con chuột được kiểm tra theo thời gian. Hợp chất có thể được cấp cho các con chuột trước và/hoặc sau phẫu thuật và việc tác động đến creatinin, BUN trong huyết thanh hoặc sự sống sót của các con chuột được dùng làm dấu hiệu chỉ thị về hiệu quả của hợp chất.

10. Mô hình thử nghiệm về sự phát triển của khối u ở chuột nhắt

Chuột nhắt C57BL/6 6–16 tuần tuổi được tiêm dưới da với 1×10^5 tế bào TC-1 (ATCC, VA) ở sườn sau bên phải hoặc trái. Bắt đầu khoảng 2 tuần sau khi tiêm tế bào, các khối u được đo bằng compa cứ từ 2 đến 4 ngày một lần cho đến khi kích thước khối u đạt mức cần thiết, thì chuột nhắt được giết. Vào lúc bị giết, các con chuột được khám nghiệm xác chết đầy đủ và lá lách và các khối u được lấy ra. Các khối u đã cắt bỏ được đo và cân. Các hợp chất có thể được cấp trước và/hoặc sau khi tiêm khối u, và khả năng làm chậm hoặc ức chế sự phát triển của khối u được sử dụng để đánh giá hiệu quả của hợp chất.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức:



và các muối và rotame được dụng của chúng; trong đó:

C¹ là phenyl tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R¹;

C² là phenyl tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R²;

C³ được chọn từ nhóm bao gồm C₃₋₈ xycloalkyl và phenyl, và mỗi C³ tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R³;

mỗi R¹ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, -R^c, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -C(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a, -NR^bC(O)₂R^c, -NR^a-C(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -OR^a, và -S(O)₂NR^aR^b; trong đó mỗi R^a và R^b độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₈ alkyl, và C₁₋₈ haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₈ alkyl, C₁₋₈ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^a, R^b và R^c tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino; và tùy ý khi hai phần tử thế R¹ nằm trên các nguyên tử liền kề, được kết hợp để tạo thành vòng dạng vòng cacbon ngưng tụ có năm hoặc sáu cạnh;

mỗi R² độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, -R^f, -CO₂R^d, -CONR^dR^e, -C(O)R^d, -OC(O)NR^dR^e, -NR^eC(O)R^d, -NR^eC(O)₂R^f, -NR^dC(O)NR^dR^e, -NR^dR^e, -OR^d, và -S(O)₂NR^dR^e; trong đó mỗi R^d và R^e độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₈ alkyl, và C₁₋₈ haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^f độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₈ alkyl, C₁₋₈ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^d, R^e và R^f tùy ý

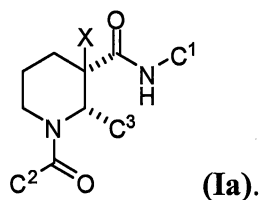
còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino;

mỗi R^3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-CN$, $-R^i$, $-CO_2R^g$, $-CONR^gR^h$, $-C(O)R^g$, $-OC(O)NR^gR^h$, $-NR^hC(O)R^g$, $-NR^hC(O)_2R^i$, $-NR^gC(O)NR^gR^h$, $-NR^gR^h$, $-OR^g$, $-S(O)_2NR^gR^h$, $-X^4-R^j$, $-X^4-NR^gR^h$, $-X^4-CONR^gR^h$, $-X^4-NR^hC(O)R^g$, $-NHR^j$ và $-NHCH_2R^j$, trong đó X^4 là C_{1-4} alkylen; mỗi R^g và R^h độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O hoặc S và tùy ý được thế bằng một hoặc hai oxo; mỗi R^i độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl; và mỗi R^j được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl, pyrrolinyl, piperidinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, và tetrahydropyranyl, và trong đó phần béo và vòng của R^g , R^h , R^i và R^j tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, metyl, CF_3 , hydroxy, amino, alkylamino và dialkylamino; và

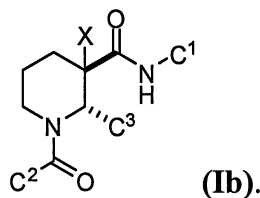
X là hydro hoặc CH_3 .

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó X là hydro.

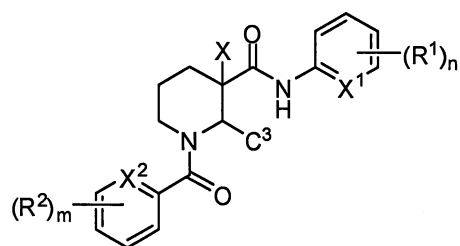
3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó:

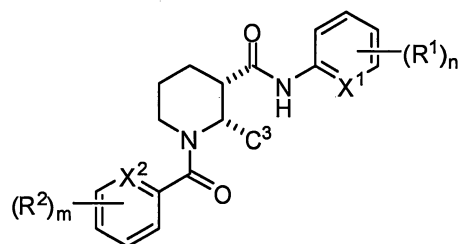
X^1 được chọn từ nhóm bao gồm CH và CR^1 ;

chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2;

X^2 được chọn từ nhóm bao gồm CH và CR^2 ; và

chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2.

6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó:

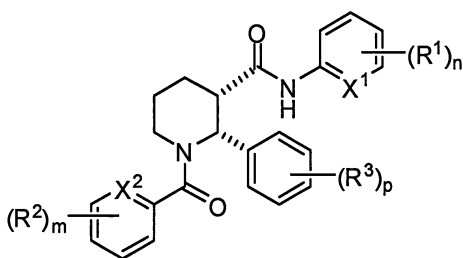
X^1 được chọn từ nhóm bao gồm CH và CR^1 ;

chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2;

X^2 được chọn từ nhóm bao gồm CH và CR^2 ; và

chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó:

chỉ số dưới p là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3;

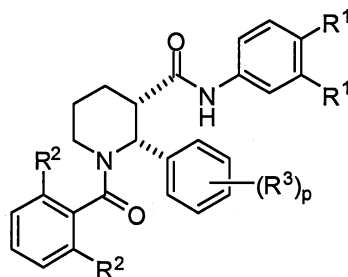
X^1 được chọn từ nhóm bao gồm CH và CR^1 ;

chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2;

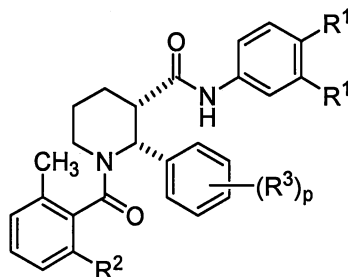
X^2 được chọn từ nhóm bao gồm CH và CR^2 ; và

chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2.

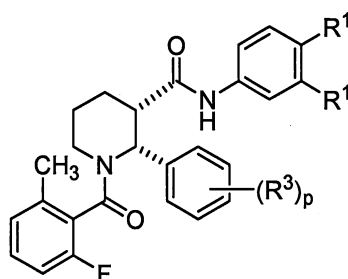
8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



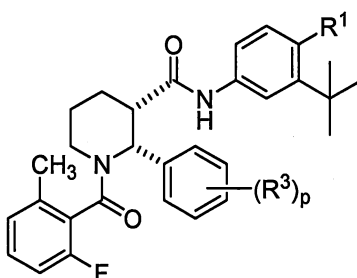
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



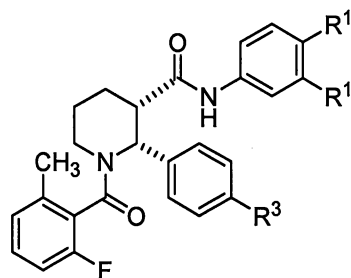
10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



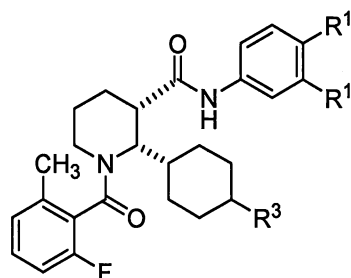
11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



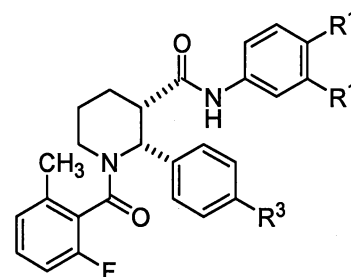
12. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



13. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:

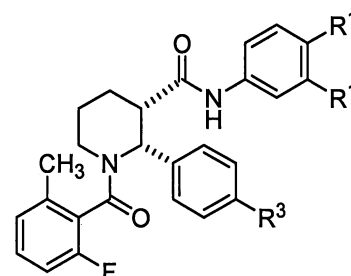


14. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó R^3 là phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm $-NR^gR^h$, $-NHR^j$ và $-NHCH_2R^j$.

15. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



trong đó R^3 là phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm $-X^4-NR^gR^h$, $-X^4-R^j$ và $-X^4-NR^hCOR^g$.

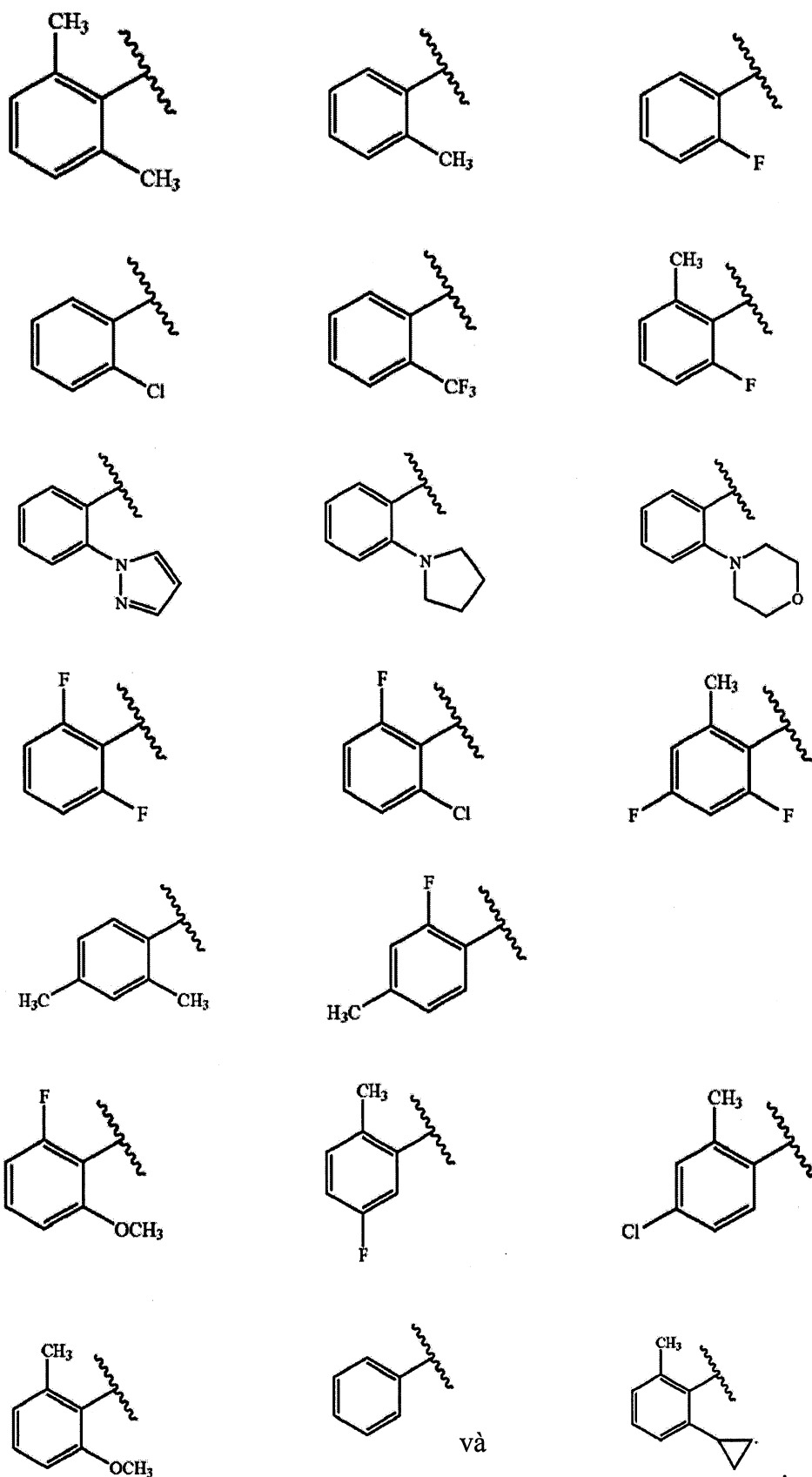
16. Hợp chất theo điểm 1, trong đó C^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl và phenyl, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R^3 .

17. Hợp chất theo điểm 1, trong đó mỗi R^1 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, $-R^c$, $-NR^aR^b$ và $-OR^a$, và trong đó mỗi R^a và R^b độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng pyrrolidin; mỗi R^c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl và C_{3-6} xycloalkyl, và trong đó phần béo và vòng của R^a , R^b và R^c tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino; và tùy ý khi hai phần tử thế R^1 nằm trên các nguyên tử liền kề, được kết hợp để tạo thành vòng dạng vòng cacbon ngưng tụ có năm hoặc sáu cạnh.

18. Hợp chất theo điểm 1, trong đó mỗi R^2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-R^f$ và $-OR^d$; trong đó mỗi R^d độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl; mỗi R^f độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^d và R^f tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino.

