



(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)



1-0026476

(51)<sup>7</sup> C07D 405/14; A61K 31/4025; A61P 25/28 (13) B

- 
- (21) 1-2016-04563 (22) 27/04/2015  
(86) PCT/EP2015/058998 27/04/2015 (87) WO 2015/165833 A1 05/11/2015  
(30) 1407506.3 29/04/2014 GB  
(45) 25/11/2020 392 (43) 25/04/2017 349A  
(73) GlaxoSmithKline Intellectual Property Development Limited (GB)  
980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, United Kingdom  
(72) DENIS, Alexis (FR); MIRGUET, Olivier (FR); TOUM, Jérôme (FR).  
(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)
- 

(54) HỢP CHẤT (2R,2'R)-BIS((((TETRAHYDRO-2H-PYRAN-4-YL)OXY)CARBONYL)OXY)METYL)-1,1'-ADIPOYLBIS(PYROLIDIN-2-CARBOXYLAT), DƯỢC PHẨM VÀ KIT CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)carbonyl)oxy)methyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) và dược phẩm chứa hợp chất này để điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ thành phần amyloid P trong huyết thanh (Serum Amyloid P component - SAP) là có lợi, bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

### Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)carbonyl)oxy)methyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat), dược phẩm và kit chứa hợp chất này để điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ thành phần amyloid P trong huyết thanh (serum amyloid P component - SAP) là có lợi.

### Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thành phần amyloid P trong huyết thanh (SAP) là glycoprotein cấu thành huyết tương, không phải dạng sợi, có cấu trúc thẳng bất biến có thể hoà tan, khối lượng phân tử là 127310 Da, chỉ được tạo ra bởi gan. Nó được cấu thành từ 5 đơn vị nhỏ (protomer) giống nhau có khối lượng 25462 Da được liên kết không cộng hóa trị với cấu trúc cân đối pentam dạng vòng theo cấu hình giống hình đĩa. Mỗi tiểu đơn vị, bao gồm nếp gấp  $\beta$ -jellyroll được làm phẳng, với các vòng được thắt chặt nối với sợi  $\beta$ , chứa duy nhất một vị trí gắn kết phối tử phụ thuộc canxi trên mặt (gắn kết) phẳng B của cấu trúc pentam nguyên vẹn. SAP gắn kết với tất cả các kiểu sợi nhỏ amyloid với ái lực cao được tạo ra từ các tương tác đa trị. Sự tương tác phụ thuộc canxi nghiêm ngặt này là nguyên nhân dẫn đến sự có mặt phổ biến của SAP người trong tất cả các khối kết tụ của tất cả các loại amyloid người, và do đó trong tên gọi của protein này, P là viết tắt của huyết tương (plasma), nguồn chứa thành phần amyloid này. Ngoài khả năng gắn kết phụ thuộc canxi đặc hiệu với các phối tử cụ thể, đặc tính quan trọng của SAP người là bản thân protein này thực chất chống lại sự phân giải protein. Sự gắn kết mãnh liệt của nó với sợi amyloid làm ổn định lẫn nhau, bảo vệ rất tốt sợi amyloid này chống lại sự phân giải protein và sự thoái biến thực bào *in vitro* (tài liệu số 1) và góp phần đáng kể vào sự ổn định amyloid *in vivo* (tài liệu số 2). Phát hiện này làm nền tảng cho việc xác nhận SAP là đích trị liệu cho bệnh

thoái hóa dạng tinh bột (MB Pepys và TL Blundell, patent Mỹ số US 6,126,918, ngày 3 tháng 10 năm 2000). Ngoài ra, sự gắn kết của SAP với sợi amyloid mới sinh đẩy mạnh sự tạo sợi amyloid nhỏ (tài liệu từ 3 đến 5). Đơn xin cấp patent châu Âu số EP 0915088 bộc lộ hợp chất mà là chất ức chế cạnh tranh sự gắn kết SAP với sợi amyloid, và phương pháp sản xuất các hợp chất này. Một trong số các hợp chất được bộc lộ trong đơn đó là axit (R)-1-[6-[(R)-2-carboxy-pyrrolidin-1-yl]-6-oxo-hexanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic (CPHPC).

Việc sử dụng các phối tử hóa trị hai có cấu trúc đối xứng nghịch đảo này cho SAP làm mất nhanh và hầu như hoàn toàn SAP khỏi quá trình tuần hoàn khi các hợp chất này được sử dụng (tài liệu 6, 7), như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2003/013508, patent Mỹ số US 7,045,499; patent Mỹ số US 7,691,897; và patent Mỹ số US 8,173,694. Việc điều trị này còn làm giảm mức SAP liên quan đến sự kết tụ amyloid nhưng không loại bỏ hoàn toàn tất cả SAP (tài liệu 7).

Amyloid là chất kết tụ ngoại bào không tan bất thường, được cấu thành chủ yếu từ các sợi protein đặc trưng (tài liệu 8) cùng với rất nhiều các proteoglycan và glycosaminoglycan. Khoảng 25 protein khác nhau hình cầu, tan tự nhiên, không có mối liên quan tạo thành sợi amyloid mà gây ra các loại thoái hóa dạng tinh bột hệ thống khác nhau nhưng tất cả các sợi amyloid có hình thái học rất giống nhau và cấu trúc lõi  $\beta$  chéo giống nhau. Cấu trúc này gắn kết lẫn lượt với phân tử tạo màu đỏ Congo mà tạo ra lưỡng chiết quang màu đỏ-xanh đặc trưng của bệnh dưới điều kiện ánh sáng phân cực chéo mạnh: tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán amyloid. Một số protein huyết tương nhất định không phải dạng sợi tan được có thể có mặt trong khối kết tụ amyloid nhưng chỉ một loại, thành phần amyloid P trong huyết thanh, là phổ biến trong tất cả các khối kết tụ amyloid người do việc gắn kết phụ thuộc canxi đặc hiệu, mạnh với tất cả các loại sợi amyloid.

Khối kết tụ amyloid phá hủy cấu trúc và chức năng của các mô và cơ quan bị ảnh hưởng, gây ra bệnh rất nguy hiểm, bệnh thoái hóa dạng tinh bột. Bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống là tình trạng bệnh lý nguy hiểm và hiếm

gặp do sự kết tụ amyloid gây ra mà có thể có mặt trong mô liên kết và thành mạch máu trong toàn bộ cơ thể, cũng như nhu mô của các cơ quan chính, nhưng không có mặt trong vật chất ở não. Đối với bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ, khối kết tụ amyloid bị giữ lại ở một vị trí của cơ thể hoặc hệ mô/cơ quan duy nhất. Bệnh mạch máu amyloid ở não, với sự kết tụ amyloid bị giữ lại trong thành mạch máu não, là dạng chính và phổ biến nhất của bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ. Bệnh này là nguyên nhân chính dẫn đến sự xuất huyết trong não ở cả bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer bị mất trí và những người không bị mất trí, và do đó là nguyên nhân chủ yếu gây ra chứng mất trí theo đúng nghĩa của nó.

Việc điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống bằng CPHPC làm mất hầu như hoàn toàn SAP tuần hoàn khi thuốc này được sử dụng nhưng không loại bỏ toàn bộ SAP gắn kết với khối kết tụ amyloid (tài liệu 7). Bệnh nhân có trạng thái lâm sàng ổn định trong khi được điều trị, không xuất hiện khối kết tụ amyloid mới, và chức năng cơ quan của người bệnh được duy trì mà không có sự thoái hóa amyloid, có lẽ là do việc không loại bỏ hoàn toàn SAP gắn kết với amyloid. Vì khối kết tụ amyloid trong mô là nguyên nhân chính gây bệnh, nên kỳ vọng là chúng được loại trừ. Nhu cầu trị liệu chưa được đáp ứng này chính là cơ sở để tạo ra sáng chế với phương pháp mới để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột, trong đó SAP gắn kết với khối kết tụ amyloid được sử dụng làm đích cho kháng thể kháng SAP người. Kháng thể này có thể không được sử dụng một cách an toàn hoặc có hiệu quả đối với bệnh nhân có lượng tuần hoàn SAP bình thường vì kháng thể này sẽ gắn kết với SAP trong huyết tương, tạo ra phức hợp miễn dịch phá hủy mô, và kháng thể này có thể bị sử dụng hết trong quá trình này khiến cho chúng không thể gắn kết với SAP trong amyloid. Tuy nhiên, trước khi sử dụng CPHPC để loại trừ SAP khỏi vòng tuần hoàn sao cho kháng thể kháng SAP có thể được truyền một cách an toàn và duy trì khả năng gắn kết với SAP còn lại trong khối kết tụ amyloid. Việc gắn kết kháng thể này với SAP liên quan đến amyloid hoạt hóa hệ thống bổ thể và ghép đại thực bào với phagocytosis và phá hủy khối kết tụ amyloid để tạo ra hiệu quả lâm sàng.

Công bố đơn quốc tế số WO2009/000926 bộc lộ việc sử dụng hợp chất mà loại trừ SAP khỏi vòng tuần hoàn được sử dụng kết hợp với kháng thể đặc hiệu với SAP để có thể điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Công bố đơn quốc tế số WO2009/155962 bộc lộ kháng thể đơn dòng chuột Abp1 và mô tả dữ liệu gắn kết và hiệu quả điều trị của các kháng thể đơn dòng chuột khác nhau mà có thể sử dụng kết hợp với hợp chất mà loại trừ SAP khỏi vòng tuần hoàn để có thể sử dụng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Công bố đơn quốc tế số WO2011/107480 bộc lộ protein gắn kết kháng nguyên, cụ thể là kháng thể được làm giống kháng thể người, đặc hiệu đối với SAP và khả năng sử dụng chúng trong việc điều trị bệnh liên quan đến sự kết tụ amyloid.

