



(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) 
1-0022152

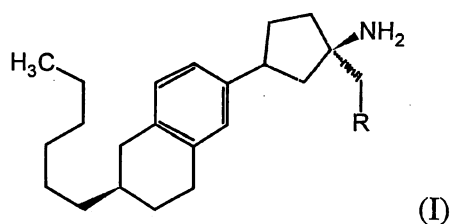
(51)⁷ **C07C 215/42, A61K 31/133, A61P**
37/00, 9/00

(13) **B**

-
- (21) 1-2015-03146 (22) 21.02.2014
(86) PCT/US2014/017534 21.02.2014 (87) WO2014/130752 28.08.2014
(30) 61/767,531 21.02.2013 US
(45) 25.11.2019 380 (43) 25.11.2015 332
(73) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)
Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08543-4000, United States of America
(72) DHAR T. G. Murali (US), XIAO Hai-Yun (US), DYCKMAN Alaric J. (US), CHAN Eric J. (AU), DABROS Marta (PL), ROBERTS Daniel Richard (US)
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)
-

(54) **HỢP CHẤT HAI VÒNG VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ**

(57)



Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) và/hoặc muối của nó và dược phẩm chứa nó; trong đó R là -OH hoặc -OP(0)(OH)₂. Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất này làm các chất chủ vận chọn lọc đối với thụ thể S1P₁ đã liên hợp protein G và các dược phẩm chứa các hợp chất hữu ích để điều trị, phòng, hoặc làm chậm tiến triển của các bệnh hoặc các rối loạn trong nhiều lĩnh vực trị liệu khác nhau, như các bệnh tự miễn dịch và các bệnh mạch máu.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nói chung, sáng chế đề cập đến các hợp chất hai vòng hữu ích làm các chất chủ vận S1P₁. Sáng chế đề xuất các hợp chất hai vòng, các chế phẩm chứa các hợp chất này, và mô tả các phương pháp dùng chúng. Sáng chế cũng đề cập đến các được phẩm chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế là hữu ích để điều trị các tình trạng bệnh lý liên quan tới quá trình điều biến S1P₁, như các bệnh tự miễn dịch và các bệnh mạch máu.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sphingosin-1-phosphat (S1P) là một chất chuyển hóa lysophospholipit dạng ion lưỡng tính của sphingosin (Sph) có nguồn gốc từ sự phân giải enzym của các xeromit. Quá trình phosphoryl hóa enzym của Sph bởi hai kinaza (SphK1 và SphK2) dẫn đến sự sản sinh S1P chủ yếu từ các hồng cầu, nhưng cũng có thể từ nguồn kháng chiếu xạ, có thể là các tế bào nội mô bạch huyết (Pappu, R. et al., *Science*, 316:295-298 (2007)). Với giả thiết ban đầu là chỉ vận hành như một phân tử truyền tín hiệu nội bào, thì sau đó S1P đã được nhận diện như phối tử có ái lực cao đối với năm thành viên thuộc nhóm gen biệt hóa nội mô (EDG: *Endothelial Differentiation Gene*) của các thụ thể liên hợp G-protein (GPCRs) có tên là S1P₁ hoặc S1P₁, S1P₂ hoặc S1P2, S1P₃ hoặc S1P3, S1P₄ hoặc S1P4, và S1P₅ hoặc S1P5 (trước đây lần lượt được gọi là EDG-1, EDG-5, EDG-3, EDG-6, và EDG-8) (Chun, J. et al., *Pharmacological Rev.*, 62:579-587 (2010)). Sự tương tác của S1P với các thụ thể S1P đóng một vai trò sinh lý cơ bản trong rất nhiều quá trình bao gồm quá trình tăng sinh tế bào, quá trình tạo hình thái tế bào, quá trình xâm lấn tế bào khối u, quá trình tạo mạch, quá trình tạo khối u, quá trình sắp xếp lại khung tế bào, quá trình phát triển mạch, và quá trình vận chuyển lymphô bào (Olivera, A. et al., *Adv. Exp. Med. Biol.*, 716:123-142 (2011)). Do đó, các thụ thể S1P là các đích tốt đối với nhiều ứng dụng trị liệu khác nhau như ức chế sự phát triển khối u, bệnh mạch máu, và các bệnh tự miễn dịch.

Trong số năm thụ thể S1P, S1P₁ có sự phân bố dày đặc. Nó là một thành viên chủ yếu của họ này được biểu hiện trong các lymphô bào và đóng một vai trò

quan trọng trong việc vận chuyển lymphô bào. Sự tương tác của S1P với thụ thể S1P₁ của nó là cần thiết đối với sự thoát ra của các tế bào miễn dịch từ các cơ quan lymphô (như tuyến ức và các u bạch huyết) vào các mạch bạch huyết. Việc điều hòa giảm thụ thể S1P₁ (có thể được thực hiện thông qua việc xử lý bằng các chất chủ vận của S1P₁ nhờ sự nội tương tác của thụ thể) làm gián đoạn sự di cư của lymphô bào và tới các mô khác nhau. Điều này dẫn đến việc cô lập của các lymphô bào trong các cơ quan lymphô, nhờ đó làm giảm số lượng lymphô bào tuần hoàn có khả năng di trú vào các mô bị ảnh hưởng này. Sự phát triển của tác nhân điều biến thụ thể S1P₁ ức chế sự di trú lymphô bào vào các vị trí đích liên quan tới các quá trình viêm tự miễn dịch và các quá trình viêm bất thường có thể có hiệu quả trong nhiều tình trạng bệnh tự miễn và viêm.

Các đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế sau đây đã mô tả các hợp chất làm các chất chủ vận S1P₁: WO 03/061567 (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2005/0070506), WO 03/062248 (Patent Mỹ số 7,351,725), WO 03/062252 (Patent Mỹ số 7,479,504), WO 03/073986 (Patent Mỹ số 7,309,721), WO 03/105771, WO 05/058848, WO 05/000833, WO 05/082089 (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2007/0203100), WO 06/047195, WO 06/100633, WO 06/115188, WO 06/131336, WO 2007/024922, WO 07/109330, WO 07/116866, WO 08/023783 (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2008/0200535), WO 08/029370, WO 08/074820, WO 08/079382, WO 08/114157, WO 09/043889, WO 09/057079, và Patent Mỹ số 6,069,143. Ngoài ra, xem ấn phẩm: Hale et al., *J. Med. Chem.*, 47:6662 (2004).

Vẫn tồn tại nhu cầu về các hợp chất hữu ích làm các chất chủ vận S1P₁ và có tính chọn lọc so với S1P₃. Hơn thế, vẫn có nhu cầu về các hợp chất hữu ích làm các chất chủ vận S1P₁ có tính chọn lọc so với S1P₃ và ít hoặc không ảnh hưởng tới phổi.

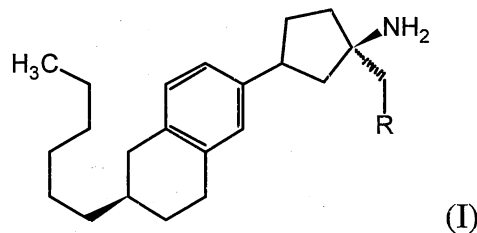
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Người nộp đơn đã tìm ra các hợp chất hiệu nghiệm mà có hoạt tính làm các chất chủ vận S1P₁. Hơn nữa, người nộp đơn đã tìm ra các hợp chất có hoạt tính làm các chất chủ vận S1P₁ và có tính chọn lọc so với S1P₃. Thậm chí hơn nữa, người nộp đơn đã tìm ra các hợp chất mà có hoạt tính làm các chất chủ vận S1P₁,

có tính chọn lọc so với S1P_3 , và ít hoặc không ảnh hưởng tới phổi. Các hợp chất này được đề xuất là hữu ích làm dược phẩm có độ ổn định, độ sinh khả dụng, chỉ số trị liệu, và các chỉ số độc tính mong muốn mà là quan trọng đối với khả năng làm thuốc của chúng.

Sáng chế đề xuất các hợp chất hai vòng, hữu ích làm các chất điều biến hoạt tính S1P_1 , bao gồm các muối và tiền dược chất của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I):



và/hoặc muối của nó; trong đó R là $-\text{OH}$ hoặc $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan tới hoạt tính của thụ thể S1P_1 bằng cách tiếp xúc với G protein, phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân thuộc loài động vật có vú dùng hợp chất có công thức (I) và/hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng đề xuất các quy trình và các hợp chất trung gian để tạo ra các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức (I) và/hoặc muối dược dụng của nó, để trị liệu.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc bào chế thuốc dùng để điều trị hoặc phòng các tình trạng bệnh lý liên quan tới thụ thể S1P_1 , như các bệnh tự miễn dịch và các bệnh mạch máu.

Các hợp chất có công thức (I) và các chế phẩm chứa các hợp chất có công thức (I) có thể được sử dụng để điều trị, phòng, hoặc chữa trị các tình trạng bệnh lý liên quan S1P_1 khác nhau. Các dược phẩm chứa các hợp chất này là hữu ích để điều trị, phòng, hoặc làm chậm tiến triển của các bệnh hoặc các rối loạn trong nhiều lĩnh vực trị liệu khác nhau, như các bệnh tự miễn dịch và các bệnh mạch máu.

Các dấu hiệu này và các dấu hiệu khác của sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sáng chế được minh họa có dựa vào các hình vẽ kèm theo được mô tả dưới đây.

Fig.1 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2.

Fig.2 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối mono-HCl dạng monohydrat H-1 của hợp chất của Ví dụ 2.

Fig.3 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối mono-HCl dạng monohydrat H-2 của hợp chất của Ví dụ 2.

Fig.4 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối mono-HCl dạng N-3 của hợp chất của Ví dụ 2.

Fig.5 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối mono-HCl dạng N-4 của hợp chất của Ví dụ 2.

Fig.6 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối hemi-L-malic dạng monohydrat H-1 của hợp chất của Ví dụ 2.

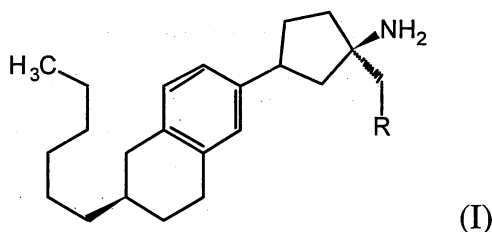
Fig.7 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối hemi-malonic dạng monohydrat H-1 của hợp chất của Ví dụ 2.

Fig.8 thể hiện các mẫu hình nhiễu xạ bột tia X (XPRD) quan sát được và được mô phỏng ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ 25°C) của muối axit phosphoric 2/3 dạng 1/3-hydrat H.33-1 của hợp chất của Ví dụ 2.

Fig.9 thể hiện mẫu hình nhiễu xạ bột tia X PXRD được mô phỏng, tính toán được ở -70°C ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$) của muối axit R-(+)-mandelic dạng N-1 của hợp chất của Ví dụ 2.

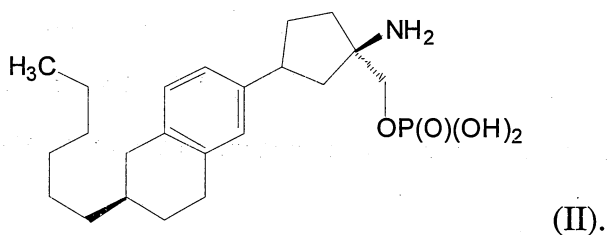
Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất ít nhất một hợp chất có công thức (I):

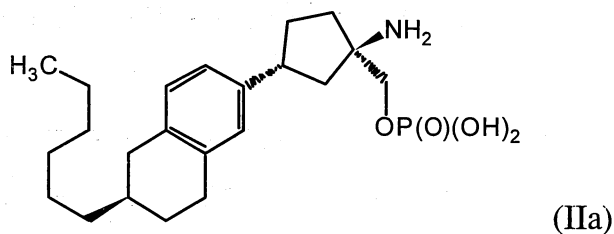


và/hoặc muối của nó; trong đó R là -OH hoặc -OP(O)(OH)₂.

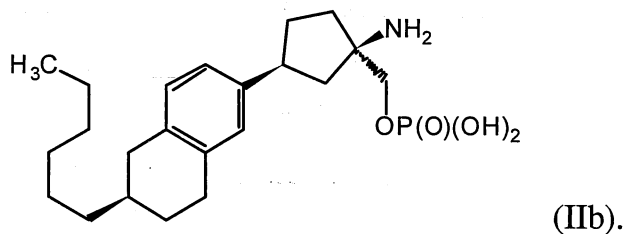
Theo một phương án của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối của nó, trong đó R là -OP(O)(OH)₂. Các hợp chất theo phương án này có công thức cấu trúc (II):



Được bao gồm theo phương án này là hợp chất có công thức (IIa) và

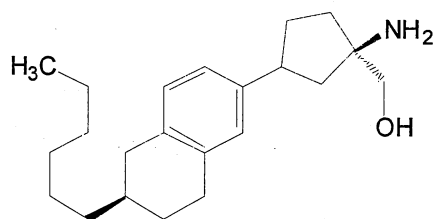


và hợp chất có công thức (IIb):



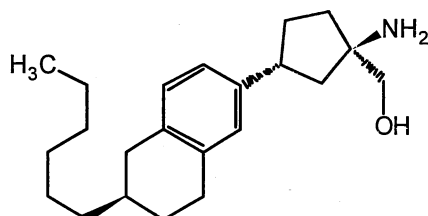
Các hợp chất có công thức (II) và/hoặc các muối của chúng, là hữu ích làm các chất chủ vận chọn lọc của S1P₁.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối của nó, trong đó R là -OH. Các hợp chất theo phương án này có công thức cấu trúc (III):



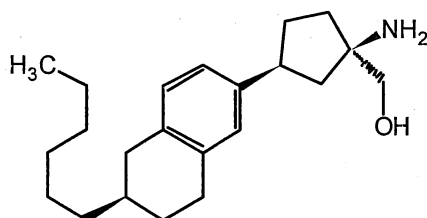
(III).

Được bao gồm theo phương án này là hợp chất có công thức (IIIa) và



(IIIa)

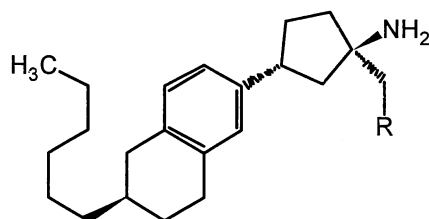
và hợp chất có công thức (IIIb):



(IIIb).

Các hợp chất có công thức (III) và/hoặc các muối của chúng, là hữu ích làm tiền dược chất của các hợp chất có công thức (II). Các hợp chất có công thức (III) được hoạt hóa *in vivo* thông qua quá trình phosphoryl hóa để tạo ra các hợp chất có công thức (II). Các hợp chất có công thức (II) có hoạt tính làm các chất chủ vận chọn lọc của S1P₁.

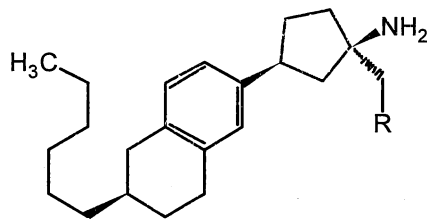
Theo một phương án của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối của nó, có công thức cấu trúc (IV):



(IV)

trong đó R là -OH hoặc -OP(O)(OH)₂. Được bao gồm theo phương án này là các hợp chất có công thức (IIa) và Công thức (IIIa).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối của nó, có công thức cấu trúc (V):



(V)

trong đó R là -OH hoặc -OP(O)(OH)₂. Được bao gồm theo phương án này là các hợp chất có công thức (IIb) và Công thức (IIIb).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIa) và/hoặc các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIb) và/hoặc các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIa) và/hoặc các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) và/hoặc các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIa).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIb).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIa).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất một hoặc nhiều muối của hợp chất có công thức (IIa).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất một hoặc nhiều muối của hợp chất có công thức (IIb).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất một hoặc nhiều muối của hợp chất có công thức (IIIa).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất một hoặc nhiều muối của hợp chất có công thức (IIIb).

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (III) ở dạng muối HCl.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIa) ở dạng muối HCl.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) ở dạng muối HCl.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (III) ở dạng muối phosphoric.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIa) ở dạng muối phosphoric.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) ở dạng muối phosphoric.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) ở dạng muối axit L-malic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (III) ở dạng muối axit malonic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIa) ở dạng muối axit malonic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) ở dạng muối axit malonic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) ở dạng muối axit R-(+)-mandelic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (III) ở dạng muối được chọn trong số muối HCl, muối axit phosphoric, và muối axit malonic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIa) ở dạng muối được chọn trong số muối HCl, muối axit phosphoric, và muối axit malonic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (IIIb) ở dạng muối được chọn trong số muối HCl, muối axit phosphoric, muối axit L-malic, muối axit malonic, và muối axit R-(+)-mandelic.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất được chọn trong số ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol và ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol; và các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất được chọn trong số ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat và ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-

5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat; và các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất được chọn trong số ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol và ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat; và các muối của nó.

Theo một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất được chọn trong số ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol và ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat; và các muối của nó.

Các muối và các dạng kết tinh của hợp chất của Ví dụ 2:

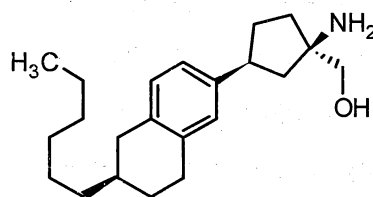
Bảng 1

Các muối và các dạng kết tinh của Ví dụ 2

Ví dụ 2	Dạng
bazơ tự do	N-1
muối mono-HCl (monohydrat)	H-1
muối mono-HCl (monohydrat)	H-2
muối mono-HCl	N-3
muối mono-HCl	N-4
muối axit hemi-L-malic (monohydrat)	H-1
muối axit hemi-malonic (monohydrat)	H-1
muối axit 2/3-phosphoric (1/3-hydrat)	H.33-1
muối axit R-(+)-mandelic	N-1

Hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là bazơ tự do

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 có công thức:



được tạo ra dưới dạng chất kết tinh bao gồm dạng kết tinh thứ nhất. Dạng kết tinh thứ nhất của hợp chất của Ví dụ 2 bao gồm dạng kết tinh nguyên chất trong bản mô tả này được gọi là “Dạng N-1” của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 5,54 \text{ \AA}$$

$$b = 7,37 \text{ \AA}$$

$$c = 48,85 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_12_12_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/Số lượng phân tử trong ô đơn vị = $499 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,098 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị mạng tinh thể của hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.1 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.1.

Theo phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,6\pm0,2$, $7,2\pm0,2$, $12,5\pm0,2$, $14,0\pm0,2$, $15,0\pm0,2$, $17,5\pm0,2$, $19,4\pm0,2$, $20,4\pm0,2$, và $23,8\pm0,2$, trong đó mẫu hình PXRD của hợp chất dạng N-1 được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Cũng theo một phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 là gần như tinh khiết.

Theo phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng N-1 của Ví dụ 2.

Theo phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 kết tinh gần như tinh khiết của Ví dụ 2 có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 10%, tốt hơn là dưới khoảng 5%, và tốt hơn nữa là dưới khoảng 2% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng. Tốt nhất là, hợp chất dạng N-1 kết tinh gần như tinh khiết của Ví dụ 2 có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 1% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh của Ví dụ 2 gồm chủ yếu là Dạng N-1. Dạng kết tinh theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-1 gần như tinh khiết của Ví dụ 2; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác tiếp theo, lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2 được kết hợp với ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng để tạo ra ít nhất một dược phẩm.

Các muối HCl của Ví dụ 2

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit clohydric.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit mono-clohydric bao gồm một mol HCl cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng chất kết tinh bao gồm một hoặc nhiều dạng kết tinh. Các ví dụ về các

dạng kết tinh thích hợp của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 bao gồm các dạng H-1, H-2, N-3, và N-4.

Theo một phương án, muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng monohydrat.

Theo một phương án, muối monohydrat của axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng làm chất kết tinh bao gồm một hoặc nhiều dạng kết tinh. Các ví dụ về các dạng kết tinh thích hợp của muối monohydrat của axit mono-clohydric của Ví dụ 2 bao gồm các dạng H-1 và H-2.

Theo một phương án, muối monohydrat của axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng kết tinh thứ hai được gọi trong bản mô tả này là "Dạng H-1" của Ví dụ 2, là muối HCl. Dạng H-1 của Ví dụ 2, là muối HCl chứa một phân tử nước và một phân tử HCl cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng H-1 của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 6,30 \text{ \AA}$$

$$b = 6,42 \text{ \AA}$$

$$c = 55,28 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_12_12_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $560 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,14 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng H-1 của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, dạng H-1 của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.2 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.2.

Theo phương án khác nữa, dạng monohydrat H-1 của muối mono-HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,2\pm0,2$, $6,4\pm0,2$, $9,6\pm0,2$, $13,9\pm0,2$, $14,6\pm0,2$, $17,0\pm0,2$, $19,0\pm0,2$, $20,1\pm0,2$, $21,3\pm0,2$, $21,9\pm0,2$, và $24,5\pm0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Cũng theo một phương án khác nữa, dạng H-1 của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 là gần như tinh khiết.

Theo phương án khác nữa, dạng H-1 của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ hai, dạng H-1 của Ví dụ 2, là muối HCl.

Theo phương án khác nữa, dạng kết tinh thứ hai gần như tinh khiết có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 10%, tốt hơn là dưới khoảng 5%, và tốt hơn nữa là dưới khoảng 2% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng. Tốt nhất là, dạng kết tinh thứ hai gần như tinh khiết có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 1% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh thứ hai của muối mono-HCl của Ví dụ 2 gồm chủ yếu là Dạng H-1. Dạng kết tinh thứ hai theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ hai, dạng H-1.

Theo một phương án, muối monohydrat của axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng kết tinh thứ ba được gọi trong bản mô tả này là "Dạng H-2" của Ví dụ 2, là muối HCl. Dạng H-2 của Ví dụ 2, là muối HCl chứa một phân tử nước và một phân tử HCl cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng H-2 của muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 6,30 \text{ \AA}$$

$$b = 6,43 \text{ \AA}$$

$$c = 27,88 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 96,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $562 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,135 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng H-2 của Ví dụ 2, là HCl được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, dạng H-2 của Ví dụ 2, là HCl được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.3 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.3.

Theo phương án khác nữa, dạng monohydrat H-2 của muối mono-HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,2\pm 0,2$, $6,4\pm 0,2$, $9,6\pm 0,2$, $14,1\pm 0,2$, $15,2\pm 0,2$, $16,8\pm 0,2$, $18,8\pm 0,2$, $20,2\pm 0,2$, $21,3\pm 0,2$, $22,6\pm 0,2$, và $26,6\pm 0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Cũng theo một phương án khác nữa, dạng H-2 của Ví dụ 2, là muối HCl là gần như tinh khiết.

Theo phương án khác nữa, dạng H-2 của Ví dụ 2, là muối HCl chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ ba.

Theo phương án khác nữa, dạng H-2 kết tinh gần như tinh khiết của Ví dụ 2, là muối HCl có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 10%, tốt hơn là dưới khoảng 5%, và tốt hơn nữa là dưới khoảng 2% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu

hình PXRD mô phỏng. Tốt nhất là, dạng H-2 kết tinh gần như tinh khiết của Ví dụ 2, là muối HCl có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 1% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh thứ ba của hợp chất của Ví dụ 2 gồm chủ yếu là Dạng H-2 của Ví dụ 2, là muối HCl. Dạng kết tinh thứ ba theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ ba.

Theo một phương án, muối axit mono-clohydric của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng chất kết tinh tinh khiết bao gồm một hoặc nhiều dạng kết tinh. Các ví dụ về các dạng kết tinh thích hợp của muối axit mono-clohydric tinh khiết của Ví dụ 2 bao gồm các dạng N-3 và N-4.

Theo một phương án, muối axit mono-clohydric tinh khiết của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng dạng kết tinh thứ tư được gọi trong bản mô tả này là "Dạng N-3" của Ví dụ 2, là muối HCl. Dạng N-3 của Ví dụ 2, là muối HCl chứa một phân tử HCl cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 5,98 \text{ \AA}$$

$$b = 7,24 \text{ \AA}$$

$$c = 25,74 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 91,7^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $556 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,092 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 được đo ở nhiệt độ khoảng 27°C .

Theo một phương án, hợp chất dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 5,93 \text{ \AA}$$

$$b = 7,20 \text{ \AA}$$

$$c = 25,24 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,2^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $538 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,128 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, dạng N-3 của Ví dụ 2, là muối HCl được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.4 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.4.

Theo phương án khác nữa, dạng N-3 của muối mono-HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,4\pm0,2$, $6,9\pm0,2$, $10,4\pm0,2$, $12,7\pm0,2$, $14,0\pm0,2$, $16,1\pm0,2$, $19,7\pm0,2$, $20,6\pm0,2$, $22,1\pm0,2$, và $24,0\pm0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Cũng theo một phương án khác nữa, dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 là gần như tinh khiết.

Theo phương án khác nữa, dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ tư, dạng N-3.

Theo phương án khác nữa, dạng N-3 gần như tinh khiết của muối HCl của Ví dụ 2 có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 10%, tốt hơn là dưới khoảng 5%, và tốt hơn nữa là dưới khoảng 2% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng. Tốt nhất là, dạng N-3 gần như tinh khiết của muối HCl của Ví dụ 2 có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 1% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng.

Cũng theo một phương án khác nữa, dạng N-3 của muối HCl của Ví dụ 2 là gần như tinh khiết.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh của Ví dụ 2 gồm chủ yếu là Dạng N-3. Dạng kết tinh theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh, dạng N-3 của Ví dụ 2.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-3 của Ví dụ 2; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-3 gần như tinh khiết của Ví dụ 2; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác tiếp theo, lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất dạng N-3 của Ví dụ 2 được kết hợp với ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng để tạo ra ít nhất một dược phẩm.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh thứ tư của muối HCl của Ví dụ 2 gồm chủ yếu là Dạng N-3. Dạng kết tinh thứ tư theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ tư, dạng N-3.

Theo một phương án, muối axit mono-clohydric tinh khiết của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng kết tinh thứ năm được gọi trong bản mô tả này là "Dạng N-4" của Ví dụ 2, là muối HCl. Dạng N-4 của Ví dụ 2, là muối HCl chứa một phân tử HCl cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng N-4 của muối HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 5,95 \text{ \AA}$$

$$b = 7,27 \text{ \AA}$$

$$c = 51,60 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_12_12_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $558 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,088 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng N-4 của Ví dụ 2, là muối HCl được đo ở nhiệt độ khoảng 27°C .

Theo một phương án, hợp chất dạng N-4 của muối HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 5,92 \text{ \AA}$$

$$b = 7,25 \text{ \AA}$$

$$c = 50,61 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 90,0^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_12_12_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 1

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $543 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,119 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng N-4 của Ví dụ 2, là muối HCl được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, dạng N-4 của Ví dụ 2, là muối HCl được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.5 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.5.

Theo phương án khác nữa, dạng N-4 của muối mono-HCl của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,4\pm0,2$, $6,9\pm0,2$, $10,3\pm0,2$, $12,7\pm0,2$, $13,3\pm0,2$, $15,0\pm0,2$, $19,7\pm0,2$, $20,4\pm0,2$, $21,2\pm0,2$, $22,9\pm0,2$, và $24,9\pm0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Cũng theo một phương án khác nữa, dạng N-4 của muối HCl của Ví dụ 2 là gần như tinh khiết.

Theo phương án khác nữa, dạng N-4 của muối HCl của Ví dụ 2 chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh thứ tư, dạng N-4.

Theo phương án khác nữa, dạng N-4 gần như tinh khiết của muối HCl của Ví dụ 2 có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 10%, tốt hơn là dưới khoảng 5%, và tốt hơn nữa là dưới khoảng 2% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng. Tốt nhất là, dạng N-4 gần như tinh khiết của muối HCl của Ví dụ 2 có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 1% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng.

Cũng theo một phương án khác nữa, dạng N-4 của muối HCl của Ví dụ 2 là gần như tinh khiết.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh của Ví dụ 2 gồm chủ yếu là Dạng N-4. Dạng kết tinh theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh, dạng N-4 của Ví dụ 2.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-4 của Ví dụ 2; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-4 gần như tinh khiết của Ví dụ 2; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dùng.

Theo phương án khác tiếp theo, lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất dạng N-4 của Ví dụ 2 được kết hợp với ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dùng để tạo ra ít nhất một dược phẩm.

Theo một phương án, chế phẩm được đề xuất chứa Dạng N-3, dạng N-4, hoặc hỗn hợp của chúng của muối axit mono-clohydric tinh khiết của Ví dụ 2.

Muối axit L-malic

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit L-malic.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit hemi-L-malic gồm 0,5mol axit L-malic cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối monohydrat của axit hemi-L-malic bao gồm một mol nước và 0,5mol axit L-malic cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, muối monohydrat của axit hemi-L-malic của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng kết tinh thứ sáu được gọi trong bản mô tả này là "Dạng H-1" của Ví dụ 2, là muối axit hemi-L-malic. Dạng H-1 của Ví dụ 2, là muối axit hemi-L-malic chứa một phân tử nước và 0,5 phân tử axit L-malic cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng H-1 của muối axit hemi-L-malic của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 6,13 \text{ \AA}$$

$$b = 13,83 \text{ \AA}$$

$$c = 28,75 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 103,4^\circ$$

$$\beta = 94,0^\circ$$

$$\gamma = 92,6^\circ$$

Nhóm không gian: P1

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 4

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $591 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,165 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng H-1 của muối axit hemi-L-malic của Ví dụ 2 được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, dạng H-1 của muối axit hemi-L-malic của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig. 6 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig. 6.

Theo phương án khác nữa, dạng H-1 của muối axit hemi-L-malic của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,2\pm 0,2$, $6,3\pm 0,2$, $9,5\pm 0,2$, $12,8\pm 0,2$, $14,3\pm 0,2$, $18,0\pm 0,2$, $22,4\pm 0,2$, và $24,8\pm 0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Muối axit malonic

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit malonic.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit hemi-malonic gồm $0,5\text{mol}$ axit malonic cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối monohydrat của axit hemi-malonic bao gồm một mol nước và $0,5\text{mol}$ axit malonic cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, muối monohydrat của axit hemi-malonic của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng tinh thể thứ bảy được gọi trong bản mô tả này là "Dạng H-1" của Ví dụ 2, là muối axit hemi-malonic. Dạng H-1 của Ví dụ 2, là muối axit hemi-malonic chứa một phân tử nước và $0,5$ phân tử axit malonic cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng H-1 của muối axit hemi-malonic của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 14,73 \text{ \AA}$$

$$b = 6,27 \text{ \AA}$$

$$c = 25,36 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 93,8^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: $P2_1$

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 2

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $584 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,137 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng H-1 được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, dạng H-1 của muối axit hemi-malonic của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig. 7 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig. 7.