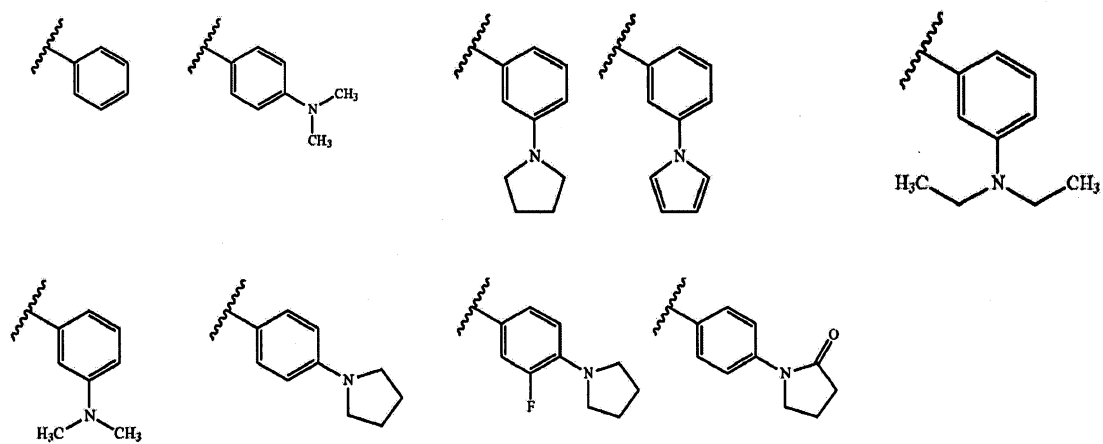
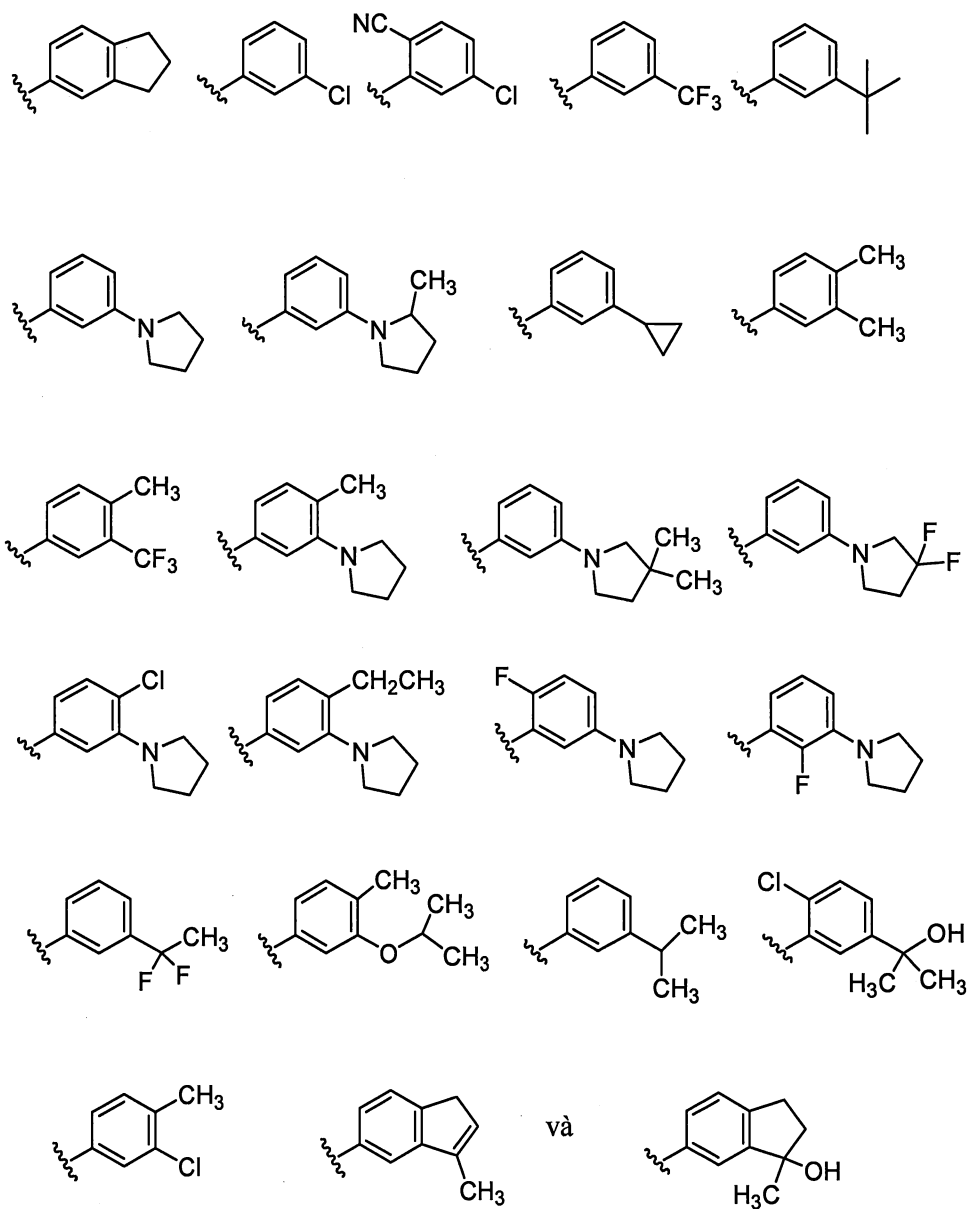
19. Hợp chất theo điểm 16, trong đó mỗi R^3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-R^i$, $-CO_2R^g$, $-CONR^gR^h$, $-NR^hC(O)R^g$, $-NR^hC(O)_2R^i$, $-NR^gR^h$, $-OR^g$, $-X^4-R^j$, $-X^4-NR^gR^h$, $-X^4-CONR^gR^h$, $-X^4-NR^hC(O)R^g$, $-NHR^j$ và $-NHCH_2R^j$, trong đó X^4 là C_{1-3} alkylen; mỗi R^g và R^h độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 1 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O hoặc S và tùy ý được thế bằng một hoặc hai oxo; mỗi R^i độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl; và mỗi R^j được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl, pyrolinyl, piperidinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, và tetrahydropyranyl, và trong đó phần béo và vòng của R^g , R^h , R^i và R^j tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, metyl, CF_3 , hydroxy, amino, alkylamino và dialkylamino.

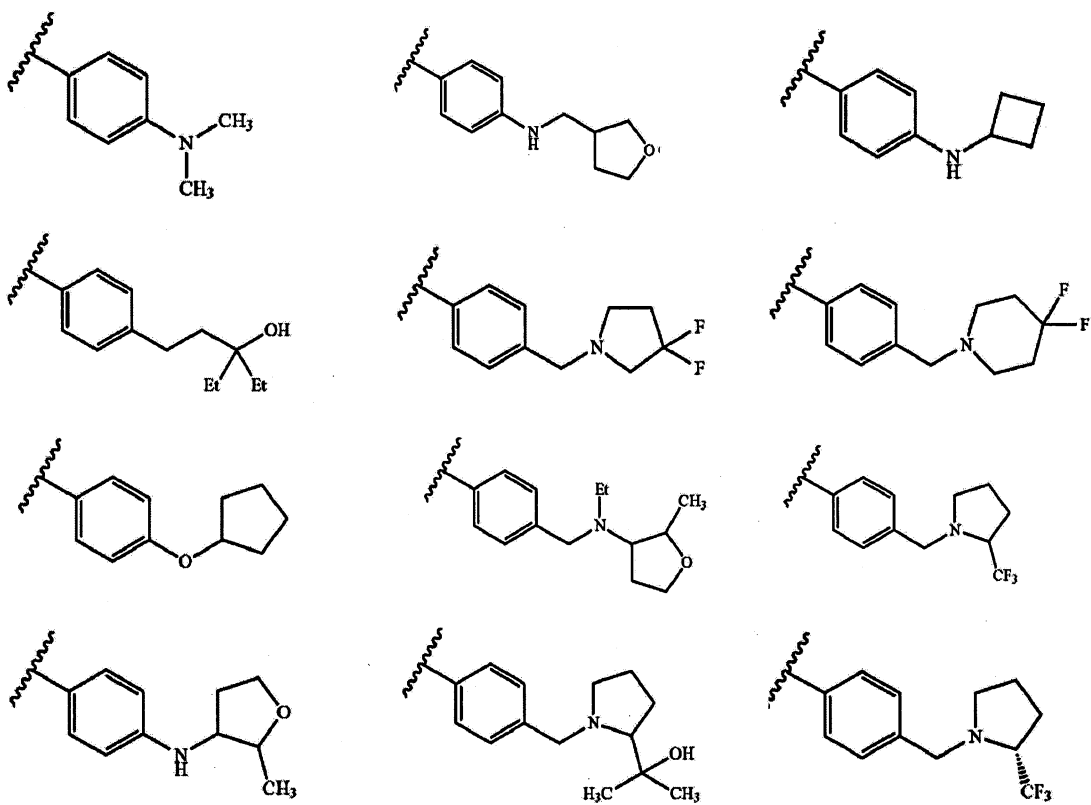
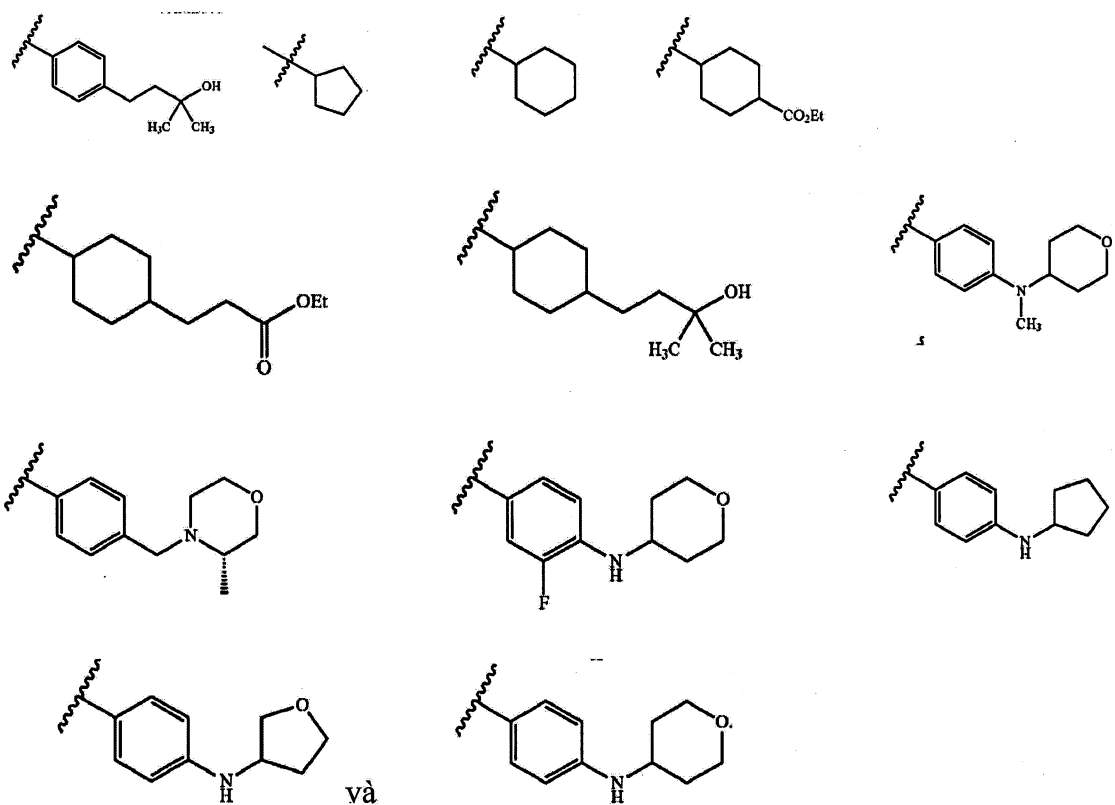
20. Hợp chất theo điểm 18, trong đó C^2 được chọn từ nhóm bao gồm:

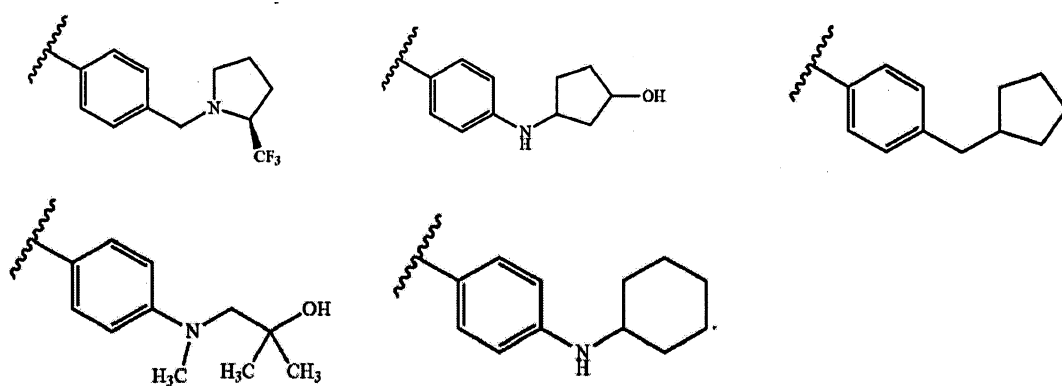


và

21. Hợp chất theo điểm 17, trong đó C¹ được chọn từ nhóm bao gồm:

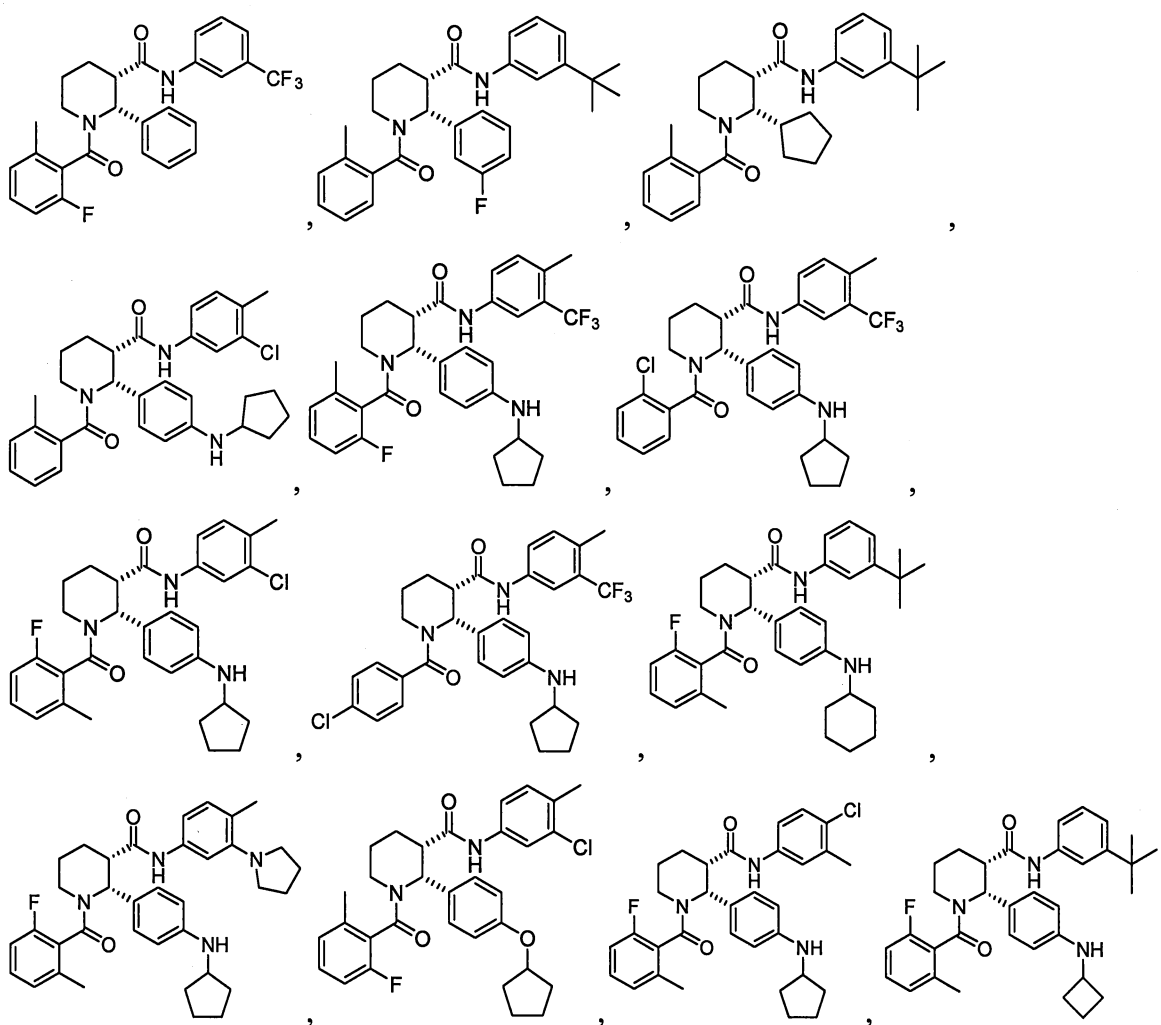


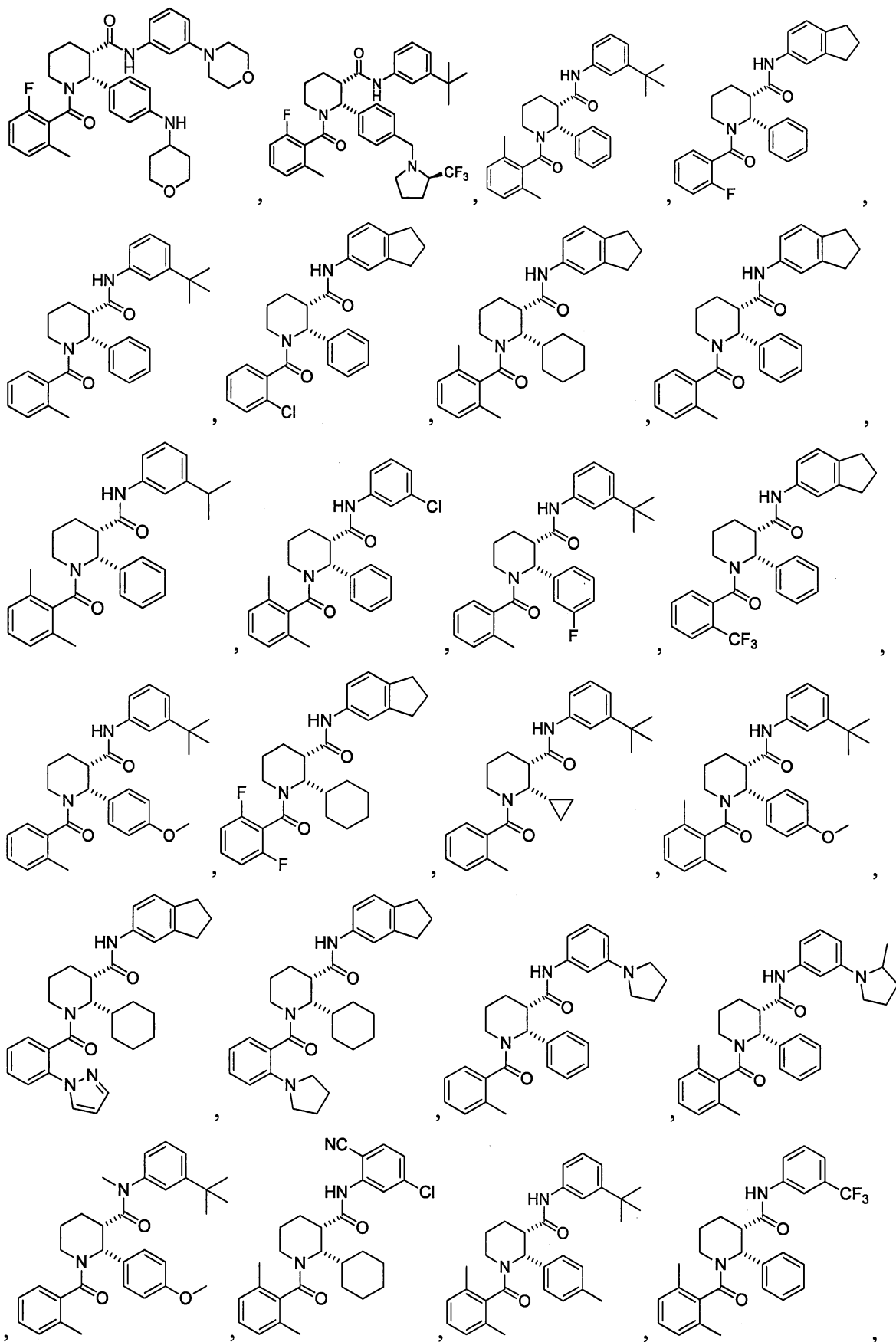


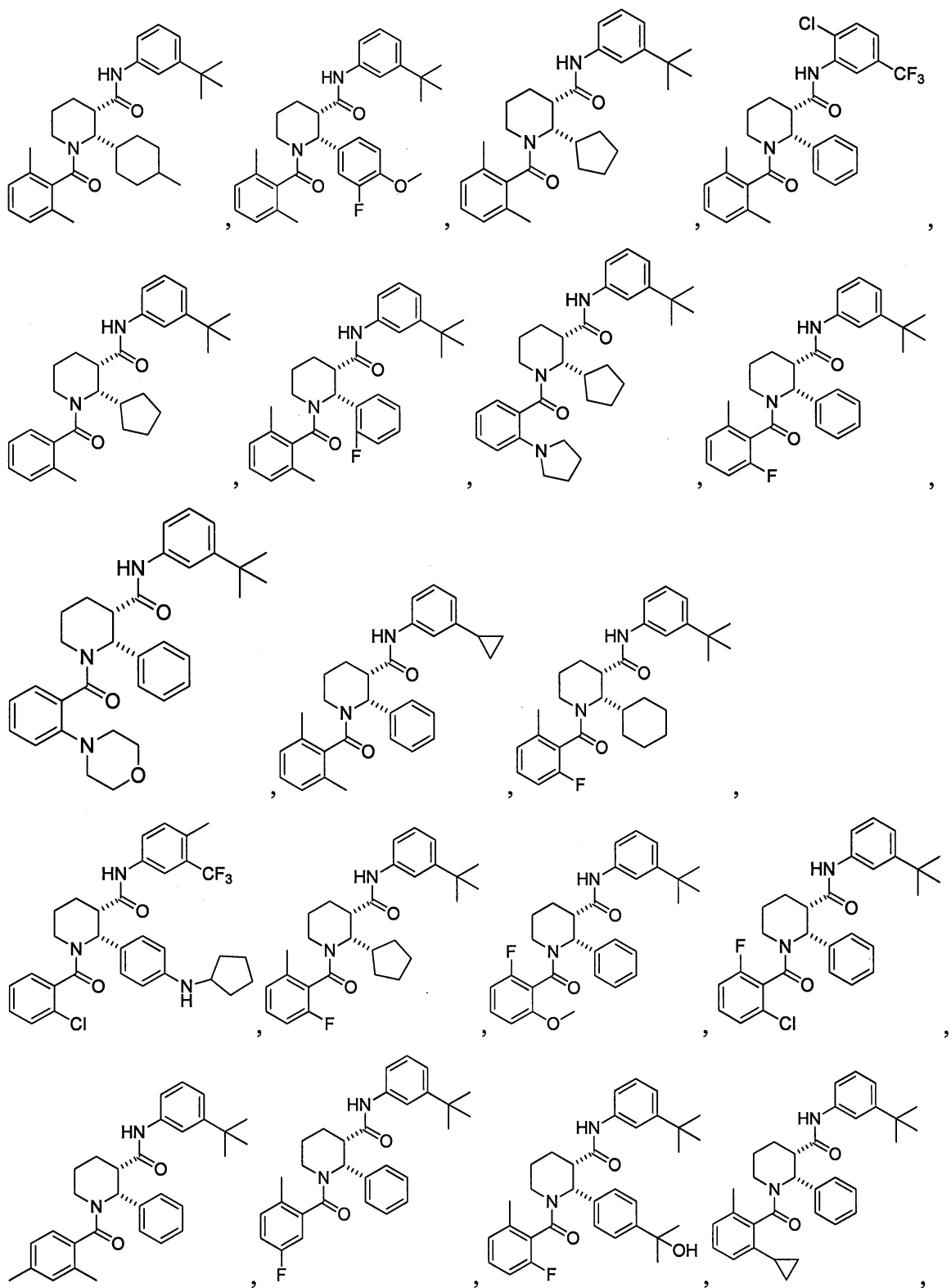


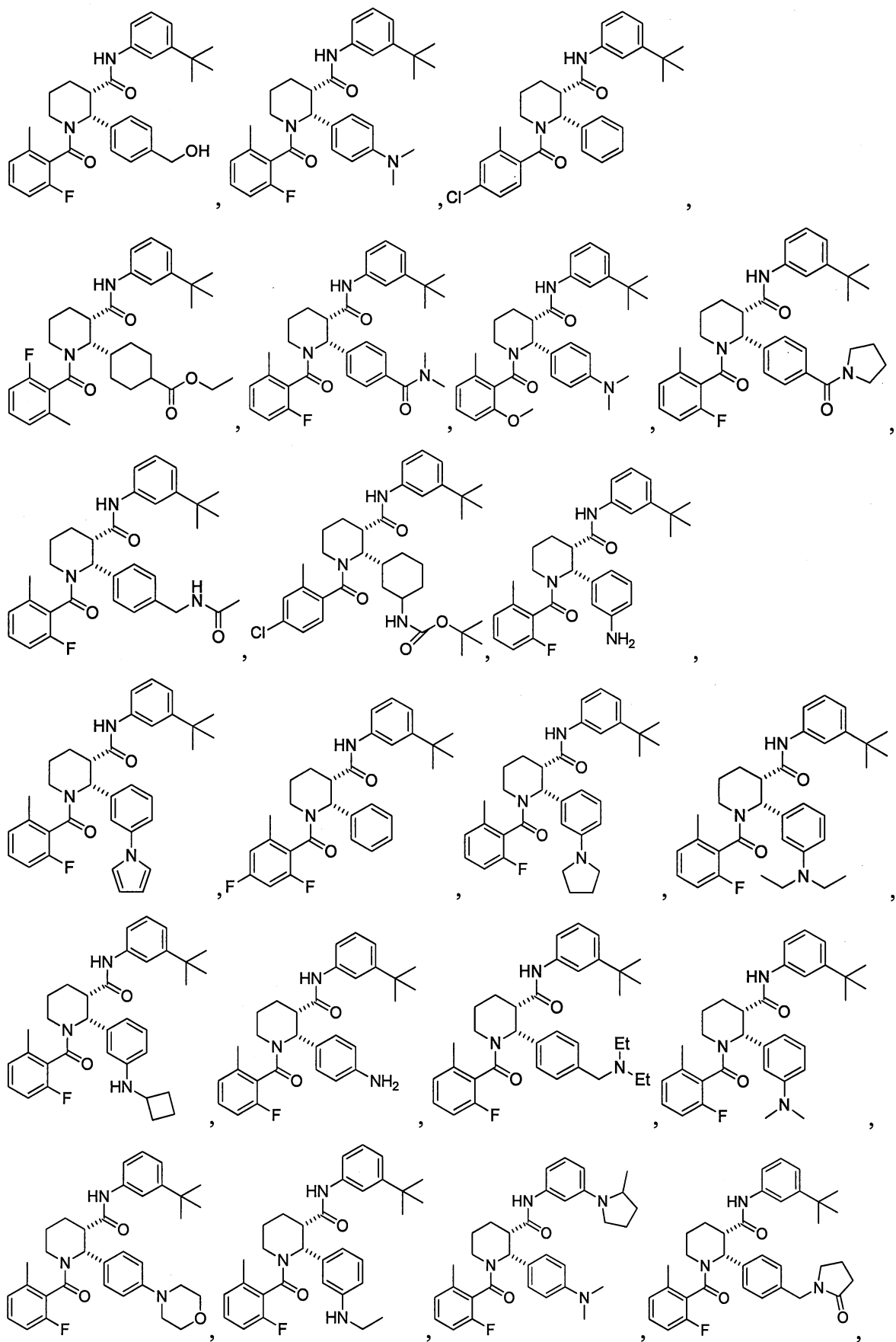
và

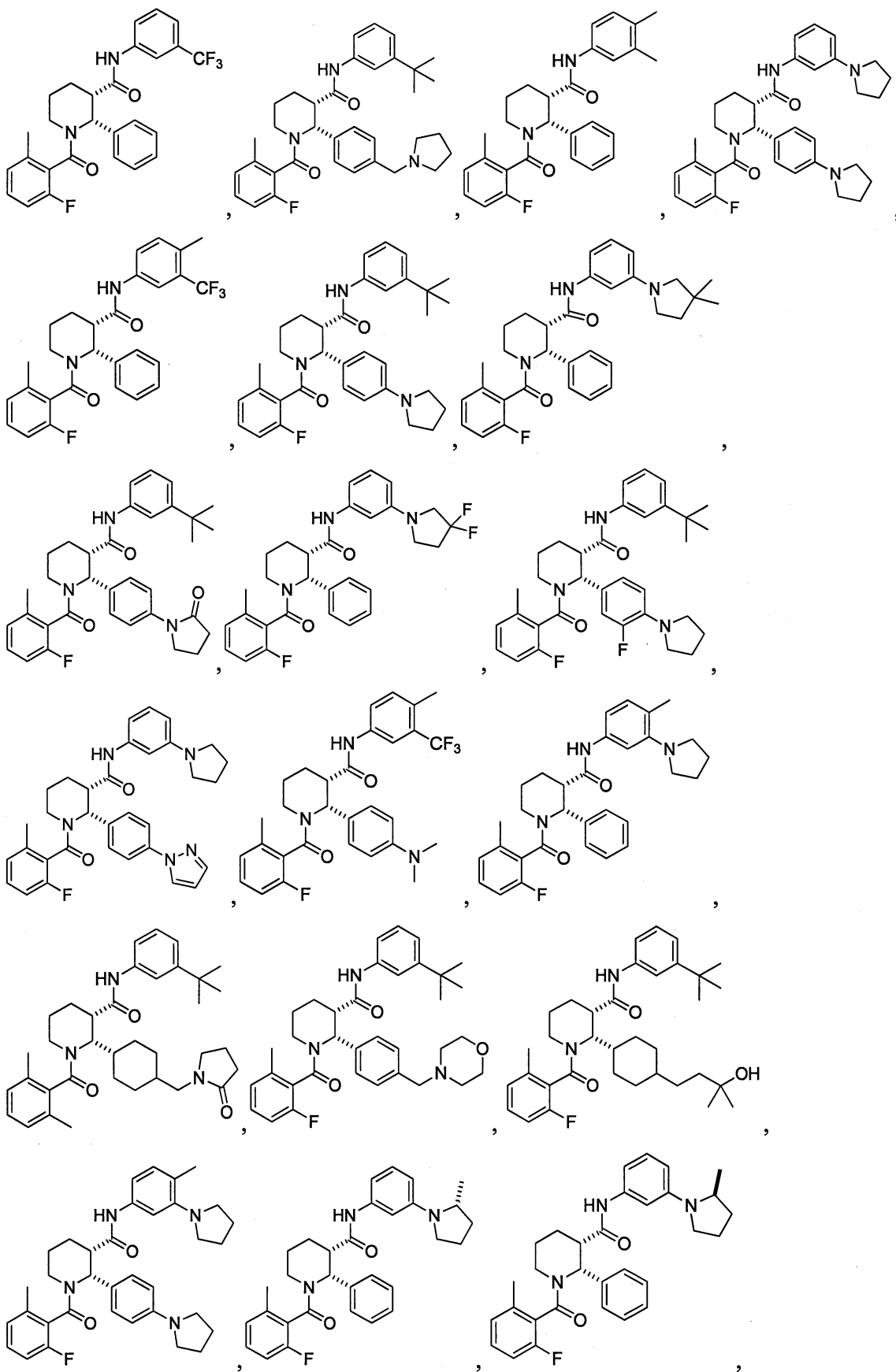
24. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