Ngoài tình trạng bệnh lý lâm sàng hiếm gặp của bệnh thoái hóa dạng tinh bột, mà bị gây ra trực tiếp rõ rệt bởi sự kết tụ amyloid ngoại bào làm phá vỡ cấu trúc và chức năng mô, khối kết tụ amyloid còn có mặt ở hai bệnh rất phổ biến và nghiêm trọng: bệnh Alzheimer và bệnh đái tháo đường typ 2. Ở bệnh đái tháo đường typ 2, khối kết tụ amyloid có cấu trúc tế vi, lần lượt bị giữ lại trong não và đảo Langherhans, và chưa xác định được liệu rằng hay bằng cách nào mà chúng có thể lần lượt tham gia vào sinh bệnh học của bệnh thoái hóa thần kinh và đái tháo đường. Do đó, bệnh Alzheimer và bệnh đái tháo đường typ 2 không thể được phân loại như là dạng của bệnh thoái hóa dạng tinh bột mà chúng nên được xem là bệnh liên quan đến amyloid. Tuy nhiên, khối kết tụ amyloid luôn có mặt ở các bệnh này và khối kết tụ này cũng luôn chứa SAP (tài liệu từ 15 đến 19). Não ở bệnh Alzheimer còn chứa dạng khác của khối kết tụ protein dạng sợi bất thường không hòa tan, còn được gọi là đám rối thần kinh sợi, và SAP gắn kết mạnh mẽ với chúng, như nó gắn kết mạnh mẽ với amyloid (tài liệu từ 15 đến 19). Đám rối thần kinh sợi chứa SAP, nhưng không chứa amyloid, có mặt trong não ở các dạng khác của bệnh mất trí, bao gồm bệnh mất trí trán-thái dương.

Ngoài ra và hoàn toàn độc lập với vai trò của nó trong bệnh thoái hóa dạng tinh bột, SAP người gắn kết với và đi vào tế bào thần kinh não và gây ra sự chết tế bào thần kinh theo chương trình *in vitro* và *in vivo* (tài liệu từ 9 đến 13).

Đã chỉ ra rằng chỉ có SAP người tinh khiết ở cấp độ được (tài liệu 14) mới phá vỡ sự dẫn truyền qua sinap, điều này gây ra tỷ lệ xung theo cặp bất thường và làm tăng tiềm lực kéo dài ở lớp cắt não của loài gặm nhấm sinh trưởng tạo cơ quan *in vitro*.

Do đó, độc tố thần kinh não của SAP người có khả năng tham gia vào bệnh thoái hóa thần kinh ở người (tài liệu từ 9 đến 12, 20). Thực tế là hầu hết các yếu tố nguy cơ phổ biến của bệnh mất trí làm tăng sự tiếp xúc của não với SAP là phù hợp với quan niệm này. Do đó, độ tuổi, yếu tố nguy cơ chính, là có liên quan đến sự tiếp xúc kéo dài của não lão hóa với mức SAP bình thường, trong khi đó các yếu tố nguy cơ chính của chấn thương đầu không xâm nhập và tình trạng xuất huyết não khiến cho máu chảy vào não, làm tăng đột ngột mức SAP trong não. Đối với bệnh Alzheimer, mức SAP trong não cao bất thường do sự gắn kết của nó với khối kết tụ amyloid và đám rối thần kinh sợi (tài liệu 15 đến 19). Điều này cũng có thể xảy ra ở các bệnh mất trí khác có đám rối thần kinh sợi nhưng không có khối kết tụ amyloid. Quan trọng là, mức SAP trong não của bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer gây mất trí được báo cáo là cao hơn so với người cao tuổi mà vẫn nhận thức tốt khi qua đời, với việc có hoặc không có các mảnh và mớ rối cùng tồn tại khi mổ tử thi (tài liệu 20). Sự tương quan dương đáng kể giữa mức SAP trong não với bệnh mất trí (tài liệu 20) là phù hợp với vai trò gây bệnh của SAP.

Mức SAP trong dịch não tủy và liên kết với khối kết tụ amyloid trong não và đám rối thần kinh sợi là thấp hơn một cách đáng kể so với trong dịch ngoại bào toàn thân và trên khối kết tụ amyloid toàn thân. Sự giảm SAP trong huyết tương bằng CPHPC, từ bình thường là 20-50mg/L xuống <0,1mg/L, làm giảm lượng CSF SAP từ 2-30 µg/L xuống <0,1 µg/L ở bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer (tài liệu 21). SAP người chỉ được tạo ra bởi gan và di chuyển đến não nhờ máu (tài liệu 22). Do đó, việc điều trị bằng CPHPC loại trừ hầu như hoàn toàn SAP khỏi dịch não tủy và, vì sự gắn kết SAP có thể đảo ngược hoàn toàn, sẽ tiếp tục loại trừ nó ra khỏi khối kết tụ amyloid trong não và đám rối thần kinh sợi. Ngoài ra, đối với bệnh nhân mắc Alzheimer, CPHPC đi vào dịch não tủy

(tài liệu 21) nơi mà nó còn có thể phong bế sự gắn kết của SAP tự do bất kỳ với sợi amyloid, đám rối thần kinh sợi và tế bào thần kinh não. Tất cả các loại sợi amyloid đều có thể bị thoái biến bằng proteaza và tế bào thực bào *in vitro* (tài liệu 1), và khối kết tụ amyloid toàn thân tự thoái hóa chậm *in vivo* nếu độ giàu protein tiền chất sợi tương ứng của chúng đủ giảm (tài liệu 8). Do đó, cơ chế thanh thải amyloid diễn ra *in vivo*. Bản thân SAP người được xác định là gây độc thần kinh (tài liệu từ 9 đến 13), độc lập với việc gắn kết với amyloid, cho thấy lợi ích trực tiếp, bổ sung và tiềm năng của việc loại trừ SAP.

Tất cả các protein huyết tương đều đi vào trong khớp bị tổn thương hoặc bị bệnh *in vivo* nhưng ở bệnh nhân mắc các dạng bệnh khớp khác nhau, có thể quan sát được sự hấp thu SAP được đánh dấu phóng xạ ở một số khớp mà không có sự tràn dịch có thể phát hiện được về mặt lâm sàng. Ngoài ra, mức SAP trong dịch tràn hoạt dịch về cơ bản là thấp hơn lượng được dự tính từ kích thước phân tử của SAP, điều này cho thấy rằng SAP được hiển thị xạ hình là không ở dạng tự do trong dung dịch mà liên kết thực sự với cấu trúc rắn bên trong khớp. Màng hoạt dịch, sụn khớp và/hoặc bao khớp của người già thường chứa khối kết tụ amyloid tế vi, liên quan đến độ tuổi hơn là đến mức độ hoặc sự nghiêm trọng của bệnh viêm xương khớp mãn tính (thoái hóa khớp), và các khối kết tụ này có thể giải thích cho sự định vị của SAP. SAP còn gắn kết mạnh mẽ, *in vivo* cũng như *in vitro*, với ADN và sợi nhiễm sắc (chromatin) đã phơi nhiễm, và với tế bào chết theo chương trình. Do đó, sự chết tế bào gia tăng trong khớp của người bệnh viêm xương khớp mãn tính có thể tạo ra phối tử cho sự kết tụ SAP. Công bố đơn quốc tế số WO2004/108131 bộc lộ việc điều trị cho bệnh nhân bị viêm xương khớp mãn tính bằng cách tiêm CPHPC (axit (R)-1-[6-[(R)-2-carboxypyrolidin-1-yl]-6-oxo-hexanoyl]pyrolidin-2-carboxylic) để làm thuyên giảm triệu chứng của bệnh viêm xương khớp mãn tính.

SAP người gắn kết mạnh mẽ với tất cả các dạng ADN tự do và cả các sợi nhiễm sắc, cả *in vitro* lẫn *in vivo*. Thực tế SAP là protein huyết tương người bình thường duy nhất gắn kết đặc hiệu trong tương tác phụ thuộc canxi với ADN (tài liệu 23, 24). Trái lại, SAP của một số loài khác, bao gồm chuột và ngựa, gắn

kết yếu, thậm chí không gắn kết với ADN, và chó và thỏ thậm chí không có gen SAP và do đó không tạo ra SAP. Việc tiêm chủng ADN, trong đó sự miễn dịch được tạo ra bằng cách tiêm ADN mã hóa cho chất kháng nguyên thay vì tiêm chính chất kháng nguyên, đã được tập trung nghiên cứu như là phương pháp kỳ vọng để tạo ra sự miễn dịch bảo vệ chống lại bệnh lây nhiễm và có thể dùng làm liệu pháp trị liệu miễn dịch tiềm năng đối với bệnh ung thư. Tuy nhiên, mặc dù việc tiêm chủng ADN là hiệu quả với chuột, chó, thỏ và ngựa, nó không đủ hiệu quả cho người cũng như bò, mà giống như người có SAP gắn kết mạnh mẽ với ADN. Ở những loài mà việc tiêm chủng ADN có hiệu quả, SAP không gắn kết với ADN hoặc không có mặt. Ngoài ra, thử nghiệm ở chuột có biểu hiện chuyển gen SAP người và sử dụng CPHPC để loại trừ nó, khẳng định rằng sự có mặt của SAP người kìm hãm hiệu quả của việc tiêm chủng ADN (tài liệu 25, 26) .

SAP gắn kết với một số loài vi khuẩn nhưng không gắn kết với các loài khác. Đối với vi khuẩn gây bệnh mà SAP gắn kết, SAP có tác dụng kháng opsonin rất mạnh *in vitro* và *in vivo*, làm giảm sự thực bào và tiêu diệt vi sinh vật và do đó, bảo vệ chúng khỏi hệ miễn dịch bẩm sinh của vật chủ (tài liệu 27). Tác dụng này, mà hoạt hóa tính lây nhiễm và độc lực, được loại bỏ bằng cách sử dụng CPHPC để ức chế sự gắn kết của SAP vào vi khuẩn (tài liệu 27). SAP còn có mặt liên kết với bề mặt của tế bào nấm trong mô của bệnh nhân mắc bệnh nấm candidi xâm lấn (tài liệu 28). Sự gắn kết này cho thấy sự có mặt của sợi amyloid, được tạo ra từ protein nấm, trên bề mặt của vi sinh vật gây bệnh (tài liệu 28).

CPHPC có hiệu quả dược lý nhưng nó có độ sinh khả dụng đường miệng thay đổi và rất thấp, vào khoảng 3-5% và do đó chỉ được sử dụng ngoài đường tiêu hóa bằng cách tiêm truyền trong tĩnh mạch hoặc tiêm dưới da là tối ưu để đạt được sự loại trừ SAP mong muốn. Tuy nhiên, hầu hết các chỉ định hiện có và hữu hiệu về loại trừ SAP trong trị liệu đòi hỏi việc sử dụng trong thời gian dài. Việc tiêm trong tĩnh mạch trong thời gian dài là không thực tế. Mặc dù việc sử dụng dưới da trong thời gian dài là có thể thực hiện được, việc tiêm có thể

gây ra cảm giác nhức nhối khó chịu và điều này không thích hợp với một số bệnh nhân (tài liệu 7).