Theo phương án khác nữa, dạng H-1 của muối axit hemi-malonic của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha \lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $3,5\pm0,2$, $7,1\pm0,2$, $12,3\pm0,2$, $13,5\pm0,2$, $15,5\pm0,2$, $17,6\pm0,2$, $19,1\pm0,2$, $20,2\pm0,2$, $20,6\pm0,2$, $21,7\pm0,2$, và $23,8\pm0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C .

Muối axit phosphoric

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit phosphoric.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit 1/3-hydrat phosphoric.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit phosphoric gồm 0,67mol axit phosphoric cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit 1/3-hydrat phosphoric gồm 0,33 mol nước và 0,67mol axit phosphoric cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, muối axit 1/3-hydrat phosphoric của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng kết tinh thứ tám được gọi trong bản mô tả này là “Dạng H.33-1” của Ví dụ 2, là muối axit phosphoric. Dạng H.33-1 của Ví dụ 2, là muối axit phosphoric bao gồm 0,33 phân tử nước và 0,67 phân tử axit phosphoric cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng H.33-1 được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 59,12 \text{ \AA}$$

$$b = 6,89 \text{ \AA}$$

$$c = 16,62 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 90,0^\circ$$

$$\beta = 94,7^\circ$$

$$\gamma = 90,0^\circ$$

Nhóm không gian: C2

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 3

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = 563 $\text{\AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = 1,181 g/cm³,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng H.33-1 được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C.

Theo một phương án khác, dạng H.33-1 của muối axit 1/3-phosphoric của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig. 8 và/hoặc bởi mẫu hình PXRD quan sát được về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig. 8.

Theo phương án khác nữa, dạng H.33-1 của muối axit 1/3-phosphoric của Ví dụ 2 được đặc trưng bởi mẫu hình PXRD ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1,5418\text{\AA}$ ở nhiệt độ khoảng 25°C) chứa bốn hoặc nhiều hơn, tốt hơn là năm hoặc nhiều hơn, trị số 2θ được chọn trong số: $2,9\pm0,2$, $5,9\pm0,2$, $8,8\pm0,2$, $13,9\pm0,2$, $15,8\pm0,2$, $16,7\pm0,2$, $17,4\pm0,2$, $18,4\pm0,2$, $19,4\pm0,2$, và $20,4\pm0,2$, trong đó mẫu hình PXRD được đo ở nhiệt độ khoảng 25°C.

Muối axit R-(+)-mandelic

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit R-(+)-mandelic.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng axit monohydrat R-(+)-mandelic.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối axit R-(+)-mandelic bao gồm một mol R-(+)-mandelic axit cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất của Ví dụ 2 được tạo ra dưới dạng muối monohydrat của axit R-(+)-mandelic bao gồm một mol nước và một mol axit R-(+)-mandelic cho mỗi mol hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, muối monohydrat của axit R-(+)-mandelic của Ví dụ 2 được đề xuất ở dạng kết tinh thứ chín được gọi trong bản mô tả này là "Dạng N-1" của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic. Dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic chứa một phân tử nước và một phân tử R-(+)-mandelic axit cho mỗi phân tử của hợp chất của Ví dụ 2.

Theo một phương án, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, muối axit R-(+)-mandelic được đặc trưng bởi các thông số ô đơn vị mạng tinh thể khoảng như sau:

Kích thước ô:

$$a = 6,31 \text{ \AA}$$

$$b = 10,03 \text{ \AA}$$

$$c = 21,79 \text{ \AA}$$

$$\alpha = 98,2^\circ$$

$$\beta = 91,3^\circ$$

$$\gamma = 91,7^\circ$$

Nhóm không gian: P1

Các phân tử của hợp chất của Ví dụ 2/đơn vị không đối xứng: 2

Thể tích/số lượng phân tử trong ô đơn vị = $683 \text{ \AA}^3$

Tỷ trọng (theo tính toán) = $1,171 \text{ g/cm}^3$,

trong đó các thông số ô đơn vị của dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic được đo ở nhiệt độ khoảng -70°C .

Theo một phương án khác, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic được đặc trưng bởi mẫu hình phổ nhiễu xạ bột tia X (PXRD) về cơ bản theo mẫu hình phổ nhiễu xạ được thể hiện trên Fig.9.

Cũng theo một phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic là gần như tinh khiết.

Theo phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic.

Theo phương án khác nữa, hợp chất dạng N-1 kết tinh gần như tinh khiết của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 10%, tốt hơn là dưới khoảng 5%, và tốt hơn nữa là dưới khoảng 2% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng. Tốt nhất là, hợp chất dạng N-1 kết tinh gần như tinh khiết của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic có độ đồng nhất pha gần như tinh khiết ít hơn khoảng 1% của tổng diện tích pic của mẫu hình PXRD đo được theo thực nghiệm xuất phát từ các pic không có ở mẫu hình PXRD mô phỏng.

Theo một phương án khác, dạng kết tinh của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic gồm chủ yếu là Dạng N-1. Dạng kết tinh theo phương án này có thể chứa ít nhất khoảng 90% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 95% khối lượng, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 99% khối lượng, tính theo khối lượng của dạng kết tinh, hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác nữa, dược phẩm chứa hợp chất dạng N-1 gần như tinh khiết của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic; và ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo phương án khác tiếp theo, lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất dạng N-1 của Ví dụ 2, là muối axit R-(+)-mandelic được kết hợp với ít nhất một chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng để tạo ra ít nhất một dược phẩm.

Sáng chế có thể bao gồm các dạng cụ thể khác mà không đi trệch khỏi phạm vi bảo hộ của nó. Sáng chế này bao gồm tất cả các cách kết hợp giữa các khía cạnh và/hoặc các phương án của sáng chế được nêu ở đây. Cần được hiểu rằng phương án bất kỳ và tất cả mọi phương án của sáng chế có thể được tiến hành kết hợp với phương án hoặc các phương án khác bất kỳ để mô tả thêm các phương án khác. Cũng cần được hiểu rằng, mỗi một thành phần riêng biệt của các phương án được dự định để kết hợp với thành phần bất kỳ và tất cả mọi thành phần khác của một phương án bất kỳ để mô tả thêm phương án khác.

Các định nghĩa

Các dấu hiệu và ưu điểm của sáng chế có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu một cách dễ dàng hơn khi đọc phần mô tả chi tiết sau. Nhằm làm rõ dấu hiệu nhất định của sáng chế mà đã được mô tả trên đây và dưới đây trong phạm vi của sáng chế theo các phương án riêng biệt cũng có thể được kết hợp để tạo ra một phương án duy nhất. Ngược lại, nhằm cho ngắn gọn, các dấu hiệu khác của sáng chế mà đã được mô tả trong phạm vi của sáng chế theo một phương án cũng có thể được kết hợp để tạo ra những sự kết hợp giữa các dấu hiệu này. Các phương án được xác định ở đây là để mô tả hoặc tốt hơn là được dự định để minh họa và không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Trừ khi được xác định theo cách khác trong bản mô tả sáng chế, việc đề cập đến số ít cũng bao gồm cả số nhiều.

Khi được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "các hợp chất và/hoặc các muối của chúng" chỉ ít nhất một hợp chất, ít nhất một muối của các hợp chất này, hoặc hỗn hợp của chúng. Ví dụ, các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối của chúng bao gồm hợp chất có công thức (I); hai hợp chất có công thức (I); muối của hợp chất có công thức (I); hợp chất có công thức (I) và một hoặc nhiều muối của hợp chất có công thức (I); và hai hoặc nhiều muối của hợp chất có công thức (I).

Trừ khi được xác định theo cách khác, nguyên tử bất kỳ có các hóa trị chưa bão hòa được dự định là có các nguyên tử hydro đủ để bão hòa các hóa trị này.

Dưới đây liệt kê các định nghĩa về các thuật ngữ khác nhau dùng để mô tả sáng chế. Các định nghĩa này được áp dụng cho các thuật ngữ khi chúng được sử

dụng trong toàn bộ bản mô tả này (trừ khi các thuật ngữ này được giới hạn theo cách khác trong các tình huống cụ thể) ở dạng riêng biệt hoặc ở dạng một phần của nhóm rộng hơn. Các định nghĩa nêu ra ở đây được ưu tiên hơn so với các định nghĩa được nêu trong patent, đơn yêu cấp patent và/hoặc công bố đơn yêu cầu cấp patent bất kỳ.

Trong toàn bộ bản mô tả này, các nhóm và các phần tử thể của các nhóm này có thể được lựa chọn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để tạo ra các gốc và các hợp chất bền.

Thuật ngữ “được dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, chế phẩm, và/hoặc dạng liều mà, trong phạm vi đánh giá về y tế, là thích hợp để sử dụng trong tiếp xúc với các mô của người và động vật mà không tạo ra độc tính, gây ra kích thích, phản ứng dị ứng quá mức hoặc vấn đề cũng như biến chứng khác, tương ứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Các hợp chất có công thức (I) có thể tạo ra các muối cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Trừ khi có chỉ dẫn cụ thể khác, việc đề cập đến hợp chất theo sáng chế sẽ được hiểu là bao gồm việc đề cập đến một hoặc nhiều muối của nó. Thuật ngữ "muối" chỉ các muối axit và/hoặc bazơ được tạo thành bằng các axit và các bazơ vô cơ và/hoặc hữu cơ. Ngoài ra, thuật ngữ "muối" có thể bao gồm các ion lưỡng tính (các muối nội), ví dụ, khi hợp chất có công thức (I) chứa cả nhóm bazơ, như amin hoặc nhân pyridin hoặc imidazol, và nhóm axit, như axit carboxylic. Các muối được dụng (tức là, sinh khả dụng không độc) là được ưu tiên, như, ví dụ, các muối amin và kim loại có thể chấp nhận trong đó cation không góp phần đáng kể tới độc tính hoặc hoạt tính sinh học của muối. Tuy nhiên, các muối khác có thể là hữu ích, ví dụ, trong bước tách hoặc tinh chế có thể được sử dụng trong quá trình điều chế, và do vậy, được dự liệu nằm trong phạm vi của sáng chế. Các muối của các hợp chất có công thức (I) có thể được tạo ra, ví dụ, bởi phản ứng của hợp chất có công thức (I) với một lượng axit hoặc bazơ, như với một đương lượng, trong môi trường như môi trường mà trong đó muối kết tủa hoặc trong môi trường nước trước khi làm khô lạnh.

Các muối cộng axit làm ví dụ bao gồm các axetat (như các muối được tạo thành bằng axit axetic hoặc axit trihaloaxetic, ví dụ, axit trifloroaxetic), adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, borat, butyrat, xitrat,

camphorat, camphorulfonat, xyclopentanpropionat, digluconat, đodexylsulfat, etansulfonat, futmarat, glucoheptanoat, glyxerophosphat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, hydroclorua (được tạo ra từ axit clohydric), hydrobromua (được tạo ra từ hydro bromua), hydroiodua, maleat (được tạo ra từ axit maleic), 2-hydroxyetansulfonat, lactat, metansulfonat (được tạo ra từ axit metansulfonic), 2-naphthalensulfonat, nicotinat, nitrat, oxalat, pectinat, persulfat, 3-phenylpropionat, phosphat, picrat, pivalat, propionat, salixilat, succinat, các sulfat (như các muối được tạo ra từ axit sulphuric), các sulfonat (như các muối đã nêu), tartrat, thioxyanat, các toluensulfonat như tosylat, undecanoat, và tương tự.

Các muối bazơ làm ví dụ bao gồm muối amoni, các muối kim loại kiềm như các muối natri, lithi, và kali; các muối kim loại kiềm thổ như các muối canxi và magie; các muối bari, kẽm, và nhôm; các muối với các bazơ hữu cơ (ví dụ, các amin hữu cơ) như các trialkylamin như trietylamin, procain, dibenzylamin, N-benzyl- β -phenetylamin, 1-ephénamin, N,N'-dibenzyletylen-diámin, dehydroabietylamin, N-etylpipeidin, benzylamin, dicyclohexylamin hoặc các amin được dùng tương tự và các muối với các axit amin như arginin, lysin và tương tự. Các nhóm chứa nitơ kiềm tính có thể được tạo bậc bốn bằng các tác nhân như các halogenua alkyl thấp (ví dụ, các clorua, bromua và ioduá của metyl, etyl, propyl, và butyl), các dialkyl sulfat (ví dụ, dimetyl, dietyl, dibutyl, và diamyl sulfat), các halogenua mạch dài (ví dụ, các clorua, bromua và ioduá của dextryl, lauryl, myristyl và stearyl), các aralkyl halogenua (ví dụ, benzyl và phenetyl bromua), và các chất tương tự khác. Các muối được ưu tiên bao gồm các muối monohydroclorua, hydrosulfat, metansulfonat, phosphat hoặc nitrat.

Các hợp chất có công thức (I) có thể được tạo ra dưới dạng các chất rắn vô định hình hoặc các chất rắn kết tinh. Quá trình đông khô nhanh có thể được sử dụng để tạo ra các hợp chất có công thức (I) dưới dạng chất liệu rắn.

Cần phải hiểu rõ là các solvat (ví dụ, các hydrat) của các hợp chất có công thức (I) cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Thuật ngữ "solvat" được dùng để chỉ sự kết hợp vật lý của hợp chất có công thức (I) với một hoặc nhiều phân tử dung môi hữu cơ hoặc vô cơ. Sự kết hợp vật lý này bao gồm liên kết hydro. Trong các trường hợp nhất định, solvat sẽ có khả năng tách, ví dụ, khi một hoặc nhiều phân tử dung môi được kết hợp trong mạng tinh thể của chất rắn kết tinh. Thuật

ngữ "solvat" bao gồm cả các solvat pha dung dịch lẫn solvat có thể tách được. Các solvat làm ví dụ bao gồm hydrat, etanolat, metanolat, isopropanolat, axetonitril solvat, và etyl axetat solvat. Các phương pháp solvat hóa là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các dạng tiền dược chất khác nhau là đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong các ấn phẩm:

- a) Wermuth, C.G. et al., *The Practice of Medicinal Chemistry*, Chapter 31, Academic Press (1996);
- b) Bundgaard, H. ed., *Design of Prodrugs*, Elsevier (1985);
- c) Bundgaard, H., Chapter 5, "Design and Application of Prodrugs," Krosgaard-Larsen, P. et al., eds., *A Textbook of Drug Design và Development*, pp. 113-191, Harwood Academic Publishers (1991); và
- d) Testa, B. et al., *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism*, Wiley-VCH (2003).

Ngoài ra, các hợp chất có công thức (I), sau khi được tạo ra, tốt hơn là được tách và tinh chế để thu được chế phẩm chứa một lượng có trọng lượng tương đương hoặc lớn hơn 99% trọng lượng hợp chất có công thức (I) ("gần như tinh khiết"), sau đó được sử dụng hoặc thiết lập công thức như được mô tả ở đây. Các hợp chất có công thức (I) "gần như tinh khiết" này cũng được dự liệu như một phần của sáng chế.

"Hợp chất bền" và "cấu trúc bền" được dự định để chỉ hợp chất đủ vững chắc để trải qua quá trình tách trong chừng mực tinh khiết hữu dụng ra khỏi hỗn hợp phản ứng, và tạo chế phẩm tác nhân điều trị bệnh có hiệu quả. Sáng chế dự định bao gồm các hợp chất bền.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu trị liệu" chỉ một lượng hợp chất theo sáng chế riêng biệt hoặc lượng kết hợp của các hợp chất được yêu cầu bảo hộ hoặc một lượng hợp chất theo sáng chế kết hợp với các thành phần hoạt tính khác có hiệu quả để tác động như một chất chủ vận đối với S1P₁, hoặc có hiệu quả để điều trị hoặc phòng các trạng thái bệnh tự miễn dịch và/hoặc viêm, như đa xơ cứng và viêm đa khớp dạng thấp.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “điều trị” bao gồm việc điều trị tình trạng bệnh lý ở động vật có vú, cụ thể là người, và bao gồm: (a) phòng tình trạng bệnh lý xuất hiện ở động vật có vú, cụ thể, khi động vật có vú này có khả năng bị mắc tình trạng bệnh lý nhưng còn chưa được chẩn đoán là bị mắc bệnh; (b) ngăn chặn tình trạng bệnh lý, tức là, làm dừng sự phát triển tình trạng bệnh lý; và/hoặc (c) làm thuyên giảm tình trạng bệnh lý, tức là, khiến cho tình trạng bệnh lý thoái lui.

Các hợp chất theo sáng chế được dự định bao gồm tất cả các chất đồng vị của các nguyên tử xuất hiện ở các hợp chất này. Các chất đồng vị chứa các nguyên tử này có cùng số lượng nguyên tử nhưng có chỉ số khối lượng khác nhau. Thông qua ví dụ chung và không hạn chế, các chất đồng vị của hydro bao gồm đơteri (D) và triti (T). Các chất đồng vị của cacbon bao gồm ^{13}C và ^{14}C . Các hợp chất đánh dấu đồng vị theo sáng chế thông thường có thể được bào chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc bằng các quy trình tương tự như các quy trình được mô tả ở đây, sử dụng chất phản ứng đánh dấu đồng vị thích hợp thay cho chất phản ứng không đánh dấu được sử dụng theo cách khác.

Các hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối được dụng của nó có thể được dùng theo cách bất kỳ thích hợp với tình trạng bệnh lý cần điều trị, tùy thuộc vào nhu cầu điều trị đặc hiệu vị trí hoặc lượng hợp chất có công thức (I) cần phân phối.

Sáng chế cũng đề cập tới nhóm các dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc các muối được dụng của nó; và một hoặc nhiều chất mang và/hoặc chất pha loãng và/hoặc chất phụ gia không độc, được dụng (ở đây được gọi chung là “các chất mang”) và, nếu muốn, còn chứa thêm các thành phần hoạt tính khác. Các hợp chất có công thức (I) có thể được dùng qua đường thích hợp bất kỳ, tốt hơn ở dạng dược phẩm thích hợp với đường dùng đó, và với liều lượng hữu hiệu trong điều trị dự định. Ví dụ, hợp chất và chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng, đường niêm mạc, hoặc ngoài đường tiêu hóa bao gồm đường trong mạch máu, đường tĩnh mạch, đường trong phúc mạc, đường dưới da, đường trong cơ, và đường trong xương ức trong các chế phẩm phân liều đơn vị chứa các nền mang, chất bổ trợ, và chất mang được dụng. Ví dụ, nền mang được

phẩm có thể chứa hỗn hợp của manitol hoặc lactoza và xenluloza vi tinh thể. Hỗn hợp có thể chứa các thành phần bổ sung như chất làm trơn, ví dụ, magie stearat và chất phân hủy như crospovidon. Hỗn hợp nền mang có thể được trám đầy vào viên nang gelatin hoặc được ép thành viên nén. Ví dụ, dược phẩm có thể được dùng ở dạng liều qua đường miệng hoặc truyền.

Để dùng qua đường miệng, ví dụ, dược phẩm có thể ở dạng viên nén, viên nang, huyền phù, hoặc dịch lỏng. Dược phẩm tốt hơn được tạo ra ở dạng đơn vị phân liều chứa một lượng hoạt chất cụ thể. Ví dụ, dược phẩm có thể được tạo ra ở dạng viên nén hoặc viên nang chứa một lượng hoạt chất nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1000mg, tốt hơn nằm trong khoảng từ 0,25 đến 250mg, và tốt hơn nữa nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100mg. Liều lượng hàng ngày thích hợp cho người hoặc động vật có vú khác có thể thay đổi nhiều tùy thuộc vào tình trạng bệnh lý của bệnh nhân và các yếu tố khác, nhưng có thể được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường.

Ví dụ, dược phẩm bất kỳ được dự định ở đây có thể được phân phối qua đường miệng thông qua các chế phẩm uống được chấp nhận và thích hợp. Các chế phẩm uống được nêu làm ví bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, viên nén, viên hình thoi, viên ngậm, huyền phù nước và dầu, dạng bột hoặc hạt phân tán được, nhũ tương, viên nang cứng và mềm, xy-rô, và dạng cồn ngọt. Các dược phẩm dự định để dùng qua đường miệng có thể được bào chế theo phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực sản xuất dược phẩm dự định để dùng qua đường miệng. Để tạo ra chế phẩm dược dụng, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa ít nhất một chất được chọn từ chất làm ngọt, chất tạo hương, chất tạo màu, chất làm dịu, chất chống oxy hóa, và chất bảo quản.

Ví dụ, viên nén có thể được bào chế bằng cách bổ sung ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối dược dụng của nó với ít nhất một tá dược dược dụng không độc thích hợp trong sản xuất viên nén. Các tá dược làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, chất pha loãng trợ, ví dụ như canxi cacbonat, natri cacbonat, lactoza, canxi phosphat, và natri phosphat; chất tạo hạt và chất phân hủy, ví dụ như xenluloza vi tinh thể, natri croscarmelloza, tinh bột ngô, và axit alginic; chất kết dính, ví dụ như tinh bột, gelatin, polyvinyl-pyrrolidon, và acacia; và chất làm trơn, ví dụ như magie stearat, axit stearic, và bột talc. Ngoài

ra, viên nén không được bọc ngoài hoặc được bọc ngoài bằng các kỹ thuật đã biết để che dấu vị khó chịu của thuốc có vị khó chịu, hoặc để làm chậm quá trình phân hủy và hấp thu của hoạt chất trong đường dạ dày-ruột, bằng cách đó duy trì được các tác dụng của hoạt chất trong thời gian dài. Các chất che dấu vị hòa tan được trong nước làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hydroxypropylmethylxenluloza và hydroxypropylxenluloza. Các chất làm kéo dài thời gian minh họa, bao gồm, nhưng không bị giới hạn bởi, etyl xenluloza và xenluloza axetat butyrat.

Ví dụ, các viên nang gelatin cứng có thể được bào chế bằng cách kết hợp ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối của nó với ít nhất một chất pha loãng thể rắn trơ, ví dụ như canxi cacbonat; canxi phosphat; và kaolin.

Ví dụ, viên nang gelatin mềm có thể được bào chế bằng cách kết hợp ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dung của nó với ít nhất một chất mang hòa tan được trong nước, ví dụ như polyetylen glycol; và ít nhất một môi trường dầu, ví dụ như dầu đậu phộng, parafin lỏng, và dầu ô-liu.

Huyền phù nước có thể được bào chế, ví dụ, bằng cách trộn kết hợp ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dung của nó với ít nhất một tá dược thích hợp trong sản xuất huyền phù nước. Các tá dược thích hợp làm ví dụ trong sản xuất huyền phù nước, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, chất tạo huyền phù, ví dụ như natri cacboxymethylxenluloza, methylxenluloza, hydroxypropylmethylxenluloza, natri alginat, axit alginic, polyvinylpyrrolidon, gôm tragacân, và gôm acacia; các chất phân hủy hoặc tạo ẩm, ví dụ như phosphatit xuất hiện tự nhiên, ví dụ, lexithin; các sản phẩm ngưng tụ của alkylen oxit với các axit béo, ví dụ như polyoxyetylen stearat; các sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với các rượu béo mạch dài, ví dụ như heptadecaetylen-oxyxetanol; các sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với các este không hoàn toàn dẫn xuất từ các axit béo và hexitol, ví dụ như polyoxyetylen sorbitol monooleat; và các sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với các este không hoàn toàn dẫn xuất từ các axit béo và các hexitol anhydrit, ví dụ như polyetylen sorbitan monooleat. Huyền phù nước cũng có thể chứa ít nhất một chất bảo quản, ví dụ như etyl và n-propyl p-hydroxybenzoat; ít nhất một chất tạo màu; ít nhất một chất tạo hương; và/hoặc ít

nhất một chất làm ngọt, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, sucroza, sacarin, và aspartam.

Ví dụ, các huyền phù dầu có thể được bào chế bằng cách tạo huyền phù ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dụng của nó trong dầu thực vật, ví dụ như dầu lạc; dầu ô-liu; dầu vừng; và dầu dừa; hoặc trong dầu khoáng, ví dụ như parafin lỏng. Huyền phù dầu cũng có thể chứa ít nhất một chất làm đặc, ví dụ như sáp ong; parafin rắn; và rượu xetyl. Để tạo ra huyền phù dầu chấp nhận được, ít nhất một trong số các chất làm ngọt đã được mô tả ở trên, và/hoặc ít nhất một chất tạo hương có thể được bổ sung vào huyền phù dầu. Huyền phù dầu có thể chứa thêm ít nhất một chất bảo quản, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, chất chống oxy hóa, ví dụ như hydroxylanisol được butyl hóa, và α -tocopherol.

Ví dụ, bột và hạt có thể phân tán được có thể được bào chế bằng cách trộn kết hợp ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dụng của nó với ít nhất một chất phân tán và/hoặc chất tạo ẩm; ít nhất một chất tạo huyền phù; và/hoặc ít nhất một chất bảo quản. Các chất phân tán, chất tạo ẩm, và chất tạo huyền phù thích hợp như đã được mô tả ở trên. Các chất bảo quản làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, các chất chống oxy hóa, ví dụ, axit ascorbic. Ngoài ra, bột và hạt có thể phân tán được cũng có thể chứa ít nhất một tá dược, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, các chất làm ngọt; chất tạo hương; và chất tạo màu.

Ví dụ, nhũ tương chứa ít nhất một hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dụng của nó có thể được bào chế ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu của các nhũ tương chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dụng của nó có thể được cấu thành từ các thành phần đã biết theo cách đã biết. Pha dầu có thể được cung cấp, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, bởi dầu thực vật, ví dụ như dầu ô-liu và dầu lạc; dầu khoáng, ví dụ như parafin lỏng; và các hỗn hợp của chúng. Trong khi pha có thể bao gồm duy nhất một chất nhũ hóa, pha có thể bao gồm hỗn hợp của ít nhất một chất nhũ hóa với chất béo hoặc dầu hoặc với cả chất béo và dầu. Chất nhũ hóa thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, phosphatit xuất hiện tự nhiên, ví dụ, lexithin đậu tương; các este hoặc este không hoàn toàn dẫn xuất từ các axit béo và các hexitol anhydrit, ví

dụ như sorbitan monooleat; và các sản phẩm ngưng tụ của các este không hoàn toàn với etylen oxit, ví dụ như polyoxyetylen sorbitan monooleat. Tốt hơn chất nhũ hóa ưa nước được bao gồm cùng với chất nhũ hóa ưa mỡ mà chúng hoạt động như một chất ổn định. Tốt hơn cũng bao gồm cả dầu và mỡ. (Các) chất nhũ hóa cùng với hoặc không cùng với (các) chất ổn định cấu thành sáp được gọi là sáp nhũ hóa, và sáp cùng với dầu và mỡ cấu thành loại mỡ được gọi là nền mỡ nhũ hóa để tạo ra pha phân tán dạng dầu của các chế phẩm kem bôi. Nhũ tương cũng có thể chứa chất làm ngọt, chất tạo hương, chất bảo quản, và/hoặc chất chống oxy hóa. Các chất làm ổn định chất nhũ hóa và nhũ tương thích hợp để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm Tween 60, Span 80, rượu xetostearyl, rượu myristyl, glyxeryl monostearat, natri lauryl sulfat, glyxeryl distearat riêng biệt hoặc cùng với sáp, hoặc các nguyên liệu khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ, hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối được dùng của nó cũng có thể được phân phối theo đường tĩnh mạch, đường dưới da, và/hoặc đường trong cơ thông qua dạng được dùng và dạng tiêm thích hợp bất kỳ. Dạng tiêm làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, dung dịch dạng nước vô trùng chứa chất mang và dung môi được dùng, ví dụ như nước, dung dịch Ringer, và dung dịch natri clorua đẳng trương; vi nhũ tương dầu trong nước vô trùng; và huyền phù dạng nước hoặc dạng dầu.

Chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hoá có thể ở dạng dung dịch hoặc huyền phù tiêm vô trùng, đẳng trương dạng nước hoặc không ở dạng nước. Các dung dịch và huyền phù này có thể được bào chế từ bột hoặc hạt vô trùng bằng cách sử dụng một hoặc nhiều chất mang hoặc chất pha loãng đã nêu để sử dụng trong chế phẩm để dùng qua đường miệng hoặc bằng cách sử dụng các chất phân tán hoặc chất tạo ẩm và chất tạo huyền phù thích hợp khác. Các hợp chất có thể được hòa tan trong nước, polyetylen glycol, propylen glycol, etanol, dầu ngô, dầu hạt bông, dầu đậu phộng, dầu vừng, rượu benzylic, natri clorua, gôm tragacan, và/hoặc các dung dịch đậm khác. Các chất bổ trợ và các phương pháp dùng khác là rõ ràng và đã được biết đến rộng rãi trong lĩnh vực dược phẩm. Hoạt chất cũng có thể được dùng theo đường tiêm ở dạng chế phẩm cùng với các chất mang thích hợp bao gồm nước muối, dextroza, hoặc nước, hoặc cùng với xyclodextrin (tức là,

CAPTISOL#), dung dịch hòa tan đồng dung môi (tức là, propylen glycol) hoặc dung dịch hòa tan mixen (tức là, Tween 80).

Chế phẩm tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc huyền phù tiêm vô trùng trong chất pha loãng hoặc dung môi không độc có thể dùng ngoài đường tiêu hoá, ví dụ là dung dịch trong 1,3-butanediol. Trong số các chất mang và dung môi được dùng, có thể sử dụng nước, dung dịch Ringer, và dung dịch natri clorua đẳng trương. Ngoài ra, các loại dầu không bay hơi vô trùng được sử dụng thông thường làm dung môi hoặc môi trường huyền phù. Đối với mục đích này, dầu không bay hơi thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng, bao gồm các mono- hoặc diglyxerit tổng hợp. Ngoài ra, các axit béo như axit oleic cũng được dùng trong bào chế các chế phẩm tiêm.

Ví dụ, vi nhũ tương dạng tiêm dầu trong nước vô trùng có thể được bào chế bằng cách 1) hòa tan ít nhất một hợp chất có công thức (I) ở pha dầu, ví dụ như hỗn hợp của dầu đậu tương và lecithin; 2) kết hợp hợp chất có công thức (I) chứa pha dầu với hỗn hợp nước và glyxerol; và 3) xử lý hỗn hợp để tạo ra vi nhũ tương.

Huyền phù dạng nước hoặc dạng dầu vô trùng có thể được bào chế theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, dung dịch dạng nước hoặc huyền phù vô trùng có thể được bào chế bằng chất pha loãng hoặc dung môi không độc dùng được ngoài đường tiêu hoá, ví dụ như 1,3-butanediol; và huyền phù dạng dầu vô trùng có thể được bào chế bằng môi trường dung môi hoặc môi trường huyền phù vô trùng, không độc tính, có thể chấp nhận được, ví dụ như các dầu không bay hơi vô trùng, ví dụ, các mono- hoặc diglyxerit tổng hợp; và các axit béo, ví dụ như axit oleic.