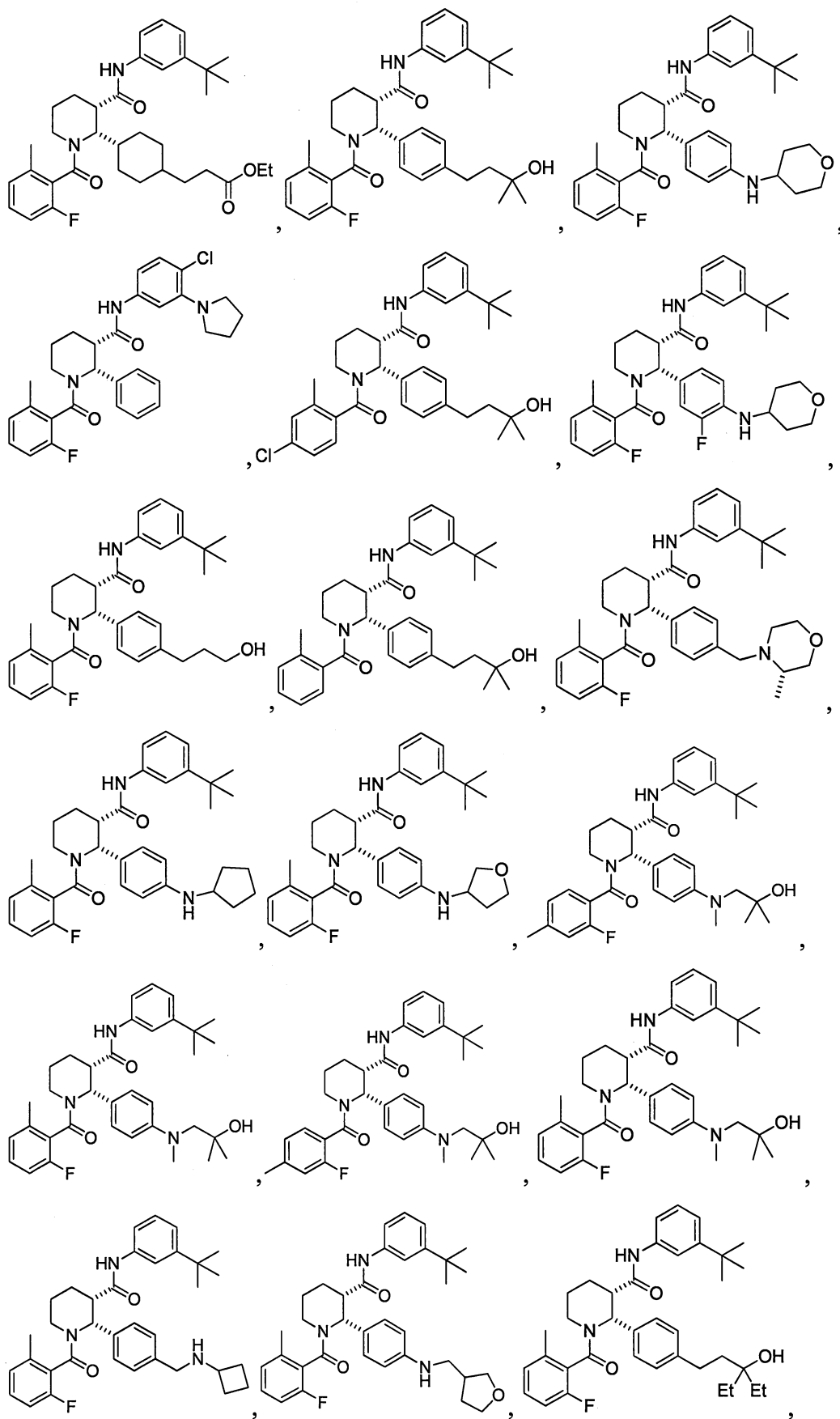


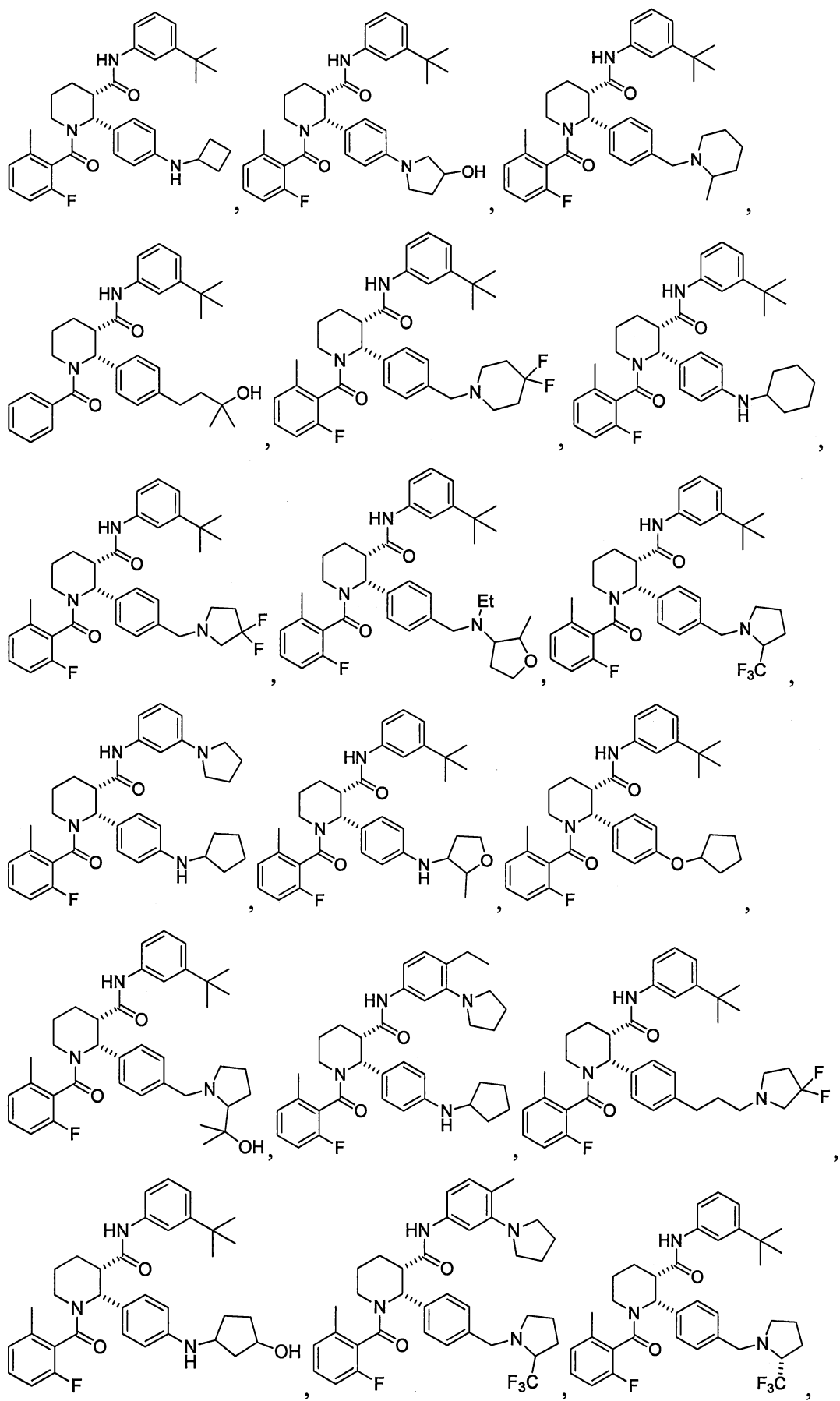


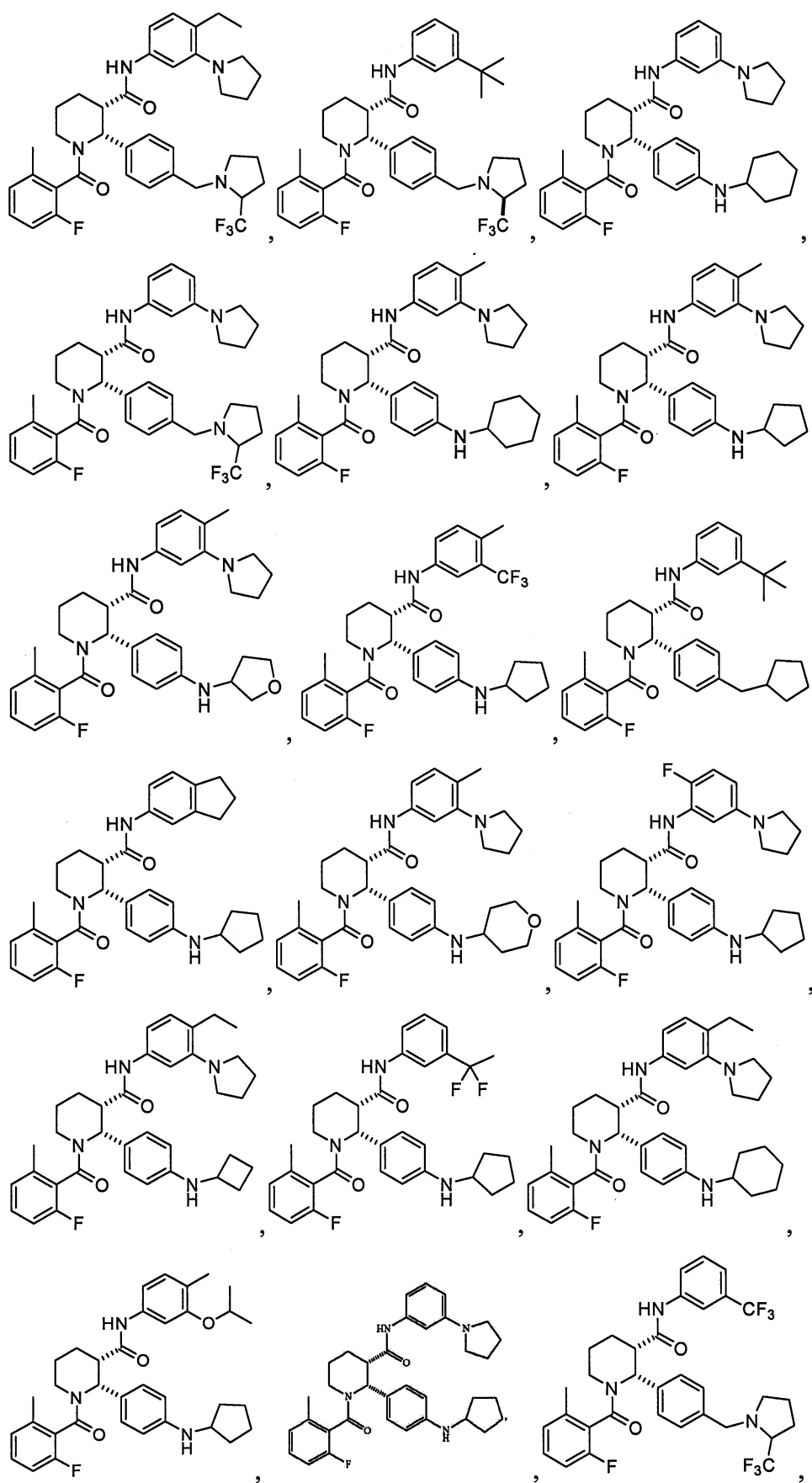


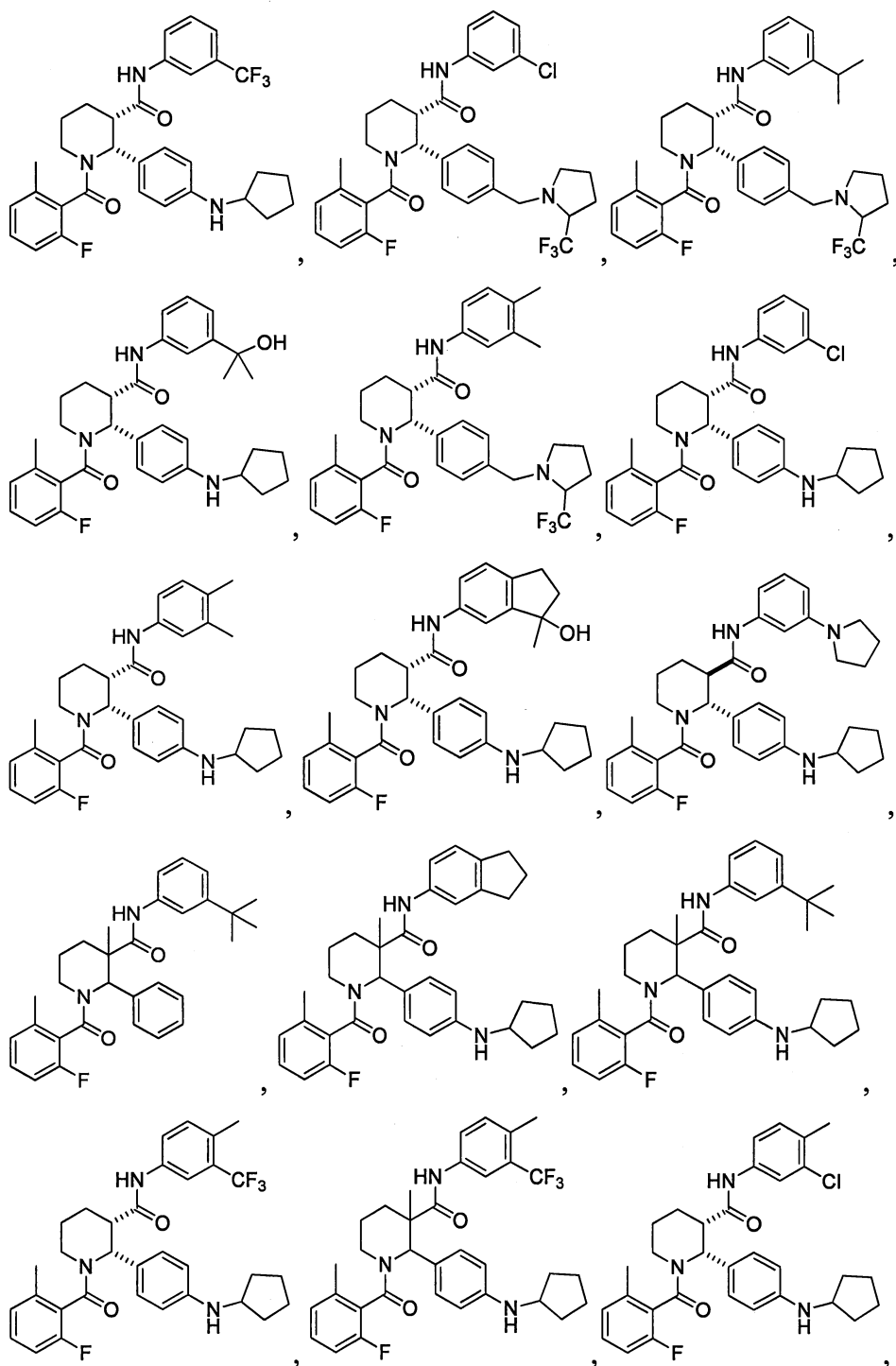


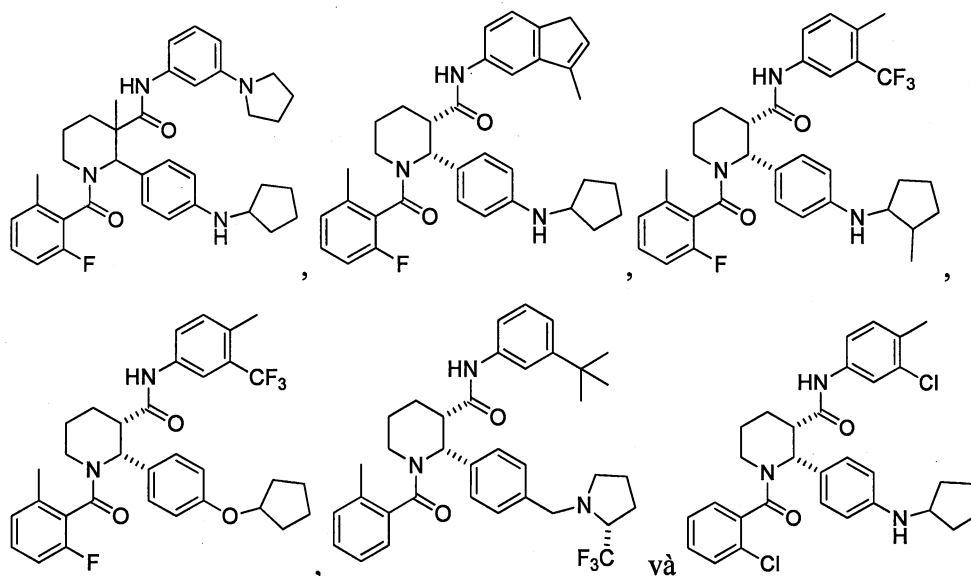






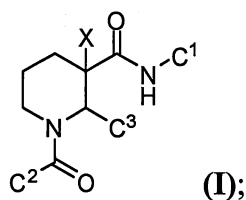






hoặc muối được dùng của chúng.