Công bố đơn quốc tế số WO2003/051836 bộc lộ tiền dược chất D-prolin hữu ích để điều trị bệnh trong đó việc loại trừ SAP có tác dụng có lợi. Công bố này mô tả 25 ví dụ về tiền chất thu được dưới dạng dầu; chỉ 5 trong số chúng là có dạng rắn. Trong tiến trình xét nghiệm đơn tại Cơ quan sáng chế châu Âu, đơn tách từ đơn châu Âu đồng dạng với công bố đơn quốc tế số WO2003/051836 đã được nộp với bộ yêu cầu bảo hộ đề cập đến hợp chất 1-(2,2-dimethyl-propionyloxy)-ethyl este của axit (R)-1-(6-{(R)-2-[1-(2,2-dimethyl-propionyloxy)-etoxycarbonyl]-pyrrolidin-1-yl}-6-oxo-hexanoyl)-pyrrolidin-2-carboxylic. Tại thời điểm nộp đơn, tập đoàn công ty GlaxoSmithKline (Glaxo Group Limited) có thỏa thuận hợp tác nghiên cứu và chuyển giao quyền sử dụng với Pentraxin Therapeutics Limited bao gồm việc chuyển giao quyền sử dụng đối với đơn sáng chế Châu Âu số EP 0915088 và công bố đơn quốc tế số WO2003/051836, và các đơn đồng dạng của chúng.

Do đó, có nhu cầu thực sự đối với hợp chất mà có thể tạo ra CPHPC với lượng có thể loại trừ SAP một cách hiệu quả sau khi được sử dụng theo đường miệng, đồng thời có tính chất hóa lý thích hợp cho việc phát triển dược phẩm.

Tài liệu trích dẫn

1. Tennent, G.A., Lovat, L.B. and Pepys, M.B. (1995) Serum amyloid P component prevents proteolysis of the amyloid fibrils of Alzheimer's disease and systemic amyloidosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 4299-4303.
2. Botto, M., Hawkins, P.N., Bickerstaff, M.C.M., Herbert, J., Bygrave, A.E., McBride, A., Hutchinson, W.L., Tennent, G.A., Walport, M.J. and Pepys, M.B. (1997) Amyloid deposition is delayed in mice with targeted deletion of the serum amyloid P component gene. *Nature Med.*, 3: 855-859,
3. Hamazaki, H. (1995) Amyloid P component promotes aggregation of Alzheimer's b-amyloid peptide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 211: 349-353.

4. Myers, S.L., Jones, S., Jahn, T.R., Morten, I.J., Tennent, G.A., Hewitt, E.W. and Radford, S.E. (2006) A systematic study of the effect of physiological factors on b2-microglobulin amyloid formation at neutral pH. *Biochemistry*, 45: 2311-2321.
5. Mold, M., Shrive, A.K. and Exley, C. (2012) Serum amyloid P component accelerates the formation and enhances the stability of amyloid fibrils in a physiologically significant under-saturated solution of amyloid-b42. *Journal of Alzheimer's Disease*, 29: 875-881.
6. Pepys, M.B., Herbert, J., Hutchinson, W.L., Tennent, G.A., Lachmann, H.J., Gallimore, J.R., Lovat, L.B., Bartfai, T., Alanine, A., Hertel, C., Hoffmann, T., Jakob-Roetne, R., Norcross, R.D., Kemp, J.A., Yamamura, K., Suzuki, M., Taylor, G.W., Murray, S., Thompson, D., Purvis, A., Kolstoe, S., Wood, S.P. and Hawkins, P.N. (2002) Targeted pharmacological depletion of serum amyloid P component for treatment of human amyloidosis. *Nature*, 417: 254-259,
7. Gillmore, J.D., Tennent, G.A., Hutchinson, W.L., Gallimore, J.R., Lachmann, H.J., Goodman, H.J.B., Offer, M., Millar, D.J., Petrie, A., Hawkins, P.N. and Pepys, M.B. (2010) Sustained pharmacological depletion of serum amyloid P component in patients with systemic amyloidosis. *Br. J. Haematol.*, 148: 760-767.
8. Pepys, M.B. (2006) Amyloidosis. *Annu. Rev. Med.*, 57: 223-241.
9. Urbányi, Z., Lakics, V. and Erdó, S.L. (1994) Serum amyloid P component-induced cell death in primary cultures of rat cerebral cortex. *Eur. J. Pharmacol.*, 270: 375-387.
10. Duong, T., Acton, P.J. and Johnson, R.A. (1998) The in vitro neuronal toxicity of pentraxins associated with Alzheimer's disease brain lesions. *Brain Res.*, 813: 303-312.
11. Urbányi, Z., Laszlo, L., Tomasi, T.B., Toth, E., Mekes, E., Sass, M. and Pazmany, T. (2003) Serum amyloid P component induces neuronal apoptosis and beta-amyloid immunoreactivity. *Brain Res.*, 988: 69-77.

12. Urbányi, Z., Sass, M., Laszy, J., Takacs, V., Gyertyan, I. and Pazmany, T. (2007) Serum amyloid P component induces TUNEL-positive nuclei in rat brain after intrahippocampal administration. *Brain Res.*, 1145: 221-226.
13. Pisalyaput, K. and Tenner, A.J. (2008) Complement component C1q inhibits b-amyloid- and serum amyloid P-induced neurotoxicity via caspase- and calpain-independent mechanisms. *J. Neurochem.*, 104: 696-707.
14. Pepys, M.B., Gallimore, J.R., Lloyd, J., Li, Z., Graham, D., Taylor, G.W., Ellmerich, S., Mangione, P.P., Tennent, G.A., Hutchinson, W.L., Millar, D.J., Bennett, G., More, J., Evans, D., Mistry, Y., Poole, S. and Hawkins, P.N. (2012) Isolation and characterization of pharmaceutical grade human pentraxins, serum amyloid P component and C-reactive protein, for clinical use. *J. Immunol. Methods*, 384: 92-102.
15. Duong, T., Pommier, E.C. and Scheibel, A.B. (1989) Immunodetection of the amyloid P component in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.*, 78: 429-437.
16. Kalaria, R.N., Galloway, P.G. and Perry, G. (1991) Widespread serum amyloid P immunoreactivity in cortical amyloid deposits and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease and other degenerative disorders. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 17: 189-201.
17. Kalaria, R.N., Golde, T.E., Cohen, M.L. and Younkin, S.G. (1991) Serum amyloid P component in Alzheimer's disease. Implications for dysfunction of the blood-brain barrier. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 640: 145-148.
18. Duong, T., Doucette, T., Zidenberg, N.A., Jacobs, R.W. and Scheibel, A.B. (1993) Microtubule-associated proteins tau and amyloid P component in Alzheimer's disease. *Brain Res.*, 603: 74-86.
19. Perlmuter, L.S., Barrón, E., Myers, M., Saperia, D. and Chui, H.C. (1995) Localization of amyloid P component in human brain: vascular staining patterns and association with Alzheimer's disease lesions. *J. Comp. Neurol.*, 352: 92-105.

20. Crawford, J.R., Bjorklund, N.L., Taglialatela, G. and Gomer, R.H. (2012) Brain serum amyloid P levels are reduced in individuals that lack dementia while having Alzheimer's disease neuropathology. *Neurochem. Res.*, 37: 795-801.
21. Kolstoe, S.E., Ridha, B.H., Bellotti, V., Wang, N., Robinson, C.V., Crutch, S.J., Keir, G., Kukkastenvemas, R., Gallimore, J.R., Hutchinson, W.L., Hawkins, P.N., Wood, S.P., Rossor, M.N. and Pepys, M.B. (2009) Molecular dissection of Alzheimer's disease neuropathology by depletion of serum amyloid P component. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106: 7619-7623.
22. Hawrylycz, M.J., Lein, E.S., Guillozet-Bongaarts, A.L., Shen, E.H., Ng, L., Miller, J.A., van de Lagemaat, L.N., Smith, K.A., Ebbert, A., Riley, Z.L., Abajian, C., Beckmann, C.F., Bernard, A., Bertagnolli, D., Boe, A.F., Cartagena, P.M., Chakravarty, M.M., Chapin, M., Chong, J., Dalley, R.A., Daly, B.D., Dang, C., Datta, S., Dee, N., Dolbeare, T.A., Faber, V., Feng, D., Fowler, D.R., Goldy, J., Gregor, B.W., Haradon, Z., Haynor, D.R., Hohmann, J.G., Horvath, S., Howard, R.E., Jeromin, A., Jochim, J.M., Kinnunen, M., Lau, C., Lazarz, E.T., Lee, C., Lemon, T.A., Li, L., Li, Y., Morris, J.A., Overly, C.C., Parker, P.D., Parry, S.E., Reding, M., Royall, J.J., Schulkin, J., Sequeira, P.A., Slaughterbeck, C.R., Smith, S.C., Sodt, A.J., Sunkin, S.M., Swanson, B.E., Vawter, M.P., Williams, D., Wohnoutka, P., Zielke, H.R., Geschwind, D.H., Hof, P.R., Smith, S.M., Koch, C., Grant, S.G.N. and Jones, A.R. (2012) An anatomically comprehensive atlas of the adult human brain transcriptome. *Nature*, 489: 391-399,
23. Pepys, M.B. and Butler, P.J.G. (1987) Serum amyloid P component is the major calcium-dependent specific DNA binding protein of the serum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 148: 308-313.
24. Butler, P.J.G., Tennent, G.A. and Pepys, M.B. (1990) Pentraxin-chromatin interactions: serum amyloid P component specifically displaces H1-type histones and solubilizes native long chromatin. *J. Exp. Med.*, 172: 13-18.