Các nền mang, chất bổ trợ và chất mang được dùng mà có thể được dùng trong các dược phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất trao đổi ion, alumin, nhôm stearat, lecithin, hệ phân phối thuốc tự nhũ tương hóa (self-emulsifying drug delivery system-SEDDS) như d-alpha-tocopherol polyetylglycol 1000 suxinat, các chất hoạt diện sử dụng trong các dạng liều dược phẩm như Tweens, dầu thầu dầu polyetoxi hóa như chất hoạt động bề mặt CREMOPHOR® (BASF), hoặc các chất nền phân phối polyme tương tự khác, các protein huyết thanh, như albumin huyết thanh người, các chất đệm như phosphat, glyxin, axit sorbic, kali sorbat, các hỗn hợp glyxerit từng phần của các axit béo

thực vật bão hòa, nước, muối hoặc các chất điện phân, như protamin sulfat, đinatri hydro phosphat, kali hydro phosphat, natri clorua, các muối kẽm, keo silic oxit, magie trisilicat, polyvinyl pyrrolidon, các chất dựa vào xenluloza, polyetylen glycol, natri cacboxymetylxenluloza, polyacrylat, các loại sáp, các polyme khối polyetylen-polyoxypropylen, polyetylen glycol và mỡ lông cừu. Các xyclodextrin như alpha-, beta-, và gama-yclodextrin, hoặc các dẫn xuất cải biến bằng phương pháp hóa học như hydroxyalkylcyclodextrin, bao gồm 2- và 3-hydroxypropyl-yclodextrin, hoặc các dẫn xuất hòa tan khác cũng có thể được sử dụng một cách thuận lợi để tăng cường khả năng phân phối các hợp chất có công thức như đã mô tả trong bản mô tả.

Các hợp chất có hoạt tính dược lý theo sáng chế có thể được xử lý theo các phương pháp dược lý thông thường để sản xuất thuốc dùng cho bệnh nhân, bao gồm cả người và các động vật có vú khác. Dược phẩm có thể được tiến hành các thao tác dược lý thông thường như vô trùng và/hoặc có thể chứa các chất bổ trợ thông thường, như chất bảo quản, chất ổn định, chất tạo ẩm, chất nhũ hóa, chất đệm v.v.. Viên nén và viên tròn có thể được bào chế thêm bằng các chất bọc tan trong ruột. Các chế phẩm này cũng có thể chứa các chất bổ trợ, như chất tạo ẩm, tạo ngọt, tạo vị, và chất tạo hương thơm.

Lượng của hợp chất được sử dụng và phác đồ liều lượng trong điều trị tình trạng bệnh lý với hợp chất và/hoặc chế phẩm theo sáng chế tùy thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm tuổi, thể trọng, giới tính, tình trạng bệnh lý của đối tượng, loại bệnh, mức độ trầm trọng của bệnh, đường dùng và số lần dùng, và hợp chất cụ thể được sử dụng. Do đó, phác đồ liều lượng có thể thay đổi rộng, nhưng thông thường có thể được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp tiêu chuẩn. Liều lượng hàng ngày nằm trong khoảng từ 0,001 đến 100mg/kg thể trọng, tốt hơn nằm trong khoảng từ 0,0025 đến 50mg/kg thể trọng và tốt nhất nằm trong khoảng từ 0,005 đến 10mg/kg thể trọng, có thể là thích hợp. Liều lượng hàng ngày có thể được chia ra thành từ một đến lần mỗi ngày.

Đối với các mục đích điều trị, các hợp chất hoạt tính theo sáng chế thông thường được kết hợp với một hoặc nhiều chất bổ trợ thích hợp với đường dùng được chỉ định. Nếu dùng qua đường miệng, các hợp chất có thể được kết hợp với lactoza, sucroza, bột tinh bột, các este xenluloza của axit alkanoic, các alkyl este

xenluloza, bột talc, axit stearic, magie stearat, magie oxit, các muối natri và canxi của axit phosphoric và axit sulfuric, gelatin, gôm acaxia, natri alginat, polyvinylpyrrolidon, và/hoặc rượu polyvinyllic, và sau đó, được tạo thành viên nén hoặc viên nang để sử dụng thông thường. Viên nang hoặc viên nén này có thể ở dạng giải phóng có kiểm soát được cung cấp ở dạng phân tán hợp chất hoạt tính trong hydroxypropylmetyl xenluloza.

Dược phẩm theo sáng chế chứa hợp chất có công thức (I) và/hoặc ít nhất một muối dược dụng của nó, hoặc tiền chất của hợp chất này, và tùy ý bao gồm tác nhân bổ sung được chọn từ nền mang, chất bổ trợ, và chất mang dược dụng. Các chế phẩm lựa chọn theo sáng chế chứa hợp chất có công thức (I) theo sáng chế, hoặc tiền dược chất của nó, và nền mang, chất bổ trợ, hoặc chất mang dược dụng.

Việc áp dụng

Hệ thống miễn dịch ở người đã tiến hóa để bảo vệ cơ thể chống lại các vi sinh vật, virus, và các vật ký sinh có thể gây ra nhiễm trùng, bệnh hoặc tử vong. Các cơ chế điều tiết phức hợp đảm bảo cho việc các thành phần tế bào khác nhau của hệ thống miễn dịch nhằm đích là các chất hoặc các sinh vật ngoại lai, đồng thời không làm tổn thương đáng kể hoặc vĩnh viễn cho cá thể. Mặc dù các sự kiện khởi phát vẫn chưa được hiểu rõ tại thời điểm này, song ở các giai đoạn bệnh tự miễn dịch thì hệ thống miễn dịch đều nhằm mục tiêu là các phản ứng viêm hướng đích các cơ quan ở các cá thể bị tác động. Các bệnh tự miễn dịch khác nhau thường được đặc tả bởi các mô hoặc cơ quan đích khởi đầu hoặc chiếm ưu thế bị tác động; như khớp nối trong trường hợp viêm đa khớp dạng thấp, tuyến giáp trong trường hợp viêm tuyến giáp Hashimoto, hệ thần kinh trung ương trong trường hợp đa xơ cứng, tụy trong trường hợp đái tháo đường typ 1, và ruột trong trường hợp viêm đường ruột. Do vậy, điều đã nhận thấy là các tác nhân trị liệu có tác động tới hệ thống miễn dịch hoặc các loại tế bào nhất định của hệ thống miễn dịch (như các lymphô bào B, và các lymphô bào T, các tế bào T) có thể có ích trong nhiều bệnh tự miễn dịch.

Điều đã được thừa nhận trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các trích dẫn đã nêu trong bản mô tả, là các thụ thể S1P là những đích có hiệu lực cho nhiều ứng

dụng trị liệu khác nhau, bao gồm các bệnh tự miễn dịch. Các thụ thể S1P tạo nên những đích thuốc hiệu lực, do các thụ thể riêng biệt đều có cả hai đặc tính đặc thù mô lẫn đặc thù đáp ứng. Tính đặc thù mô của các thụ thể S1P là quan trọng, do sự phát triển của một chất chủ vận hoặc chất đối kháng có tính chọn lọc đối với một thụ thể khu biệt đáp ứng tế bào đối với các mô chứa thụ thể này, hạn chế các tác dụng phụ không mong muốn. Tính đặc thù đáp ứng của các thụ thể S1P cũng quan trọng do nó cho phép phát triển các chất chủ vận hoặc các chất đối kháng làm khởi phát hoặc ức chế các đáp ứng tế bào nhất định mà không có tác động tới các quá trình khác. Do đó, các hợp chất có tác động tới một số thành viên của nhóm thụ thể S1P đồng thời ít hoặc không có tác động tới các thành viên còn lại là được mong muốn và được kỳ vọng để tạo ra tác dụng điều trị cùng với một profile tác dụng phụ được cải thiện (tức là, loại trừ hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ không mong muốn).

Khi được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "chất chủ vận" liên quan tới S1P₁ dùng để chỉ một chất gây ra các tác dụng được lý như làm giảm khả năng vận động của các tế bào T, làm giảm sự dịch chuyển của các tế bào T, hoặc làm giảm sự đi ra của các tế bào T từ các mô bạch huyết. (Rosen et al., *Trends in Immunology*, 28:102 (2007)).

Nhờ có hoạt tính S1P₁ làm các chất chủ vận, nên các hợp chất theo sáng chế sẽ là các chất điều hòa miễn dịch hữu ích cho việc điều trị hoặc phòng các bệnh viêm tự miễn hoặc mãn tính. Các hợp chất theo sáng chế là hữu ích để ích chế hệ thống miễn dịch trong trường hợp sự suy giảm miễn dịch theo kiểu từng bậc, như trong tủy xương, đào thải cơ quan hoặc vật cấy ghép, các bệnh viêm tự miễn và mãn tính, bao gồm luput ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, đái tháo đường typ 1, viêm đường ruột, xơ gan mật, viêm màng bồ đào, đa xơ cứng, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, bệnh pemphigut, bệnh saccit, bệnh vẩy nến, suy thoái cơ tự miễn, u hạt Wegener, bệnh vẩy cá, bệnh mắt Graves, và bệnh hen.

Cụ thể hơn là, các hợp chất theo sáng chế là hữu ích để điều trị hoặc phòng bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm gồm: cấy ghép cơ quan hoặc mô, mảnh ghép chống lại mô vật chủ do việc cấy ghép, các hội chứng tự miễn dịch bao gồm viêm đa khớp dạng thấp, bệnh khớp tự phát thiếu niên, luput ban đỏ hệ thống, luput ban đỏ dưới da (luput ban đỏ dạng đĩa, luput ban đỏ bán cấp) và luput viêm

thận, viêm tuyến giáp Hashimoto, đa xơ cứng, nhược cơ, đái tháo đường typ 1, viêm màng bồ đào, viêm màng bồ đào sau, viêm não dị ứng, viêm cầu thận, các bệnh tự miễn sau truyền nhiễm bao gồm sốt thấp khớp và viêm cầu thận hậu nhiễm, các bệnh viêm da và tăng sinh quá mức, bệnh vẩy nến, viêm khớp vẩy nến, viêm da dị ứng, viêm da tiếp xúc, viêm da dạng chàm, viêm da da dầu, liken phẳng, pemphigut, bong nước dạng pemphigut, bệnh thường bì bóng nước, bệnh mày đay, phù mạch, viêm mạch bao gồm viêm mạch có liên quan tới ANCA, viêm động mạch tế bào khổng lồ, viêm động mạch Takayasu, viêm đa vi động mạch, viêm mạch hệ thần kinh trung ương, hội chứng Churg-Strauss, và viêm mạch thấp khớp, ban đỏ, bệnh bạch cầu ưa eosin ở da, mụn trứng cá, rụng tóc từng vùng, kết giác mạc, viêm kết mạc xuân, viêm màng bồ đào liên quan đến bệnh Behcet, viêm giác mạc, viêm giác mạc herpe, giác mạc hình nón, loạn dưỡng biểu mô giác mạc, sẹo giác mạc, pemphigut mắt, loét Mooren, viêm củng mạc, bệnh mắt Graves, hội chứng Vogt-Koyanagi-Harada, bệnh saccit, dị ứng phấn hoa, bệnh đường hô hấp tắc nghẽn có thể đảo ngược, hen phế quản, hen suyễn dị ứng, hen nội tại, hen ngoại lai, hen suyễn bụi, hen mãn tính hoặc lâu năm, hen suyễn muộn và sự tăng phản ứng đường khí đạo, viêm phế quản, viêm loét dạ dày, tổn thương mạch máu do thiếu máu cục bộ và chứng huyết khối, bệnh đường ruột thiếu máu cục bộ, viêm đường ruột, viêm ruột hoại tử, các tổn thương đường ruột liên quan đến bỏng nhiệt, bệnh coeliac, viêm niêm mạc trực tràng, viêm dạ dày ruột tăng bạch cầu ưa eosin, bệnh tế bào mast, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, nhức nửa đầu, viêm mũi, nấm eczema, viêm thận kẽ, hội chứng Goodpasture, hội chứng tán huyết, bệnh thận do tiểu đường, suy đa cơ, hội chứng Guillain-Bare, bệnh Meniere, bệnh đa dây thần kinh, bệnh đa thân kinh, bệnh viêm một dây thần kinh, bệnh rễ thần kinh, cường giáp, bệnh Basedow, bất sản hồng cầu tinh khiết, thiếu máu bất sản, thiếu máu sản sinh, ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, thiếu máu tan máu tự miễn, giảm bạch cầu, thiếu máu ác tính, thiếu máu cầu khổng lồ, giảm hồng cầu, chứng loãng xương, bệnh saccit, phổi xơ, viêm phổi kẽ tự phát, viêm bì cơ, bệnh vẩy nến vulgaris, bệnh da vẩy cá, nhạy cảm dị ứng ánh sáng, u bạch huyết tế bào T dưới da, bệnh xơ cứng động mạch, bệnh xơ vữa động mạch, hội chứng viêm động mạch, viêm động mạch hình nút, viêm cơ tim, xơ cứng bì, u hạt Wegener, hội chứng Sjogren, béo phì, tổn thương thể cơ bạch cầu ái toan, các tổn thương nước,

bệnh nha chu, xương ổ răng, bệnh substantia ossea dentis, viêm cầu thận, bệnh hói kiểu nữ hoặc bệnh rụng tóc bởi việc ngăn ngừa rụng tóc hoặc làm mọc tóc và/hoặc thúc đẩy mọc tóc và phát triển tóc, chứng loạn dưỡng cơ, hội chứng pyoderma và Sezary, bệnh Addison, chấn thương thiếu máu cục bộ-tái tưới máu của các cơ quan xảy ra sau khi bảo quản, cấy ghép hoặc thiếu máu cục bộ, sốc nội độc tố, viêm đại tràng giả mạc, viêm đại tràng do thuốc hoặc chiếu xạ, suy thận cấp do thiếu máu cục bộ, suy thận mãn tính, bệnh tocino do oxy phổi hoặc thuốc, ung thư phổi, khí thũng phổi, đục thủy tinh thể, chứng nhiễm sắt, viêm võng mạc sắc tố, thoái hoá điểm vàng do tuổi già, sẹo vitreal, giác mạc bỏng kiềm, viêm da hồng ban đa dạng, viêm da ballous IgA tuyến tính và viêm da xi măng, viêm nướu, viêm nha chu, nhiễm trùng huyết, viêm tụy, các bệnh do ô nhiễm môi trường, tuổi già, ung thư, di căn của ung thư biểu mô và chứng giảm khí áp, bệnh do sự giải phóng histamin hoặc leukotrien-C₄, bệnh Behcet, viêm gan tự miễn, xơ gan mật tiên phát, xơ viêm đường mật, ung thư gan riêng phần, hoại tử gan cấp tính, hoại tử do độc tố, viêm gan siêu vi, sốc, hoặc thiếu oxy, viêm gan virus B, viêm gan không virus A/B, xơ gan, xơ gan do rượu, suy gan, suy gan tối cấp, suy gan khởi phát muộn, suy gan "cấp trên mãn tính", tăng kích cỡ do hóa trị liệu, nhiễm cytomegalovirus, nhiễm HCMV, AIDS, ung thư, mất trí nhớ do tuổi già, chấn thương, chứng đau thần kinh, nhiễm trùng mãn tính, giảm lượng tiểu cầu, bệnh thận IgA, viêm cầu thận tăng sinh tế bào gian mạch, bệnh liên quan tới IgG4, viêm cột sống dính khớp, và viêm đa sụn tái phát. Bệnh khớp tự phát thiếu niên bao gồm bệnh khớp tự phát thiếu niên thể ít khớp khởi phát, bệnh khớp tự phát thiếu niên đa khớp khởi phát, bệnh khớp tự phát thiếu niên hệ thống khởi phát, viêm khớp vảy nến thiếu niên, và bệnh khớp tự phát thiếu niên nhiều bám tận.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị các bệnh tự miễn và/hoặc viêm, bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị dùng ít nhất một hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó. Một phương án khác của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để trị liệu điều trị các bệnh tự miễn và/hoặc viêm. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để dùng cho việc bào chế thuốc dùng để điều trị hoặc phòng các bệnh tự miễn và/hoặc viêm. Lượng hữu hiệu trị liệu có thể được sử dụng trong các phương án này. Tốt hơn là, theo các

phương án này, các bệnh tự miễn và viêm được chọn trong số đa xơ cứng, viêm đa khớp dạng thấp, viêm đường ruột (bao gồm bệnh Crohn và viêm loét đại tràng), bệnh vảy nến, và ở dạng tác nhân để ngăn ngừa sự đào thải các cơ quan cấy ghép. Phương pháp được mô tả theo sáng chế bao gồm việc cung cấp lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó.

Theo cách khác, phương pháp điều trị bệnh mạch máu được mô tả bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị dùng ít nhất một hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó. Theo một phương án của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để trị liệu điều trị bệnh mạch máu. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để dùng cho việc bào chế thuốc để điều trị bệnh mạch máu. Lượng hữu hiệu trị liệu có thể được sử dụng trong các phương án này. Tốt hơn là, trong các phương án này, bệnh mạch máu được chọn trong số bệnh xơ vữa động mạch và chấn thương tái tưới máu thiếu máu cục bộ.

Theo cách khác, phương pháp điều trị viêm đường ruột được mô tả bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị dùng ít nhất một hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó. Theo một phương án khác của sáng chế là đề xuất các hợp chất Công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để trị liệu điều trị viêm đường ruột. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để dùng cho việc bào chế thuốc để điều trị viêm đường ruột. Lượng hữu hiệu trị liệu có thể được sử dụng trong các phương án này. Tốt hơn là, trong các phương án này, viêm đường ruột được chọn trong số bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, viêm đại tràng collagen, viêm đại tràng lympho bào, viêm đại tràng thiếu máu cục bộ, dòng viêm đại tràng, bệnh Behcet, và viêm đại tràng không xác định.

Theo cách khác, phương pháp điều trị luput được mô tả bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị dùng ít nhất một hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó. Theo một phương án khác của sáng chế là đề xuất các hợp chất Công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để trị liệu điều trị luput. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để dùng cho việc bào chế thuốc để điều trị luput. Lượng hữu hiệu trị liệu có thể được sử dụng trong các phương án này. Luput bao gồm

luput ban đỏ hệ thống, luput ban đỏ dưới da, luput ban đỏ dạng đĩa, luput ban đỏ bán cấp và luput viêm thận.

Theo cách khác, phương pháp điều trị đa xơ cứng được mô tả bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị dùng ít nhất một hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó. Theo một phương án khác của sáng chế là đề xuất các hợp chất Công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để trị liệu điều trị đa xơ cứng. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó, để dùng cho việc bào chế thuốc để điều trị đa xơ cứng. Lượng hữu hiệu trị liệu có thể được sử dụng trong các phương án này. Tốt hơn là, trong các phương án này, đa xơ cứng bao gồm đa xơ cứng thuyên giảm tái phát, đa xơ cứng tiến triển sơ cấp, đa xơ cứng tiến triển thứ cấp, và đa xơ cứng tái phát triển.

Các phương pháp điều trị các tình trạng bệnh lý lý liên quan tới S1P₁ có thể bao gồm việc dùng các hợp chất có công thức (I) một mình hoặc kết hợp với nhau và/hoặc các tác nhân trị liệu thích hợp khác thường dùng để điều trị cho các tình trạng bệnh lý lý như vậy. Do đó, thuật ngữ "lượng hữu hiệu trị liệu" cũng được dự liệu để bao gồm lượng kết hợp của các hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để tác động làm chất chủ vận ở thụ thể S1P₁. Tốt hơn, nếu sự kết hợp của các hợp chất là sự kết hợp hiệp đồng. Sự hiệp đồng, như được mô tả, ví dụ, bởi Chou et al., *Adv. Enzym Regul.*, 22:27-55 (1984), xảy ra tác dụng của các hợp chất khi được dùng kết hợp là lớn hơn tác dụng cộng hợp của các hợp chất này khi được dùng một mình dưới dạng tác nhân đơn. Nói chung, tác dụng hiệp đồng được thể hiện một cách rõ rệt nhất ở các nồng độ dưới mức tối ưu của các hợp chất này. Tác dụng hiệp đồng có thể là liên quan tới độc tính tế bào thấp, hiệu quả cao, hoặc một số tác dụng có lợi khác của hỗn hợp khi được so sánh với các thành phần riêng rẽ.

Ví dụ về các tác nhân trị liệu khác như vậy bao gồm các corticosteroit hoặc glucocorticoit như dexametason, methylprednisolon, prednisolon, và prednison; các chất ức chế PDE4 như rolipram, cilomilast, roflumilast, và oglemilast; các thuốc kháng viêm ức chế xytokin (CSAID) và các chất ức chế p38 kinaza, 4-được thế imidazo [1,2-A]quinoxalin đã được mô tả trong Patent Mỹ số 4,200,750; các kháng thể hoặc các protein dung hợp nhằm đích các phân tử bề mặt tế bào như CD2, CD3, CD4, CD8, CD20 như RITUXAN®, CD25, CD30, CD40, CD69,

CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, CTLA, ví dụ, abatacept (ORENCIA®), belatacept, hoặc các phối tử của chúng bao gồm CD154 (GP39, hoặc CD40L); các kháng thể của, các protein dung hợp, hoặc các thụ thể tan của xytokin ở người hoặc các yếu tố tăng trưởng, ví dụ, TNF như, infliximab (REMICADE®), etanercept (Embrel), adalimumab (HUMIRA®), LT, Il-1 như anakinra (KINERET®) (chất đối kháng thụ thể IL-1), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, như CNTO 328 (kháng thể kháng-IL-6 thể khảm), IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-17, IL-21, IL-23 như Ustekinumab (kháng thể đơn dòng kháng-IL-12/23 ở người), và interferon như interferon beta 1a (AVONEX®, REBIF®), interferon beta 1b (BETASERON®); các chất đối kháng thụ thể integrin như TYSABRI®; các tác nhân polyme như glatiramer axetat (COPAXONE®); sulfasalazin, mesalamin, hydroxycloquin, thuốc kháng viêm không xteroid (NSAID) như các salixilat bao gồm aspirin, salsalat, và magie salixilat, và các non-salixilat như, ibuprofen, naproxen, meloxicam, celecoxib và rofecoxib; các tác nhân kháng virus như abacavir; các tác nhân chống tăng sinh như methotrexat, mercaptopurin, leflunomit, cyclosporin, mycophenololat, FK506 (tacrolimus, PROGRAF®); các thuốc gây độc tế bào như azathioprin và cyclophosphamid; các chất ức chế chuyển vị nhân, như deoxyspergualin (DSG); các sản phẩm chứa vàng như auranofin; penicillamin, và rapamycin (sirolimus hoặc RAPAMUNE®) hoặc các dẫn xuất của chúng.

Các tác nhân trị liệu nêu trên, khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế, có thể được sử dụng, ví dụ, với lượng được chỉ định trong ấn phẩm: *Physician' Desk Reference* (PDR) hoặc nếu không có thể được quyết định bởi chuyên gia trung bình trong lĩnh vực này. Với các phương pháp theo sáng chế, các tác nhân trị liệu khác như vậy có thể được cấp trước khi, đồng thời với, hoặc sau khi cấp các hợp chất theo sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả thêm trong các ví dụ sau. Cần phải hiểu rằng, các ví dụ được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa. Từ phần mô tả trên đây và các ví dụ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể xác định được các dấu hiệu

chủ yếu của sáng chế, có thể thực hiện một số thay đổi và cải biến để làm cho sáng chế thích ứng với các sử dụng và điều kiện khác mà vẫn không chệch khỏi phạm vi bảo hộ của sáng chế. Kết quả, sáng chế không chỉ giới hạn ở các ví dụ minh họa dưới đây, mà đúng hơn là được xác định bởi các yêu cầu bảo hộ.

Các chữ viết tắt

Ac	axetyl
anhyd.	khan
aq.	nước
Bn	benzyl
Bu	butyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
CV	Thẻ tích cột
DCM	điclorometan
DEA	đietylamin
DMA	N,N-đimetylxetamit
DMF	đimetylformamit
DMPU	1,3-đimetyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon
DMSO	đimetylsulfoxit
EtOAc	etyl axetat
Et	etyl
Et ₃ N	trietyl amin
EtOH	etanol
H hoặc H ₂	hydro
h, hr hoặc hrs	giờ
hex	hexan
i	iso
HOAc	axit axetic
HPLC	sắc ký lỏng áp suất cao
LC	sắc ký lỏng
LDA	lithi diisopropylamit
LiHMDS	lithi bis(trimetylsilyl) amit

M	mol
mM	milimol
Me	metyl
MeCN	axetonitril
MeOH	metanol
MHz	megahec
min.	phút
mins	phút
M ⁺¹	(M+H) ⁺
MS	Phổ khối
n hoặc N	thường
nM	nanomol
NMP	N-metylpyrrolidin
Pd/C	paladi trên cacbon
Pd ₂ (dba) ₃	tris-(đibenzylidenaxeton)đipaladi
Ph	phenyl
Pr	propyl
PSI	pao trên inơ vuông
R-BINAP	(R)-(+)-2,2'-bis(điphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl
Ret Time hoặc RT	thời gian lưu
sat.	bão hòa
S-BINAP	(S)-(-)-2,2'-bis(điphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl
SFC	sắc ký lỏng siêu tới hạn
TFA	axit trifloroaxetic
THF	tetrahydrofuran

Các chế độ HPLC:

Chế độ C: cột: YMC COMBISCREEN® S5 50 x 4,6mm (gradient tuyến tính từ 0 tới 100% Dung môi B trong 4 phút, tiếp đó, giữ 1-4 phút ở 100%B; Dung môi A = nước 90%/MeOH 10%/ H₃PO₄, 0,2%; Dung môi B = MeOH 90%/nước 10%/ H₃PO₄ 0,2%. Tốc độ chảy: 4mL/phút; Các sản phẩm được phát hiện ở 220nm.

Chế độ G: cột: Waters Acquity BEH C18 2,1 x 50mm 1,7 μ m; Gradient tuyến tính 0-100% Dung môi B trong 3 phút, tiếp đó, giữ 0,75 phút ở 100%B; Tốc độ chảy: 1,11mL/phút; Dung môi A: 5:95 axetonitril:nước cùng với 10mM amoni axetat; Dung môi B: 95:5 axetonitril:nước cùng với 10mM amoni axetat; Nhiệt độ = 50°C; Các sản phẩm được phát hiện ở bước sóng 220nm.

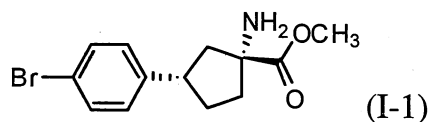
Chế độ H: cột: SunFire C18, (150 x 3,0mm), 3,5 μ m; Gradient tuyến tính 10 tới 100% Dung môi B trong 25 phút, tiếp đó, giữ 5 phút ở 100%B; Tốc độ chảy: 1mL/phút; Chất đệm: 0,5% TFA, trong nước với độ pH được điều chỉnh tới 2,5 bằng cách sử dụng dung dịch amoniắc loãng; Dung môi A: Chất đệm: axetonitril (95:5); Dung môi B: Chất đệm: axetonitril (5:95); Các sản phẩm được phát hiện ở 220nm.

Chế độ I: cột: Waters Acquity SD BEH C18, 2,1 x 50mm, hạt 1,7 μ m; Pha động A: 100%H₂O cùng với 0,05%TFA; Pha động B: 100%Axetonitril cùng với 0,05% TFA; Nhiệt độ: 50°C; gradient 98:2 tới 2:98 (A%:B%) trong 1 phút và duy trì 2:98 trong 0,5phút.; Tốc độ chảy: 0,800mL/phút Các sản phẩm được phát hiện ở 220nm.

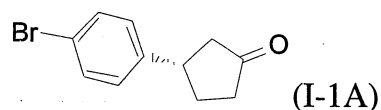
Chế độ J: cột: CHROMOLITH® SpeedROD (4,6 x 50mm); Gradient tuyến tính 0 tới 100% Dung môi B trên 4 phút, cùng với giữ 1 phút ở 100% B; Dung môi A: 10% MeOH, 90% H₂O, 0,1% TFA; Dung môi B: 90% MeOH, 10% H₂O, 0,1% TFA; Tốc độ chảy: 4mL/phút; Các sản phẩm được phát hiện ở 220nm.

Hợp chất trung gian 1

(1R,3S)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentancarboxylat



Hợp chất trung gian 1A: (S)-3-(4-bromophenyl)cyclopentanone

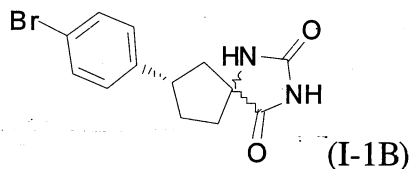


Dung dịch của axit 4-bromophenylboronic (20g, 100mmol) trong 1,4-dioxan (120mL) trong bình cầu loại 500mL được sục nitơ trong 5 phút. S-BINAP

(0,992g, 1,593mmol) và bis(norborandien)rodi (I) tetrafloroborat (0,559g, 1,494mmol) lần lượt được bổ sung vào dung dịch này dưới áp suất dương của nitơ. Sau 2 giờ khuấy ở nhiệt độ trong phòng, nước (20mL) được bổ sung vào, tiếp đó là xyclopent-2-enon (8,06mL, 100mmol) và Et₃N (13,88mL, 100mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Chất rắn thẫm màu thu được được loại bỏ bằng cách lọc và phần dịch lọc được rót vào 250mL etyl axetat. Dung dịch này được rửa bằng nước hai lần và lớp hữu cơ được cô. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên cột (chia thành hai mẻ, mỗi mẻ chạy trên một cột 330g silic oxit, 0%-25% etyl axetat trong hexan) để cho 12,1 gam (S)-3-(4-bromophenyl)xyclopentanon. Độ tinh khiết theo HPLC là >98% và phân tích HPLC bất đối xứng cho thấy khoảng 90% không kể sai số. Chất liệu này được tinh chế tiếp dưới các điều kiện SFC bất đối xứng được mô tả ở dưới. Mô tả chi tiết thử nghiệm: Dụng cụ: Berger SFC MGIII; Các chế độ điều chế: cột: CHIRALPAK® AD-H 25 x 5cm, 5µm; Nhiệt độ cột: 40°C; Tốc độ chảy: 200mL/phút; Pha động: CO₂/ MeOH= 80/20; Bước sóng dò: 225nm; Thể tích phun: 1,0mL; Điều chế mẫu: 12,1g trong; 210mL MeOH (nồng độ 60mg/ml); Chế độ phân tích: cột: CHIRALPAK® AD 25 x 0,46cm, 10µm; Nhiệt độ cột: 40°C; Tốc độ chảy: 2,0 phút; Pha động: CO₂/MeOH = 70/30; Bước sóng dò: 220nm; Thể tích phun: 5µL.