25. Dược phẩm chứa hợp chất, chất mang dược dụng và hợp chất có công thức:



và các muối và rotame được dùng của nó; trong đó:

C¹ là phenyl tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R¹;

C² là phenyl tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R²;

C³ được chọn từ nhóm bao gồm C₃₋₈ xycloalkyl và phenyl, và mỗi C³ tùy ý được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế R³;

mỗi R¹ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, -CN, -R^c, -CO₂R^a, -CONR^aR^b, -C(O)R^a, -OC(O)NR^aR^b, -NR^bC(O)R^a, -NR^bC(O)₂R^c, -NR^aC(O)NR^aR^b, -NR^aR^b, -OR^a, và -S(O)₂NR^aR^b; trong đó mỗi R^a và R^b độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₈ alkyl, và C₁₋₈ haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^c độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₈ alkyl, C₁₋₈ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^a, R^b và R^c tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và

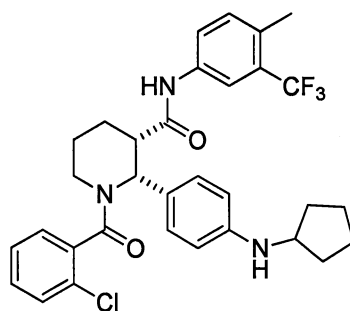
dialkylamino; và tùy ý khi hai phần tử thế R^1 nằm trên các nguyên tử liền kề, được kết hợp để tạo thành vòng dạng vòng cacbon ngưng tụ có năm hoặc sáu cạnh;

mỗi R^2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-\text{CN}$, $-\text{R}^f$, $-\text{CO}_2\text{R}^d$, $-\text{CONR}^d\text{R}^e$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^d$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^d\text{R}^e$, $-\text{NR}^e\text{C}(\text{O})\text{R}^d$, $-\text{NR}^e\text{C}(\text{O})_2\text{R}^f$, $-\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{NR}^d\text{R}^e$, $-\text{NR}^d\text{R}^e$, $-\text{OR}^d$, và $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^d\text{R}^e$; trong đó mỗi R^d và R^e độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các phần tử trên vòng được chọn từ N, O hoặc S; mỗi R^f độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl, và trong đó phần béo và vòng của R^d , R^e và R^f tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, hydroxy, metyl, amino, alkylamino và dialkylamino;

mỗi R^3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, $-\text{CN}$, $-\text{R}^i$, $-\text{CO}_2\text{R}^g$, $-\text{CONR}^g\text{R}^h$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^g$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^g\text{R}^h$, $-\text{NR}^h\text{C}(\text{O})\text{R}^g$, $-\text{NR}^h\text{C}(\text{O})_2\text{R}^i$, $-\text{NR}^g\text{C}(\text{O})\text{NR}^g\text{R}^h$, $-\text{NR}^g\text{R}^h$, $-\text{OR}^g$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^g\text{R}^h$, $-\text{X}^4-\text{R}^j$, $-\text{X}^4-\text{NR}^g\text{R}^h$, $-\text{X}^4-\text{CONR}^g\text{R}^h$, $-\text{X}^4-\text{NR}^h\text{C}(\text{O})\text{R}^g$, $-\text{NHR}^j$ và $-\text{NHCH}_2\text{R}^j$, trong đó X^4 là C_{1-4} alkylen; mỗi R^g và R^h độc lập được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl và C_{1-8} haloalkyl, hoặc khi được gắn vào cùng nguyên tử nitơ, thì có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ này để tạo thành vòng có năm hoặc sáu cạnh có từ 0 đến 2 nguyên tử khác loại bổ sung để làm các nhánh vòng được chọn từ N, O hoặc S và tùy ý được thế bằng một hoặc hai oxo; mỗi R^i độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, heteroxycloalkyl, aryl và heteroaryl; và mỗi R^j được chọn từ nhóm bao gồm C_{3-6} xycloalkyl, pyrolinyl, piperidinyl, morpholinyl, tetrahydrofuranyl, và tetrahydropyranyl, và trong đó phần béo và vòng của R^g , R^h , R^i và R^j tùy ý còn được thế bằng từ một đến ba nhóm halogen, metyl, CF_3 , hydroxy, amino, alkylamino và dialkylamino; và

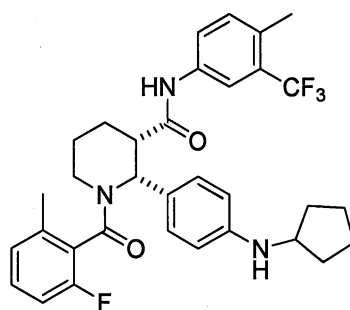
X là hydro hoặc CH_3 .

26. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



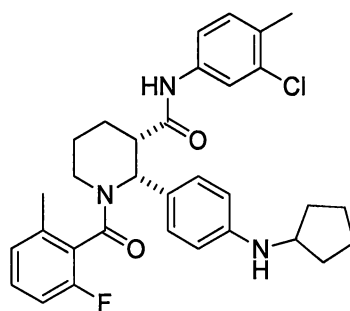
hoặc muối được dụng của nó.

27. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối được dụng của nó.

28. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối được dụng của nó.

1/23

Fig.1 (trang 1)

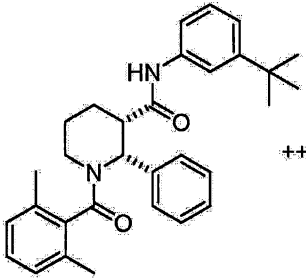
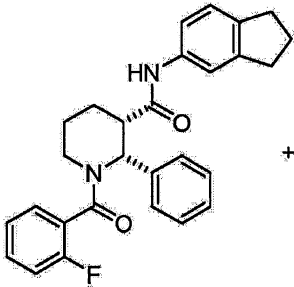
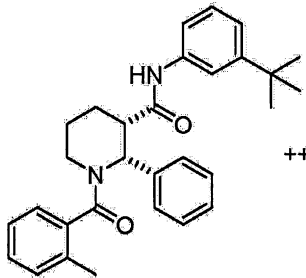
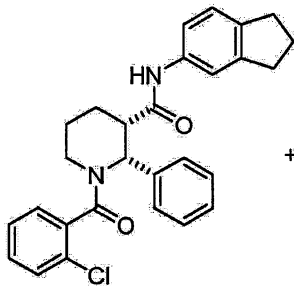
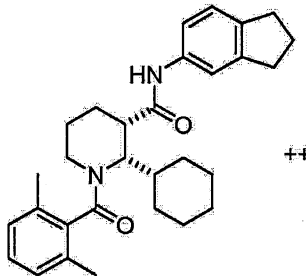
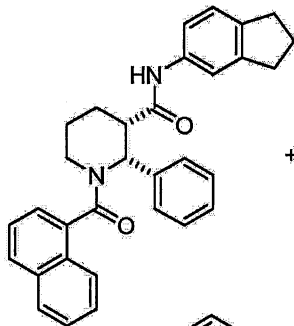
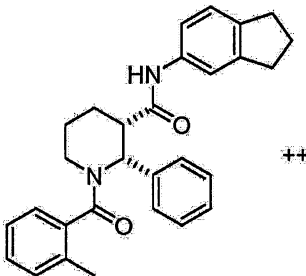
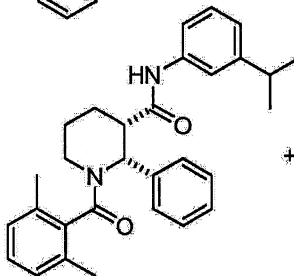
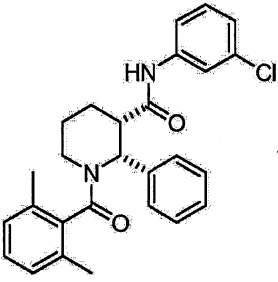
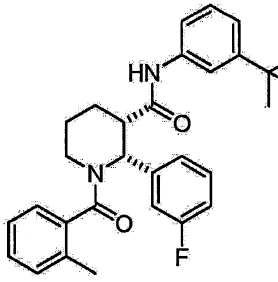
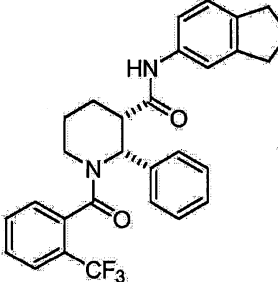
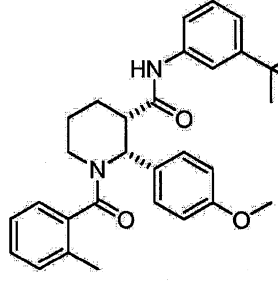
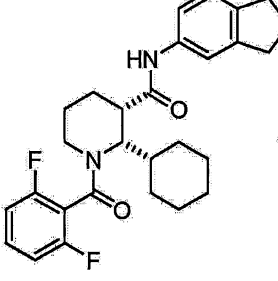
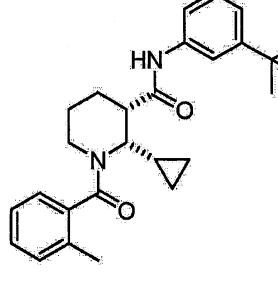
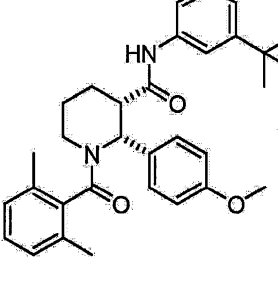
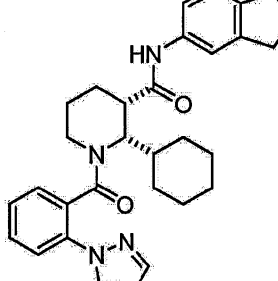
#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.001		++	1.002		+
1.003		++	1.004		++
1.005		++	1.006		++
1.007		++	1.008		++

Fig.1 (trang 2)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.009		+	1.010		++
1.011		++	1.012		++
1.013		++	1.014		+
1.015		++	1.016		+

3/23

Fig.1 (trang 3)

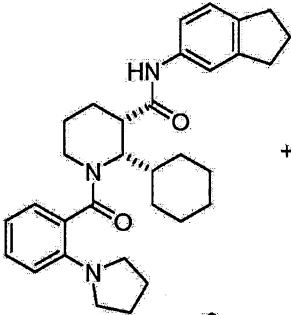
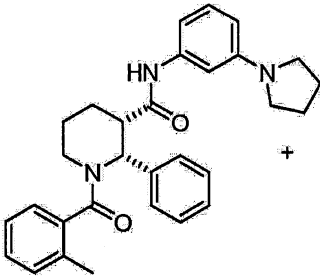
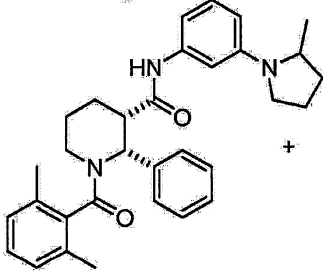
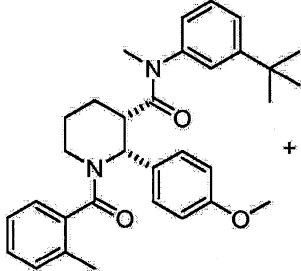
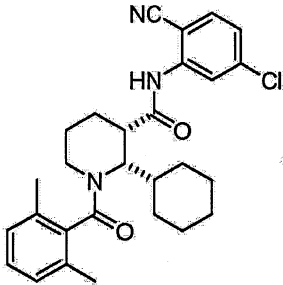
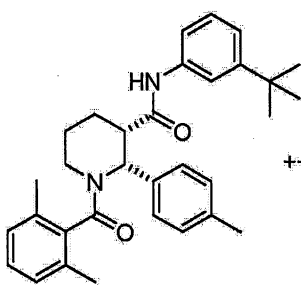
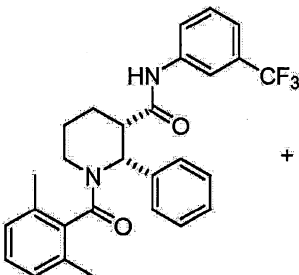
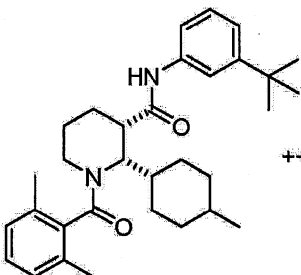
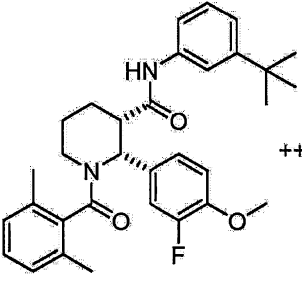
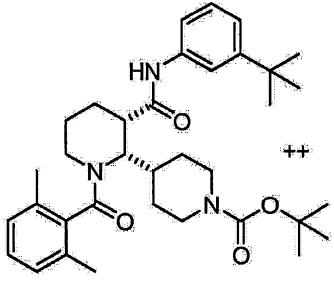
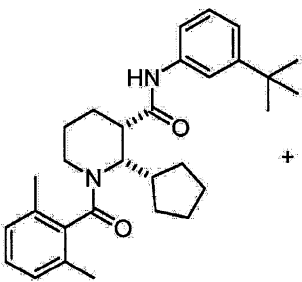
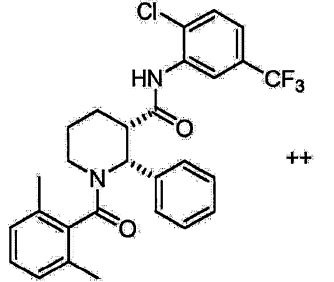
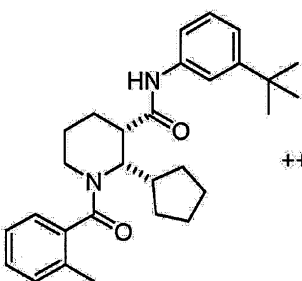
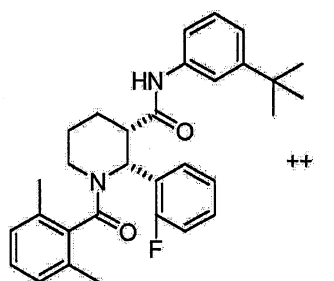
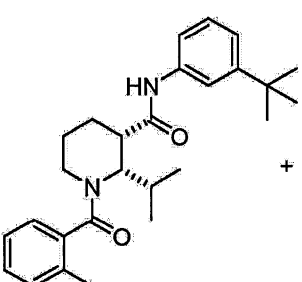
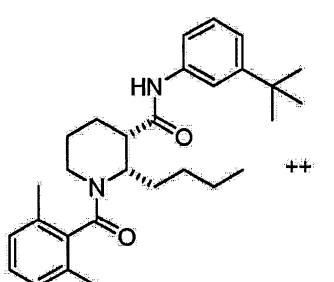
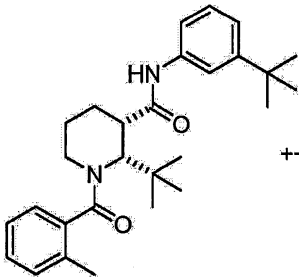
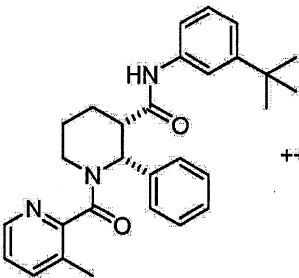
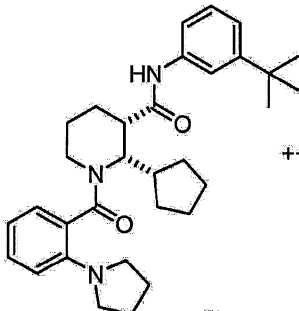
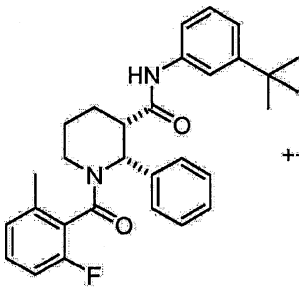
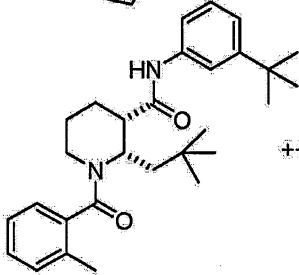
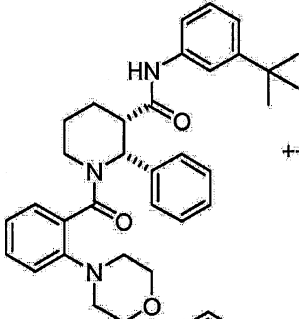
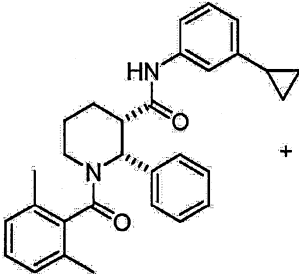
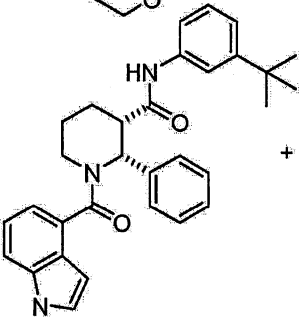
#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.017		++	1.018		+
1.019		+	1.020		+
1.021		++	1.022		++
1.023		+	1.024		++