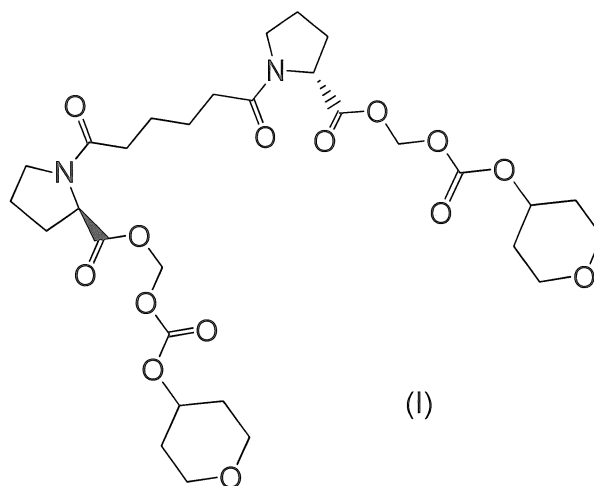
25. Wang, Y., Guo, Y., Wang, X., Huang, J., Shang, J. and Sun, S. (2011) Human serum amyloid P functions as a negative regulator of the innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. *J. Immunol.*, 186: 2860-2870.
26. Wang, Y., Guo, Y., Wang, X., Huang, J., Shang, J. and Sun, S. (2011) Serum amyloid P component facilitates DNA clearance and inhibits plasmid transfection: implications for human DNA vaccine. *Gene Ther.*: [Epub ahead of print].
27. Noursadeghi, M., Bickerstaff, M.C.M., Gallimore, J.R., Herbert, J., Cohen, J. and Pepys, M.B. (2000) Role of serum amyloid P component in bacterial infection: protection of the host or protection of the pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 14584-14589,
28. Gilchrist, K.B., Garcia, M.C., Sobonya, R., Lipke, P.N. and Klotz, S.A. (2012) New features of invasive candidiasis in humans: amyloid formation by fungi and deposition of serum amyloid P component by the host. *J Infect Dis*, 206(9): 1473-1478.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) và dược phẩm chứa hợp chất này để điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ thành phần amyloid P trong huyết thanh là có lợi.

Các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra rằng hợp chất (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) có công thức (I) sau đây có tính chất hóa lý thích hợp dùng để phát triển dược phẩm và có thể tạo ra CPHPC với lượng có thể loại trừ SAP một cách hiệu quả sau khi được sử dụng theo đường miệng.

Theo đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) có công thức (I):



Sau đây, hợp chất có công thức (I) còn được gọi là “hợp chất theo sáng chế”.

Hợp chất theo sáng chế có tính chất hóa lý tốt và có thể tạo ra CPHPC với lượng có thể loại trừ SAP một cách hiệu quả sau khi được sử dụng theo đường miệng.

Hợp chất có công thức (I) có độ ổn định dung dịch theo độ pH và độ ổn định vi lap thể ruột tốt, và độ ổn định vi lap thể gan thấp, dễ dàng tạo ra CPHPC, cho thấy rằng hợp chất có công thức (I) dễ dàng tạo ra lượng tuần hoàn của CPHPC khi sử dụng liều theo đường miệng ở người. Hợp chất này còn không thể hiện bất kỳ tương tác nào với Cytochrome p450, cho thấy rằng hợp chất có công thức (I) không thể hiện tương tác thuốc-thuốc qua trung gian CYP450 (Drug-drug interactions - DDIs). Ngoài ra, hợp chất có công thức (I) có mức kết tinh cao, mà thuận lợi cho việc bào chế hoạt chất và sản xuất dược phẩm.

Việc sử dụng hợp chất với profin này có thể tạo ra các ưu điểm trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP (thành phần amyloid P trong huyết thanh) sẽ có lợi, ví dụ trong bệnh thoái hóa dạng tinh bột (bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống và bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ), bệnh Alzheimer, đái tháo đường typ II, bệnh viêm xương khớp mãn tính, nhiễm khuẩn, bệnh nấm candida xâm lấn và bệnh nhiễm nấm khác, và kết hợp với việc sử dụng vacxin ADN.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm, mà chứa hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này để loại trừ mức SAP tuần hoàn cho đối tượng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng trong việc điều trị bệnh trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này để sản xuất thuốc để sử dụng trong việc điều trị bệnh trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kit nhiều thành phần chứa một hoặc nhiều dược phẩm dạng liều chứa kháng thể kháng SAP (cụ thể là kháng thể được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2011/107480) và một hoặc nhiều dạng liều lượng của hợp chất có công thức (I).

#### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig.1 là quang phổ XRPD của hợp chất có công thức (I);

Fig.2 thể hiện sự thủy phân vật lý *in vitro* của hợp chất có công thức (I) trong dung dịch nước muối được đệm phosphat ở độ pH 6, 7, 7,5 và 8;

Fig.3 thể hiện độ ổn định vi lập thể đường ruột *in vitro* của hợp chất có công thức (I) trong vi lập thể người. “0/5/10/30/60 phút” dùng để chỉ thời gian (theo phút) mà mẫu được lấy ra từ hỗn hợp phân tích;

Fig.4 thể hiện độ ổn định trong máu *in vitro* của hợp chất có công thức (I) trong máu người. “0/5/10/30/60 phút” dùng để chỉ thời gian (theo phút) mà mẫu được lấy ra từ hỗn hợp phân tích;

Fig.5 thể hiện độ ổn định vi lặp thể gan *in vitro* của hợp chất có công thức (I) trong vi lặp thể gan người. “0/5/10/30/60 phút” dùng để chỉ thời gian (theo phút) mà mẫu được lấy ra từ hỗn hợp phân tích.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

#### **Định nghĩa**

Các thuật ngữ sau được dự định là có ý nghĩa như được mô tả sau đây và hữu dụng để hiểu phần mô tả và phạm vi của sáng chế.

“Dược dụng” có nghĩa là được phê chuẩn hoặc có thể được phê chuẩn bởi Cơ quan điều hành của Chính phủ liên bang Hoa Kỳ hoặc cơ quan tương đương ở các quốc gia khác không phải Hoa Kỳ (như Cơ quan quản lý sản phẩm y tế Châu Âu (European Medicines Agency - EMA)), hoặc có nghĩa như được liệt kê trong Dược điển Hoa Kỳ hoặc Dược điển châu Âu (Ph. Eur.).

“Lượng hữu hiệu điều trị” có nghĩa là lượng hợp chất mà, khi được sử dụng cho đối tượng để điều trị bệnh, là đủ để tạo ra hiệu quả điều trị đối với bệnh đó.

Thuật ngữ “kháng thể” được sử dụng với nghĩa rộng nhất để chỉ phân tử có vùng giống immunoglobulin và bao gồm kháng thể đơn dòng, kháng thể tái tổ hợp, kháng thể đa dòng, kháng thể khảm, kháng thể được làm giống kháng thể người, kháng thể người, kháng thể đa hiệu và kháng thể tiếp hợp đa loài; và mảnh gắn kết kháng nguyên. Kháng thể theo sáng chế hoạt hóa hệ bổ thể của người và/hoặc làm tiêu tan khối kết tụ amyloid.

Cần phải hiểu rằng phần mô tả liên quan đến “điều trị” bao gồm việc điều trị cấp tính hoặc phòng ngừa cũng như việc làm thuyên giảm triệu chứng xác định và/hoặc việc làm trì hoãn sự tiến triển của bệnh, và có thể bao gồm việc ngăn ngừa triệu chứng tái phát ở bệnh nhân không xuất hiện triệu chứng.

Thuật ngữ “kháng SAP” liên quan đến “kháng thể”, cụ thể là “kháng thể kháng SAP”, có nghĩa là kháng thể mà gắn kết với SAP người mà không hoặc có gắn kết không đáng kể với protein bất kỳ khác, kể cả các phân tử có liên quan mật thiết như protein phản ứng C (C-reactive protein - CRP).

Thuật ngữ “CDR” có nghĩa là vùng xác định bề mặt. CDR của kháng thể như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là CDR như được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đánh số CDR đã biết bất kỳ, bao gồm phương pháp Kabat, Chothia, AbM và tiếp xúc.

Thuật ngữ “SAP tuần hoàn” có nghĩa là SAP mà có mặt ở dạng tự do trong huyết tương *in vivo* và *in vitro* và không liên quan đến khối kết tụ amyloid trong mô.

#### Dược phẩm

Để sử dụng hợp chất có công thức (I) trong trị liệu, hợp chất này thường được bào chế thành dược phẩm theo phương pháp bào chế dược phẩm tiêu chuẩn.

Do đó, sáng chế đề cập đến dược phẩm, mà chứa hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

Sáng chế còn đề cập đến quy trình bào chế dược phẩm, quy trình này bao gồm bước trộn hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

Sáng chế còn đề cập đến dạng liều lượng chứa dược phẩm theo sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế, mà có thể được bào chế bằng cách trộn lẫn, thích hợp là ở nhiệt độ xung quanh và áp suất khí quyển, thường được làm thích ứng để sử dụng theo đường miệng và, vì thế, có thể ở dạng viên nén, viên nang, dược phẩm dạng lỏng dùng theo đường miệng, bột, hạt nhỏ, hoặc viên ngậm.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm để sử dụng theo đường miệng.

Viên nén và viên nang để sử dụng theo đường miệng có thể ở dạng liều đơn vị, và có thể chứa tá dược thông thường, như chất kết dính (ví dụ, tinh bột ngô được hồ hóa sơ bộ, polyvinylpyrrolidon hoặc hydroxypropyl methylxenluloza); chất độn (ví dụ, lactoza, xenluloza vi tinh thể hoặc canxi hydrophosphat); chất làm trơn tạo viên nén (ví dụ, magie stearat, đá talc hoặc silic oxit); chất gây rã (ví dụ, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột natri glycolat); và chất

tạo ẩm được dụng (ví dụ, natri lauryl sulfat). Viên nén có thể được bao theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực bào chế dược phẩm thông thường.

Dược phẩm dạng lỏng dùng theo đường miệng có thể ở dạng, ví dụ, hỗn dịch dạng dầu, dung dịch không chứa nước, nhũ tương, sirô hoặc cồn ngọt, hoặc có thể ở dạng sản phẩm khô để hoàn nguyên bằng chất dẫn thuốc chứa nước hoặc không chứa nước thích hợp ngay trước khi sử dụng. Dược phẩm dạng lỏng như vậy có thể chứa chất phụ gia thông thường như chất tạo huyền phù (ví dụ, sirô sorbitol, dẫn xuất xenluloza hoặc chất béo thực phẩm được hydro hóa), chất nhũ hóa (ví dụ, lexitin hoặc acacia), chất dẫn thuốc không chứa nước (mà có thể bao gồm dầu thực phẩm, ví dụ dầu hạnh nhân, este dầu, rượu etylic hoặc dầu thực vật được cắt phân đoạn), chất bảo quản (ví dụ, metyl hoặc propyl-p-hydroxybenzoat hoặc axit sorbic), và, nếu cần, chất tạo màu hoặc chất tạo hương vị thông thường, dung dịch muối đậm và chất làm ngọt thích hợp. Dược phẩm để sử dụng theo đường miệng có thể được bào chế một cách thích hợp để tạo ra sự giải phóng có kiểm soát hoạt chất.