Chất đồng phân đối ảnh mong muốn (chất đồng phân chủ yếu) được tách và được gọi là "PK2" theo thứ tự rửa giải. Độ tinh khiết đồng phân đối ảnh của chất đồng phân được tách này được xác định là trên 99,6% trong vùng SFC/UV % ở 220nm. Sau khi làm bốc hơi, 10,5 gam chất đồng phân đối ảnh mong muốn được thu hồi. Thời gian lưu HPLC = LC/MS M⁺¹ = 239/241. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ ppm 7,43-7,51 (2 H, m), 7,10-7,19 (2 H, m), 3,32-3,46 (1 H, m), 2,67 (1 H, dd, J=18,27, 7,48 Hz), 2,39-2,54 (2 H, m), 2,23-2,39 (2 H, m), 1,97 (1 H, ddd, J=12,98, 11,00, 9,02 Hz).

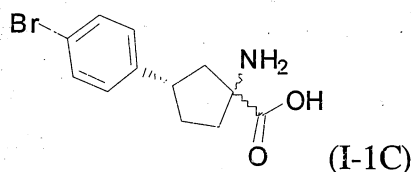
Hợp chất trung gian 1B: (7S)-7-(4-bromophenyl)-1,3-điazaspiro[4,4]nonan-2,4-dion



Tổng cộng 9,8g (S)-3-(4-bromophenyl)cyclopentanone được sử dụng, được chia thành 2 mẻ, mỗi mẻ gồm 4,9g. Hai mẻ này được xử lý trong các điều kiện giống như được mô tả dưới đây.

Hỗn hợp gồm (S)-3-(4-bromophenyl)cyclopentanone (I-1A, 4,9g, 20,49mmol) và kali xyanua (1,935g, 29,7mmol) trong EtOH (40mL) và nước (20mL) trong bình chịu áp bằng thủy tinh được bổ sung amoni cacbonat (4,92g, 51,2mmol). Bình phản ứng này được đóng kín và được đặt trong bể dầu được gia nhiệt ở 80°C trong 24 giờ, dẫn đến sự tạo thành của chất rắn màu trắng. Sau khi làm nguội bình phản ứng này trong bể đá, bình phản ứng này được mở và 30mL nước được bổ sung vào dẫn đến sự tạo thành thêm chất rắn. Các chất rắn được thu gom bằng cách lọc, rửa hai lần bằng 5ml nước, và sau đó được làm khô trong môi trường có độ chân không cao. Hai mẻ này được kết hợp để tạo ra 13,9g (7S)-7-(4-bromophenyl)-1,3-điazaspiro[4,4]nonan-2,4-dion) nó được sử dụng cho các phản ứng tiếp sau mà không cần tinh chế thêm. Thời gian lưu HPLC = 0,82 phút (Chế độ G) LC/MS $M^{+Na} = 331$, $2M^{+H} = 619$.

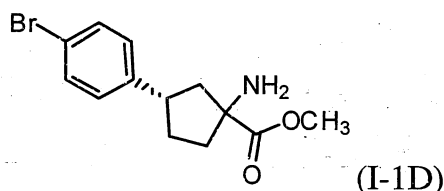
Hợp chất trung gian 1C: axit (3S)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentanecarboxylic



(7S)-7-(4-bromophenyl)-1,3-điazaspiro[4,4]nonan-2,4-dion (I-1B, 13,9g, 45,0mmol) trong 1,4-đioxan (40mL) trong bình cầu đáy tròn được bổ sung dung dịch nước NaOH (2N, 100mL, 200mmol). Hỗn hợp này được đun nóng lên 95°C và được khuấy trong 24 giờ. NaOH bổ sung (25mL, 50mmol) được bổ sung vào và gia nhiệt tiếp trong hai ngày nữa. Dung dịch này được làm lạnh bằng bể nước đá, trung hòa bằng HCl 5N tới độ pH khoảng 7 dẫn đến sự tạo thành của chất kết tủa màu trắng. Các chất rắn được thu gom bằng cách lọc và được làm khô trong môi trường có độ chân không cao trong 2 ngày để tạo ra 14g axit (3S)-1-amino-3-

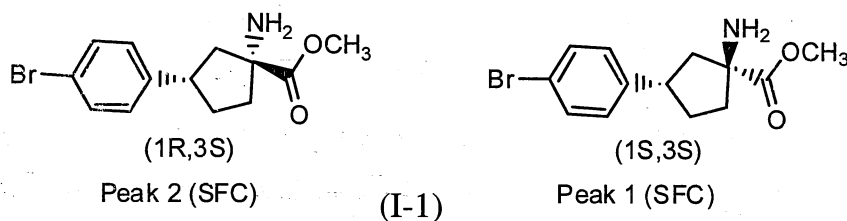
(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylic là chất rắn màu trắng mà nó được sử dụng luôn như vậy cho bước tiếp sau mà không cần tinh chế thêm. Thời gian lưu HPLC = 0,64 phút (Chế độ G) LC/MS $M^{+1} = 284/286$.

Hợp chất trung gian 1D: (3S)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat



Hỗn hợp dị thể gồm axit (3S)-1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylic (I-1C, 14g, 49,3mmol) trong MeOH (250mL) được bổ sung nhỏ giọt thionyl clorua (36,0mL, 493mmol) trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ phòng qua phễu bổ sung (tỏa nhiệt). Hỗn hợp phản ứng này được đặt trong bể dầu và được đun nóng lên 70°C trong 4 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không, cùng với phần cặn được hòa tan trong etyl axetat (200mL) và rửa hai lần bằng NaOH 1N. Lớp hữu cơ sau đó được làm khô trên Na_2SO_4 và được cô để tạo ra 10,8g (3S)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat. Thời gian lưu HPLC = 0,68 phút (Chế độ G); LC/MS $M^{+1} = 298/300$.

Hợp chất trung gian 1: (1R,3S)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat

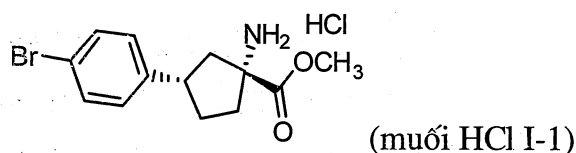


Hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (I-1D, 9,5g) được phân tách bằng SFC bất đối xứng. Việc đánh giá hóa học lập thể tuyệt đối của Hợp chất trung gian 1 và chất đồng phân không đối quang của nó đã từng được mô tả (Wallace, G.A. et al., *J. Org. Chem.*, 74:4886-4889 (2009)). Chi tiết thử nghiệm: Dụng cụ: Điều chế: Thar SFC350; Phân tích: Berger analytical SFC; Chế độ điều

chế: cột: Lux-Cenllulose-4 25 x 3cm, 5 μ m; Nhiệt độ cột: 35°C; Tốc độ chảy: 200ml/phút; Pha động: CO₂/(MeOH cùng với 0,1% DEA) = 87/13; Bước sóng dò: 220nm; Thể tích phun: 0,6mL; Điều chế mẫu: 9,5g trong 400mL MeOH (Nồng độ 23,7mg/ml). Chế độ phân tích: cột: Lux-Cenllulose-4 25 x 0,46cm, 5 μ m; Nhiệt độ cột: 35°C; Tốc độ chảy: 3mL/phút; Pha động: CO₂/ (MeOH cùng với 0,1% DEA) = 85/15; Bước sóng dò: 220nm; Thể tích phun: 5 μ L.

Hợp chất trung gian 1: Pic 2: 4,06g; thời gian lưu = 6,64 phút trong các điều kiện SFC bất đối xứng phân tích nêu trên. Độ tinh khiết quang: 98,2%; LC/MS M⁺ = 298/300; Peak 1: 3,96g; thời gian lưu = 5,47 phút trong các điều kiện SFC bất đối xứng phân tích nêu trên. Độ tinh khiết quang: 99,4%.

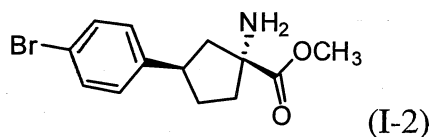
Điều chế theo cách khác: Muối HCl của Hợp chất trung gian 1



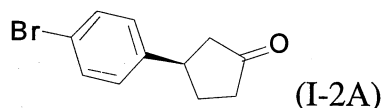
Dung dịch của axit (3S)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentancarboxylic (10,2g, 35,9mmol) trong MeOH (100mL) được làm lạnh trong bể đá, tiếp đó bổ sung nhỏ giọt SOCl₂ (15,72mL, 215mmol). Sau khi việc bổ sung hoàn thành, dung dịch này được hồi lưu trong 3 giờ khi đó phản ứng được xác định bằng HPLC là đã hoàn thành. Dung dịch này được cô để loại bỏ metanol để cho chất rắn. Chất rắn này được hòa tan trong 50mL dung dịch 3% H₂O trong EtOAc và được khuấy kỹ trong 30 phút. Chất rắn màu trắng tạo ra được thu gom bằng cách lọc. Chất rắn màu trắng ướt được hòa tan trong 50mL dung dịch 4% H₂O trong 1,2-dimethoxyetan và được đun nóng lên 50°C trong 3 giờ, và sau đó được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Chất rắn màu trắng thu được được thu gom bằng cách lọc và được làm khô để cho (1R,3S)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentancarboxylat hydroclorua (3,5g, 10,35mmol). Thời gian lưu HPLC = 6,6 phút (Chế độ H) LC/MS M⁺ = 298/ 300. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,95 (br. s, 3H) 7,50-7,53 (m, 2H), 7,35-7,37 (m, 2H), 3,81 (s, 3H) 3,17-3,28 (m, 1H), 2,57 (dd, J=14, 7 Hz, 1H), 2,0-2,28 (m, 5H).

Hợp chất trung gian 2

(1R,3R)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat



Hợp chất trung gian 2A: (R)-3-(4-bromophenyl)cyclopentanon

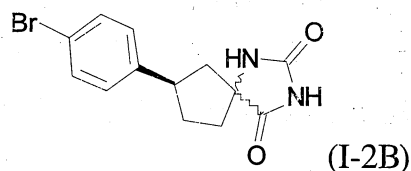


Dung dịch của axit 4-bromophenylboronic (20g, 100mmol) trong 1,4-đioxan (120mL) được sục nitơ trong 10 phút. (R)-BINAP (0,992g, 1,593mmol) và bis(norborandiën)rodi (I) tetrafloroborat (0,559g, 1,494mmol) lần lượt được bổ sung vào, và huyền phù này được tác động âm thanh trong 5 phút. Hỗn hợp này được khuấy trong 20 phút. Nước (20mL) được bổ sung vào, và hỗn hợp phản ứng này trở nên đồng nhất. Sau 10 phút, xyclopent-2-enon (8,06mL, 100mmol) được bổ sung vào, và hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Phân tích HPLC và LCMS cho thấy rằng phản ứng đã xảy ra, nhưng vẫn còn nguyên liệu ban đầu nhiều hơn sản phẩm. Hỗn hợp phản ứng này được lọc qua đệm CELITE®, và đệm CELITE® này được rửa bằng etyl axetat (100mL). Phân dịch lọc được pha loãng bằng etyl axetat bổ sung (150mL), được rửa bằng nước (2x), được rửa bằng nước muối, và được làm khô trên natri sulfat khan. Hỗn hợp sản phẩm được tinh chế bằng cách ký nhanh trên cột silicagel sử dụng hỗn hợp của etyl axetat và hexan để tạo ra (R)-3-(4-bromophenyl)cyclopentanon (6,09g, 25,5mmol) là chất rắn màu trắng. Sản phẩm có độ tinh khiết 98% theo HPLC với thời gian lưu = 2,11 phút. - (Chế độ J). LC/MS $M^{+1} = 241$ 1H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,57-7,39 (m, 2H), 7,22-7,06 (m, 2H), 3,39 (ddd, $J=10,9, 6,8, 4,1$ Hz, 1H), 2,67 (dd, $J=18,2, 7,4$ Hz, 1H), 2,57-2,38 (m, 2H), 2,38-2,21 (m, 2H), 1,99-1,85 (m, 1H).

Phép HPLC bất đối xứng cho thấy rằng hợp chất này có độ tinh khiết đồng phân đối ảnh 90-95%. Hợp chất này (6,03 g) được tinh chế tiếp bằng cách SFC bất đối xứng sử dụng các chế độ được liệt kê ở dưới đây. Chất đồng phân đối ảnh mong muốn được tách và được gọi là "PK1" theo thứ tự rửa giải. Độ tinh khiết đồng phân đối ảnh của chất đồng phân được tách này được xác định là trên 99,9%

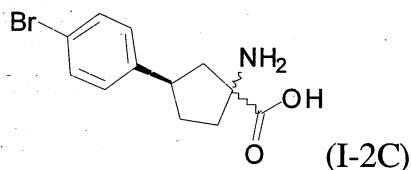
trong vùng SFC/UV % ở 220nm. 5,45 gam chất đồng phân đối ảnh mong muốn được thu hồi sau khi cô. Chi tiết thử nghiệm: Dụng cụ: Berger SFC MGIII; Chế độ điều chế; Cột: CHIRALPAK® AD-H 25 x 3cm, 5 μ m; Nhiệt độ cột: 40°C; Tốc độ chảy: 180mL/phút; Pha động: CO₂/ MeOH= 87/13; Bước sóng dò: 225nm; Thể tích phun: 0,5mL; Điều chế mẫu: 6,03g trong 100mL MeOH (Nồng độ 60mg/ml). Chế độ phân tích: cột: CHIRALPAK® AD 25 x 0,46cm, 10 μ m; Nhiệt độ cột: 40°C; Tốc độ chảy: 2,0 phút; Pha động: CO₂/ MeOH = 70/30; Bước sóng dò: 220nm; Thể tích phun: 5 μ L.

Hợp chất trung gian 2B: (7R)-7-(4-bromophenyl)-1,3-điazaspiro[4,4]nonan-2,4-đion



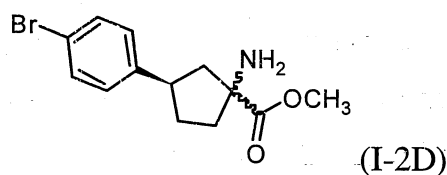
Hỗn hợp gồm (R)-3-(4-bromophenyl)cyclopentanon (I-2A, 5,4g, 22,58mmol) và kali xyanua (2,132g, 32,7mmol) trong EtOH (40mL) và nước (20mL) trong bình chịu áp bằng thủy tinh được bổ sung amoni cacbonat (5,42g, 56,5mmol). Bình phản ứng này đã được đóng kín và đặt trong bể dầu được gia nhiệt ở 80°C trong 20 giờ. Một lượng lớn chất rắn chảy tự do màu trắng được ra trong dung dịch màu vàng nhạt. Việc phân tích bằng LCMS cho thấy vẫn còn nguyên liệu ban đầu, vì vậy phản ứng được tiếp tục trong 24 giờ nữa. Do sự chuyển hóa chưa hoàn toàn, nên nhiệt độ của bể dầu được nâng lên 120°C. Chất rắn màu trắng này được hòa tan hoàn toàn ở nhiệt độ cao hơn. Sau 3 giờ, dung dịch này được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Dung dịch này được làm lạnh tiếp trong bể đá, nước (30mL) được bổ sung vào và chất rắn màu trắng thu được được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng nước, được làm khô bằng không khí, tiếp đó được đặt trong môi trường có độ chân không cao để cho hợp chất đích (6,9g, 22,32mmol) mà nó được sử dụng cho phản ứng sau đó mà không cần tinh chế thêm. Thời gian lưu HPLC = 0,81 phút (Chế độ G); LC/MS M^H = 309/ 311; 2M^{+H} = 619.

Hợp chất trung gian 2C: axit (3R)-1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylic



Dung dịch của (7R)-7-(4-bromophenyl)-1,3-điazaspiro[4,4]nonan-2,4-dion (I-2B, 6,80g, 22mmol) trong đioxan (20mL) và NaOH (dung dịch nước 2N) (120mL, 240mmol) được gia nhiệt trong bể dầu đã thiết lập ở 95°C. Dung dịch màu vàng nhạt, trong thu được được để khuấy trong một tuần. Dung dịch này được làm lạnh trong bể đá và được trung hoà tới độ pH khoảng 7 bằng HCl 6 N dẫn đến sự tạo thành của chất kết tủa. Các chất rắn được thu gom và để khô trong không khí qua đêm. Chất rắn màu trắng này được tạo huyền phù trong etanol nóng (khoảng 100mL) và được thu gom lại bằng cách lọc và chất rắn này được làm khô bằng không khí trước khi được đặt trong môi trường có độ chân không cao. (5,8g, 20,41mmol). Thời gian lưu HPLC = 0,64 phút (Chế độ G); LC/MS $M^{+1} = 284/286$. ^1H NMR (500MHz, metanol- d_4) δ 7,52-7,38 (m, 2H), 7,31-7,17 (m, 2H), 3,55-3,40 (m, 1H), 2,68 (dd, $J=13,3, 6,7$ Hz, 1H từ chất đồng phân không đối quang đơn), 2,58-2,39 (m, 1H), 2,26-2,15 (m, 1H), 2,10-1,98 (m, 1H), 1,98-1,81 (m, 1H), 1,70 (dd, $J=13,2, 11,8$ Hz, 1H từ chất đồng phân không đối quang đơn).

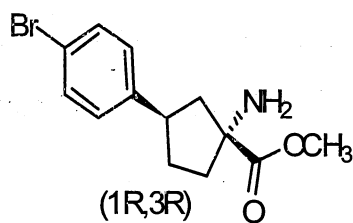
Hợp chất trung gian 2D: (3R)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat



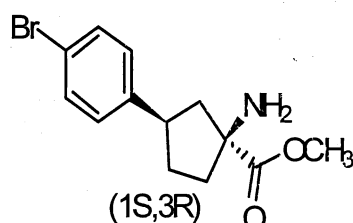
Trong bình cầu đáy tròn loại 500mL có thanh khuấy từ, axit (3R)-1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylic (I-2C, 5,4g, 19,00mmol) được tạo huyền phù trong metanol (100mL) để cho huyền phù đặc màu trắng. Phễu nhỏ giọt được nạp thionyl clorua (13,87mL, 190mmol) và chất phản ứng được bổ sung nhỏ giọt với tốc độ đủ để duy trì hỗn hợp không đạt nhiệt độ hồi lưu. Sau khi việc bổ sung hoàn thành, dung dịch dạng sữa màu vàng nhạt được đặt trong bể dầu đã

được thiết lập ở 70°C và bộ ngưng tụ hồi lưu được làm mát bằng không khí được gắn vào. Dung dịch này được gia nhiệt trong vài giờ và sau đó để nguội qua đêm xuống nhiệt độ trong phòng. Dung môi được làm bốc hơi trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong etyl axetat, được rửa bằng NaOH 1N (dung dịch nước), được rửa bằng nước, tiếp đó được làm khô trên MgSO_4 trước khi được lọc và được cô. Chất rắn màu vàng thu được được tạo huyền phù trong etyl axetat ấm, cùng với tác động âm thanh và sau đó được lọc. Chất rắn này được làm khô bằng không khí và được đặt trong chân không và phần dịch lọc được bốc hơi để cho Chất rắn 1: chất rắn màu trắng, LCMS 4,28g cho thấy >98% AP. Phần dịch lọc được làm bốc hơi để cho chất rắn màu vàng (1,89g). Chất rắn từ phần dịch lọc được tạo huyền phù trong một lượng tối thiểu của etyl axetat nóng, cùng với tác động âm thanh, tiếp đó được làm lạnh (bể đá) và được lọc lạnh. Chất rắn này được làm khô bằng không khí và được đặt trong chân không để cho Chất rắn 2: 1,44g chất rắn màu trắng. Các chất rắn được gộp lại (5,7g).

Hợp chất trung gian 2: (1R,3R)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat



(I-2)



Pic 2 (SFC)

Pic 1 (SFC)

Các chất rắn đã gộp lại của (3R)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)xyclopentancarboxylat (I-2D, 4g) được tách bằng cách phân tách SFC bất đối xứng các chất đồng phân không đối quang. Việc đánh giá hóa học lập thể tuyệt đối của Hợp chất trung gian 2 và chất đồng phân không đối quang của nó đã từng được mô tả (Wallace, G.A. et al., *J. Organic Chem.*, 74:4886-4889 (2009)). Chi tiết thử nghiệm: Dụng cụ: Điều chế: Thar SFC350; Phân tích: Thar analytical MDS. Chế độ điều chế: cột: CHIRALPAK® AD-H 25 x 5cm, 5 μm ; Nhiệt độ cột: 35°C; Tốc độ chảy: 300ml/phút; Pha động: CO_2 /(MeOH cùng với 0,1%DEA) = 82/18; Bước sóng dò: 230nm; Thể tích phun: 0,4-0,5mL; Điều chế

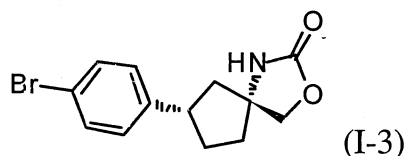
mẫu: 4g trong 120mL MeOH (Nồng độ 33mg/ml). Chế độ phân tích: cột: CHIRALPAK® AD-H 25 x 0,46 cm, 5µm; Nhiệt độ cột: 35°C; Tốc độ chảy: 3mL/phút; Pha động: CO₂/(MeOH cùng với 0,1%DEA) = 80/20; Bước sóng dò: 222 nm; Thể tích phun: 5µL.

Hợp chất trung gian 2 (Pic 1): 1,56g (độ tinh khiết quang 99,3% ở 222nm) Thời gian lưu = 7,18 phút trong SFC bất đối xứng. ¹H NMR (500MHz, metanol-d₄) δ 7,45-7,39 (m, 2H), 7,23-7,17 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,40-3,48 (m, 1H), 2,40 (ddd, *J*=13,0, 8,9, 3,6 Hz, 1H), 2,28-2,21 (m, 1H), 2,18 (dd, *J*=13,0, 11,7 Hz, 1H), 2,04 (dd, *J*=13,0, 7,2 Hz, 1H), 1,88-1,79 (m, 1H), 1,79-1,70 (m, 1H).

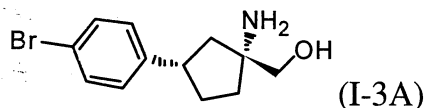
Pic 2: 1,8g (độ tinh khiết quang 97,2% ở 222nm). Thời gian lưu = 7,71 phút trong SFC bất đối xứng. ¹H NMR (500MHz, metanol-d₄) δ 7,45-7,38 (m, 2H), 7,26-7,20 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,28-3,20 (m, 1H), 2,66-2,57 (m, 1H), 2,25 (ddd, *J*=12,8, 11,0, 7,2 Hz, 1H), 2,10 (dt, *J*=12,2, 6,8 Hz, 1H), 2,03-1,93 (m, 1H), 1,84 (ddd, *J*=13,0, 7,8, 2,2 Hz, 1H), 1,65 (dd, *J*=13,3, 11,1 Hz, 1H).

Hợp chất trung gian 3

(5R,7S)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on



Hợp chất trung gian 3A: ((1R,3S)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentyl)methanol



Hỗn hợp gồm (1R,3S)-metyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentancarboxylat, HCl (I-1 HCl, 15g, 44,8mmol) trong MeOH (100mL) ở 0°C được bổ sung từng phần natri borohyđrua (4g, 106mmol). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm tới nhiệt độ trong phòng và natri borohyđrua được bổ sung từng phần vào cho đến khi phản ứng được xác định là đã hoàn thành bởi phép phân tích HPLC. Nước được bổ sung vào để làm giàu phản ứng. Hỗn hợp phản

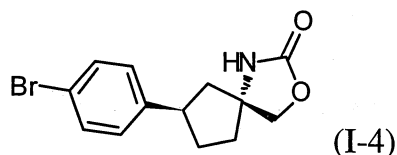
ứng này được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng NaCl bão hòa. Lớp nước được chiết lại vài lần. Các lớp hữu cơ đã kết hợp được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và được cô. Sản phẩm (11 g) được thu hồi sau khi cô. Thời gian lưu HPLC = 0,65 phút (Chế độ G); LC/MS $M^{+1} = 272$: ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 7,51-7,40 (m, 2H), 7,27 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 3,32-3,20 (m, 2H), 3,09-2,92 (m, 1H), 2,11 (dd, $J=12,9, 8,7$ Hz, 1H), 1,98-1,87 (m, 1H), 1,80 (qd, $J=11,1, 7,9$ Hz, 1H), 1,69-1,58 (m, 1H), 1,48 (ddd, $J=12,4, 7,9, 2,2$ Hz, 1H), 1,32 (dd, $J=12,8, 10,1$ Hz, 1H).

Hợp chất trung gian 3: (5R,7S)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on

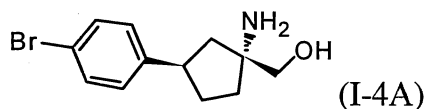
Hỗn hợp gồm ((1R,3S)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentyl)metanol (11g, 40,7mmol) và pyridin (I-3A, 3,29mL, 40,7mmol) trong dioxan (300mL) được bổ sung 1,1'-carbonyldiimidazol (19,81g, 122mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng HCl 1M, nước muối và NaHCO_3 bão hòa. Hỗn hợp này được chiết lại vài lần. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và được cô để cho 10,5 g sản phẩm được mong muốn là chất rắn màu trắng nhờ. Thời gian lưu HPLC = 0,87 phút (Chế độ G). LC/MS $M^{+1} = 297,9$; ^1H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,45 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 7,12 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 6,42 (br. s., 1H), 4,41-4,21 (m, 2H), 3,17-2,91 (m, 1H), 2,34 (dd, $J=13,3, 7,4$ Hz, 1H), 2,23-2,11 (m, 2H), 2,01-1,90 (m, 2H), 1,88-1,74 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 4

(5R,7R)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on



Hợp chất trung gian 4A: ((1R,3R)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentyl)metanol



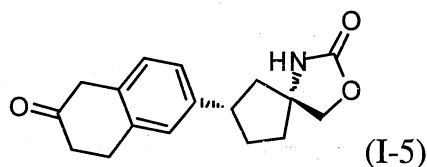
(1R,3R)-methyl 1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentancarboxylat (I-2, 3,88g, 13,01mmol) được hòa tan trong MeOH (65,1mL) và natri borohyđrua (1,477g, 39,0mmol) được bổ sung vào từng phần một. Natri borohyđrua bổ sung được bổ sung (0,5 đương lượng mỗi giờ) vào từng phần một cho đến khi phản ứng được xác định là đã hoàn thành bởi phép phân tích HPLC. Phản ứng được thấy là đã hoàn thành sau 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được làm giàu bằng nước và được pha loãng bằng etyl axetat. Lớp nước được chiết lại ba lần bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được gộp lại, được rửa bằng NaCl bão hòa, được làm khô trên MgSO_4 , được lọc và được cô để cho ((1R,3R)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentyl)metanol (3,19g, 11,81mmol). Thời gian lưu HPLC = 0,68 phút; LC/MS $M^{+1} = 272$: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7,42 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 7,13 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,32-3,41 (m, 1H), 2,19-2,25 (m, 1H), 1,98-2,07 (m, 1H), 1,90-1,95 (m, 1H), 1,66-1,74 (m, 2H), 1,52-1,60 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 4: (5R,7R)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on

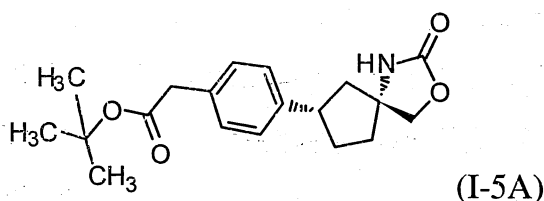
((1R,3R)-1-amino-3-(4-bromophenyl)cyclopentyl)metanol (I-4A, 3,19g, 11,81mmol) được hòa tan trong THF (59,0mL). Pyridin (0,955mL, 11,81mmol) và 1,1'-carbonyldiimidazol (5,74g, 35,4mmol) được bổ sung vào từng phần một. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 4 giờ và tiếp đó là LCMS. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp này được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng HCl 1M. Lớp nước được chiết lại hai lần bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được gộp lại, được rửa bằng NaCl bão hòa, được làm khô trên MgSO_4 , được lọc và được cô để cho (5R,7R)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (2,5g, 8,44mmol) sau khi sắc ký nhanh (cột silicagel 24g; dung môi rửa giải: hexan 2 CV tiếp đó là gradien tới 100% EtOAc trên 15 CV). Thời gian lưu HPLC = 0,91 phút; LC/MS $M^{+1} = 298$. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7,46 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,09 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 5,72- 5,81 (m, 1H), 4,35 (dd, $J=13\text{Hz}$, 8Hz, 2H), 3,19-3,24 (m, 1H), 2,38-2,44 (m, 1H), 2,15-2,26 (m, 1H), 2,11-2,14 (m, 1H), 1,99-2,05 (m, 1H), 1,79-1,85 (m, 1H), 1,65-1,72 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 5

(5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on

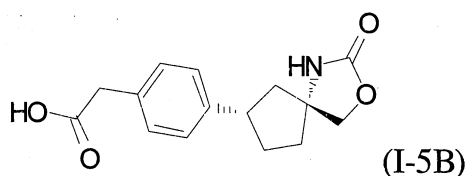


Hợp chất trung gian 5A: *tert*-BUTYL 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl) phenyl)axetat



Hỗn hợp gồm (5R,7S)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (I-3, 1g, 3,38mmol) trong đioxan (10mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung lithi bis(trimetylsilyl)amit (3,71mL, 3,71mmol). Hỗn hợp này được khuấy trong 30 phút, tiếp đó 1,2,3,4,5-pentaphenyl-1'-(đi-*t*-butylphosphino)feroxen (0,121g, 0,169mmol), Pd₂(dba)₃ (0,155g, 0,169mmol) và (2-(*tert*-butoxy)-2-oxoethyl)kẽm(II) clorua (8,10mL, 4,05mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được gia nhiệt ở 80°C trong 2 giờ, tiếp đó được làm mát tới nhiệt độ trong phòng, được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng HCl 1M. Lóp hữu cơ được làm khô bằng MgSO₄, được lọc và được cô. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (40g) sử dụng gradien EtOAc/hexan (0-100% EtOAc trên 20 phút) để cho 950mg *tert*-butyl 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)axetat. Thời gian lưu HPLC = 0,93 phút (Chế độ G); LC/MS M⁺ = 332.