Fig. 1 (trang 4)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.025		++	1.026		++
1.027		+	1.028		++
1.029		++	1.030		++
1.031		+	1.032		++

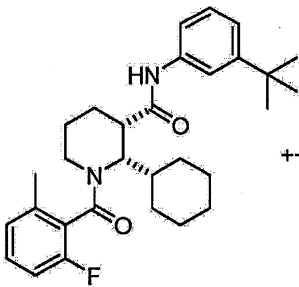
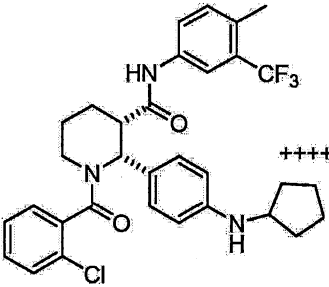
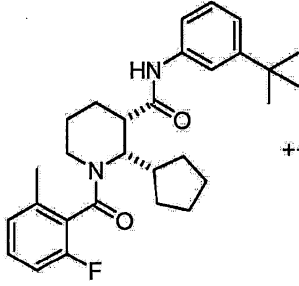
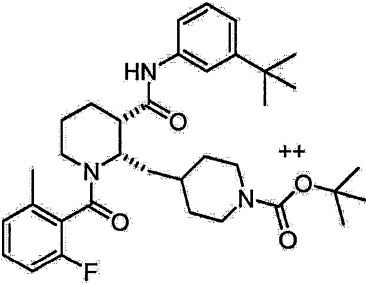
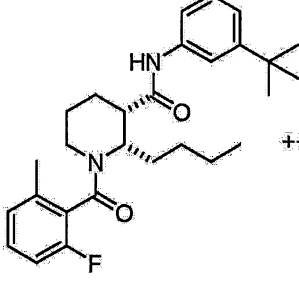
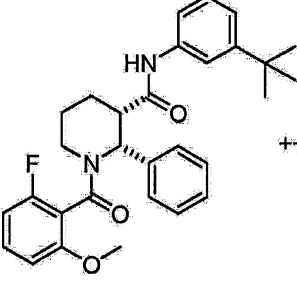
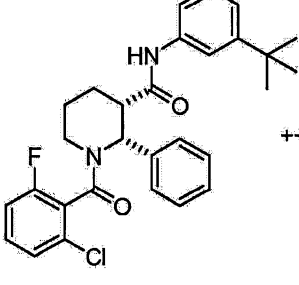
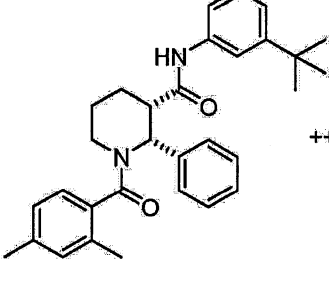
5/23

Fig.1 (trang 5)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.033		++	1.034		++
1.035		++	1.036		+++
1.037		++	1.038		++
1.039		+	1.040		+

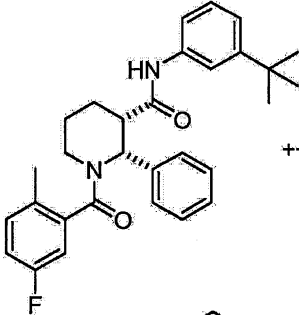
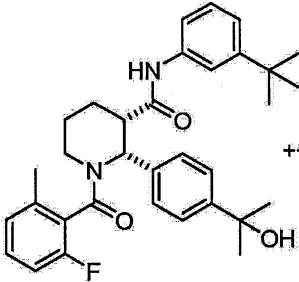
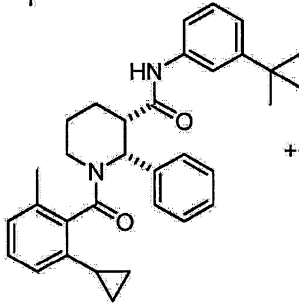
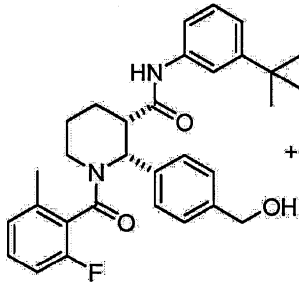
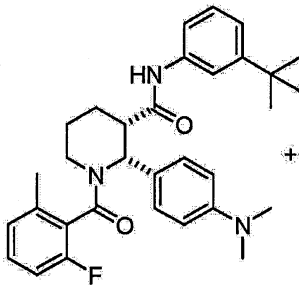
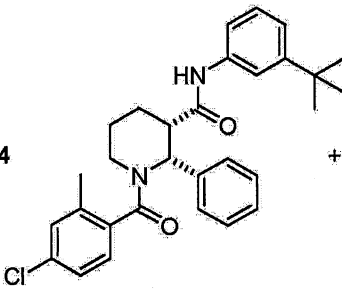
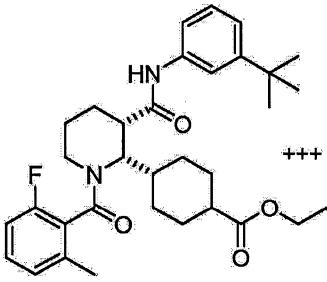
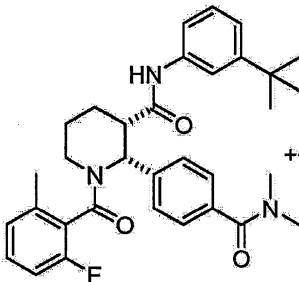
6/23

Fig.1 (trang 6)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.041		+++	1.042		++++
1.043		+++	1.044		++
1.045		++	1.046		++
1.047		++	1.048		++

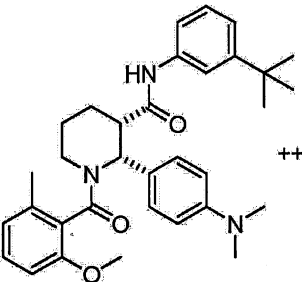
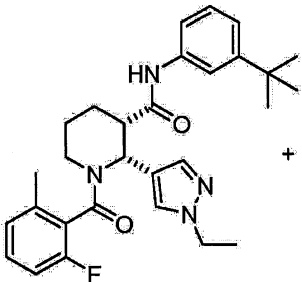
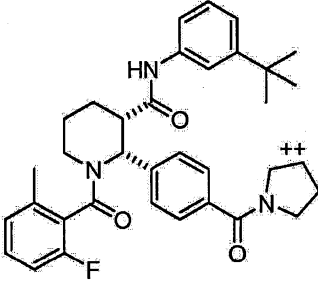
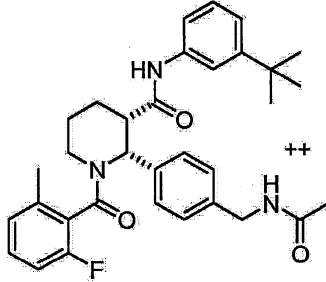
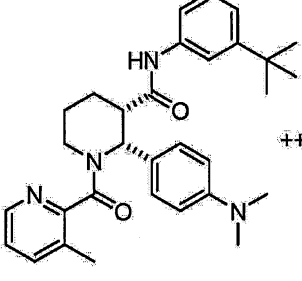
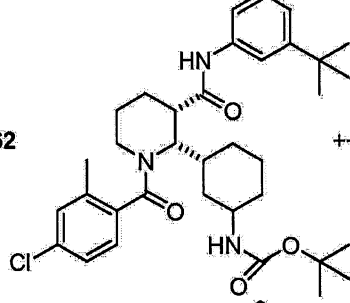
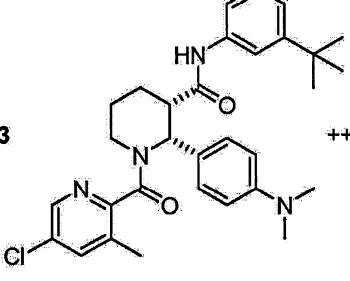
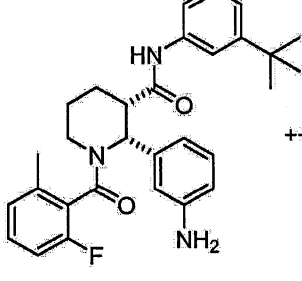
7/23

Fig.1 (trang 7)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.049		++	1.050		++
1.051		++	1.052		++
1.053		+++	1.054		++
1.055		+++	1.056		++

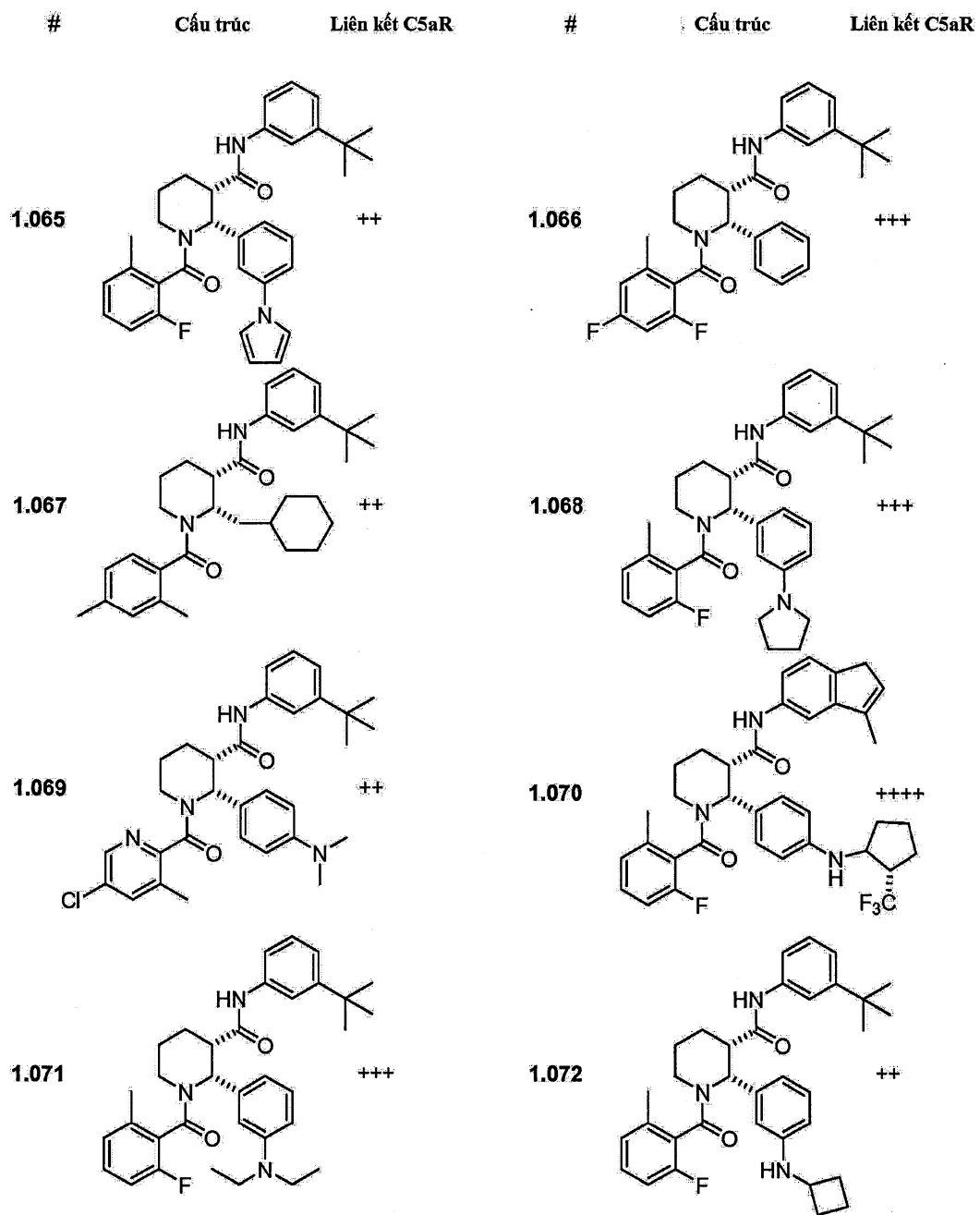
8/23

Fig.1 (trang 8)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.057		++	1.058		+
1.059		++	1.060		++
1.061		++	1.062		++
1.063		++	1.064		++

9/23

Fig.1 (trang 9)



10/23

Fig.1 (trang 10)

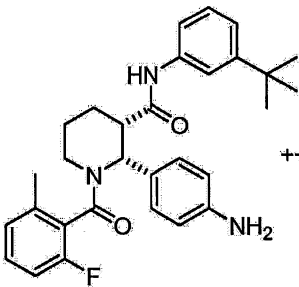
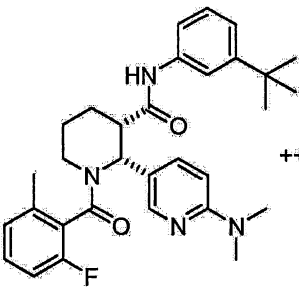
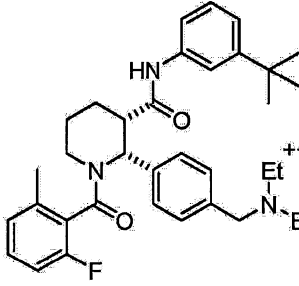
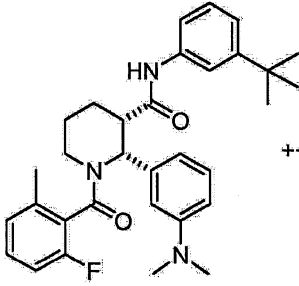
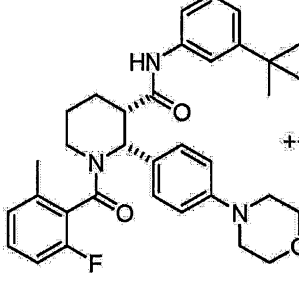
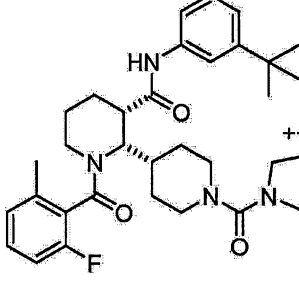
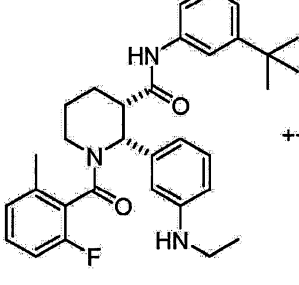
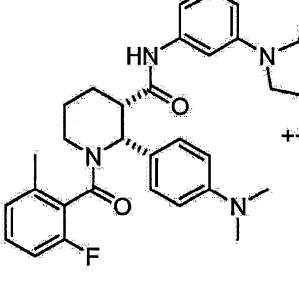
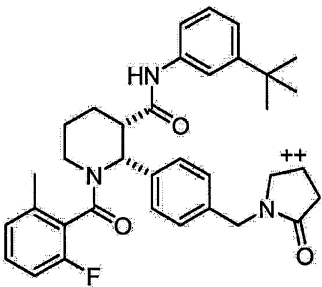
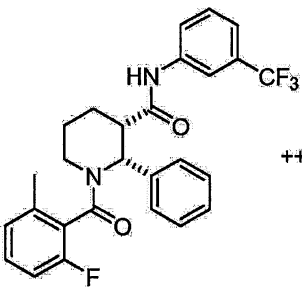
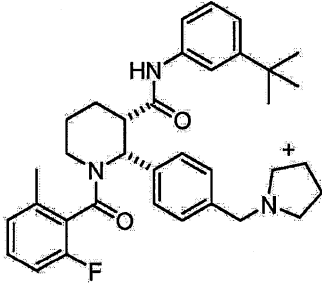
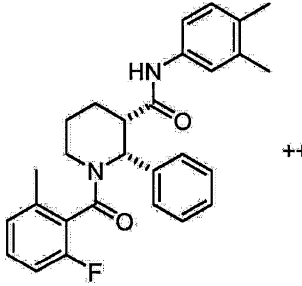
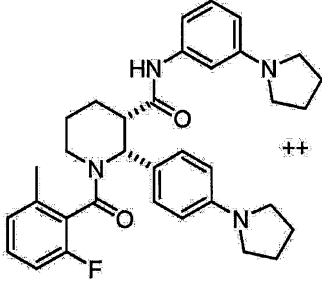
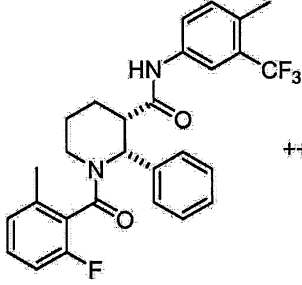
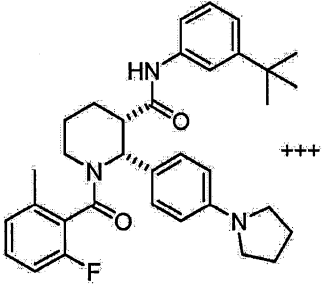
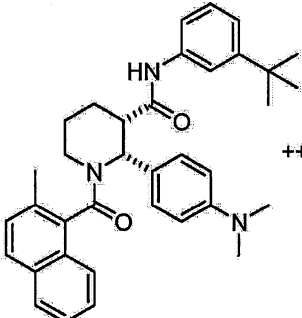
#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.073		++	1.074		++
1.075		++	1.076		+++
1.077		++	1.078		++
1.079		++	1.080		+++