Theo một phương án khác, dạng liều là viên nén hoặc viên nang.

Dược phẩm có thể chứa hoạt chất với lượng từ 0,1% đến 99% trọng lượng, tốt hơn là từ 10 đến 60% trọng lượng, phụ thuộc vào phương pháp sử dụng. Liều lượng hợp chất được sử dụng để điều trị rối loạn nêu trên sẽ thay đổi theo cách thông thường tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng của rối loạn, thể trọng của người bệnh, và các yếu tố tương tự khác. Tuy nhiên, theo hướng dẫn chung, liều đơn vị thích hợp có thể là 0,05 đến 5000mg, 1,0 đến 1000mg, hoặc 100 đến 600mg, ví dụ 100, 200 hoặc 300mg, và liều đơn vị này có thể được sử dụng nhiều hơn một lần mỗi ngày, ví dụ hai hoặc ba lần mỗi ngày. Việc điều trị như vậy có thể kéo dài trong nhiều ngày, nhiều tuần, nhiều tháng hoặc nhiều năm.

Sáng chế còn đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm để sử dụng trong trị liệu.

Do đó, hợp chất có công thức (I) được sử dụng trong việc điều trị bệnh trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế còn đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc được phẩm để loại trừ SAP.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng trong đó việc loại trừ SAP là có lợi, phương pháp này bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng trong đó việc loại trừ SAP là có lợi, phương pháp này bao gồm việc sử dụng được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp loại trừ SAP cho đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp loại trừ SAP cho đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Nhiều dạng bệnh xốp não truyền nhiễm (bệnh prion) liên quan đến khối kết tụ amyloid trong não, và do đó, sáng chế liên quan đến tất cả bệnh hoặc rối loạn này, bao gồm bệnh Creutzfeldt-Jakob biến thể ở người, bệnh Creutzfeldt-Jakob, bệnh Kuru (viêm não tiến triển chậm) và các dạng khác của bệnh prion ở người, và cả bệnh viêm não thể bọt biển ở bò, bệnh suy mòn mãn tính của nai tai lừa và nai sừng tấm, và bệnh não truyền nhiễm ở chồn vizon.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh viêm xương khớp mãn tính, bệnh lây nhiễm vi khuẩn, bệnh nấm candida xâm lấn, bệnh xốp não truyền nhiễm, bệnh Creutzfeld-Jakob biến thể ở người, bệnh Creutzfeld-Jakob, bệnh Kuru, bệnh prion khác ở người, bệnh viêm não thể bọt biển ở bò, bệnh suy mòn mãn tính của nai tai lừa và nai sừng tấm, và bệnh não truyền nhiễm ở chồn vizon, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh viêm xương khớp mãn tính, bệnh lây nhiễm vi khuẩn, bệnh nấm candida xâm lấn, bệnh xốp não truyền nhiễm, bệnh Creutzfeld-Jakob biến thể ở người, bệnh Creutzfeld-Jakob, bệnh Kuru, bệnh prion khác ở người, bệnh viêm não thể bọt biển ở bò, bệnh suy mòn mãn tính của nai tai lừa và nai sừng tấm, và bệnh não truyền nhiễm ở chồn vizon, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng dược phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với vacxin ADN.

Sáng chế còn đề cập đến hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong việc nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm để sử dụng trong việc nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế trong việc nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người.

Thuật ngữ “nâng cao hiệu quả của vacxin ADN người” nghĩa là làm cho vacxin ADN gây đáp ứng miễn dịch bảo vệ chống lại chất kháng nguyên được mã hóa bởi vacxin ADN người.

Đối tượng có thể là động vật có vú. Đối tượng thường là người.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh xốp não truyền nhiễm, bệnh Creutzfeldt-Jakob biến thể ở người, bệnh Creutzfeldt-Jakob, bệnh Kuru, bệnh viêm não thể bọt biển ở bò, bệnh suy mòn mãn tính của nai tai lừa

và nai sừng tấm, và bệnh não truyền nhiễm ở chồn vizon, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh xốp não truyền nhiễm, bệnh Creutzfeldt-Jakob biến thể ở người, bệnh Creutzfeldt-Jakob, bệnh Kuru, bệnh viêm não thể bọt biển ở bò, bệnh suy mòn mãn tính của nai tai lừa và nai sừng tấm, và bệnh não truyền nhiễm ở chồn vizon, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị.

Thuật ngữ “bệnh thoái hóa dạng tinh bột” bao gồm cả bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL, bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA, bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu, bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR), bệnh thoái hóa dạng tinh bột di truyền có hệ thống) và bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh mạch máu não dạng tinh bột).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc được phẩm theo sáng chế để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc được phẩm theo sáng chế để sử dụng trong việc loại trừ SAP.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc được phẩm theo sáng chế để sử dụng trong việc loại trừ SAP *in vivo*.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa

dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm để sử dụng trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm theo sáng chế trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm theo sáng chế trong việc loại trừ SAP.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc loại trừ SAP.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Khi được sử dụng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột, hợp chất có công thức (I) có thể được sử dụng với kháng thể kháng SAP.

Theo một phương án, kháng thể kháng SAP gắn kết với bề mặt của SAP người. Theo một phương án khác, kháng thể kháng SAP chứa vùng xác định bổ thể (CDR) chuỗi nặng có trong SEQ ID NO:28 và CDR chuỗi nhẹ có trong SEQ ID NO:35 trong công bố đơn quốc tế số WO 11/107480. Theo một phương án khác, kháng thể kháng SAP chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO:28 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO:35 trong công bố đơn quốc tế số WO 11/107480. Theo một phương án khác, kháng thể kháng SAP chứa vùng hằng định IgG1 hoặc IgG3 người. Theo một phương án khác, kháng thể kháng SAP

bao gồm chuỗi nặng có SEQ ID NO:62 và chuỗi nhẹ có SEQ ID NO:64 trong công bố đơn quốc tế số WO 11/107480.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Theo một ví dụ, việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP là theo trình tự.

Theo một ví dụ khác, hợp chất có công thức (I) được sử dụng trước. Theo một ví dụ khác, kháng thể kháng SAP được sử dụng nếu mức SAP tuần hoàn ở đối tượng được làm giảm đến mức nhỏ hơn 2mg/L. Theo một ví dụ, mức SAP tuần hoàn được làm giảm đến mức là 1mg/L hoặc nhỏ hơn. Theo một ví dụ khác, mức SAP tuần hoàn được làm giảm đến mức là 0,5mg/L hoặc nhỏ hơn.

Mức SAP tuần hoàn có thể được xác định bằng cách sử dụng kit ELISA có bán sẵn trên thị trường (thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym) (ví dụ, kit ELISA HK331 Human SAP của Hycult Biotech).

Theo một ví dụ khác, hợp chất có công thức (I) được sử dụng trong 5 đến 8 ngày hoặc cho đến khi mức SAP tuần hoàn ở đối tượng được làm giảm đến mức nhỏ hơn 2mg/L tùy thuộc vào thời gian điều trị nào dài hơn. Theo một ví dụ, mức SAP tuần hoàn ở đối tượng được làm giảm đến 1mg/L hoặc nhỏ hơn. Theo một ví dụ khác, mức SAP tuần hoàn ở đối tượng được làm giảm đến 0,5mg/L hoặc nhỏ hơn. Theo một ví dụ khác, việc sử dụng hợp chất có công thức (I) được tiếp tục trong khi liều đơn 200 đến 2000mg (tốt hơn là 250 đến 1000mg, tốt hơn nữa là 250 đến 600mg) của kháng thể kháng SAP được sử dụng, và trong 4 đến 6 ngày sau đó. Điều này tạo nên ‘tiến trình điều trị’ - bệnh nhân có thể cần vài tiến trình điều trị để đạt được hiệu quả điều trị mong muốn. Họ còn có thể cần lặp lại việc điều trị gián đoạn. Theo một ví dụ, tiến trình điều trị được lặp lại ít nhất một lần trong khoảng gián đoạn 3 đến 6 tuần nếu cần. Theo một ví dụ khác, tiến trình điều trị được lặp lại ít nhất một lần trong khoảng

gián đoạn 3 đến 6 tuần, tiếp theo là ít nhất một tiến trình điều trị trong khoảng gián đoạn 6 đến 12 tháng nếu cần.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng trong đó việc loại trừ SAP là có lợi, phương pháp này bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng trong đó việc loại trừ SAP là có lợi, phương pháp này bao gồm việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Sáng chế còn mô tả phương pháp loại trừ SAP, phương pháp này bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Sáng chế còn mô tả phương pháp loại trừ SAP, phương pháp này bao gồm việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng, trong đó bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng dược phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị kết hợp với kháng thể kháng SAP.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc một hoặc nhiều dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP để sử dụng trong việc loại trừ SAP.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR).

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống di truyền.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP dùng để điều trị bệnh mạch máu não dạng tinh bột.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR).

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột di truyền có hệ thống.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm như được mô tả ở đây để sử dụng kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh mạch máu não dạng tinh bột.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP để điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP để loại trừ SAP.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR).

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột di truyền có hệ thống.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh mạch máu não dạng tinh bột.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR).

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột di truyền có hệ thống.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP trong việc điều trị bệnh cho bệnh mạch máu não dạng tinh bột.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh hoặc rối loạn trong đó việc loại trừ SAP là có lợi.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để loại trừ SAP.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh hoặc rối loạn được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh đái tháo đường typ 2 và bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR).

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột di truyền có hệ thống.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ.

Theo một ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) và kháng thể kháng SAP trong việc sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh mạch máu não dạng tinh bột.

Theo một ví dụ, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột hệ thống.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột AL.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột AA.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột do lọc máu.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR).