Hợp chất trung gian 5B: axit 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)axetic



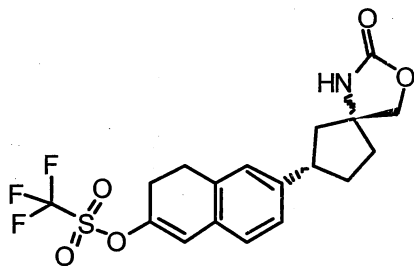
Hỗn hợp gồm *tert*-butyl 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)acetat (I-5A, 1g, 3,02mmol) trong DCM (20mL) được bổ sung TFA (10mL). Sau 2 giờ, dung dịch này được cô trong chân không và được sử dụng luôn như vậy cho bước tiếp sau mà không cần tinh chế thêm. Thời gian lưu HPLC = 0,65 phút (Chế độ G); LC/MS $M^{+1} = 276$.

Hợp chất trung gian 5: (5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on

Hỗn hợp gồm axit 2-(4-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)acetic (I-5B, 800mg, 2,91mmol) trong DCM (20mL) được bổ sung oxalyl clorua (1mL, 11,42mmol) và vài giọt DMF. Sau một giờ, hỗn hợp phản ứng này được cô trong chân không. Phần cặn được hòa tan lại trong DCM (20mL) trong bình chịu áp bằng thủy tinh. Nhôm clorua dạng hạt (1550mg, 11,62mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống -78°C . Etylen được cho sục qua dung dịch này trong 5 phút và sau đó bình phản ứng được đóng kín. Hỗn hợp phản ứng này được để ấm chậm lên nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 4 giờ. Hỗn hợp này được rót lên trên đá, được pha loãng bằng điclorometan và được rửa bằng HCl 1M. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và được cô. Chất liệu thô này được tinh chế trên cột silicagel (80g) sử dụng gradien MeOH/DCM (0-10% MeOH trên 13CV). Các phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và được làm khô trong chân không để cho 770mg (5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on. Thời gian lưu HPLC = 0,74 phút (Chế độ G); LC/MS $M^{+1} = 286$: ^1H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,20-7,00 (m, 3H), 5,49 (br. s., 1H), 4,45-4,25 (m, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,08 (t, $J=6,8$ Hz, 3H), 2,58 (t, $J=6,7$ Hz, 2H), 2,38 (dd, $J=13,2, 7,3$ Hz, 1H), 2,27-2,11 (m, 2H), 2,05-1,92 (m, 2H), 1,92-1,74 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 6

6-((5R,7S)-2-Oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)-3,4-đihydronaphtalen-2-yl triflorometansulfonat

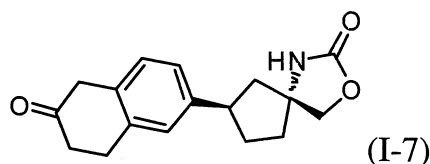


(I-6)

Hỗn hợp gồm (5R,7S)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (I-5, 340mg, 1,192mmol) và DMPU (0,431mL, 3,57mmol) trong THF (10mL) ở -78 °C được bổ sung LDA (1,456mL, 2,62mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 30 phút. Sau đó 1,1,1-trifloro-N-phenyl-N-(trifluorometyl)sulfonyl metansulfonamit (639mg, 1,787mmol) trong THF (10mL) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm tới 0°C. Sau 1 giờ, phản ứng được làm giàu bằng nước. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng dung dịch nước NaCl bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO₄, được lọc và được cô. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (40g) sử dụng gradient EtOAc/hexan (0-100% EtOAc trên 20 phút) để cho 400mg 6-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)-3,4-đihydronaphtalen-2-yl triflorometansulfonat. Thời gian lưu HPLC = 1,01 phút (Chế độ G); LC/MS M⁺ = 418. ¹H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,17-6,95 (m, 3H), 6,74 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,48-4,20 (m, 2H), 3,17-2,95 (m, 3H), 2,81-2,60 (m, 2H), 2,33 (dd, J=13,3, 7,2 Hz, 1H), 2,24-2,08 (m, 2H), 2,05-1,74 (m, 3H).

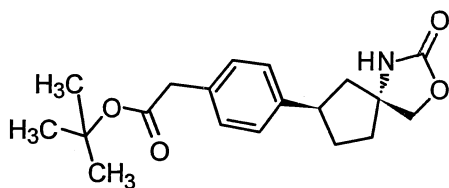
Hợp chất trung gian 7

(5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on



(I-7)

Hợp chất trung gian 7A: *tert*-butyl 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)axetat



(I-7A)

Dung dịch của (5R,7R)-7-(4-bromophenyl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (Int. 4, 2,1g, 7,09mmol) trong THF (25,3mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung LiHMDS (7,80mL, 7,80mmol). Dung dịch này được khuấy trong 15 phút. Tiếp theo, $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,195g, 0,213mmol), 1,2,3,4,5-pentaphenyl-1'-(đi-*tert*-butylphosphino)feroxen (0,151g, 0,213mmol), và (2-(*tert*-butoxy)-2-oxoethyl)kẽm(II) bromua, tetrahydrofuran (7,07g, 21,27mmol) lần lượt được bổ sung vào. Huyền phù đặc được khuấy ở 24°C trong 2 giờ. Phân tích LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn của nguyên liệu ban đầu. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng HCl 1M. Lớp hữu cơ được làm khô trên MgSO_4 , được lọc và được cô. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (40g) sử dụng hexan: axeton 100:0 tới 0:100 trên 25 CV. *tert*-butyl 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)axetat (2,35g, 7,09mmol) được tách. Thời gian lưu HPLC = 0,95 phút (Chế độ I): LC/MS $\text{M}^{+1} = 332$: ^1H NMR (400MHz, clorofom- d) δ 7,27-7,21 (m, 2H), 7,21-7,15 (m, 2H), 5,11 (br. s., 1H), 4,40-4,26 (m, 2H), 3,53 (s, 2H), 3,22-3,01 (m, 1H), 2,36 (dd, $J=13,2, 7,3$ Hz, 1H), 2,25-2,10 (m, 2H), 2,04-1,92 (m, 2H), 1,91-1,76 (m, 1H), 1,47 (s, 9H).

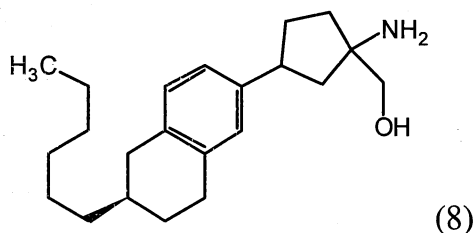
Hợp chất trung gian 7: (5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on

Chất lỏng màu nâu, *tert*-butyl 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)axetat (I-7A, 2,35g, 7,09mmol) được hòa tan trong DCM (60mL), tiếp đó bổ sung axit trifloroaxetic (20mL, 260mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ mà tại thời điểm đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Chất liệu thu được được pha loãng trong DCM (60mL), được tinh chế bằng cách chiết axit/bazơ và được đặt trong chân không trong 1 giờ. Gôm màu nâu thu được, 2-(4-((5R,7R)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)phenyl)axetic axit (1,952g, 7,09mmol) được hòa

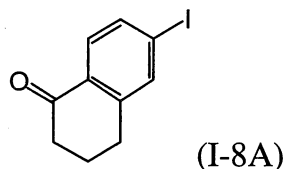
tan trong DCM (60mL), tiếp đó bổ sung oxalyl clorua (1,862mL, 21,27mmol), và DMF (0,027mL, 0,355mmol). Dung dịch thu được được khuấy cho đến khi dừng sự thoát khí (khoảng 30 phút) ở nhiệt độ trong phòng. LCMS phân phân ước đã làm giàu bằng MeOH cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn axit (RT = 0,65 phút, Chế độ I) và sự xuất hiện của metyl este được giả định do việc làm giàu bằng metanol (RT = 0,77 phút, Chế độ I) là sản phẩm duy nhất. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm và sản phẩm được đặt trong chân không. Gôm màu nâu được chuyển vào ống kín cùng với DCM (60mL) (huyền phù màu nâu, không hòa tan hoàn toàn được tạo ra). Hỗn hợp phản ứng này được làm lạnh xuống -78°C , tiếp đó bổ sung nhôm clorua dạng hạt (2,84g, 21,27mmol). Etylen được cho sục qua dung dịch này trong 7 phút và ống này được đóng kín. Chất kết tủa được tạo thành và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78°C trong 15 phút và sau đó để ấm tới nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng và sau đó được xả áp. Phân tích LCMS cho thấy sự biến mất của nguyên liệu ban đầu và sự xuất hiện của sản phẩm tetralon. Hỗn hợp phản ứng này được rót trên đá, được pha loãng bằng DCM và được khuấy cho đến khi đá tan chảy. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô và được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh chế trên silicagel tạo ra (5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (1,05g, 3,68mmol). Thời gian lưu HPLC = 0,74 phút (Chế độ I); LC/MS $M^{+1} = 286$; ^1H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,23-7,11 (m, 3H), 5,68 (br. s., 1H), 4,45-4,30 (m, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,31-3,18 (m, 1H), 3,08 (t, $J=6,8$ Hz, 2H), 2,58 (t, $J=6,7$ Hz, 2H), 2,42-2,39 (m, 1H), 2,32-2,15 (m, 2H), 2,09-1,99 (m, 1H), 1,91-1,83 (m, 1H), 1,82-1,72 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 8

(1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol

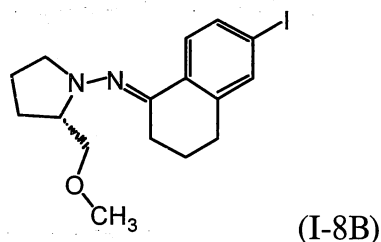


Hợp chất trung gian 8A: 6-iodo-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-on



Dung dịch trong có khuấy của 6-amino-3,4-đihydronaphtalen-1(2H)-on (15g, 93mmol) trong axit axetic (150mL) và nước (150mL) được bổ sung nhỏ giọt axit sulphuric (5,5mL, 101mmol) ở 0°C. Dung dịch của natri nitrit (12,90g, 187mmol) trong nước (100mL) tiếp đó được bổ sung nhỏ giọt vào trong khoảng thời gian trên 40 phút ở nhiệt độ này. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 10 phút trước khi được bổ sung chậm vào dung dịch có khuấy của natri iotua (55,8g, 372mmol) trong nước (600mL) trong khoảng thời gian trên 2 giờ ở 0°C. Huyền phù màu nâu thu được được khuấy ở 0°C trong 30 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (400mL, 2 x 100mL). Các phân chiết etyl axetat đã gộp lại được rửa bằng nước (60mL), dung dịch nước Na₂S₂O₃ bão hòa cho đến khi màu nâu biến mất, và dung dịch nước K₃PO₄ bão hòa (60mL), được làm khô trên natri sulfat khan, và được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 330g, gradien rửa giải từ 5 tới 15% etyl axetat trong các hexan) tạo ra 6-iodo-3,4-đihydronaphtalen-1(2H)-on (17,3g, 63,6mmol) dưới dạng chất liệu rắn. LC/MS M⁺ = 273.

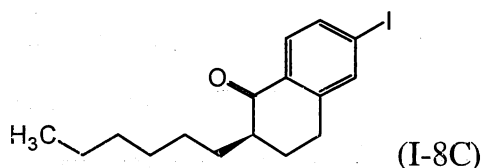
Hợp chất trung gian 8B: (S)-N-(6-iodo-3,4-đihydronaphtalen-1(2H)-yliden)-2-(metoxymetyl)pyrrolidin-1-amin



Hỗn hợp có khuấy gồm 6-iodo-3,4-đihydronaphtalen-1(2H)-on (I-8A, 20,90g, 77mmol), monohydrat axit p-toluensulfonic (0,584g, 3,07mmol), và xyclohexan (40mL) được bổ sung nhỏ giọt (S)-2-(metoxymetyl)pyrrolidin-1-amin (10g, 77mmol) ở nhiệt độ trong phòng dưới nitơ. Hỗn hợp này được đun nóng cùng với việc loại bỏ đồng sôi của nước trong 5 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng etyl axetat (20mL) và được trộn với dung dịch nước bicarbonat

bảo hòa (15mL). Lớp nước được tách ra và được chiết bằng etyl axetat (2 x 30mL). Các dung dịch hữu cơ đã gộp lại được làm khô trên natri sulfat khan và được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 330g, gradien rửa giải từ 0% tới 20% EtOAc trong các hexan) tạo ra (S)-N-(6-iodo-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-yliden)-2-(metoxymetyl)pyrrolidin-1-amin (29,1g, 76mmol) dưới dạng chất lỏng màu vàng. LC/MS $M^{+1} = 385$.

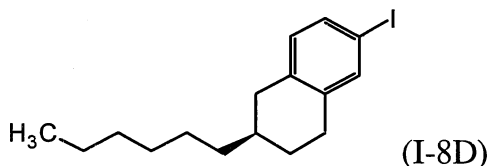
Hợp chất trung gian 8C: (R)-2-hexyl-6-iodo-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-on



Dung dịch có khuấy của diisopropylamin (19,43mL, 136mmol) trong tetrahydrofuran khan (250mL) được bổ sung nhỏ giọt dung dịch butyl lithi (2,5m trong các hexan, 39,4mL, 98mmol) ở 0°C dưới nitơ. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ này trong 15 phút trước khi dung dịch của (S)-N-(6-iodo-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-yliden)-2-(metoxymetyl)pyrrolidin-1-amin (I-8B, 29,1g, 76mmol) trong tetrahydrofuran khan (100mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Dung dịch phản ứng này được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Dung dịch của 1-iodohexan (22,35mL, 151mmol) trong tetrahydrofuran (50mL) được bổ sung nhỏ giọt vào ở -78°C và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ này trong 2 giờ. Nhiệt độ được nâng lên nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian trên 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được làm giàu bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa (50mL) và nước (50mL). Hỗn hợp này được chiết bằng các hexan (200mL) và etyl axetat (3 x 50mL). Các phần chiết đã kết hợp được làm khô trên natri sulfat khan và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra dầu. Dầu này được hòa tan trong THF (200mL). Dung dịch của đồng clorua, dihydrat (52g) trong nước (220mL) được bổ sung nhỏ giọt vào ở 0°C và hỗn hợp này được khuấy mạnh qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch nước amoniac được bổ sung vào để nâng độ pH tới khoảng 9. Hỗn hợp này được chiết bằng hexan (100mL) và dietyl ete (2 x 100mL). Các phần chiết đã gộp lại được làm khô trên natri sulfat khan và được cô. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 330g, gradien rửa giải từ 0 tới 15% EtOAc trong các hexan) tạo ra (R)-2-hexyl-6-iodo-3,4-dihydronaphtalen-1(2H)-on (21,6g,

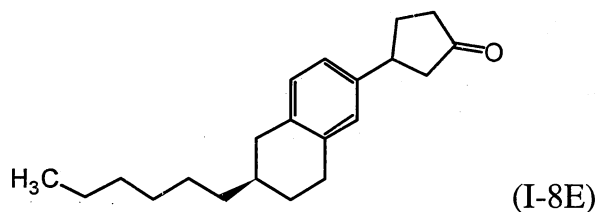
60,6mmol) là chất rắn màu trắng chứa một số chất đồng phân, chúng được loại bỏ trong bước tiếp sau. LC/MS $M^{+1} = 357$.

Hợp chất trung gian 8D: (R)-2-hexyl-6-iodo-1,2,3,4-tetrahydronaphtalen



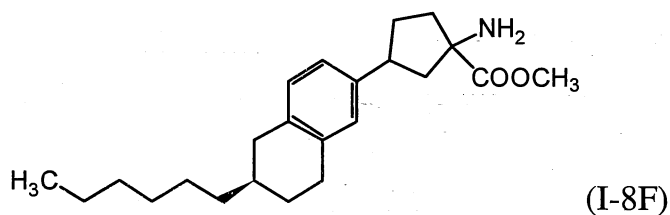
Dung dịch có khuấy của (R)-2-hexyl-6-iodo-3,4-đihydronaphtalen-1(2H)-on (I-8C, 21,6g, 60,6mmol) trong diclorometan (10mL) và 100% EtOH (100mL) được bổ sung từng phần natri borohydrua (4,59g, 121mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ trước khi được làm giàu bằng cách bổ sung chậm axeton (được làm lạnh bằng bể nước). Hỗn hợp này được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được trộn với dung dịch nước amoni clorua bão hòa (100mL) và nước (50mL) và được chiết bằng etyl axetat (100mL, 2 x 50mL). Các phần chiết etyl axetat đã gộp lại được làm khô trên natri sulfat khan và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra dầu. Dầu này được hòa tan trong trietylsilan (70mL, 438mmol). TFA (100mL, 1298mmol) được bổ sung vào cùng với khuấy mạnh. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng dưới nitơ trong 2,5 giờ. Sau khi nước (150mL) được bổ sung vào, hỗn hợp này được chiết bằng các hexan (100mL, 2 x 50mL). Các phần chiết đã gộp lại được rửa bằng nước (50mL) và sau đó là dung dịch nước bicarbonat bão hòa (50mL), được làm khô trên natri sulfat khan, và được cô để tạo ra chất lỏng màu vàng. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 330g, gradien rửa giải từ 0 tới 12% EtOAc trong các hexan) tạo ra (R)-2-hexyl-6-iodo-1,2,3,4-tetrahydronaphtalen (18,4g, 53,8mmol) dưới dạng chất lỏng không màu. ^1H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,41 (s, 1H), 7,38 (dd, $J=7,9$, 1,8 Hz, 1H), 6,79 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 2,82-2,71 (m, 3H), 2,31 (dd, $J=16,5$, 10,6 Hz, 1H), 1,93-1,85 (m, 1H), 1,72-1,60 (m, 1H), 1,41-1,24 (m, 11H), 0,92-0,85 (m, 3H). Việc tách SFC bất đối xứng (CHIRALPAK® AS-H 25 x 3,0 cm, 5 μ m, $\text{CO}_2/\text{MeOH} = 95/5$, 180mL/phút, 230nm) đã cho (R)-2-hexyl-6-iodo-1,2,3,4-tetrahydronaphtalen (11,8g, PK2) và chất đồng phân dạng S của nó (1,4g, PK1) dưới dạng các chất lỏng.

Hợp chất trung gian 8E: 3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentanon



Khí nitơ được cho sục qua hỗn hợp của (R)-2-hexyl-6-iodo-1,2,3,4-tetrahydronaphtalen (I-8D, 11,8g, 34,5mmol), tetrabutylamoni clorua (9,58g, 34,5mmol), kali axetat (10,15g, 103mmol), paladi (II) axetat (0,774g, 3,45mmol), và DMF khan (100mL) trong 3 phút trước khi xyclopent-2-enol (6,8g, 81mmol, được điều chế theo ấn phẩm: Larock, R.C. et al., *Tetrahedron*, 50(2):305-321 (1994)) được bổ sung vào. Khí nitơ được cho sục qua dung dịch này trong 2 phút nữa. Hỗn hợp này được khuấy ở 80°C dưới nitơ trong 2,5 giờ và sau đó được cô để loại bỏ DMF. Phần cặn được trộn với nước (150mL) và được chiết bằng etyl axetat (4 x 50mL). Các dung dịch etyl axetat đã gộp lại được rửa bằng nước (30mL), được làm khô trên natri sulfat khan, được lọc qua đệm silicagel, và được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 220g, gradien rửa giải từ 5 tới 50% etyl axetat trong các hexan) tạo ra 3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl) xyclopentanon (5,96g, 19,97mmol) LC/MS $M^{+1} = 299$.

Hợp chất trung gian 8F: Metyl 1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl) xyclopentancarboxylat



Hỗn hợp gồm 3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentanon (I-8E, 5,96g, 19,97mmol), amoni clorua (5,34g, 100mmol), natri xyanua (4,89g, 100mmol), dung dịch metanol 7M của amoniac (28,5mL, 200mmol), và điclorometan (15mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 ngày. Dung dịch metanol 7M của amoniac bổ sung (15mL) được bổ sung vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 ngày và sau đó được cô.

Phần cặn được phân bố trong hai lớp etyl axetat (70mL) và dung dịch nước bicarbonat bão hòa (100mL). Lớp nước được tách ra và được chiết bằng etyl axetat (3 x 50mL). Các dung dịch etyl axetat đã gộp lại được làm khô trên natri sulfat khan và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl) xyclopentancarbonitril dưới dạng chất bán rắn. Chất liệu bán rắn này được trộn với hỗn hợp gồm axit clohydric đặc (56mL, 1843mmol), nước (28mL, 1554mmol), axit axetic (35mL), và đioxan (35mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 100°C dưới nitơ trong 10 giờ và sau đó được cô để tạo ra chất rắn. Chất liệu rắn này được hoà tan trong metanol (20mL) và được trộn với toluen (20mL). Hỗn hợp này được cô tới khô. Phương pháp làm khô này được lặp lại một lần nữa để tạo ra chất rắn khô. Chất liệu rắn này được hòa tan trong metanol khan (300mL). Thionyl clorua (11,66mL, 160mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào ở 0°C dưới nitơ. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 70°C trong 7 giờ trước khi được cô. Phần cặn được kiểm hóa bằng dung dịch nước bicarbonat bão hòa (100mL) và một ít kali cacbonat rắn và được chiết bằng etyl axetat (100mL, 3 x 30mL). Các phần chiết etyl axetat đã gộp lại được làm khô trên natri sulfat khan và được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 80g, gradien rửa giải từ 20 tới 100% etyl axetat trong các hexan) tạo ra metyl 1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentancarboxylat (5,7g, 15,94mmol) dưới dạng chất lỏng. LC/MS $M^{+1} = 358$.

Hợp chất trung gian 8:

Metyl 1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl) xyclopentancarboxylat (I-8F, 5,7g, 16mmol) được hòa tan trong EtOH (60mL) và metylen clorua (15mL). Natri borohydrua (2,5g, 67mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Axit clohydric (dung dịch nước 6N, 40mL) được bổ sung chậm vào ở 0°C để tạo độ pH khoảng 1. Sau khi hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút, hydroxit natri (10g trong 20mL nước) được bổ sung vào để tạo độ pH khoảng 12. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút trước khi được cô để loại bỏ các dung môi hữu cơ. Phần cặn nước được pha loãng bằng nước (20mL) và được chiết bằng

EtOAc (100mL, 2 x 50mL). Các phần chiết etyl axetat đã gộp lại được làm khô trên natri sulfat khan, được khử màu bằng than, được lọc qua đệm CELITE®, và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra (1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol (5,0g, 15mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Các ví dụ 1 và 2 và Các hợp chất 3 và 4

Hợp chất trung gian 8 được tách thành 3 phần: F1 (Pic 1), F2 (Pic 2 và Pic 3), F3 (Pic 4)) bằng cách sử dụng SFC bất đối xứng (Cột: CHIRALPAK® AD-H 25 x 3cm, 5µm; Pha động: CO₂/(MeOH +0,1%DEA) =88/12; Tốc độ chảy: 200mL/phút; Bước sóng dò: 220nm; Nhiệt độ cột: 35°C). Phần thứ hai (F2) được tách ra một lần nữa bằng cách sử dụng SFC bất đối xứng (Cột: CHIRALPAK® AS-H 25 x 3cm, 5µm; Pha động:CO₂/[MeOH-MeCN (1:1) +0,5% DEA] =88/12; Tốc độ chảy:180mL/phút; Bước sóng dò: 220nm; Nhiệt độ cột: 35°C) để tạo ra Pic 2 và Pic 3. Cả bốn chất đồng phân đều là chất rắn màu trắng rắn với LC/MS M⁺ = 330.

Ví dụ 1 (Pic 2): ¹H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,07-6,95 (m, 3H), 3,54-3,44 (m, 2H), 3,34 (tt, J=11,0, 7,0 Hz, 1H), 2,92-2,74 (m, 3H), 2,39 (dd, J=16,4, 10,7 Hz, 1H), 2,29-2,14 (m, 1H), 2,08-1,84 (m, 3H), 1,76-1,65 (m, 3H), 1,46-1,26 (m, 12H), 0,99-0,85 (m, 3H).

Ví dụ 2 (Pic 4): ¹H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,06-6,92 (m, 3H), 3,52-3,37 (m, 2H), 3,09-2,93 (m, 1H), 2,88-2,72 (m, 3H), 2,35 (dd, J=15,8, 10,6 Hz, 1H), 2,26 (dd, J=12,7, 7,8 Hz, 1H), 2,11-2,00 (m, 1H), 1,97-1,84 (m, 2H), 1,78-1,60 (m, 3H), 1,43-1,22 (m, 12H), 0,95-0,83 (m, 3H).

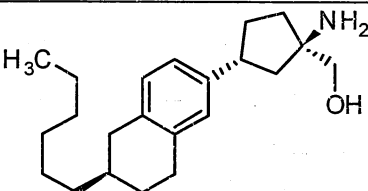
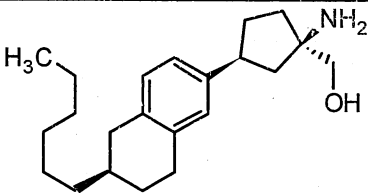
Hợp chất 3 (Pic 1): ¹H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,03-6,92 (m, 3H), 3,46 (s, 2H), 3,39-3,24 (m, 1H), 2,88-2,72 (m, 3H), 2,36 (dd, J=16,3, 10,8 Hz, 1H), 2,27-2,13 (m, 1H), 2,08-1,82 (m, 3H), 1,76-1,63 (m, 3H), 1,43-1,20 (m, 12H), 0,94-0,85 (m, 3H).

Hợp chất 4 (Pic 3): ¹H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,02-6,92 (m, 3H), 3,51-3,37 (m, 2H), 3,08-2,94 (m, 1H), 2,87-2,71 (m, 3H), 2,35 (dd, J=16,2, 11,1

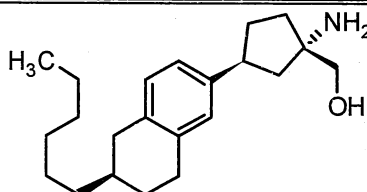
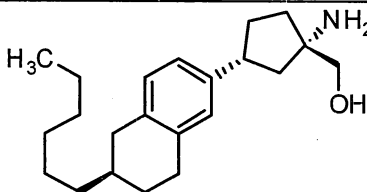
Hz, 1H), 2,25 (dd, $J=13,1, 7,8$ Hz, 1H), 2,12-1,97 (m, 1H), 1,97-1,83 (m, 2H), 1,81-1,59 (m, 3H), 1,43-1,21 (m, 12H), 0,96-0,74 (m, 3H).

Các Hợp chất 5-8 được điều chế theo phương pháp tổng hợp và tách chung cho Hợp chất trung gian 8, các Ví dụ 1-2, và Các hợp chất 3-4 bằng cách sử dụng chất đồng phân đối ảnh (S) (PK1) của Hợp chất trung gian iodua I-8D. Cả bốn chất đồng phân (Các hợp chất 5-8) đều có MW = 329,5; LC/MS $M^{+1} = 330$; Chế độ HPLC: C.

Bảng 1

Ví dụ No.	Cấu trúc	Tên gọi	Thời gian lưu HPLC (phút)
1		((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,78
2		((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,78

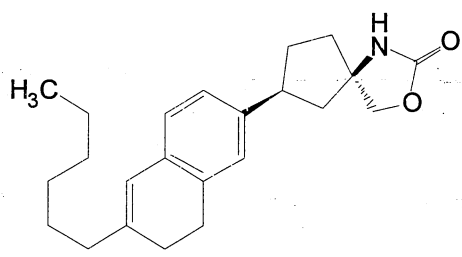
Bảng 2

Hợp chất No.	Cấu trúc	Tên gọi	Thời gian lưu HPLC (phút)
3		((1S,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,78
4		((1S,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,78

Hợp chất No.	Cấu trúc	Tên gọi	Thời gian lưu HPLC (phút)
5		((1S,3S)-1-amino-3-((S)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,78
6		((1R,3R)-1-amino-3-((S)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,78
7		((1S,3R)-1-amino-3-((S)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,77
8		((1R,3S)-1-amino-3-((S)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol	3,77

Sự điều chế theo cách khác của Ví dụ 2

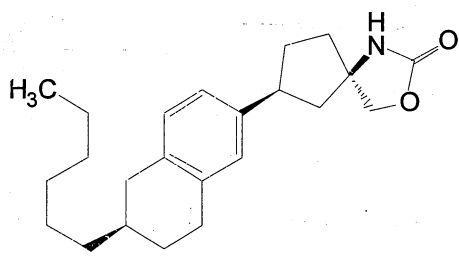
Chế phẩm 2A: (5R,7S)-7-(6-hexyl-7,8-dihydronaphthalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on



Hỗn hợp gồm 6-((5R,7S)-2-oxo-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-7-yl)-3,4-dihydronaphthalen-2-yl triflorometansulfonat (Int. 6, 1g, 2,396mmol) và NMP (2,306mL, 23,96mmol) trong THF (20mL) ở -40°C được bổ sung dung dịch của lithi bis(trimetylsilyl) amit trong THF (2,396mL, 2,396mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 15 phút, và sau đó sắt axetylaxetonat (0,042g, 0,120mmol) và hexylmagie bromua trong ete (2,396mL, 4,79mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 30 phút và được làm giàu bằng nước. Hỗn

hợp phản ứng này được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng HCl 1M. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và được cô. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (40g) sử dụng gradien EtOAc/hexan (0-100% EtOAc trên 12 CV) để cho 662mg (5R,7S)-7-(6-hexyl-7,8-đihydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on là chất rắn màu trắng. Thời gian lưu HPLC = 1,28 phút (Chế độ G); LC/MS $M^+ = 354$: ^1H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,03-6,88 (m, 3H), 6,21 (s, 1H), 5,16 (br. s., 1H), 4,44-4,15 (m, 2H), 3,13-2,96 (m, 1H), 2,80 (t, $J=8,0$ Hz, 2H), 2,47-2,08 (m, 6H), 2,05-1,93 (m, 2H), 1,90-1,73 (m, 1H), 1,68-1,43 (m, 4H), 1,41-1,22 (m, 5H), 1,01-0,83 (m, 3H).

Chế phẩm 2B: (5R,7S)-7-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on



Hỗn hợp gồm (5R,7S)-7-(6-hexyl-7,8-đihydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (2A, 760mg, 2,15mmol) và (-)-2,3-bis[(2R,5R)-2,5-dimethylphospholanyl]-N-[3,5-bis(triflorometyl)phenyl]maleiximit(1,5-xyclooctadien)rođi(I) tetrafloroborat (273mg, 0,43mmol) trong MeOH (27mL) được hydro hóa ở 850psi (5,86MPa) trong 1000 phút nhờ sử dụng nồi hấp loại HEL 100mL. Hỗn hợp phản ứng này được lọc và được cô trong chân không. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (40g) sử dụng gradien EtOAc/hexan (0-100% EtOAc trên 20 phút) để cho 640mg (5R,7S)-7-(6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on với tỷ lệ 1:2 của hai chất đồng phân. Chất đồng phân chủ yếu mong muốn được tách ra nhờ sử dụng cột CHIRALPAK® AS-H dưới chế độ SFC (35% MeOH trong CO_2). Thời gian lưu = 5,14 phút. Thu hồi được 400mg (5R,7S)-7-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on. ^1H NMR (400MHz, metanol- d_4) δ 7,02-6,91 (m, 3H), 4,47-4,20 (m, 2H), 3,02 (tt, $J=11,0, 7,2$ Hz, 1H),

2,87-2,74 (m, 3H), 2,41-2,24 (m, 2H), 2,17-2,03 (m, 2H), 2,00-1,89 (m, 3H), 1,86-1,74 (m, 1H), 1,73-1,61 (m, 1H), 1,51-1,28 (m, 11H), 0,99-0,88 (m, 3H).