Fig.1 (trang 11)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.081		++	1.082		++
1.083		+	1.084		+++
1.085		++	1.086		+++
1.087		+++	1.088		++

12/23

Fig.1 (trang 12)

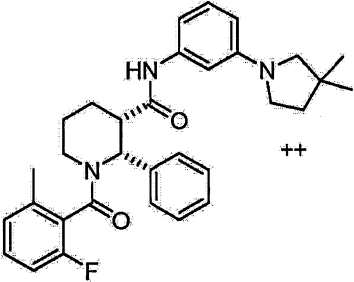
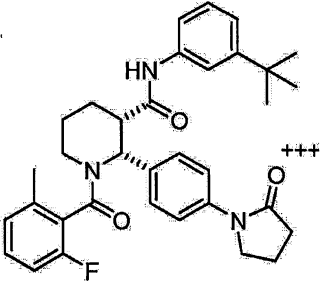
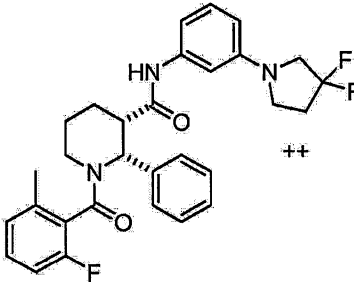
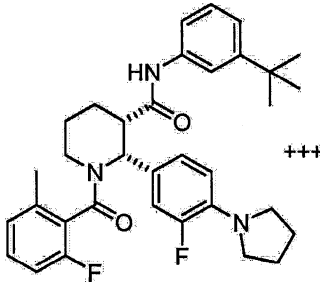
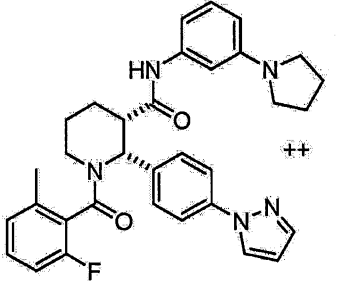
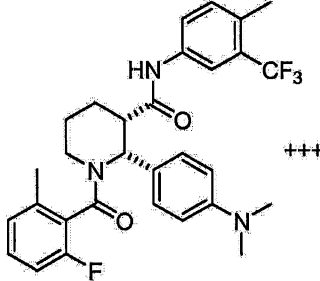
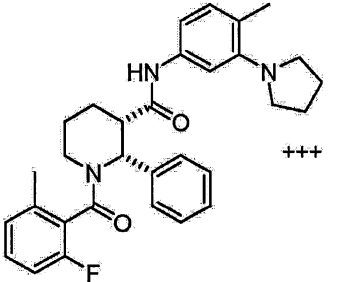
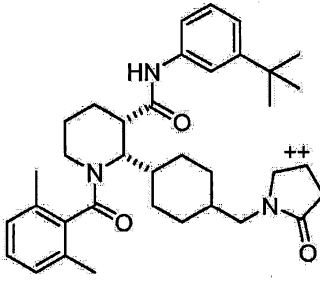
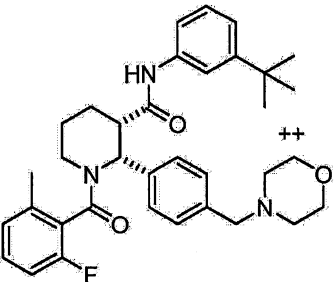
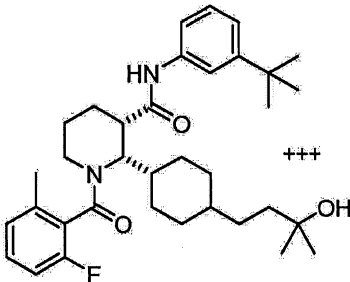
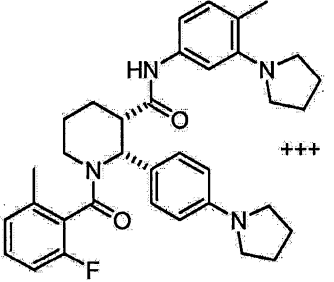
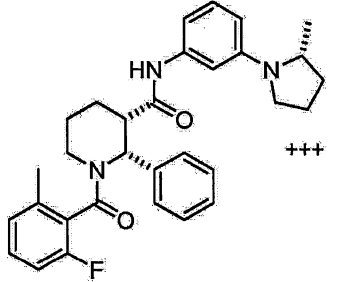
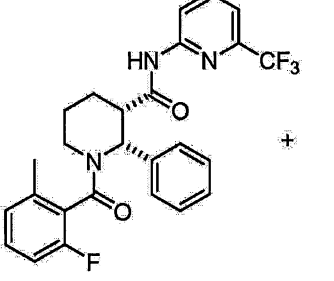
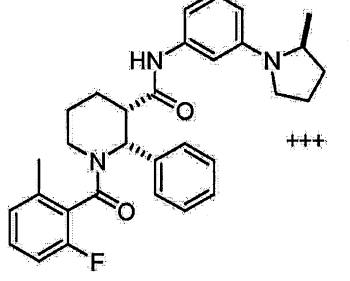
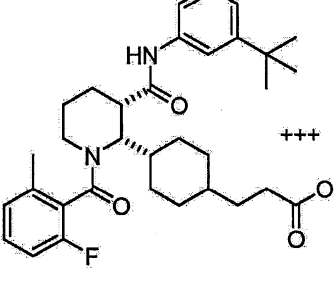
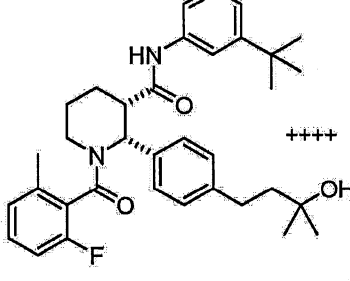
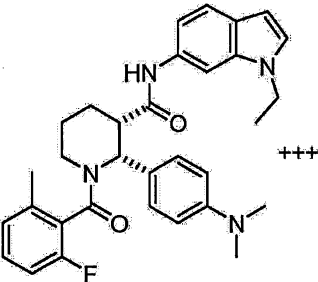
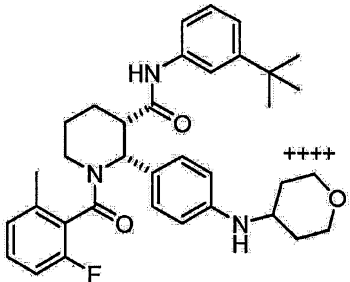
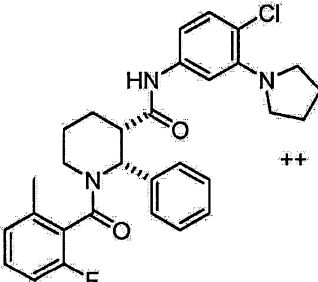
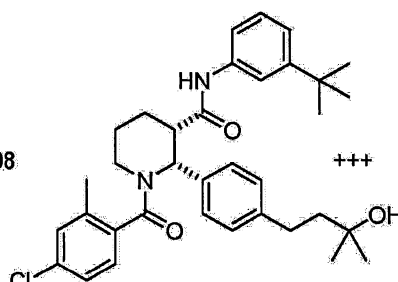
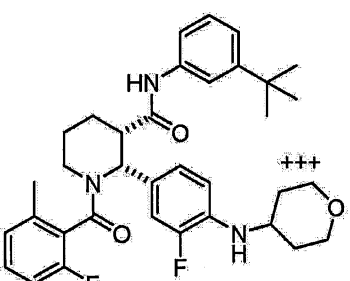
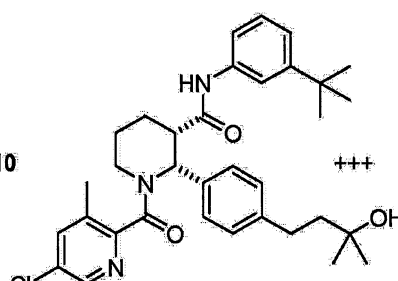
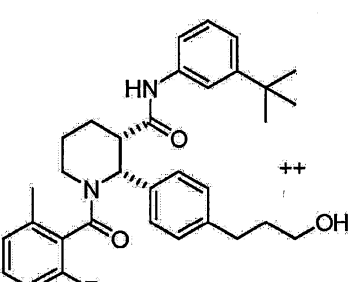
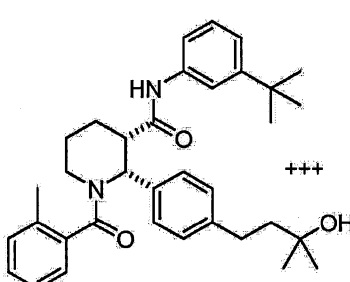
#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.089		++	1.090		+++
1.091		++	1.092		+++
1.093		++	1.094		+++
1.095		+++	1.096		++

Fig.1 (trang 13)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.097		++	1.098		+++
1.099		+++	1.100		+++
1.101		+	1.102		+++
1.103		+++	1.104		++++

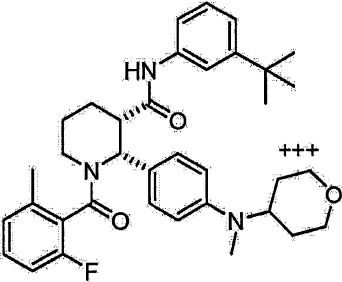
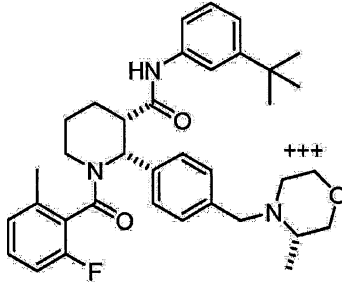
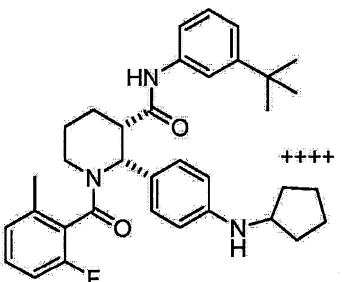
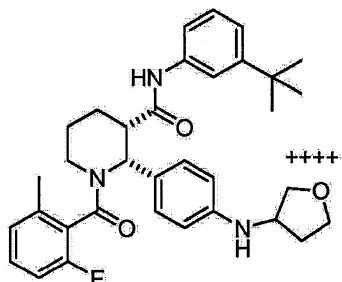
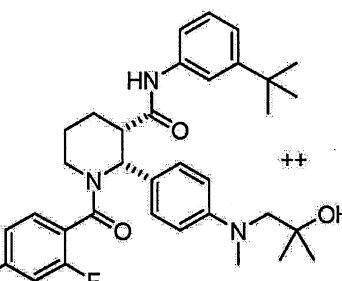
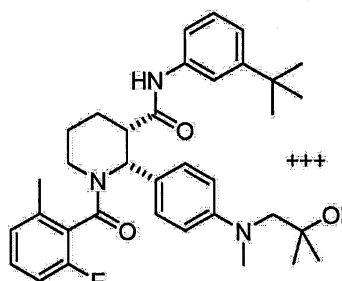
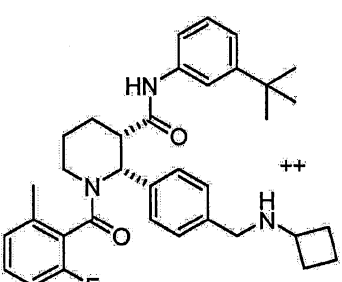
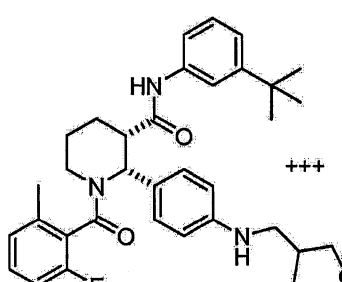
14/23

Fig.1 (trang 14)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.105		+++	1.106		++++
1.107		++	1.108		+++
1.109		+++	1.110		+++
1.111		++	1.112		+++

15/23

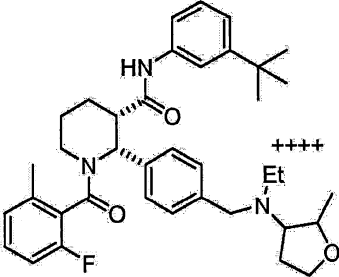
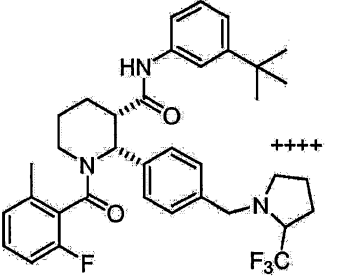
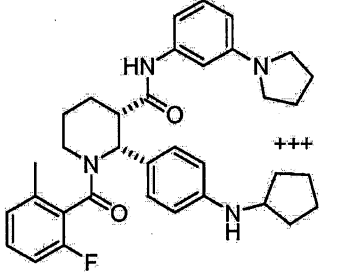
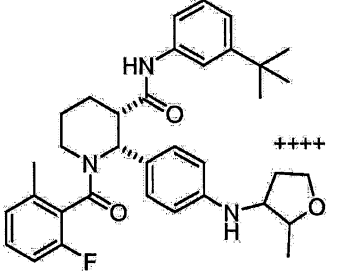
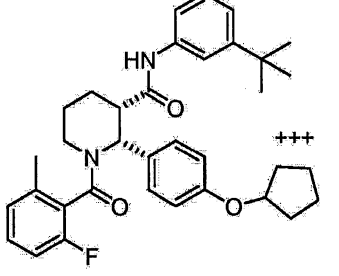
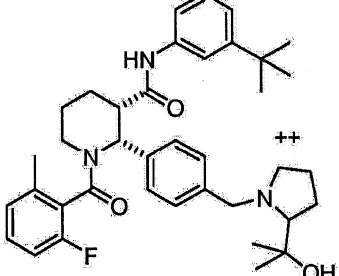
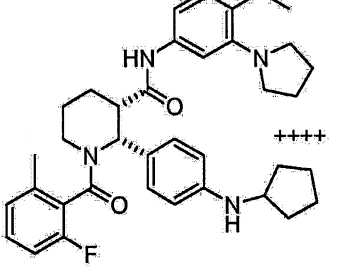
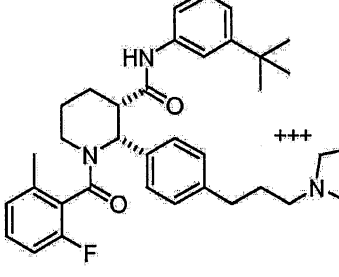
Fig.1 (trang 15)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.113		+++	1.114		+++
1.115		++++	1.116		++++
1.117		++	1.118		+++
1.119		++	1.120		+++