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột di truyền có hệ thống.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh thoái hóa dạng tinh bột cục bộ.

Theo một ví dụ khác, bệnh hoặc rối loạn là bệnh mạch máu não dạng tinh bột.

Theo một ví dụ, bệnh hoặc rối loạn là bệnh Alzheimer.

Theo một ví dụ, bệnh hoặc rối loạn là bệnh đái tháo đường typ 2.

Theo một ví dụ, bệnh hoặc rối loạn là bệnh viêm xương khớp mãn tính.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến sản phẩm hoặc “kit nhiều thành phần”, chứa một hoặc nhiều liều đơn vị của kháng thể kháng SAP và một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I), hữu ích để điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một phương án, kit nhiều thành phần chứa liều đơn vị của kháng thể kháng SAP và một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I).

Thích hợp là, kit bao gồm nhiều thành phần được bào chế để sử dụng riêng rẽ hoặc theo trình tự một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I) và liều đơn vị của kháng thể kháng SAP.

Theo một phương án, kit nhiều thành phần bao gồm vật chứa chứa một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm theo sáng chế và liều đơn vị của kháng thể kháng SAP.

Theo một phương án khác, kit nhiều thành phần bao gồm vật chứa thứ nhất chứa một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm theo sáng chế và vật chứa thứ hai chứa liều đơn vị của kháng thể kháng SAP.

Kit nhiều thành phần có thể còn bao gồm hướng dẫn sử dụng cho một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I) và liều đơn vị của kháng thể kháng SAP để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh thoái hóa dạng tinh bột.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến sản phẩm hoặc “kit nhiều thành phần”, chứa một hoặc nhiều liều đơn vị của hợp chất có công thức (I) hoặc được phẩm theo sáng chế và một hoặc nhiều liều đơn vị của vacxin ADN.

Vật chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ, ống tiêm và vỉ thuốc, vật chứa tương tự.

Công bố đơn quốc tế số WO2011/139917 bộc lộ oligonucleotit đối nghĩa kháng transthyretin (kháng TTR) có thể hữu ích trong việc điều hòa sự biểu hiện transthyretin và trong điều trị, ngăn ngừa, trì hoãn hoặc làm thuyên giảm bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR), phương pháp này bao gồm bước i) cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị hoặc được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP, và ii) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của oligonucleotit ngược nghĩa kháng TTRt.

Theo một phương án của sáng chế, oligonucleotit đối nghĩa kháng TTRt là ISIS 420915.

Theo một phương án, bước i) và ii) được thực hiện theo trình tự.

Theo một phương án, bước ii) được thực hiện sau bước i).

Công bố đơn quốc tế số WO2009040405 bộc lộ chất làm ổn định dạng tetrame của transthyretin hữu ích trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh thoái hóa dạng tinh bột liên quan đến transthyretin (ATTR), phương pháp này bao gồm bước i) cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) với lượng hữu hiệu điều trị hoặc được phẩm theo sáng chế kết hợp với kháng thể kháng SAP, và ii) cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của tác nhân như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2009040405.

Theo một ví dụ, bước i) và ii) được thực hiện theo trình tự.

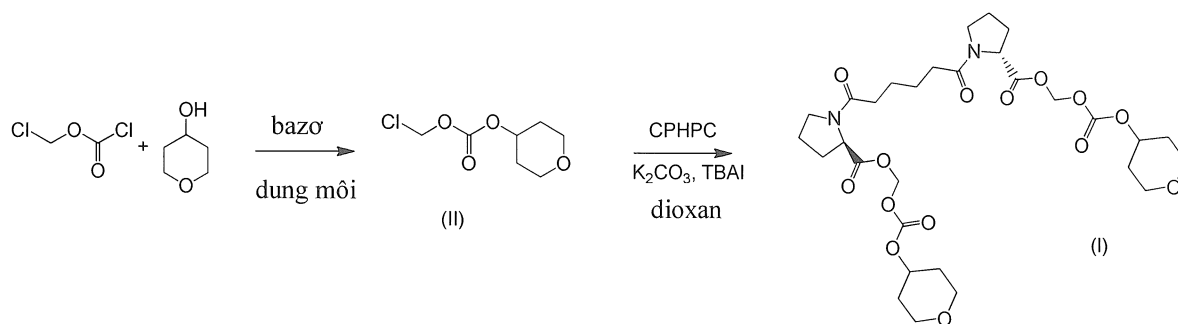
Theo một ví dụ, bước ii) được thực hiện sau bước i).

Về cơ bản, hợp chất có công thức (I) có thể được tổng hợp theo sơ đồ phản ứng 1.

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng phản ứng giữa clometyl cacbonat có công thức (II) với CPHPC với sự có mặt của dung môi (ví dụ, dioxan), bazơ (ví dụ, kali cacbonat) và lượng xúc tác TBAI (tetrabutylamoni iodua).

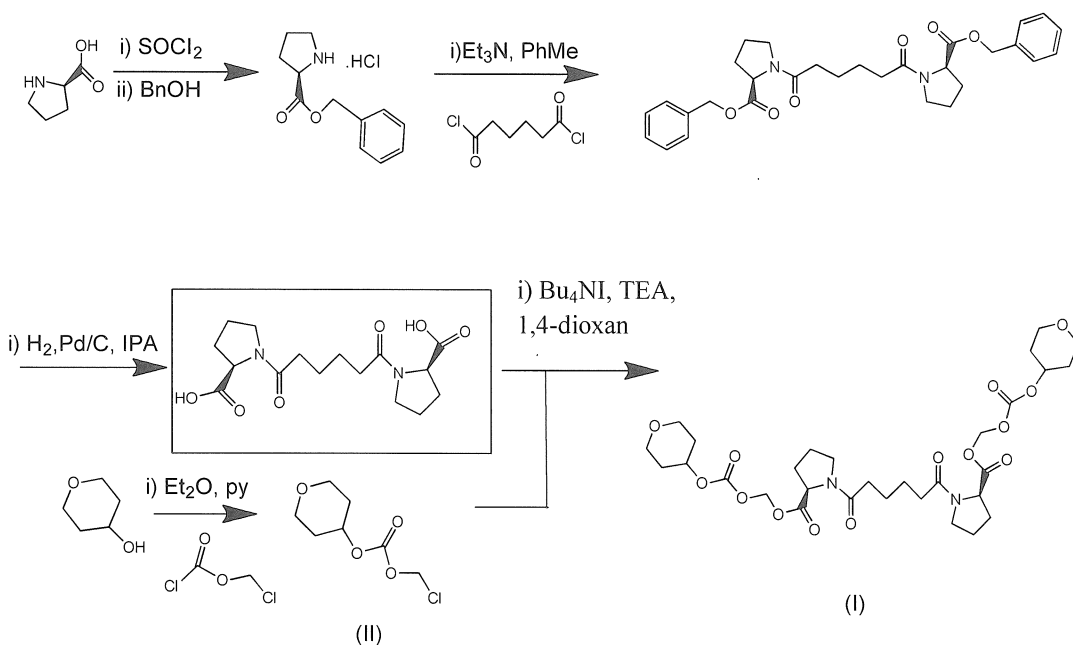
Clometyl cacbonat có công thức (II) có thể được điều chế bằng phản ứng giữa clometyl cacbonocloridat với tetrahydro-2H-pyran-4-ol với sự có mặt của dung môi (ví dụ, dietyl ete hoặc diclometan) và bazơ (ví dụ, pyridin hoặc dimethylaminopyridin).

Clometyl cacbonocloridat (còn được gọi là clometyl cloformat) và tetrahydro-2H-pyran-4-ol là có bán sẵn trên thị trường (Aldrich).



Sơ đồ phản ứng 1

Theo cách khác, về cơ bản, hợp chất có công thức (I) có thể được tổng hợp theo sơ đồ phản ứng 2 bắt đầu từ D-prolin (axit (R)-pyrrolidin-2-carboxylic).



## Sơ đồ phản ứng 2

Hợp chất trong khung trên là CPHPC.

D-prolin là có bán sẵn trên thị trường (Aldrich).

## Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ sau đây dùng để minh họa cho sáng chế. Ví dụ này không làm giới hạn phạm vi của sáng chế mà chỉ nhằm mục đích hướng dẫn cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này điều chế và sử dụng hợp chất, dược phẩm, và phương pháp theo sáng chế. Mặc dù các phương án cụ thể theo sáng chế đã được mô tả, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng có thể thực hiện các thay đổi và biến đổi khác nhau mà không nằm ngoài tinh thần và phạm vi của sáng chế.

Tất cả các công bố, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các sáng chế và đơn sáng chế, được trích dẫn trong bản mô tả này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn như thể mỗi công bố riêng rẽ được đề cập một cách cụ thể và riêng biệt để được kết hợp bằng cách viện dẫn vào đây như là được trình bày đầy đủ.

Các hợp chất trung gian và ví dụ sau đây minh họa quá trình điều chế hợp chất theo sáng chế.

Chữ viết tắt

|                                 |                             |
|---------------------------------|-----------------------------|
| 2-MeTHF                         | 2-metyltetrahydrofuran      |
| aq.                             | trong nước/chứa nước        |
| BnOH                            | rượu benzylic               |
| Bu <sub>4</sub> NI              | tetrabutylamoni iodua       |
| DCM                             | diclometan/metylen clorua   |
| DMAP                            | dimetylaminopyridin         |
| ESI                             | ion hóa phun điện tử        |
| EtOAc                           | etyl axetat                 |
| Et <sub>2</sub> O               | dietyl ete                  |
| h                               | giờ                         |
| HCl                             | hydro clorua/axit clohydric |
| HPLC                            | sắc ký lỏng hiệu năng cao   |
| IPA                             | rượu isopropylic            |
| <sup>i</sup> Pr <sub>2</sub> O  | isopropyl ete               |
| MeCN/CH <sub>3</sub> CN         | axetonitril                 |
| Min                             | phút                        |
| MS                              | phổ khối                    |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | natri sulfat                |
| NMR                             | cộng hưởng từ hạt nhân      |
| PhMe                            | toluen                      |
| py                              | pyridin                     |
| RT                              | nhiệt độ trong phòng        |
| TBAI                            | tetrabutylamoni iodua       |
| TEA                             | trietylamin                 |
| TOF                             | thời gian bay trong phổ     |
| THF                             | tetrahydrofuran             |

Phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C NMR được ghi trên thiết bị Bruker 300 hoặc 400 MHz. Độ dịch chuyển hóa học được báo cáo theo phần triệu (đơn vị ppm). Phổ khối phân giải cao được ghi trên phổ kế Micromass LCT (TOF) gắn với sắc ký lỏng hiệu năng cao phân tích (HPLC). HPLC được thực hiện trên cột Waters X-Terra MS

C18 (3,5 $\mu$ m 30 x 4,6mm đường kính trong), rửa giải bằng amoni axetat 0,01M trong nước (dung môi A) và 100% axetonitril (dung môi B), sử dụng gradien rửa giải sau đây: 0 đến 0,5 phút 5% B, 0,5-3,75 phút 5% đến 100% B, 3,75-4,5 100% B, 4,5-5 100% đến 5% B, 5-5,5 5% B với tốc độ dòng 1,3ml/phút ở 40°C. Phổ khối (MS) được ghi trên phổ kế Waters LCT bằng cách sử dụng chế độ ion hóa phun điện tử dương [ $ES^+$  để tạo ra ion phân tử  $MH^+$ ] hoặc ion hóa phun điện tử âm [ $ES^-$  để tạo ra ion phân tử  $(M-H)^-$ ].