Sự điều chế khác Chế phẩm 2B:

Hỗn hợp gồm (5R,7S)-7-(6-hexyl-7,8-dihydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (2A, 2,1g, 5,94mmol) trong DCM (10ml) được bổ sung nhỏ giọt dung dịch của ((1R,2S,3R,5R)-2,6,6-trimethylbicyclo[3,1,1]heptan-3-yl)bo trong DCM (30mL) ở -35°C dưới nitơ. (Chất phản ứng bo được tạo ra như sau: Hỗn hợp gồm S-Alpin-Boramin (8,4g, 20,18mmol) trong THF (35ml) được bổ sung BF₃ etereat (5,11ml, 40,4mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, được lọc dưới nitơ, và bánh lọc được rửa bằng lạnh THF (2x6ml). Phần dịch lọc và phần rửa được gộp lại và được cô trong chân không. Phần cặn này được bổ sung DCM (20mL) và dung dịch này được cô một lần nữa. Chất phản ứng thu được được tái hòa tan trong DCM (30mL) và được sử dụng trực tiếp cho bước hydroborat hóa). Sau khi khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -35°C đến -30°C trong 4 giờ và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -25°C đến -20°C trong 2 giờ, MeOH (3,6mL) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở -10°C trong 10 phút và ở 0°C trong 10 phút. Hỗn hợp này được pha loãng bằng THF (25mL), tiếp đó dung dịch của NaOH (6N, 9,9mL, 59,4mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào, tiếp đó là H₂O₂ (30%, 6,07ml, 59,4mmol) và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp này được bổ sung DCM (100mL) và nước (50mL). Toàn bộ dung dịch được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc được rửa bằng DCM. Hai lớp được tách, lớp nước được chiết bằng DCM (50mL) được kết hợp với lớp hữu cơ. Các lớp hữu cơ đã gộp lại được rửa bằng nước (100mL) và nước muối (100mL), được làm khô trên Na₂SO₄ khan và được cô trong chân không. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (40g) sử dụng gradien EtOAc/hexan (0-50% EtOAc trên 55 phút) để cho 1,9g (86%) (5R,7S)-7-(6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on với tỷ lệ 8:1 của hai chất đồng phân. Hỗn hợp được đưa luôn vào bước tiếp theo mà không cần tách các chất đồng phân không đối quang.

(5R,7S)-7-(6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (3,2g, 8,61mmol) trong MeOH (30mL) được bổ sung

Pd/C (10%, 1,1g). Chân không nhẹ được áp dụng cho bình cầu phản ứng, tiếp đó nạp trở lại hydro từ bình cầu hydro. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ, EtOAc (20mL) được bổ sung để hoà tan chất kết tủa. Chân không nhẹ được áp dụng cho bình cầu phản ứng, tiếp đó nạp trở lại hydro từ bình cầu hydro và các chất trong bình này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp này được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc được rửa bằng EtOAc, DCM, MeOH và EtOAc. Các dung môi đã gộp lại được cô trong chân không để cho hỗn hợp thô (3,06g) là hỗn hợp chất đồng phân không với tỷ lệ 8:1. Chất đồng phân chủ yếu được tách ra bằng cách sử dụng cột CHIRALPAK® AS-H dưới các điều kiện SFC (35% MeOH trong CO₂). Thời gian lưu = 4,64 phút. Thu hồi được 2,35g (77%) (5R,7S)-7-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on.

Ví dụ 2:

Hỗn hợp gồm (5R,7S)-7-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (400mg, 1,125mmol) trong đioxan (30mL) được bổ sung dung dịch nước NaOH (1N, 20mL). Hỗn hợp phản ứng này được gia nhiệt ở 100°C trong 3 ngày, làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng etyl axetat và rửa bằng nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO₄, được lọc và được cô. Chất liệu thô này được tinh chế trên hộp silicagel (24g) sử dụng gradien 20% (2N NH₃/MeOH) trong DCM/DCM (0-75% của 20% (2N NH₃/MeOH) trong DCM trên 13 CV) để cho 290mg ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol. Thời gian lưu HPLC = 10,09 phút (Chế độ H); LC/MS M⁺ = 330; ¹H NMR (400MHz, metanol-d₄) δ 7,03-6,91 (m, 3H), 3,54-3,41 (m, 2H), 3,01 (tt, J=11,1, 7,2 Hz, 1H), 2,87-2,69 (m, 3H), 2,34 (dd, J=16,2, 10,5 Hz, 1H), 2,20 (dd, J=13,0, 7,5 Hz, 1H), 2,07-1,84 (m, 3H), 1,83-1,60 (m, 3H), 1,60-1,48 (m, 1H), 1,47-1,25 (m, 11H), 1,00-0,88 (m, 3H).

Ví dụ 2, Bazơ tự do, hợp chất dạng N-1:

Ví dụ 2, bazơ tự do, hợp chất dạng N-1 được tạo ra bằng cách điều chế dung dịch gốc chứa 385mg hợp chất của Ví dụ 2 đã được hòa tan trong hỗn hợp gồm 18mL THF và 1,25mL H₂O (20mg/ml). Tiếp theo, 52μl dung dịch gốc này

được làm bốc hơi tới khan. Chất liệu đã làm khô này được bổ sung 52μl dung dịch 50:50 của etanol:heptan. Dung dịch thu được được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa chất kết tinh.

Ví dụ 2, Muối mono-HCl, Monohydrat, dạng H-1:

Monohydrat, muối mono-HCl của Ví dụ 2, dạng H-1 được tạo ra bằng cách điều chế dung dịch 50:50 nước metanol (200μl) chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 400μl dung dịch nước 0,025M HCl được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Dung dịch thu được được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa chất kết tinh.

Ví dụ 2, Muối mono-HCl, Monohydrat, dạng H-2:

Monohydrat, muối mono-HCl của Ví dụ 2, dạng H-2 được tạo ra bằng cách điều chế dung dịch 50:50 nước THF (200μl) chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 400μl dung dịch nước 0,025M HCl được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Sau đó, dung dịch này được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa của muối mono-HCl dạng monohydrat H-2 của Ví dụ 2.

Ví dụ 2, Muối mono-HCl, dạng N-3:

Muối mono-HCl của Ví dụ 2, dạng N-3 được tạo ra bằng cách điều chế 200μl dung dịch rượu isopropylic chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 400μl dung dịch HCl trong rượu 0,025M được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Dung dịch này được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa của muối mono-HCl dạng N-3 của Ví dụ 2.

Ví dụ 2, Muối mono-HCl, dạng N-4:

Muối mono-HCl của Ví dụ 2, dạng N-3 được tạo ra bằng cách điều chế 200μl dung dịch 50:50 metanol/THF chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 400μl dung dịch HCl trong rượu 0,025M được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Dung dịch thu được được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa của muối mono-HCl dạng N-4 của Ví dụ 2.

Ví dụ 2, Monohydrat, Muối axit hemi-L-malic, dạng H-1:

Monohydrat, muối axit hemi-L-malic, dạng H-1 được tạo ra bằng cách điều chế 200µl dung dịch 50:50 nước THF chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 240µl dung dịch axit L-malic rượu 0,042M được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Dung dịch thu được được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa dạng H-1 của muối axit hemi-L-malic của Ví dụ 2.

Ví dụ 2, Monohydrat, Muối axit hemi-malonic, dạng H-1:

Monohydrat, muối axit hemi-malonic, dạng H-1 được tạo ra bằng cách điều chế 200µl dung dịch 50:50 nước THF chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 193µl dung dịch rượu axit malonic 0,052M được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Dung dịch thu được được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa dạng H-1 của muối axit hemi-malonic của Ví dụ 2.

Ví dụ 2, 1/3-Hydrat, Muối axit phosphoric, dạng H.33-1:

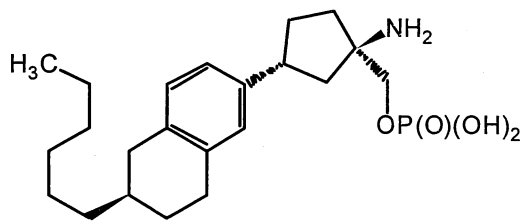
Muối axit phosphoric 1/3-hydrat, dạng H.33-1 được tạo ra bằng cách điều chế 200µl dung dịch 50:50 nước metanol chứa 3,2mg hợp chất của Ví dụ 2. Tiếp theo, 136µl dung dịch axit phosphoric rượu 0,073M được bổ sung nhỏ giọt vào cùng với khuấy. Dung dịch thu được được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa của dạng H.33-1 của muối axit phosphoric của Ví dụ 2.

Ví dụ 2, Muối axit R-(+)-mandelic, hợp chất dạng N-1:

Muối axit R-(+)-mandelic, hợp chất dạng N-1 được điều chế bằng cách bổ sung hợp chất của Ví dụ 2 và một lượng đẳng phân tử của hỗn hợp axit R-(+)-mandelic gồm metanol và axetonitril. Dung dịch này được làm bốc hơi để tạo ra các đĩa của dạng N-1 của muối axit mono-R-(+)-mandelic của Ví dụ 2.

Ví dụ 9

((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat

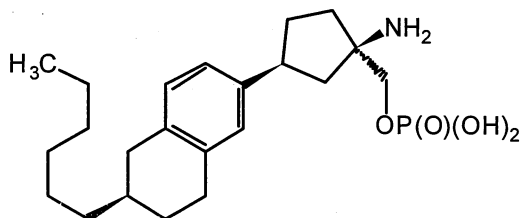


(9)

Dung dịch có khuấy của ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metanol (Ví dụ 1, 10mg, 0,030mmol) trong axetonitril khan (1mL) ở 0°C được bổ sung pyrophosphoryl clorua (0,042mL, 0,303mmol). Dung dịch trong thu được được khuấy ở nhiệt độ này trong 5 phút và ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau khi nước (0,4mL) được bổ sung vào, hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Việc tinh chế bằng cách sử dụng HPLC đảo pha (Luna Axia 5μ c18 30 x 100mm, gradient 10phút từ 40% tới 100% Dung môi B, Dung môi A: 0,1% TFA trong nước, Dung môi B: 0,1% TFA trong MeCN), cô và đông khô nhanh đã cho ((1R,3R)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat (2mg, 4,15μmol, hiệu suất: 13,68%) dưới dạng chất rắn màu trắng. Thời gian lưu HPLC = 3,94 phút (Chế độ C); LC/MS $M^{+1} = 410$; ^1H NMR (500MHz, metanol- d_4 + KOH) δ 6,97-6,87 (m, 3H), 3,77-3,71 (m, 1H), 3,71-3,66 (m, 1H), 2,83-2,70 (m, 3H), 2,32 (dd, $J=16,2, 10,7$ Hz, 1H), 2,14-1,98 (m, 2H), 1,96-1,83 (m, 2H), 1,74-1,60 (m, 3H), 1,59-1,49 (m, 1H), 1,45-1,26 (m, 11H), 0,94-0,87 (m, 3H), một proton dưới pic dung môi metanol (khoảng 3,3ppm).

Ví dụ 10

((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl) xyclopentyl)metyl dihydro phosphat



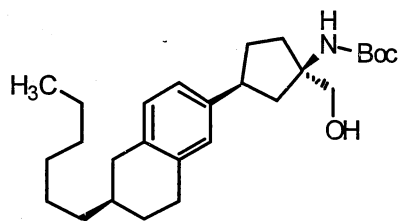
(10)

Hỗn hợp của phospho pentoxit (150mg, 0,528mmol) và 85% axit phosphoric (0,15mL, 10,01μmol) được khuấy ở 100°C dưới nitơ trong 1 giờ trước khi ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-

yl)xyclopentyl)metanol (ví dụ 1, 6mg, 0,018mmol) được bổ sung vào. Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ này trong 3 giờ. Nước (0,5mL) được bổ sung vào ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Việc tinh chế bằng cách sử dụng HPLC đảo pha (PHENOMENEX® Luna Axia 5μ c18 30 x 100mm, chạy 10 phút, Dung môi A: 10% MeOH: 90% H₂O: 0,1% TFA, Dung môi B: 90% MeOH, 10% H₂O, 0,1% TFA), cô và đông khô nhanh đã cho ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl dihydro phosphat (4mg, 9,38μmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. LC/MS $M^{+1} = 410$. Thời gian lưu HPLC = 3,96 phút (Chế độ C). ¹H NMR (400MHz, metanol-d₄+CDCl₃) δ 7,10-6,83 (m, 3H), 4,06-3,77 (m, 2H), 3,20-3,06 (m, 1H), 2,85-2,74 (m, 2H), 2,48 (dd, $J=12,9, 6,9$ Hz, 1H), 2,40-2,28 (m, 1H), 2,19-2,08 (m, 1H), 2,05-1,90 (m, 4H), 1,80-1,62 (m, 2H), 1,48-1,22 (m, 12H), 0,95-0,86 (m, 3H).

Sự điều chế theo cách khác của Ví dụ 10

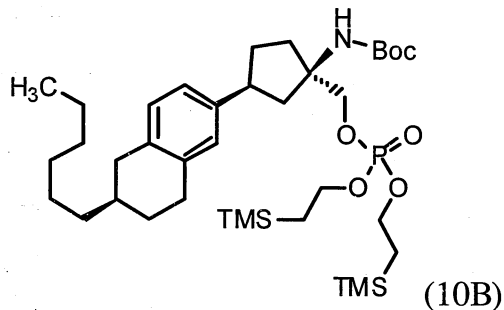
Chế phẩm 10A khác: *tert*-butyl ((1R,3S)-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-1-(hydroxymetyl)xyclopentyl)carbamate



(10A)

Dung dịch có khuấy của ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol (Ví dụ 2, 270mg, 0,819mmol) trong điclorometan khan (6mL) được bổ sung di-*tert*-butyl dicarbonat (536mg, 2,458mmol). Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp này được cô. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 24g, gradien rửa giải từ 10 tới 60% etyl axetat trong các hexan) tạo ra *tert*-butyl ((1R,3S)-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-1-(hydroxymetyl)xyclopentyl)carbamate (337mg, 0,784mmol, hiệu suất: 96%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LC/MS $M^{+1} = 430$.

Chế phẩm 10B khác: *tert*-butyl ((1R,3S)-1-(((bis(2-(trimethylsilyl)etoxy)phosphoryl)oxy)methyl)-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)carbamate



Dung dịch có khuấy của *tert*-butyl ((1R,3S)-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-1-(hydroxymethyl)xyclopentyl)carbamate (Chế phẩm 10A, 336mg, 0,782mmol) trong metylen clorua khan (7mL) được bổ sung bis(2-(trimethylsilyl)etyl)diisopropylphosphoramidit (858mg, 2,346mmol) trong một lần ở 0°C dưới nitơ. Tiếp theo, 1, 2, 4-1H-triazol (162mg, 2,346mmol) tiếp đó được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 40°C trong 18 giờ. Dung dịch này được làm lạnh xuống 0°C trước khi hydro peroxit (0,781mL, 7,82mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ trước khi metanol (3mL) được bổ sung để tạo ra hỗn hợp của dung dịch đồng nhất. Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Dung dịch nước natri thiosulfat bão hòa (5mL) được bổ sung vào để làm giàu phản ứng. Hỗn hợp này được cô dưới áp suất giảm và được chiết bằng etyl axetat (3 x 4mL). Các dung dịch hữu cơ đã gộp lại được làm khô (Na₂SO₄) và được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 24 g, gradien rửa giải từ 5 tới 25% etyl axetat trong các hexan) tạo ra *tert*-butyl ((1R,3S)-1-(((bis(2-(trimethylsilyl)etoxy)phosphoryl)oxy)methyl)-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)carbamate (514mg, 0,724mmol) dưới dạng chất lỏng.

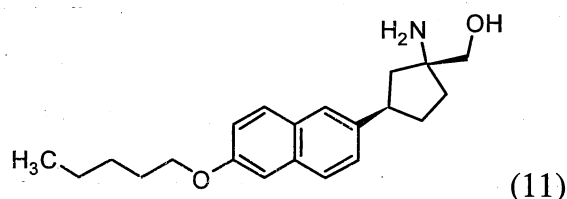
Ví dụ 10

Dung dịch có khuấy của *tert*-butyl ((1R,3S)-1-(((bis(2-(trimethylsilyl)etoxy)phosphoryl)oxy)methyl)-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl) carbamate (Chế phẩm 10B, 500mg,

0,704mmol) trong diclorometan (6mL) được bổ sung chậm TFA (6mL) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ trước khi 90mL heptan được bổ sung vào. Dung dịch này được cô dưới áp suất giảm. Tiếp theo, 70mL metanol được bổ sung vào phần cặn rắn này, tiếp đó là dung dịch nước NaOH 1N (4mL). HOAc (0,4mL) tiếp đó được bổ sung vào ở 60°C để axi hóa dung dịch này tới độ pH = 4. Hỗn hợp rắn-lỏng này được khuấy ở 60°C trong 1 giờ. Chất liệu rắn được tách ra, được rửa bằng metanol, nước, metanol, etyl axetat, và metanol. Việc đông khô nhanh đã cho ((1R,3S)-1-amino-3-((R)-6-hexyl-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)xyclopentyl)metyl đihydro phosphat (257mg, 0,619mmol, hiệu suất: 88%) dưới dạng chất rắn màu trắng. LC/MS $M^{+1} = 410$; 1H NMR (400MHz, metanol- d_4)(+KOH) δ 7,00-6,86 (m, 3H), 3,78-3,62 (m, 2H), 3,09-2,97 (m, 1H), 2,84-2,67 (m, 3H), 2,38-2,22 (m, 2H), 2,03-1,74 (m, 4H), 1,73-1,60 (m, 2H), 1,50 (t, $J=12,3$ Hz, 1H), 1,44-1,27 (m, 11H), 0,95-0,86 (m, 3H).

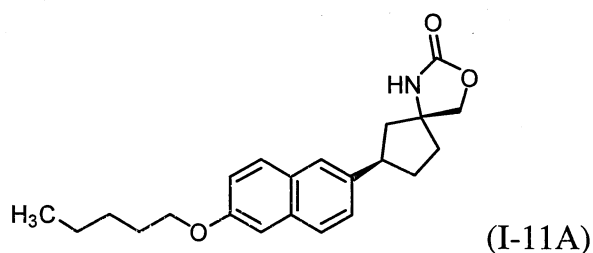
Hợp chất so sánh 11

(1R,3R)-1-amino-3-(6-(pentyloxy)naphtalen-2-yl)xyclopentyl)metanol



Hợp chất so sánh 11 đã được mô tả trong WO 2008/079382, Ví dụ Q.1.

Hợp chất trung gian 11A: (5R,7R)-7-(6-(Pentyloxy)naphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4] nonan-2-on



Hỗn hợp gồm 1-pentanol (6,13mL, 56,4mmol), monohydrat axit p-toluensulfonic (4,60mg, 0,024mmol), và trimetoxymetan (0,353mL, 3,22mmol) được khuấy ở 100°C trong 3 giờ bằng dòng không khí chậm chảy trên hỗn hợp để

loại bỏ metanol và một phần pentanol. Chất lỏng cạn thu được được trộn với (5R,7R)-7-(6-oxo-5,6,7,8-tetrahydronaphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (Int. 7, 230mg, 0,806mmol) và được khuấy ở 100°C dưới nitơ trong 2,5 giờ. Dung dịch này được để nguội xuống nhiệt độ trong phòng trước khi paladi trên cacbon (172mg, 0,081mmol) được bổ sung vào, tiếp đó là etyl axetat (4mL). Hỗn hợp này được để khuấy qua đêm dưới áp suất hydro trong bình cầu ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp thu được được lọc qua thiết bị lọc màng và phần dịch lọc được cô. Việc tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (cột silicagel 24g, 0% tới 70% etyl axetat trong các hexan) tạo ra 180mg chất liệu mà cần phải tinh chế thêm. Việc sắc ký lỏng siêu tới hạn tạo ra phần chủ yếu bởi pháp phân tích UV được nhận diện là (5R,7R)-7-(6-(pentyloxy)naphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (36mg) dưới dạng chất liệu rắn. Dụng cụ: Thar 350 Thar Analytical SFC-MS; Các điều kiện: Chế độ phân tích: Cột phân tích: AD-H (0,46 x 25cm, 5 μ m); áp suất BPR: 100 ba (0,68MPa); Nhiệt độ: 45°C; Tốc độ chảy: 3,0mL/phút; Pha động: CO₂/ MeOH (70/30); Bước sóng dò: UV 200-400nm. Chế độ điều chế: Cột điều chế: AD-H (3 x 25cm, 5 μ m); áp suất BPR: 100 ba (0,68MPa); Nhiệt độ: 35°C; Tốc độ chảy: 120mL/phút; Pha động: CO₂/ MeOH (70/30); Bước sóng dò: 220nm; Chương trình tách: Tiêm chồng; Tiêm: 2,5mL với chu kỳ 480 giây. (Thời gian lưu SFC phân tích = 11,68 phút, độ tinh khiết >99,5%) Thời gian lưu HPLC = 1,11 phút (Chế độ G); LC/MS M⁺ = 354. ¹H NMR (400MHz, clorofom-d) δ 7,68 (d, J=8,4 Hz, 2H), 7,55 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 7,21-7,04 (m, 2H), 6,48 (br. s., 1H), 4,50-4,28 (m, 2H), 4,07 (t, J=6,6 Hz, 2H), 3,49-3,31 (m, 1H), 2,46 (dd, J=13,3, 7,6 Hz, 1H), 2,39-2,24 (m, 1H), 2,24-2,12 (m, 1H), 2,12-2,00 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,90-1,76 (m, 3H), 1,58-1,30 (m, 4H), 0,96 (t, J=7,0 Hz, 3H).

Hợp chất so sánh 11

Dung dịch gồm (5R,7R)-7-(6-(pentyloxy)naphtalen-2-yl)-3-oxa-1-azaspiro[4,4]nonan-2-on (36mg, 0,102mmol) trong đioxan (2mL) và nước (0,8mL) được bổ sung LiOH (36,6mg, 1,528mmol). Dung dịch này được gia nhiệt tới 90°C và để khuấy trong 15 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và được rót vào etyl axetat và được rửa bằng nước. Chất liệu thô này sau đó được tinh chế trên HPLC đảo pha [Cột: Luna Axia 30*100mm;

thời gian gradien: 10 phút; Tốc độ chảy = 40mL/phút; Dung môi A = 10% MeOH-90% Nước-0,1% TFA; Dung môi B = 90% MeOH-10% nước-0,1% TFA; % B khởi đầu = 20; % B kết thúc = 100]. Các phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và được làm khô trong môi trường có độ chân không cao để tạo ra ((1R,3R)-1-amino-3-(6-(pentyloxy)naphthalen-2-yl)xyclopentyl)metanol, TFA (31mg) dưới dạng chất liệu rắn. Thời gian lưu HPLC = 0,90phút (Chế độ G); LC/MS $M^{+1} = 328$. 1H NMR (400MHz, metanol- d_4) δ 7,75-7,66 (m, 2H), 7,66-7,59 (m, 1H), 7,40-7,33 (m, 1H), 7,17 (d, $J=2,6$ Hz, 1H), 7,14-7,08 (m, 1H), 4,07 (t, $J=6,5$ Hz, 2H), 3,74-3,60 (m, 2H), 3,59-3,41 (m, 1H), 2,39-2,22 (m, 3H), 2,04-1,80 (m, 5H), 1,55-1,34 (m, 4H), 1,01-0,89 (m, 3H).

Thử nghiệm sinh học

Thử nghiệm phosphoryl hóa máu toàn phần (WBP) ở chuột

Các hợp chất có công thức (III) đòi hỏi sự sinh hoạt hóa thông qua quá trình phosphoryl hóa rượu để tạo ra hợp chất phosphat este hoạt tính có công thức (II). Theo ấn phẩm: Brinkmann, V. et al., (*J. Biol. Chem.* 277:21453-21457 (2002)), cấu hình đồng tách thể của amin mang tâm cacbon có thể ảnh hưởng tương đối tới việc xảy ra quá trình phosphoryl hóa.

Mức độ tương đối của quá trình phosphoryl hóa của các hợp chất của các Ví dụ 1-2 và các Hợp chất 3-8 được đánh giá bằng cách ủ các hợp chất rượu này trong máu toàn phần của chuột nhắt. Sự xuất hiện của hợp chất đã phosphoryl hóa được đo sau 4 giờ để xác định mức độ tương đối sự hình thành phosphat este. Máu toàn phần được lấy mới từ chuột nhắt BALB/C bằng cách rút máu sau hốc mắt và gom vào ống chứa EDTA. Máu toàn phần đã được xử lý bằng EDTA được phân vào ống polypropylen 1,4mL theo format 96 lỗ (100 μ L trên mỗi mẫu) và được tăng vọt với hợp chất thử nghiệm (1mM trong DMSO) để cho nồng độ cuối 10 μ M ($n=2$ cho một hợp chất). Ống này được đậy kín và được tạo xoáy trước khi chuyển vào máy lắc hành tinh để ủ ở 37°C, 225 vòng/phút trong 4 giờ. Kết thúc quá trình ủ, các mẫu được phết trên giấy Ahlstrom 226 untreated Specimen Collection Paper (25 μ L cho mỗi vết $n=2$) và để khô qua đêm trong không khí. Các thẻ Dried Blood Spot (DBS) được cất giữ ở nhiệt độ môi trường trong các túi chất dẻo đậy kín có

bổ sung chất hút ẩm. Khi chuẩn bị phân tích, mẫu dot 6mm (tương đương với 12,5µl máu ướt) được lấy với n=1 và được đặt trong tấm lọc 96 lỗ cạn. Tiếp theo, 105µL hỗn hợp của 75% axetonitril và 25% nước chứa chất chuẩn nội được bổ sung vào và được tạo xoáy nhẹ trong 30 phút trước khi được quay ly tâm. Dịch nổi trên bề mặt được tách ra khỏi viên tròn protein và 5µl được tiêm. Các hợp chất phosphat este hoạt tính và gốc (rượu) được phân tích định lượng, nhờ sử dụng đường cong định chuẩn DBS, bởi LC/MS/MS trên thiết bị Triple Quadrapole. Các tỷ lệ vùng giữa hợp chất đã phosphoryl hóa và hợp chất gốc (rượu) được xác định. Một trị số càng lớn của tỷ lệ giữa hợp chất đã phosphoryl hóa và hợp chất gốc (rượu) thể hiện sự tạo thành hợp chất phosphat este càng nhiều từ hợp chất gốc (rượu). Bảng 2 thể hiện các kết quả (trung bình số của hai thử nghiệm) của các hợp chất của các Ví dụ 1-2 và Các hợp chất 3-8 ở 4 giờ. Các hợp chất của các Ví dụ 1-2 và Hợp chất 6, các tỷ lệ vùng của sự tạo thành hợp chất phosphat este so với các hợp chất gốc (rượu) ở 4 giờ ít nhất là 0,59. Trái lại, các tỷ lệ vùng của sự tạo thành hợp chất phosphat este so với các hợp chất gốc (rượu) đối với các hợp chất 3-5 và 7-8 là bằng hoặc nhỏ hơn 0,17. Trong nghiên cứu này, các hợp chất của Ví dụ 1-2 và Hợp chất 6 được chỉ ra là bị phosphoryl hóa ở mức độ nhiều hơn so với các Hợp chất 3-5 và 7-8.

Bảng 2

Phosphoryl hóa máu toàn phần chuột nhắt - Mức độ phosphoryl hóa

Ví dụ hoặc Hợp chất No.	Máu toàn phần chuột nhắt Tỷ lệ vùng phosphat ở 4 giờ
1	1,60
2	0,59
3	0,07
4	0,14
5	0,03
6	0,60
7	0,02
8	0,17

Sự tạo Phosphat Este *In Vivo* ở chuột nhắt

BALB/c chuột nhắt được cho dùng liều qua đường miệng các hợp chất của Ví dụ 1, Ví dụ 2, Hợp chất 3, và Hợp chất 4 (10mg/kg ở dạng dung dịch hoặc huyền phù trong chất dẫn thuốc, polyetylen glycol 300, "PEG300"). Máu được lấy

ở 24 giờ, phết lên các thẻ Dried Blood Spot (DBS), và được phân tích như được mô tả cho thử nghiệm WBP. Chất liệu tham chiếu (rượu gốc và phosphat este) được phân tích để tối ưu hóa thử nghiệm LC-MS/MS và cho phép đưa ra các dữ liệu về các nồng độ. Các đường cong chuẩn DBS chứa cả hai hợp chất rượu gốc và phosphat este được điều chế và được phân tích theo cùng cách như các mẫu nghiên cứu và được phân tích bởi LC-MS/MS đã tối ưu hóa để định lượng hợp chất phosphat este được tạo thành. Các kết quả trong bảng 3 thể hiện các kết quả trung bình của tất cả các động vật nằm trong mỗi nhóm xử lý ($n = 3$). Trị số đối với nồng độ hợp chất phosphat este càng lớn chứng tỏ sự tạo thành hợp chất phosphat este từ hợp chất gốc (rượu) càng nhiều. Trong nghiên cứu này, các Ví dụ 1-2 cho thấy có mức độ tạo thành phosphat este nhiều hơn so với các Hợp chất 3-4. Các kết quả của nghiên cứu *in vivo* này là phù hợp với các kết quả thu được ở nghiên cứu Phosphoryl hóa máu toàn phần chuột nhắt nêu trên.

Bảng 3

Sự tạo thành phosphat *In Vivo* ở chuột nhắt

Ví dụ hoặc Hợp chất No.	Liều lượng (mg/kg)	Phosphat ở 24 giờ (nM)
1	10	475
2	10	202
3	10	14
4	10	46

Thử nghiệm gắn kết $S1P_1$

Các màng được điều chế từ các tế bào CHO biểu hiện $S1P_1$ ở người. Các viên tròn tế bào (1×10^9 tế bào/viên tròn) được tạo huyền phù trong chất đệm chứa 20mM HEPES (axit 4-(2-hydroxyetyl)-1-piperazintansulfonic), độ pH = 7,5, 50mM NaCl, 2mM EDTA (axit etylenđiamintetraaxetic) và cốc-tai chất ức chế proteaza (Roche), và phá vỡ trên đá nhờ máy làm đồng nhất Polytron. Dịch đồng nhất này được quay ly tâm ở 20000 vòng/phút (48000g) và dịch nổi trên bề mặt được bỏ đi. Các viên tròn màng được tạo lắng trong chất đệm chứa 50mM HEPES, độ pH = 7,5, 100mM NaCl, 1mM $MgCl_2$, 2mM EDTA và được cất giữ với các phân phân ước ở $-80^\circ C$ sau khi xác định nồng độ protein.