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.121		++++	1.122		++++
1.123		++	1.124		++
1.125		++	1.126		+++
1.127		++++	1.128		++++

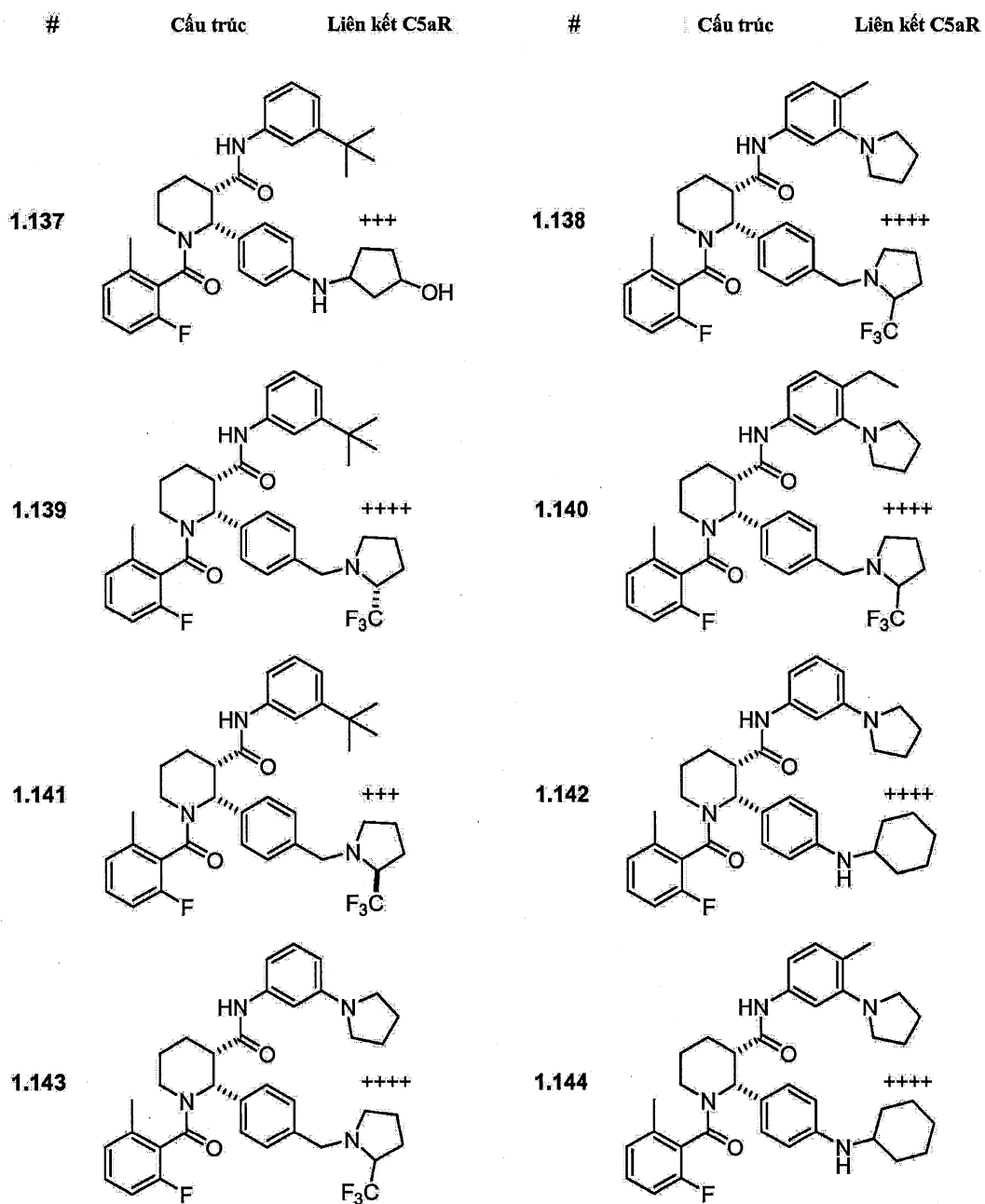
17/23

Fig.1 (trang 17)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.129		++++	1.130		++++
1.131		+++	1.132		++++
1.133		+++	1.134		++
1.135		++++	1.136		+++

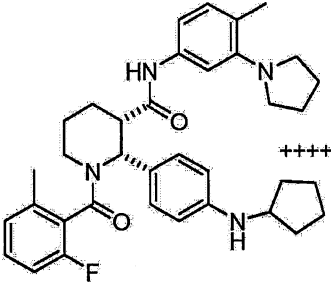
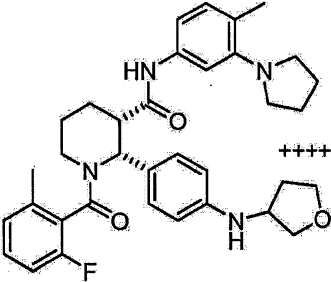
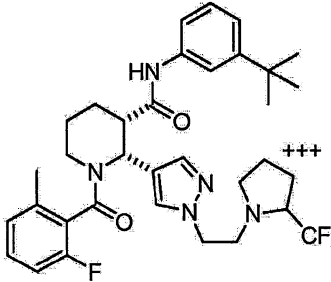
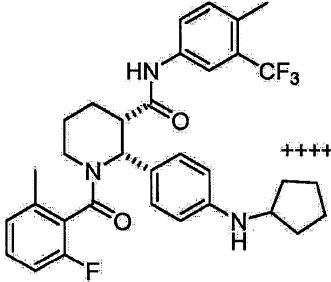
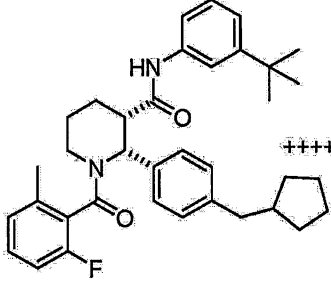
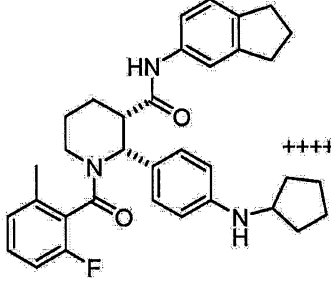
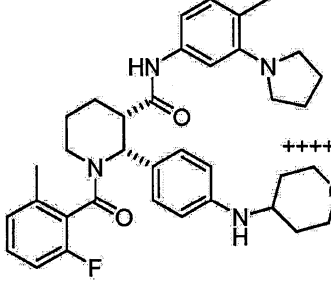
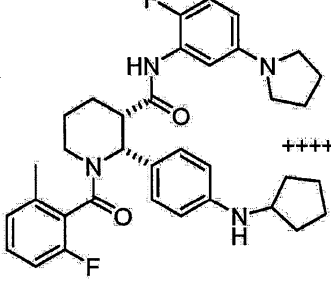
18/23

Fig.1 (trang 18)



19/23

Fig.1 (trang 19)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.145		++++	1.146		++++
1.147		+++	1.148		++++
1.149		++++	1.150		++++
1.151		++++	1.152		++++

20/23

Fig.1 (trang 20)

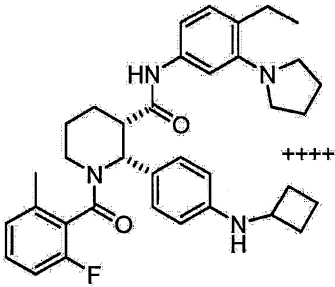
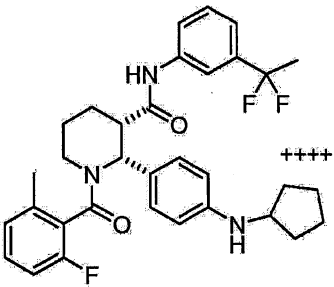
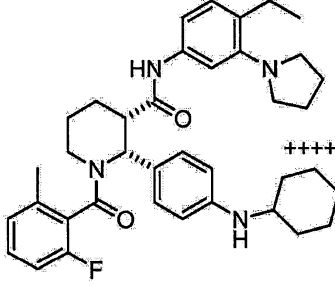
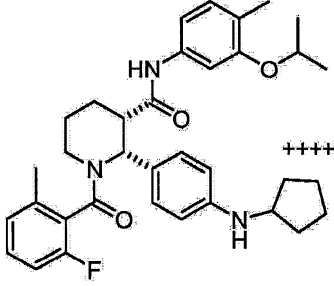
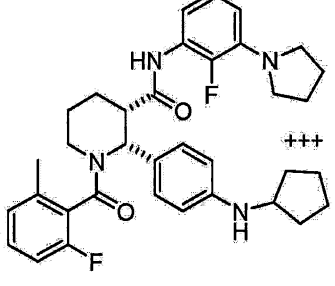
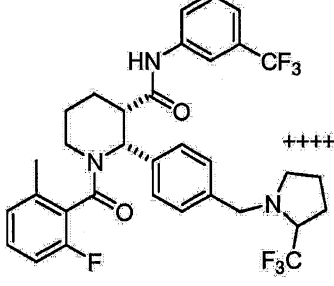
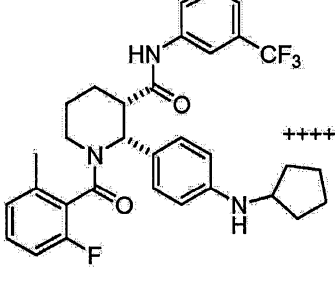
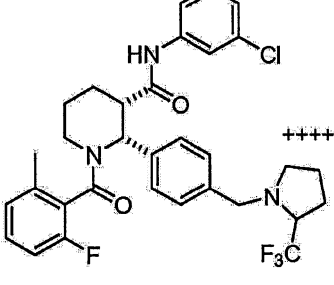
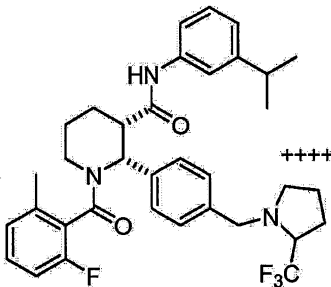
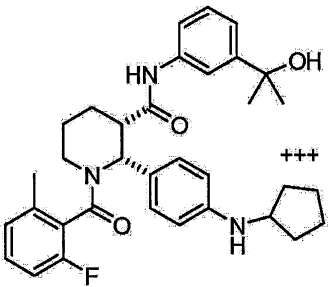
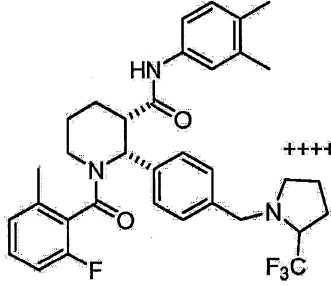
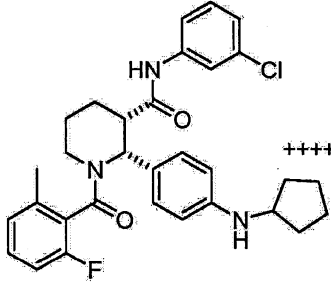
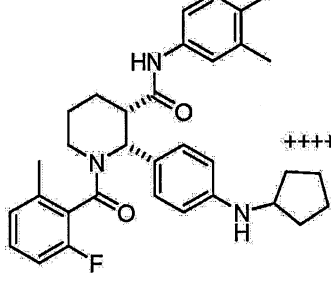
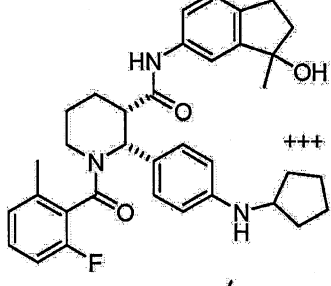
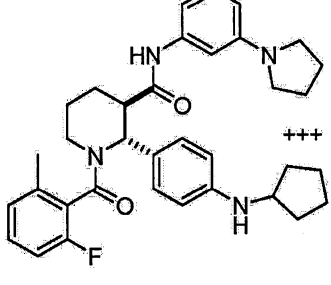
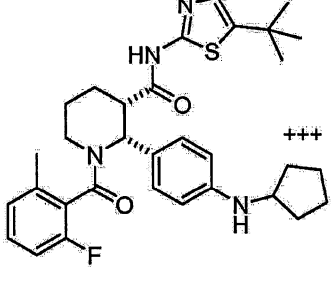
#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.153		++++	1.154		++++
1.155		++++	1.156		++++
1.157		+++	1.158		++++
1.159		++++	1.160		++++

Fig.1 (trang 21)

#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.161		++++	1.162		+++
1.163		++++	1.164		++++
1.165		++++	1.166		+++
1.167		+++	1.168		+++

22/23

Fig.1 (trang 22)

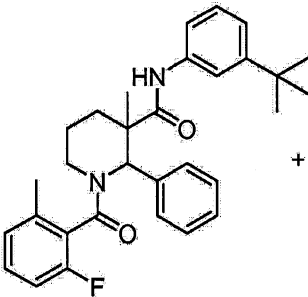
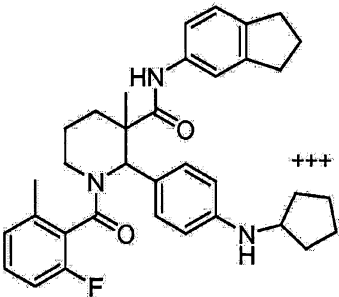
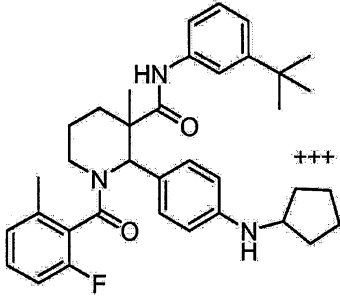
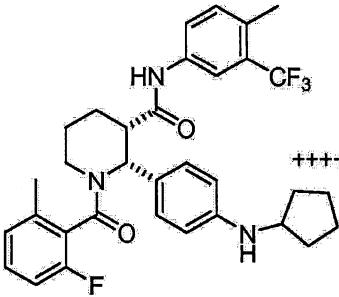
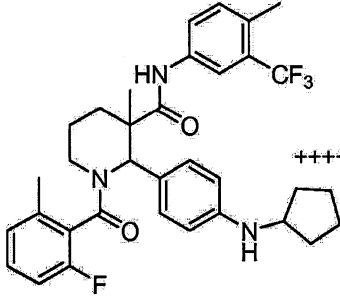
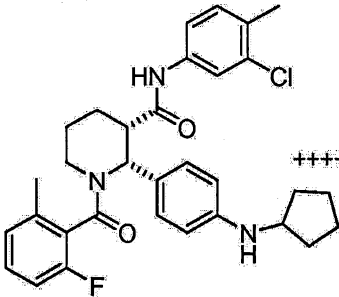
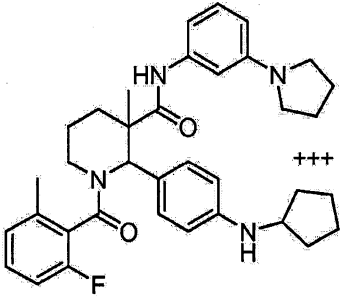
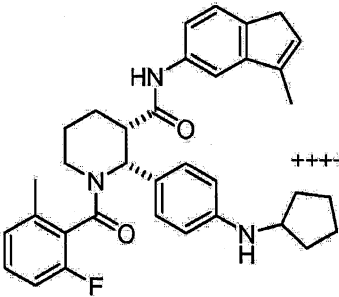
#	Cấu trúc	Liên kết C5aR	#	Cấu trúc	Liên kết C5aR
1.169		+	1.170		+++
1.171		+++	1.172		++++
1.173		++++	1.174		++++
1.175		+++	1.176		++++

Fig.1 (trang 23)