HPLC phân tích được thực hiện trên cột XSelect XP C18 (2,5 $\mu$ m 30 x 4,6mm đường kính trong) rửa giải bằng axit formic 0,1% trong nước (dung môi A) và axit formic 0,1% trong axetonitril (dung môi B), sử dụng gradien rửa giải sau đây: 0 đến 3,2 phút: 5% đến 100% B, 3,2-4,0 phút 100% B, với tốc độ dòng 1,8ml/phút ở 40°C. Phổ khối (MS) được ghi trên phổ kế Waters ZQ bằng cách sử dụng chế độ ion hóa phun điện tử dương [ $ES^+$  để tạo ra ion phân tử  $MH^+$ ] hoặc ion hóa phun điện tử âm [ $ES^-$  để tạo ra ion phân tử  $(M-H)^-$ ].

Hợp chất trung gian 1: Clometyl (tetrahydro-2H-pyran-4-yl) cacbonat

Dung dịch chứa tetrahydro-2H-pyran-4-ol (40g, 392mmol) trong diethyl ete (500 mL) được bổ sung pyridin (38,0mL, 470mmol) và dung dịch này được làm lạnh đến 0°C. Clometyl cacbonocloridat (41,8mL, 470mmol) được bổ sung từng giọt để tạo ra chất rắn màu trắng. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước (200mL), bằng HCl 0,5N (200mL), và sau đó bằng dung dịch  $NaHCO_3$  bão hòa (200mL). Pha hữu cơ được làm khô bằng  $Na_2SO_4$  và được cô dưới áp suất giảm.

Toluen được bổ sung vào và dung dịch này được cô dưới áp suất giảm (để loại bỏ clometyl cacbonocloridat dư). Clometyl (tetrahydro-2H-pyran-4-yl) cacbonat (Hợp chất trung gian 1) thu được ở dạng chất dầu không màu (70g, 360mmol, hiệu suất 92%).

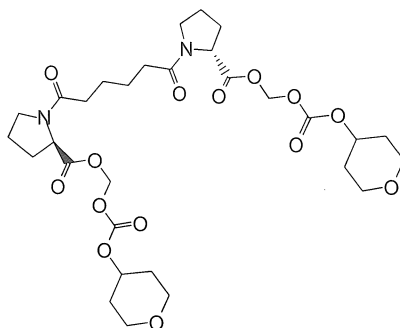
$^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm 5,75 (s, 2 H), 4,92 (m, 1 H), 3,95 (m, 2 H), 3,56 (m, 2 H), 2,02 (m, 2 H), 1,80 (m, 2 H).

Hợp chất trung gian 1 (Phương pháp điều chế khác): Clometyl (tetrahydro-2H-pyran-4-yl) cacbonat

Dung dịch chứa clometyl cacbonocloridat (5g, 38,8mmol) trong DCM (50mL) được bổ sung tetrahydro-2H-pyran-4-ol (3,96g, 38,8mmol) và dung dịch này được làm lạnh đến 0°C. DMAP (4,97g, 40,7mmol) được bổ sung vào, sau đó hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18h. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước và được chiết bằng DCM (3 x 100mL). Pha hữu cơ được kết hợp lại, được làm khô bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và được cô dưới áp suất giảm. Chất dầu màu vàng xám được tinh chế bằng cách sắc ký, rửa giải bằng EtOAc 10% trong xyclohexan. Các phân đoạn thích hợp được kết hợp lại và được cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất dầu không màu (2,2g, 11,3mmol, hiệu suất 29,2%).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 5,76 (s, 2 H), 4,92 (m, 1 H), 3,94 (m, 2 H), 3,57 (m, 2 H), 2,02 (m, 2 H), 1,80 (m, 2 H).

Ví dụ 1: (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)carbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat)



Dung dịch A: Kali cacbonat (29,8 g, 216 mmol) được bổ sung vào huyền phù đã được khuấy chứa (2R,2'R)-1,1'-adipoylbis(axit pyrolidin-2-carboxylic) (35g, 103mmol) trong 1,4-dioxan (1l) và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 80°C trong 30 phút.

Dung dịch B: TBAI (7,60g, 20,57mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa clometyl (tetrahydro-2H-pyran-4-yl) cacbonat (42,0g, 216mmol) trong dioxan (50mL) và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút.

Dung dịch B được bổ sung vào dung dịch A. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 18h.

Hỗn hợp phản ứng được lọc và được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn còn lại được hấp thụ trong EtOAc (400mL) và được rửa bằng dung dịch nước NaHCO<sub>3</sub> (2 x 100mL), dung dịch nước natri thiosulfat (50mL) và bằng HCl 0,5N (100mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, được lọc và được cô trong chân không. Chất dầu màu vàng được hòa tan trong 2-MetF(100mL) và được siêu âm cho đến khi quá trình kết tinh xảy ra. Hỗn hợp này được để yên trong 1h ở nhiệt độ trong phòng. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng hỗn hợp 2-MetF/iPr<sub>2</sub>O 70/30 để thu được (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) (Ví dụ 1) ở dạng chất bột màu trắng (42g, 64,0mmol, hiệu suất 62,2%). Sản phẩm được làm khô dưới áp suất giảm (5mbar) và 35°C trong 12h.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 5,88 (d, J = 5,5 Hz, 2 H), 5,73 (d, J = 5,5 Hz, 2 H), 4,87 (m, 2 H), 4,50 (m, 2 H), 3,93 (m, 4 H), 3,65 (m, 2 H), 3,55 (m, 6 H), 2,42 - 1,90 (m, 16 H), 1,84 - 1,60 (m, 8H).

Một số đỉnh cực đại yếu được quan sát do sự có mặt của chất đồng phân quay.

Kết tinh lại (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat)

(2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) (170g, 259mmol) được tạo huyền phù trong 2-MetF và được gia nhiệt đến 90°C cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Dung dịch được lọc khi vẫn còn nóng và được để nguội đến nhiệt độ trong phòng. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng hỗn hợp gồm 2-MetF/iPr<sub>2</sub>O 70/30 để thu được (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)cacbonyl)oxy)metyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) (130g, 198mmol, hiệu suất 76%) ở dạng chất rắn kết tinh màu trắng nhờ. Sản phẩm được làm khô dưới áp suất giảm (5mbar) và 35°C trong 24h.

LC/MS : m/z 657 [M+H]<sup>+</sup>, nhiệt độ trong phòng 1,98 phút.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 5,87 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2 H), 5,71 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2 H), 4,86 (m, 2 H), 4,49 (m, 2 H), 3,91 (m, 4 H), 3,63 (m, 2 H), 3,54 (m, 6 H), 2,43 - 1,85 (m, 16 H), 1,84 - 1,59 (m, 8H).

Một số đỉnh cực đại yếu được quan sát do sự có mặt của chất đồng phân quay.

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 171,69, 170,85, 153,12, 82,26, 77,36, 77,05, 76,72, 73,94, 65,02, 58,41, 46,95, 34,11, 31,47, 29,02, 24,80, 24,17,

HRMS :  $m/z$  của  $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_{14}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  theo lý thuyết là 657,2870, kết quả thực nghiệm là 657,2883.

Dữ liệu XRPD được thực hiện trên nhiễu xạ kế bột PANalytical X'Pert Pro, loại PW3040/60 bằng cách sử dụng thiết bị dò X'Celerator. Điều kiện thực hiện: nguồn bức xạ: Cu  $K\alpha$ , điện thế máy phát: 40kV, cường độ dòng điện máy phát: 45mA, góc khởi đầu:  $2,0^\circ 2\theta$ , góc kết thúc:  $40,0^\circ 2\theta$ , kích thước bước:  $0,0167^\circ 2\theta$ , thời gian mỗi bước: 31,75 giây. Mẫu được điều chế bằng cách cho vài miligam hợp chất thử nghiệm (hợp chất có công thức (I)) lên lát bán dẫn silicon (tấm nền mốc điểm không), thu được lớp bột mỏng.

Quang phổ XRPD của dạng chất rắn kết tinh của hợp chất có công thức (I) được thể hiện ở Fig.1.

Các khoảng cách giữa các mặt phẳng nguyên tử  $d$  và góc XRPD đặc trưng của hợp chất có công thức (I) được ghi trong bảng 1. Giới hạn của sai số là khoảng  $\pm 0,1^\circ 2\theta$  cho mỗi đỉnh được gán. Cường độ đỉnh có thể thay đổi từ mẫu này sang mẫu khác do hướng được ưu tiên.

Vị trí đỉnh được xác định bằng cách sử dụng phần mềm Highscore.

| Hợp chất có công thức (I) |                                                           |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------|
| $2\theta / ^\circ$        | khoảng cách giữa các mặt phẳng nguyên tử $d / \text{\AA}$ |
| 3,6                       | 24,4                                                      |
| 7,2                       | 12,3                                                      |
| 10,8                      | 8,2                                                       |

| Hợp chất có công thức (I) |     |
|---------------------------|-----|
| 14,4                      | 6,2 |
| 16,1                      | 5,5 |
| 17,1                      | 5,2 |
| 18,0                      | 4,9 |
| 18,5                      | 4,8 |
| 19,8                      | 4,5 |
| 21,7                      | 4,1 |
| 22,9                      | 3,9 |
| 24,3                      | 3,7 |
| 27,1                      | 3,3 |

Bảng 1: Góc nhiễu xạ XRPD và khoảng cách giữa các mặt phẳng nguyên tử d của hợp chất có công thức (I)

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng chất rắn kết tinh đặc trưng bởi quang phổ XRPD mà về cơ bản là như được thể hiện ở Fig.1.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng chất rắn kết tinh đặc trưng bởi quang phổ XRPD bao gồm các đỉnh ở bảng 1.