Các màng ($2 \mu g/lô$) và nồng độ cuối 0,03nM của phối tử ^{33}P - $S1P$ (1 mCi/ml, Perkin Elmer or American Radiolabeled Chemicals) được pha loãng trong chất

đệm thử nghiệm (50mM HEPES, độ pH = 7,4, 5mM MgCl_2 , 1mM CaCl_2 , 0,5% BSA không axit béo (albumin huyết thanh bò), 1mM NaF) được bổ sung vào các đĩa hợp chất (đĩa đáy hình chữ V384 FALCON® (0,5 μl /lỗ trong 11 điểm, pha loãng 3 lần). Việc gắn kết được thực hiện trong 45 phút ở nhiệt độ trong phòng, được kết thúc bởi việc thu gom các màng lên trên các tấm lọc Millipore FB 384 lỗ, và độ phóng xạ được đo bằng TOPCOUNT®. Dữ liệu cạnh tranh của các hợp chất thử nghiệm trên khoảng nồng độ được lập đồ thị theo phần trăm ức chế gắn kết đặc thù phối tử phóng xạ. IC_{50} được xác định theo công thức: nồng độ của phối tử cạnh tranh cần thiết để làm giảm 50% mức độ gắn kết đặc thù. IC_{50} của Hợp chất của Ví dụ 10 xác định được là 0,01nM.

Thử nghiệm gắn kết thụ thể [^{35}S] GTP γS

Các hợp chất được nạp vào đĩa đáy hình chữ V 384 FALCON® (0,5 μl /lỗ trong 11 điểm, pha loãng 3 lần). Các màng được điều chế từ các tế bào $\text{S1P}_1/\text{CHO}$ hoặc các tế bào EDG3-Ga15-bla HEK293T (S1P_3 tương đương EDG3) được bổ sung vào đĩa hợp chất (40 μl /lỗ, nồng độ protein cuối 3 μg /lỗ) cùng với MULTIDROP®. [^{35}S]GTP (1250 Ci/mmol, Perkin Elmer) được pha loãng trong chất đệm thử nghiệm: 20mM HEPES, độ pH =7,5, 10mM MgCl_2 , 150mM NaCl, 1mM EGTA(axit etylen glycol tetraaxetic), 1mM DTT(đithiotreitol), 10 μM GDP, 0,1% BSA không axit béo, và 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Saponin tới 0,4 nM. Dung dịch 40 μl [^{35}S]GTP được bổ sung vào đĩa hợp chất với nồng độ cuối là 0,2nM. Phản ứng được giữ ở nhiệt độ trong phòng trong 45 phút. Khi kết thúc quá trình ủ, tất cả các hỗn hợp trong đĩa hợp chất được chuyển vào các tấm lọc Millipore FB 384-lỗ nhờ bộ kẹp chất lỏng VELOCITY11® Vprep. Tấm lọc này được rửa 4 lần bằng nước bằng cách sử dụng máy rửa tấm Embla nhiều lần và được làm khô ở 60°C trong 45 phút. Chất lỏng đếm nhấp nháy MicroScint 20 (30 μl) được bổ sung vào mỗi lỗ để đếm trên Packard TOPCOUNT®. EC_{50} được xác định theo công thức: nồng độ chất chủ vận tương ứng với 50% Y_{max} (đáp ứng tối đa) thu được cho mỗi hợp chất riêng được thử nghiệm. EC_{50} của Ví dụ 10 xác định được là 0,9nM trong thử nghiệm sử dụng các màng được điều chế từ các tế bào $\text{S1P}_1/\text{CHO}$. EC_{50} của Ví dụ 10 xác định

được là >62,500nm trong thử nghiệm sử dụng các màng được điều chế từ các tế bào EDG3-Ga15-bla HEK293T.

Trị số EC_{50} đối với $GTP\gamma S$ $S1P_1$ càng nhỏ chứng tỏ rằng hoạt tính đối với hợp chất trong thử nghiệm gắn kết $GTP\gamma S$ $S1P_1$ càng lớn. Trị số EC_{50} đối với $GTP\gamma S$ $S1P_3$ càng lớn chứng tỏ rằng hoạt tính trong thử nghiệm gắn kết $GTP\gamma S$ $S1P_3$ càng nhỏ. Hợp chất của Ví dụ 10, là phosphat este hoạt tính của Ví dụ 2, có hoạt tính làm chất chủ vận của $S1P_1$ và có tính chọn lọc đối với $S1P_3$. Do vậy, các hợp chất theo sáng chế, bao gồm các hợp chất của các Ví dụ 1-2 và 9-10 có thể sử dụng được để điều trị, phòng, hoặc chữa trị các tình trạng bệnh lý khác nhau liên quan tới thụ thể $S1P_1$ đồng thời giảm bớt hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ do hoạt tính $S1P_3$. Tính chọn lọc đáng ngạc nhiên của các hợp chất theo sáng chế thể hiện tiềm năng áp dụng của chúng để điều trị, phòng, hoặc chữa trị các bệnh tự miễn hoặc viêm như đa xơ cứng, viêm đa khớp dạng thấp, viêm đường ruột, luput, hoặc bệnh vẩy nến, đồng thời giảm bớt hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ do hoạt tính $S1P_3$. Các ứng dụng tiềm năng khác của các hợp chất theo sáng chế bao gồm giảm thiểu hoặc khử sự đào thải các cơ quan được cấy ghép, đồng thời giảm bớt hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ do hoạt tính $S1P_3$.

Thử nghiệm tương tác nội phân tử thụ thể $S1P_1$

Các tế bào CHO-K1 biểu hiện thụ thể $S1P_1$ hướng đích GFP được đặt trong các đĩa nuôi cấy mô được phủ poly-D-lysine 384 lỗ với mật độ 4×10^3 tế bào/lỗ trong 50 μ l môi trường thử nghiệm (F12 cùng với L-glutamin, FBS đã được xử lý bằng 10% than/dextran, 1X penicillin-streptomycin, 1M HEPES). Các đĩa tế bào này được ủ qua đêm ở 37°C/5% CO_2 . Hợp chất thử nghiệm được đưa vào đĩa tế bào này từ đĩa cấp hợp chất với 11 điểm, pha loãng hàng loạt ba lần và sau đó các đĩa thử nghiệm được ủ ở 37°C/5% CO_2 trong 45 phút. Các tế bào được cố định và được nhuộm bằng 6% formaldehyt và 15 μ g/ml thuốc nhuộm Hoechst trong PBS (không Ca^{2+}/Mg^{2+}) ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Các đĩa tế bào được rửa 4 lần bằng PBS (không Ca^{2+}/Mg^{2+} free) cùng với việc bổ sung 50 μ l/PBS trước khi đặt đĩa. Các ảnh được tạo ra bởi bộ tạo ảnh độn phân giải cao Cellomics ARRAYSCAN® VTI. Việc phân tích dữ liệu đối với sự xác định EC_{50} so với hợp

chất đối chứng nội tại được thực hiện bằng cách sử dụng phép phân tích Compartmental Analysis BioApplication trên Array Scan. EC_{50} được xác định theo công thức: nồng độ chất chủ vận tương ứng với 50% Y_{max} (đáp ứng tối đa) thu được cho mỗi hợp chất riêng được thử nghiệm và được định lượng bằng cách sử dụng phương trình logistic 4 tham số để quy đổi các dữ liệu. EC_{50} của hợp chất của Ví dụ 9 xác định được là 361 nM trong thử nghiệm này.

Thử nghiệm khử lymphô bào máu (BLR) trên loài gặm nhấm

Chuột Lewis được cho dùng liều qua đường miệng duy nhất chất dẫn thuốc (polyetylen glycol 300, "PEG300") hoặc 2-amino-2-[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propandiol, hydroclorua (CAS: 162359-56-0) dưới dạng dung dịch trong chất dẫn thuốc ở các nồng độ 0,1mg/kg, 0,5mg/kg và 3,0mg/kg được điều chỉnh để phản ánh lượng tự do của vật phẩm thử nghiệm. Các kết quả được đưa ra trong Bảng 4a và mức độ khử lymphô bào ở 24 giờ sau khi dùng liều đạt mức tối đa ở 3,0mg/kg. Phần trăm khử lymphô bào có liên quan tới việc dùng liều nhưng mối liên quan này không tuyến tính, với sự gia tăng không tỷ lệ thuận với liều dùng cần thiết để gây ra sự giảm tăng tuần tự về số đếm lymphô bào. Ví dụ, trong nghiên cứu này để chứng minh sự thay đổi 13% (từ mức giảm 69% tới mức giảm 82%) đòi hỏi phải tăng gấp năm lần liều dùng (từ 0,1mg/kg lên 0,5mg/kg). Hơn thế nữa, để chứng minh sự thay đổi bổ sung 7% trong nghiên cứu này (từ mức giảm 82% tới mức giảm 89%) đòi hỏi phải tăng gấp sáu lần liều dùng (từ 0,5mg/kg lên 3,0mg/kg). Chuột nhắt BALB/c được cho dùng liều qua đường miệng duy nhất chất dẫn thuốc (polyetylen glycol 300, "PEG300") hoặc cùng với các hợp chất của các Ví dụ 1, Ví dụ 2, Hợp chất 6, Hợp chất 8, hoặc Hợp chất so sánh 11. Các hợp chất được cho dùng liều ở dạng dung dịch hoặc huyền phù trong chất dẫn thuốc, được điều chỉnh để phản ánh lượng tự do của vật phẩm thử nghiệm trong trường hợp các dạng muối được sử dụng. Máu được lấy ở 24 giờ và các số đếm lymphô bào máu được xác định trên thiết bị phân tích ADVIA® 120 Hematology Analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics). Các kết quả được đo bằng mức giảm phần trăm lymphô bào tuần hoàn so với nhóm được xử lý bằng chất dẫn thuốc tại thời điểm đo. Các kết quả thể hiện cho các kết quả trung bình của tất cả các động vật nằm

trong mỗi nhóm xử lý ($n = 2-4$). Các kết quả của thử nghiệm giảm lymphô bào máu (BLR) ở chuột nhắt được mô tả ở trên được thể hiện trong Bảng 4b.

Bảng 4a

2-amino-2-[2-(4-octylphenyl)ethyl]-1,3-propandi-ol, hydroclorua

Liều lượng (mg/kg)	Thử nghiệm giảm lymphô bào máu ở chuột nhắt ở 24 giờ sau khi dùng liều				
	Hợp chất		Đối chứng chất dẫn thuốc		Phần trăm giảm so với đối chứng
	Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	
0,1	2,78	0,17	9,01	0,19	69%
0,5	1,64	0,25	9,01	0,19	82%
3,0	1,02	0,06	9,01	0,19	89%

Bảng 4b

Ví dụ hoặc Hợp chất No	Liều lượng (mg/kg)	Thử nghiệm giảm lymphô bào máu ở chuột nhắt ở 24 giờ sau khi dùng liều				
		Hợp chất		Đối chứng chất dẫn thuốc		Phần trăm giảm so với đối chứng
		Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	
1	1	0,7	0,11	5,39	0,67	88%
2	1	0,54	0,20	5,39	0,67	90%
6	1	1,2	0,21	5,9	1,75	78%
8	1	2,4	0,35	5,9	1,75	59%
11	1	2,18	0,63	4,58	0,14	52%

Thử nghiệm độc tính phổi

Việc phân tích mức protein trong dịch rửa phế quản (BAL: bronchoalveolar lavage) lấy từ động vật được sử dụng để đánh giá các tác dụng phụ. Các mức cao của protein trong dịch BAL là một số chỉ về các tác dụng không mong muốn tới phổi, như phù phổi. Các hợp chất của Ví dụ 1, Ví dụ 2, Hợp chất 6, Hợp chất 8, và Hợp chất 11 được cấp qua đường miệng cho chuột nhắt với liều lượng 30mg/kg. Ở 24 giờ sau khi dùng liều, chuột nhắt được làm chết bằng cách cho dùng quá liều thuốc an thần tiêm trong màng bụng (IP). Các động vật này được đặt nằm ở tư thế nằm ngửa, một đường rạch da được tạo ra và bóc toạc sau khi lộ ra khí quản. Khí quản này được rạch và ống thông được luồn sâu 4-6mm vào khí quản. Nước muối đã được đệm phosphat (PBS; 1mL/chuột nhắt) được truyền vào phổi và sau đó được hút ra. Nồng độ protein BAL trong dịch BAL được thu hồi được xác định

trên thiết bị phân tích ADVIA® 1800 Chemistry Analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics). Các kết quả của thử nghiệm rửa phế quản (BAL) được thể hiện trong Bảng 5. Các kết quả thể hiện các kết quả trung bình của tất cả các động vật nằm trong mỗi nhóm xử lý (n = 2-4).

Bảng 5

Ví dụ hoặc Hợp chất No.	Liều lượng (mg/kg)	Mức protein BAL chuột nhất (mg/dL) (24 giờ sau khi dùng liều)				
		Hợp chất		Đối chứng chất dẫn thuốc		Protein BAL tương đối so với đối chứng
		Trung bình	SEM	Trung bình	SEM	
1	30	8,25	1,0	8,3	0,33	0,99
2	30	8,0	0,0	8,3	0,33	0,96
6	30	14,3	2,0	7,3	1,3	1,96
8	30	7,5	1,0	7,3	1,0	1,03
11	30	13,3	0,5	10,0	1,0	1,33

Bảng 5 thể hiện các mức protein BAL tương đối ở 24 giờ đối với các hợp chất được thử nghiệm được so sánh với việc cung cấp duy nhất chất dẫn thuốc. Trị số của protein BAL tương đối so với đối chứng lớn hơn 1 chứng tỏ sự gia tăng về độc tính phổi khi được so sánh với việc cung cấp duy nhất chất dẫn thuốc. Trong nghiên cứu này như được thể hiện trong Bảng 5, việc cung cấp các hợp chất của các Ví dụ 1 và 2 đã cho các mức protein BAL tương đối là 0,99 và 0,96, cho thấy không có sự gia tăng về độc tính phổi. Việc cung cấp Hợp chất 8 đã cho mức protein BAL tương đối là 1,03, cho thấy không có hoặc có gia tăng một chút về độc tính phổi. Trái lại, việc cung cấp Hợp chất 6 và Hợp chất 11 lần lượt cho các mức protein BAL tương đối là 1,94 và 1,33, chứng tỏ sự gia tăng độc tính cho phổi.

Các hợp chất theo sáng chế, như được minh họa ở các Ví dụ 1 và 2, đã được so sánh với a) các Hợp chất 6 và 8, và b) Hợp chất so sánh 11, đã mô tả trong WO 2008/079382, và đã được chỉ ra là đặc biệt có lợi. Các hợp chất theo sáng chế có lợi thể một cách đáng ngạc nhiên về sự kết hợp của hoạt tính làm giảm lymphô bào máu và giảm thiểu các tác dụng phụ tới phổi, như phù phổi. Như được thể hiện trong các Bảng 4b và 5, trong các thử nghiệm được trình bày, các hợp chất của các Ví dụ 1 và 2 theo sáng chế có lợi một cách đáng ngạc nhiên về hiệu quả làm giảm

lymphô bào máu mà không làm gia tăng về protein BAL, là một số đo về các tác dụng phụ tới phổi. Ví dụ, khi được so sánh với các Hợp chất 6, 8, và 11, các hợp chất theo sáng chế làm ví dụ được trình bày trong các Bảng 4b và 5 lần lượt đã làm giảm mức lymphô bào máu tới 88% và 90%, và cho các mức protein BAL tương đối lần lượt là 0,99 và 0,96, chứng tỏ không có sự gia tăng về các tác dụng phụ cho phổi. Trái lại, trong các thử nghiệm tương tự, Hợp chất 6 và Hợp chất so sánh 11 làm giảm các mức lymphô bào máu lần lượt là 78% và 52%, và cho các mức protein BAL tương đối lần lượt là 1,96 và 1,33, chứng tỏ sự nguy cơ cao về các tác dụng phụ cho phổi. Hợp chất 8 làm giảm mức lymphô máu 59% và cho mức protein BAL tương đối là 1,03, chứng tỏ sự không hoặc chỉ gia tăng một chút về các tác dụng phụ cho phổi.

Bảng 6

Sự giảm lymphô bào máu chuột nhắt và các mức protein BAL chuột nhắt từ các Bảng 4b và 5

Ví dụ hoặc Hợp chất No.	Thử nghiệm giảm lymphô bào máu chuột nhắt ở 24 giờ sau khi dùng liều (phần trăm giảm so với đối chứng) với 1mg/kg	Mức protein BAL chuột nhắt (24 giờ sau khi dùng liều) Mức protein BAL tương đối so với đối chứng với 30mg/kg
1	88%	0,99
2	90%	0,96
6	78%	1,96
8	59%	1,03
11	52%	1,33

Các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính làm các chất chủ vận của thụ thể $S1P_1$, dẫn đến làm giảm các lymphô bào máu tuần hoàn, và do vậy có thể được sử dụng để điều trị, phòng, hoặc chữa trị các tình trạng bệnh lý khác nhau liên quan tới thụ thể $S1P_1$ đồng thời giảm bớt hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ cho phổi, như phù phổi. Tính chọn lọc đáng ngạc nhiên của các hợp chất theo sáng chế cho thấy ứng dụng tiềm năng của chúng để điều trị, phòng, hoặc chữa trị các bệnh tự miễn hoặc viêm như đa xơ cứng, viêm đa khớp dạng thấp, viêm đường ruột, luput, hoặc bệnh vẩy nến, đồng thời giảm bớt hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ có thể có cho phổi. Các ứng dụng tiềm năng khác của các hợp chất theo sáng chế bao gồm

giảm thiểu hoặc giảm bớt sự đào thải các cơ quan được cấy ghép, đồng thời giảm bớt hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ có thể có cho phổi.

Thử nghiệm bệnh khớp do thuốc phù trợ gây ra ở chuột (AA)

Mô hình bệnh khớp do thuốc phù trợ ở chuột là mô hình động vật cho bệnh viêm đa khớp dạng thấp ở người.

Chuột Lewis đực (150-175g; Harlan, nhóm xử lý n=8) được chủng ở thân đuôi bằng 100µl của 10mg/ml *Mycobacterium butyricum* đã nghiền mới (Difco Laboratories) trong thuốc phù trợ Freund không hoàn tất (sigma). Các động vật này được cho dùng liều một lần hằng ngày bằng chế phẩm thử nghiệm (ở dạng dung dịch hoặc huyền phù trong chất dẫn thuốc) hoặc duy nhất chất dẫn thuốc (polyetylen glycol 300, "PEG300") kể từ ngày chủng ngừa. Thể tích của các bàn chân sau của chúng được đo trên dụng cụ đo độ phồng mạch thay thế nước (Ugo Basile, Italy). Các số đo chân đường nền được lấy trước khi khởi bệnh (nằm giữa ngày 7 tới ngày 10). Số đo chân sau đó được lấy ba lần một tuần cho đến khi kết thúc nghiên cứu vào ngày 20 tới 21. Tất cả các thủ tục liên quan tới các động vật đã được xem xét và được phê chuẩn bởi Institutional Animal Care Use Committee.

Hợp chất của Ví dụ 2 theo sáng chế được thử nghiệm trong Thử nghiệm bệnh khớp do thuốc phù trợ gây ra ở chuột được mô tả ở trên và các kết quả được thể hiện trong Bảng 7. Hợp chất theo sáng chế, như làm ví dụ bởi Ví dụ 2, trong thử nghiệm được trình bày, thể hiện khả năng ức chế sự tiến triển bệnh khi đo được đo bởi việc làm giảm mức độ sưng chân ở chuột Lewis nhờ sử dụng chế độ dùng liều qua đường miệng dự phòng.

Bảng 7

Nhóm	Mức sưng chân (mL) vào ngày 20	
Chất dẫn thuốc	Trung bình	1,78
	SEM	0,14
Ví dụ 2 (0,15mg/kg)	Trung bình	1,64
	SEM	0,10
Ví dụ 2 (0,5mg/kg)	Trung bình	0,70
	SEM	0,13
Ví dụ 2 (1,5mg/kg)	Trung bình	0,16
	SEM	

Nhóm	Mức sưng chân (mL) vào ngày 20	
	SEM	0,04

Thử nghiệm viêm đại tràng do sự chuyển tế bào T gây ra ở chuột nhắt

Thử nghiệm viêm đại tràng do sự chuyển tế bào T gây ra ở chuột nhắt là mô hình động vật cho viêm đại tràng ở người.

Viêm đại tràng được gây ra ở chuột nhắt CB-17 SCID bởi việc vận chuyển tế bào mướn của các tế bào $CD4^+CD45RB^{high}$ T phân loại FACS từ chuột nhắt BALB/c (3×10^5 /chuột nhắt, tiêm dưới da). Tình trạng bệnh lý được kiểm tra một lần một tuần trong 3 tuần đầu và 3 lần/tuần trong các tuần tiếp sau trên cơ sở thể trọng, phân mềm hoặc tiêu chảy, và hậu môn sa trực tràng. Các động vật được cho dùng liều qua đường miệng một lần mỗi ngày (q.o.d.) bằng chế phẩm thử nghiệm hoặc chất dẫn thuốc bắt đầu từ ngày chuyển tế bào T. Chuột nhắt bị giết 6 tuần sau khi hoàn nguyên tế bào T và được phân tích về sự viêm ruột trên cơ sở xét nghiệm mô học các mô ruột kết đã nhuộm H&E. Tất cả các thủ tục liên quan tới các động vật đã được xem xét và được phê chuẩn bởi Institutional Animal Care Use Committee.

Hợp chất của Ví dụ 2 được thử nghiệm trên mô hình thử nghiệm viêm đại tràng do sự chuyển tế bào T gây ra ở chuột nhắt được mô tả ở trên và các kết quả được thể hiện trong Bảng 8. Hợp chất theo sáng chế, như làm ví dụ bởi Ví dụ 2, trong thử nghiệm đã nêu này, thể hiện khả năng ức chế sự tiến triển bệnh khi được đánh giá bằng sự giảm thể trọng, và sự giảm mức độ viêm và tổn thương trong thử nghiệm viêm đại tràng do sự chuyển tế bào T gây ra ở chuột nhắt.

Bảng 8

Nhóm	% thay đổi thể trọng tuần thứ sáu		Viêm/Tổn thương (Nghiên cứu mô)	
Chất dẫn thuốc	Trung bình	100% → 96,8%	Trung bình	6,79
	SD	2,4%	SEM	0,36
Ví dụ 2 (1mg/kg; q.o.d.)	Trung bình	100% → 98,7%	Trung bình	5,46
	SD	1,5%	SEM	0,32
Ví dụ 2 (5mg/kg; q.o.d.)	Trung bình	100% → 103,7%	Trung bình	3,71
	SD	1,3%	SEM	0,50

Mô hình chuột nhắt MRL/lpr của thử nghiệm luput ban đỏ tự phát

Mô hình chuột nhắt MRL/lpr của thử nghiệm luput ban đỏ tự phát là một mô hình động vật cho bệnh luput ban đỏ tự phát.

Chuột nhắt MRL/lpr đực (14 tuần tuổi; Jackson Laboratories; n=12-13) được cho dùng liều qua đường miệng bằng hợp chất của Ví dụ 2 (dưới dạng dung dịch trong chất dẫn thuốc) hoặc duy nhất chất dẫn thuốc (polyetylen glycol 300) hai lần một tuần trong 11 tuần tính từ ngày 0. Mức protein nước tiểu (bằng Albustix) được đo vào ngày 0 và trong suốt thời gian nghiên cứu. Bảng 9 thể hiện phần trăm số chuột nhắt trong mỗi nhóm xử lý cho thấy có mức cao proteinure (lớn hơn 100mg/dL) lúc 25 tuần tuổi. Các nhóm chuột nhắt bổ sung được cho dùng liều hằng ngày qua đường miệng dexametason (Dex) hoặc là độc lập hoặc kết hợp với hai lần mỗi tuần bằng hợp chất của Ví dụ 2. Mức protein trong nước tiểu (bằng Albustix) được đo vào ngày 0 và trong suốt thời gian nghiên cứu. Bảng 9 thể hiện phần trăm số chuột nhắt trong mỗi nhóm xử lý cho thấy có mức cao proteinure (lớn hơn 100mg/dL) lúc 24 tuần tuổi. Tất cả các thủ tục liên quan tới các động vật đã được xem xét và được phê chuẩn bởi Institutional Animal Care Use Committee.

Hợp chất của Ví dụ 2 được thử nghiệm trên mô hình chuột nhắt MRL/lpr của thử nghiệm luput ban đỏ tự phát được mô tả ở trên và các kết quả được thể hiện trong Bảng 9. Hợp chất theo sáng chế, như làm ví dụ bởi Ví dụ 2, trong thử nghiệm đã nêu này, thể hiện khả năng ức chế sự tiến triển bệnh khi được đánh giá bởi phần trăm số chuột nhắt có mức proteinure lớn hơn 100mg/dL.

Bảng 9

Proteinure lúc 25 tuần tuổi

Nhóm	% số chuột nhắt có Proteinure >100mg/dL
Chất dẫn thuốc	54
Ví dụ 2 (0,05mg/kg; 2 lần mỗi tuần)	25
Ví dụ 2 (0,4mg/kg; 2 lần mỗi tuần)	17
Ví dụ 2 (2mg/kg; 2 lần mỗi tuần)	10

Hợp chất của Ví dụ 2 và dexametason (Dex) hoặc là độc lập hoặc ở dạng kết hợp, được thử nghiệm trên mô hình chuột nhắt MRL/lpr của thử nghiệm luput ban đỏ tự phát được mô tả ở trên và các kết quả được thể hiện trong Bảng 10. Cả hợp chất theo sáng chế, như làm ví dụ bởi Ví dụ 2, lẫn dexametason trong thử nghiệm nêu trên, đều thể hiện khả năng ức chế sự tiến triển bệnh khi được đánh giá bằng phần trăm thấp số chuột nhắt có mức proteinure lớn hơn 100mg/mL. Trong thử nghiệm này, không thấy có chuột nhắt có mức proteinure lớn hơn 100mg/mL khi được cung cấp kết hợp của hợp chất của Ví dụ 2 và dexametason.

Bảng 10

Mức proteinure lúc 24 tuần tuổi

Nhóm	% số chuột nhắt có Proteinure >100mg/dL
Chất dẫn thuốc	64
Dex (0,1mg/kg mỗi ngày)	50
Dex (0,5mg/kg mỗi ngày)	10
Ví dụ 2 (2mg/kg; 2 lần mỗi tuần)	20
Ví dụ 2 (2mg/kg; 2 lần mỗi tuần) + Dex (0,1mg/kg mỗi ngày)	0

Nhiều xạ đơn tinh thể tia X

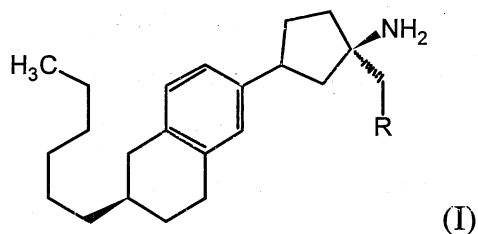
Dữ liệu đơn tinh thể được tập hợp trên hệ Bruker-AXS APEX2 CCD nhờ sử dụng chiếu xạ Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Việc lập chỉ mục và xử lý dữ liệu cường độ đã đo được tiến hành thực hiện nhờ bộ chương trình phần mềm APEX2. Khi được chỉ định, các tinh thể được làm lạnh trong dòng lạnh của hệ thống cryo Oxford trong khi tập hợp dữ liệu. Các cấu trúc được làm rõ bằng các phương pháp trực tiếp và được tinh chế trên cơ sở các phản chiếu quan sát được bằng cách sử dụng SHELXTL. Các thông số nguyên tử thu được (các yếu tố tọa độ và nhiệt độ) được tinh chế thêm thông qua bình phương nhỏ nhất ma trận đầy đủ. Hàm tối thiểu hóa trong các tinh chỉnh là $\sum_w (|F_o| - |F_c|)^2$. R được xác định là $\sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$ trong khi $R_w = [\sum_w (|F_o| - |F_c|)^2 / \sum_w |F_o|^2]^{1/2}$ trong đó w là hàm trọng số thích hợp dựa trên các sai số về các cường độ quan sát được. Tốt hơn là tất cả các nguyên tử không phải H được tinh chỉnh theo cách dị hướng và tất cả các nguyên tử H khác với các nguyên tử gắn vào các nguyên tử N và O được tính toán bằng các phương pháp hình học và được tinh chỉnh nhờ sử dụng mẫu neo.

Nhiều xạ bột tia X

Dữ liệu nhiễu xạ bột tia X (PXRD) thu được nhờ sử dụng bộ đo góc nền nghiêng thủ công Bruker GADDS (General Area Detector Diffraction System). Các mẫu bột được đặt vào trong các ống mao dẫn thủy tinh thành mỏng đường kính 0,7mm; các ống mao dẫn được quay trong khi tập hợp dữ liệu. Khoảng cách mẫu-bộ phát hiện được duy trì ở 17cm. Dữ liệu được tập hợp bằng chiếu xạ Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) nằm trong khoảng $2,5 < 2\theta < 35^\circ$ với thời gian tiếp xúc mẫu là 600 giây.

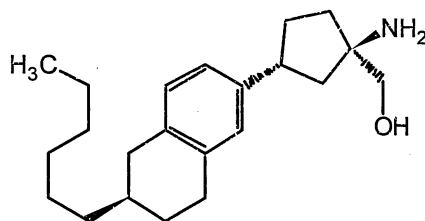
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):

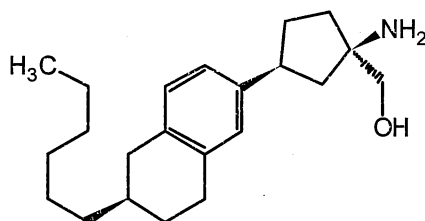


trong đó R là -OH hoặc -OP(O)(OH)₂, và/hoặc muối của nó.

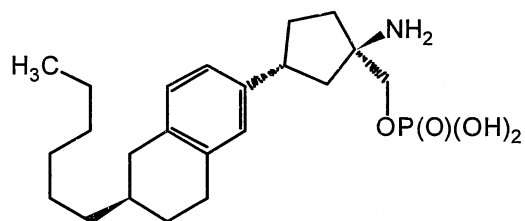
2. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối của nó trong đó R là -OH.
3. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối của nó trong đó R là -OP(O)(OH)₂.
4. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối của nó có công thức cấu trúc:



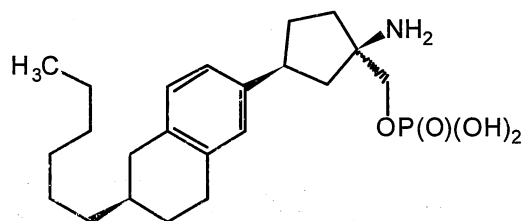
5. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối của nó có công thức cấu trúc:



6. Hợp chất theo điểm 5, hoặc muối của nó ở dạng chất rắn kết tinh.
7. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối của nó có công thức cấu trúc:



8. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối của nó có công thức cấu trúc:



9. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 2 hoặc muối được dùng của nó và chất mang được dùng.

FIG. 1

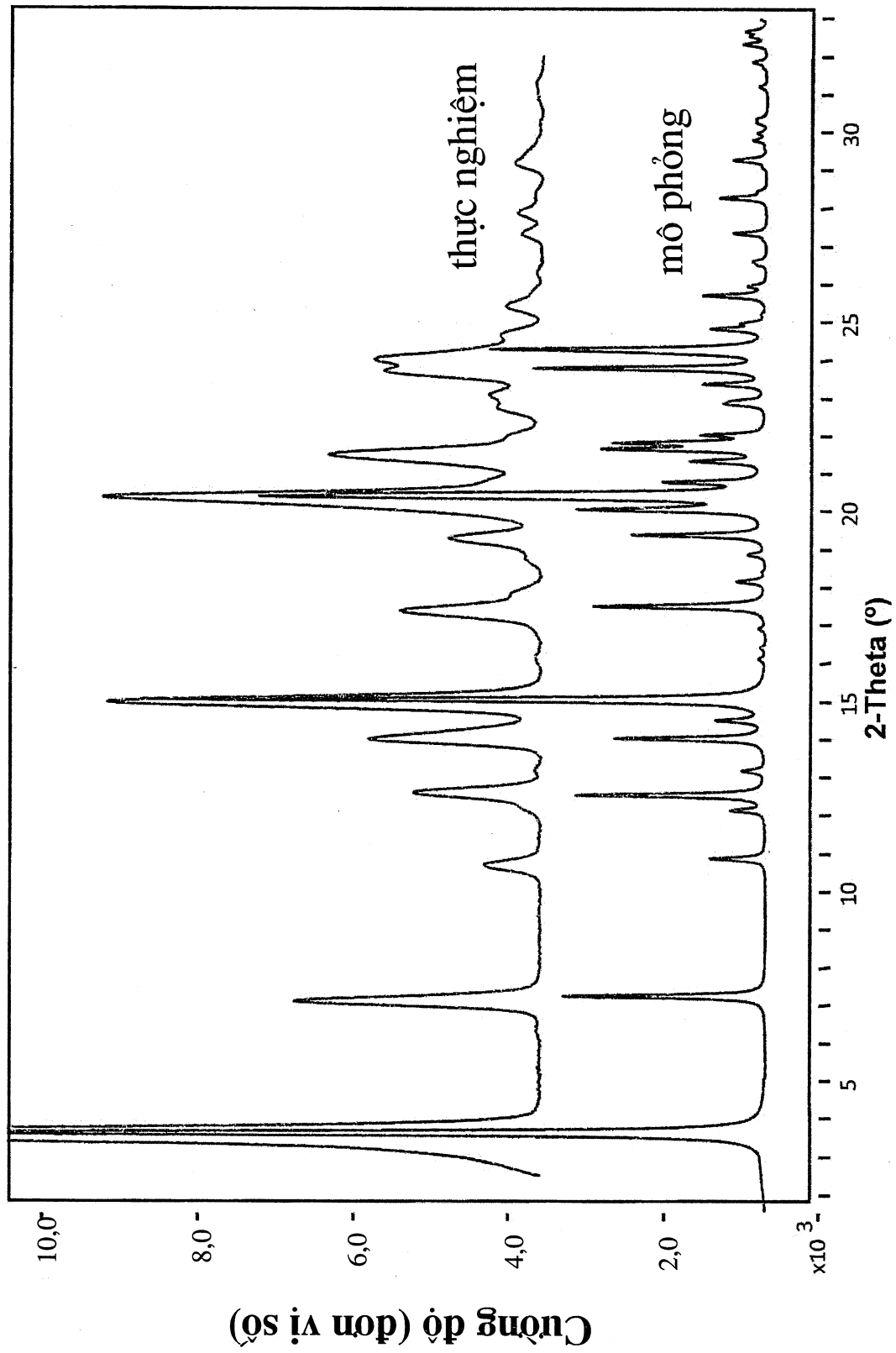


FIG. 2

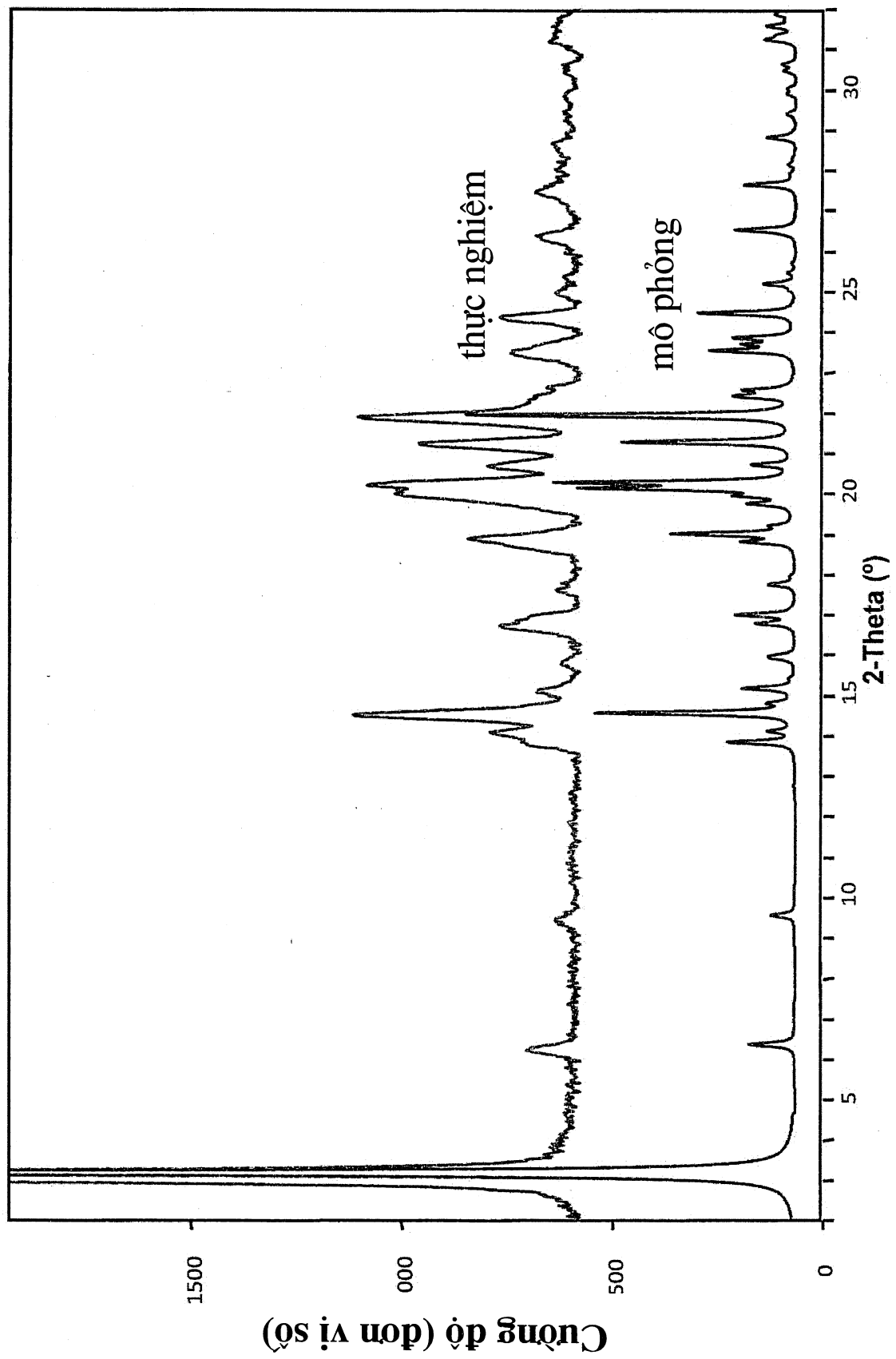


FIG. 3

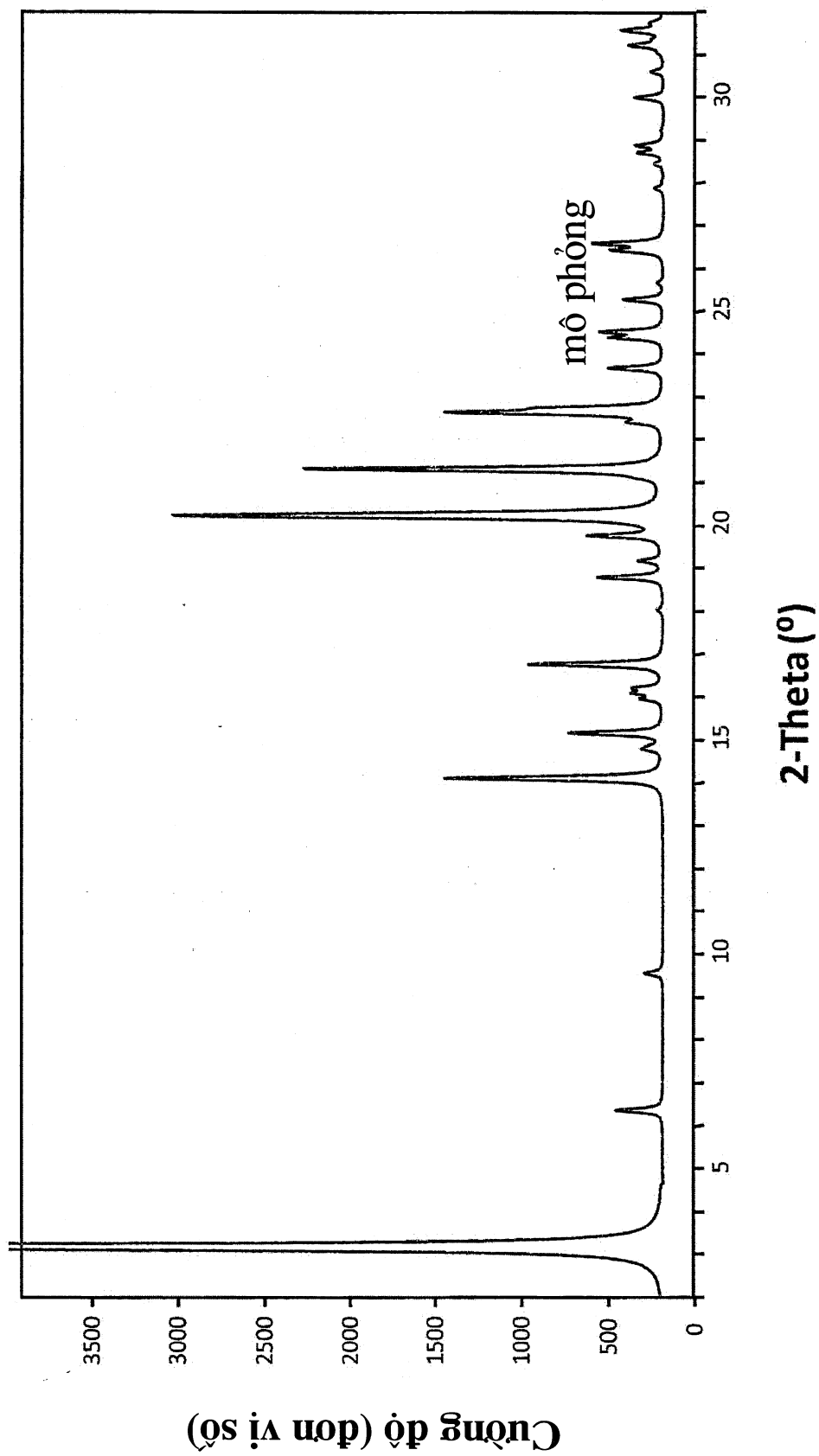


FIG. 4

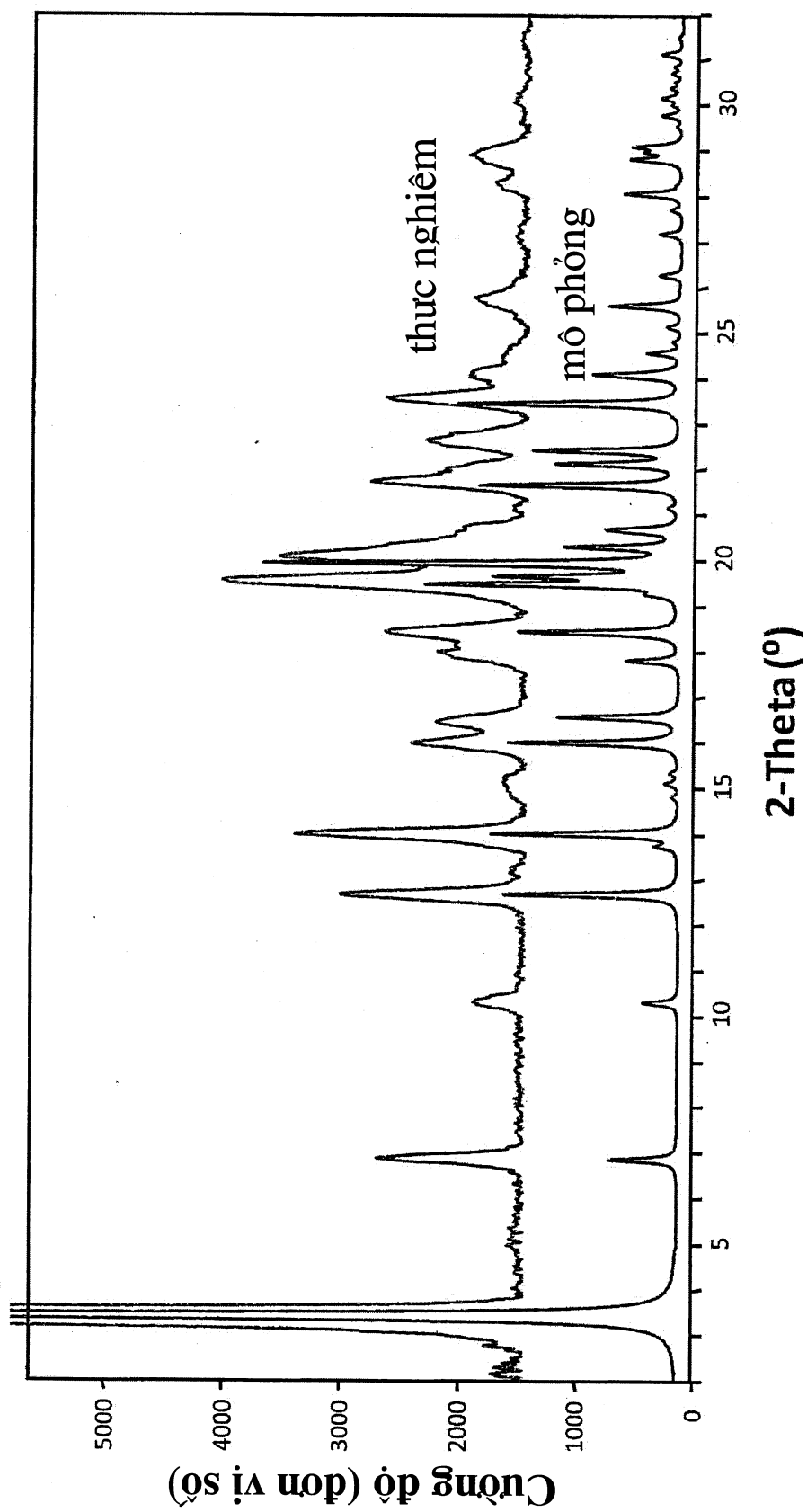


FIG. 5

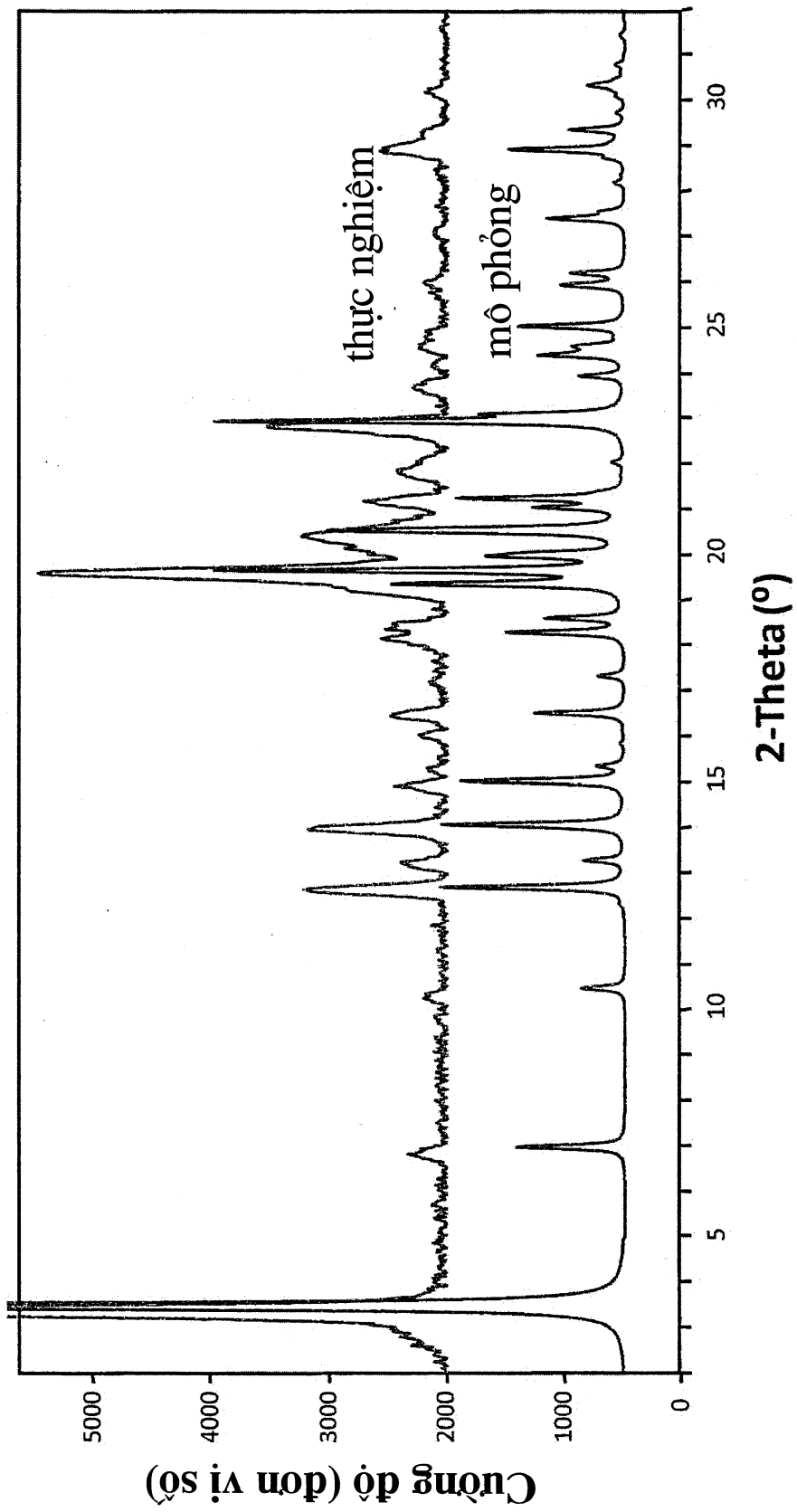


FIG. 6

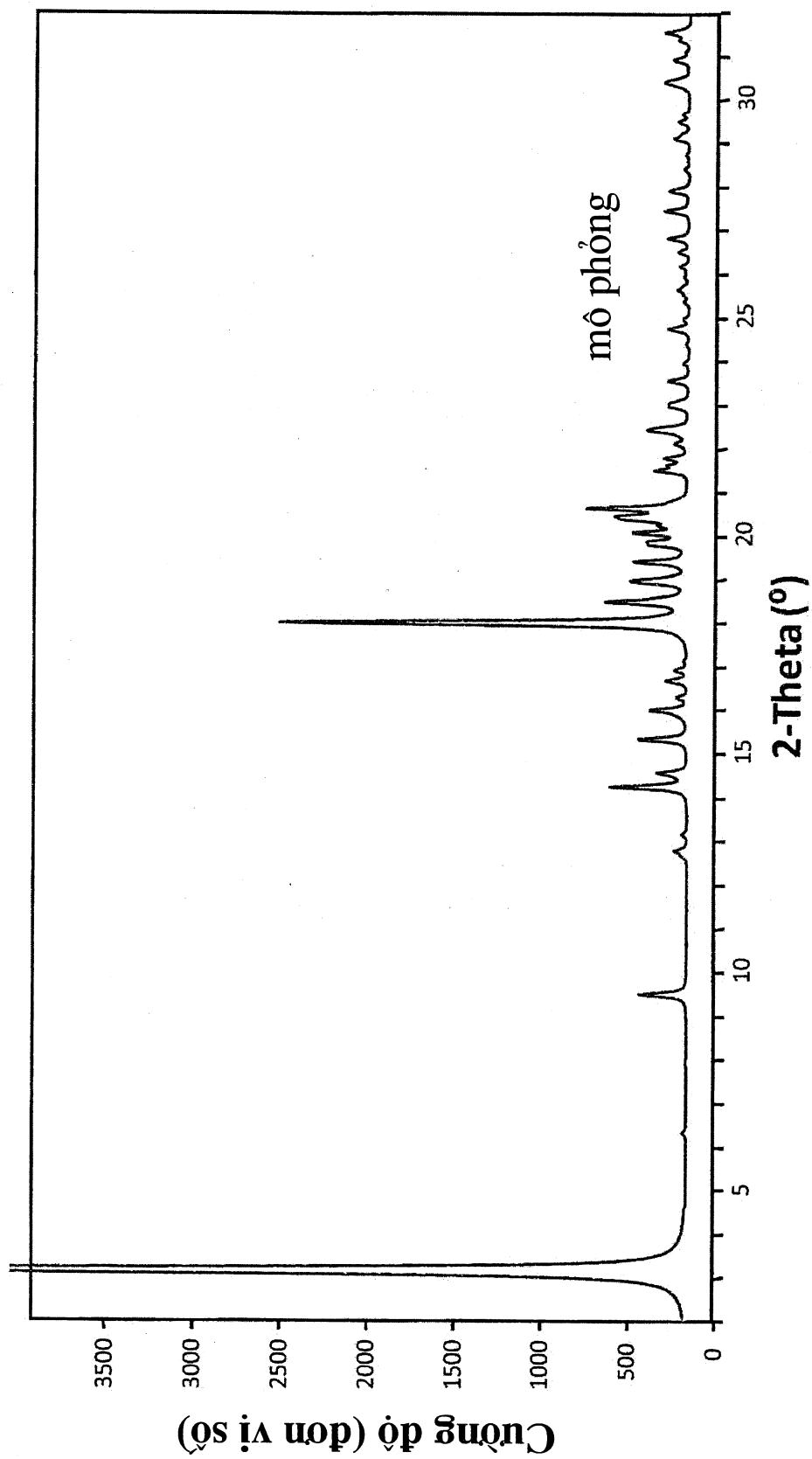


FIG. 7

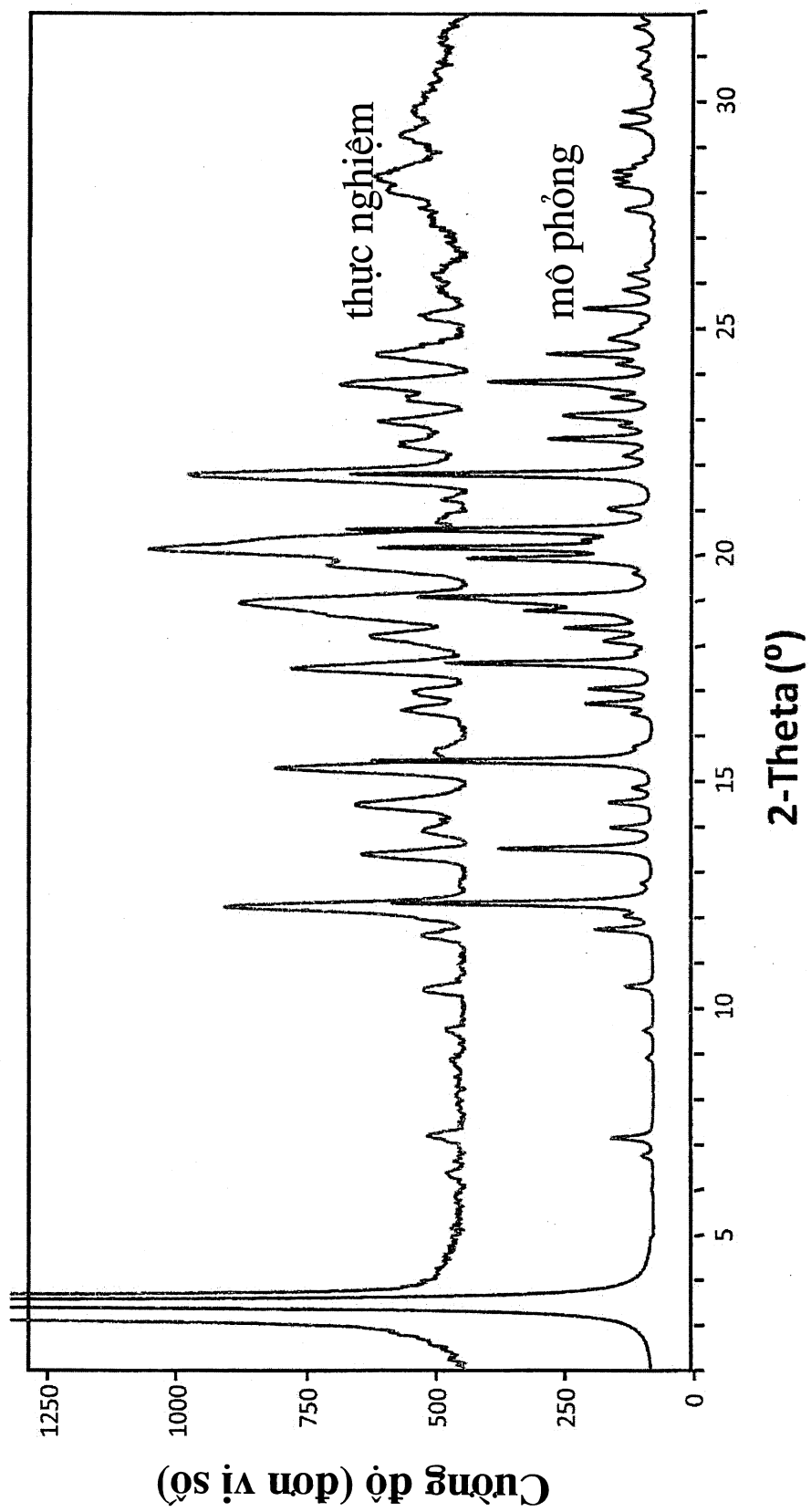


FIG. 8

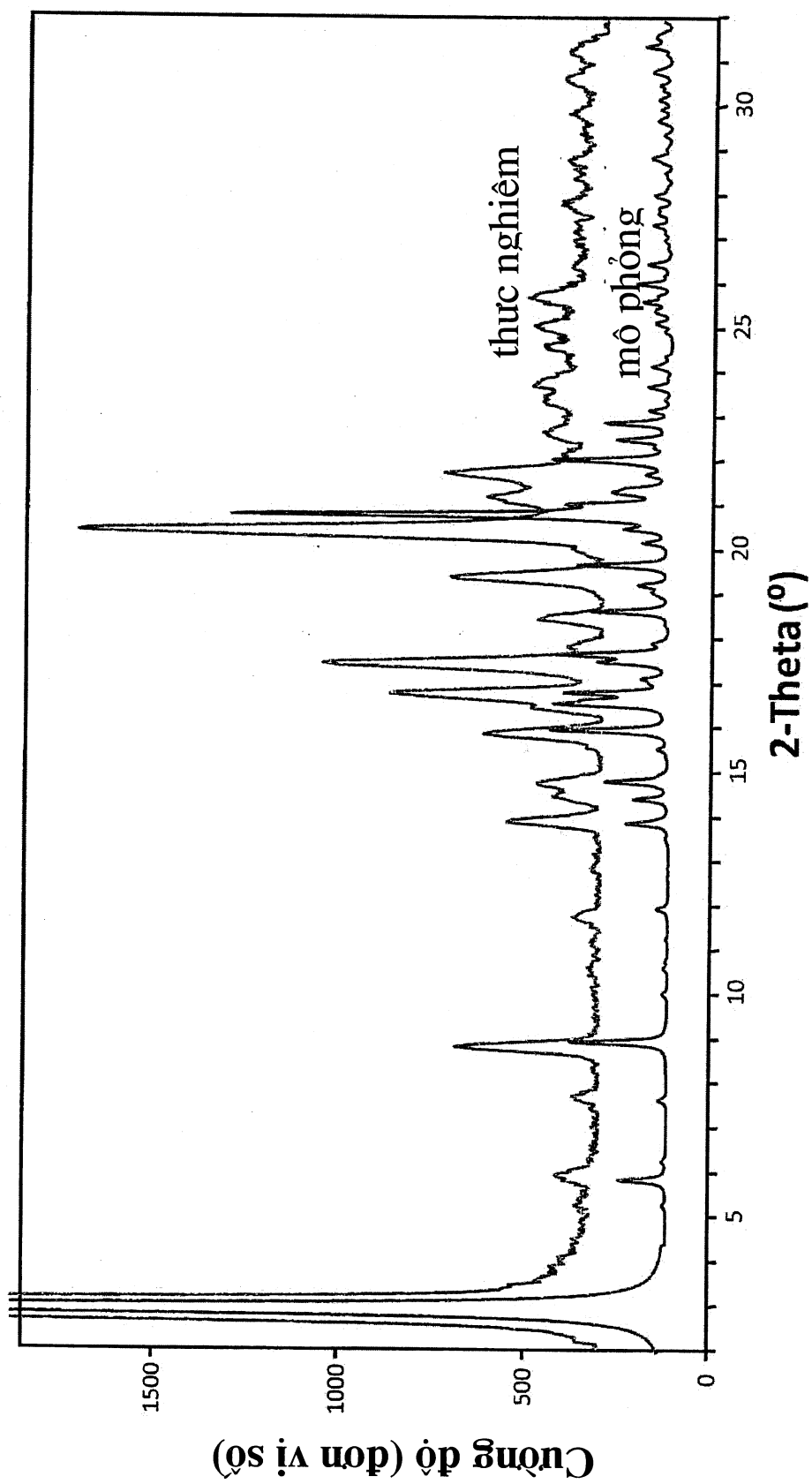


FIG. 9