Hợp chất so sánh

Dữ liệu sau đây được báo cáo để so sánh hợp chất có công thức (I) với (2R,2'R)-bis(1-(pivaloyloxy)ethyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) (Hợp chất so sánh).

(2R,2'R)-bis(1-(pivaloyloxy)ethyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) (còn được gọi là 1-(2,2-dimethyl-propionyloxy)-ethyl este của axit (R)-1-(6-((R)-

2-[1-(2,2-dimethyl-propionyloxy)-etoxyacarbonyl]-pyrolidin-1-yl}-6-oxo-hexanoyl)-pyrolidin-2-carboxylic) có thể được tổng hợp theo phương pháp thực nghiệm được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2003/051836.

Các tính chất hóa lý

Dạng vật lý

Hợp chất có công thức (I) có thể thu được ở dạng chất rắn kết tinh. Trái lại, hợp chất so sánh thu được ở dạng chất dầu (xem, công bố đơn quốc tế số WO2003/051836).

Độ tan

Phương pháp xác định độ tan

Lượng xác định hợp chất có công thức (I) được cân vào bình chứa thích hợp (ví dụ, lọ thủy tinh nhỏ có nắp có ren) và thể tích xác định môi trường cần thiết được bổ sung vào (ví dụ, môi trường lỏng mô phỏng đường dạ dày (Simulated Gastric Fluid) có độ pH là 1,6[SGF], môi trường lỏng mô phỏng ruột khi được bổ sung thức ăn (Simulated Fed State Intestinal Fluid) có độ pH là 6,5 [FeSSIF], môi trường mô phỏng ruột ở trạng thái nhịn đói (Simulated Fasted State Intestinal Fluid) có độ pH là 6,5 [FaSSIF], nước (nước tinh khiết), hoặc dung dịch đệm Britton-Robinson). Hợp chất này được làm ướt bằng môi trường bằng cách trộn tạo luồng xoáy trong 30 giây đến 1 phút. Sau đó, mẫu được quan sát bằng mắt thường để chắc chắn rằng chất rắn không hòa tan vẫn có mặt. Mẫu này được chuyển đến thiết bị trộn nhẹ (như trộn kiểu trục chẳng hạn) và được khuấy cho đến khi đạt đến mốc thời gian mong muốn. Ở mỗi mốc thời gian thích hợp, mẫu được đánh giá lại bằng mắt thường. Nếu tất cả chất rắn đã hòa tan, độ tan được ghi là >x mg/ml, trong đó x là lượng xác định được sử dụng chia cho thể tích được bổ sung. Nếu chất rắn không hòa tan vẫn có mặt, một phần của mẫu được lấy ra và được ly tâm để loại bỏ chất rắn tạo ra phần dịch nổi bề mặt trong. Dịch nổi bề mặt được hòa tan theo thể tích bằng chất pha loãng thích hợp để tạo ra mẫu phân tích với lượng thích hợp để phân tích. Sau đó, mẫu đã được hòa tan này được phân tích bằng phương pháp thích hợp như HPLC đối với (các) chất chuẩn với lượng xác định. Sau đó, độ tan của hợp chất có thể

được xác định bằng cách sử dụng kiến thức về lượng chất chuẩn, độ đáp ứng tương đối (ví dụ, diện tích đỉnh) của chất chuẩn và mẫu phân tích được mô tả, và độ pha loãng của mẫu phân tích.

Độ tan của hợp chất có công thức (I) trong các môi trường chứa nước khác nhau được thể hiện trong bảng 2 dưới đây.

| Môi trường thử nghiệm | Độ tan (mg/ml) ở mốc thời gian 4 giờ |
|-----------------------|--------------------------------------|
| SGF                   | 5,2                                  |
| FaSSIF                | 4,4                                  |
| FeSSIF                | 5,0                                  |
| Nước                  | 5,5                                  |

Bảng 2: Độ tan của hợp chất có công thức (I) trong nước, FeSSIF, FaSSIF và SGF ở mốc thời gian 4 giờ

Do đó, hợp chất có công thức (I) có độ tan cao hơn trong môi trường sinh lý tương ứng.

#### Cytochrome p450 và tương tác thuốc-thuốc

Hợp chất có công thức (I) và hợp chất so sánh được đánh giá trong thử nghiệm Cytochrome p450 (CYP 450) dưới đây. Kết quả được thể hiện trong bảng 3 dưới đây.

Thử nghiệm được dùng để đánh giá mức độ ức chế đối với enzym Cytochrome P450 (CYP) 3A4, 2C9, 2C19, 1A2 và 2D6 từ nguồn màng vi khuẩn (Bactosome) bằng cách sử dụng cơ chất phát huỳnh quang. Hợp chất (hợp chất có công thức (I) hoặc hợp chất so sánh) được hòa tan trong metanol với nồng độ 1,65mM. Các dung dịch pha loãng tiếp theo được điều chế trong metanol với nồng độ 660, 264, 106, 42, 17, 6,8, 2,7, 1,1 và 0,43 $\mu$ M. Chất đồng yếu tố NADPH được điều chế bằng Glucoza-6-phosphat (7,8mg), Glucoza-6-phosphat dehydroaza (6 đơn vị), NADP (1,7mg) mỗi 1mL trong NaHCO<sub>3</sub> 2%.

Quá trình điều chế cơ chất như sau:

- Etyl este của axit 7-Metoxi-4-triflometyl Coumarin-3-Axetic (FCA): 12,5mM trong axetonitril

- EtoxyResorufin (ER): 0,05mM trong axetonitril
- 4-Metylaminometyl-7-Metoxycoumarin (MMC): 2,5mM trong metanol
- 3-Butyryl-7-Metoxycoumarin (BMC): 2,5mM trong DMSO
- 7-Benzoyloxyquinolin (7BQ): 2,5mM trong axetonitril
- DiEtoxyFlorescein (DEF): 0,1mM trong axetonitril

Bactosome (Nguồn Cypex) với nồng độ là 10mg protein trên ml được pha loãng trong dung dịch đệm phosphate 50mM pH7,4:

- 0,33ml Bactosome CYP2C9 với 23,8ml dung dịch đệm và 0,11ml FCA
- 0,33ml Bactosome CYP1A2 với 23,6ml dung dịch đệm và 0,275ml ER
- 0,33ml Bactosome CYP2D6 với 23,8ml dung dịch đệm và 0,11ml MMC
- 0,33ml Bactosome CYP2C19 với 23,8ml dung dịch đệm và 0,11ml BMC
- 0,33ml Bactosome CYP3A4H với 23,6ml dung dịch đệm và 0,275ml 7BQ

- 0,33ml Bactosome CYP3A4L với 23,6ml dung dịch đệm và 0,275ml DEF
- Quá trình ủ sơ bộ bao gồm bước trộn 5µl dung dịch chứa hợp chất với 220µl Bactosome đã pha loãng và làm ấm nó ở 37°C trong 10 phút. Quá trình ủ được bắt đầu với việc bổ sung 25µl NADPH. Sau đó, mức phát huỳnh quang của cơ chất chuyển hóa được đọc từ thiết bị SAFIRE (từ Tecan) trong 5 phút:

- FCA (2C9): Bước sóng kích thích là 410nm và bước sóng phát xạ là 510nm
- ER (1A2): Bước sóng kích thích là 530nm và bước sóng phát xạ là 590nm
- MMC (2D6): Bước sóng kích thích là 410nm và bước sóng phát xạ là 485nm
- BMC (2C19): Bước sóng kích thích là 410nm và bước sóng phát xạ là 465nm
- 7BQ (3A4H): Bước sóng kích thích là 410nm và bước sóng phát xạ là 530nm
- DEF (3A4L): Bước sóng kích thích là 485nm và bước sóng phát xạ là 530nm

Việc vẽ đồ thị về mức ức chế sự tạo cơ chất theo nồng độ hợp chất giúp xác định giá trị  $IC_{50}$ .

|              | Hợp chất có công thức (I) | Hợp chất so sánh      |
|--------------|---------------------------|-----------------------|
| Enzym CYP450 | $IC_{50}$ ( $\mu M$ )     | $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) |
| CYP1A2       | >33                       | >33                   |
| CYP2C19      | >33                       | >33                   |
| CYP2C9       | >33                       | 26                    |
| CYP2D6       | >33                       | >33                   |
| CYP3A4 (7BQ) | >33                       | 5,5                   |
| CYP3A4 (DEF) | >33                       | 1,1                   |

Bảng 3: Mức độ ức chế enzym Cytochrome p450 bằng hợp chất có công thức (I) (Ví dụ 1) và hợp chất so sánh.

Trong thử nghiệm sàng lọc trên cơ sở phát huỳnh quang bằng cách sử dụng CYP 450 người tái tổ hợp, hợp chất có công thức (I) và dẫn xuất mono-este của nó không thể hiện mức độ ức chế đáng kể đối với các Cytochrome P450 gan người chính (Cypex): CYP3A4-DEF và 3A4-7BQ với  $IC_{50} > 33 \mu M$ . Các dạng khác cũng không bị ức chế một cách đáng kể bởi cả hai hợp chất này với  $IC_{50} > 33 \mu M$ ). Trái lại, hợp chất so sánh thể hiện mức độ ức chế đáng kể đối với CYP3A4-DEF và CYP3A4-7BQ.

Đối với hợp chất trong đó nồng độ trong cơ thể thấp dần, chỉ có sự ức chế CYP3A4 là có liên quan vì chỉ có sự ức chế trong ruột là có liên quan (CYP3A có mặt trong tế bào hấp thụ đường ruột và cho phép tế bào hấp thụ đường ruột đi qua trước tiên).

Độ ổn định vật lý

Phương pháp xác định độ ổn định vật lý

Thử nghiệm này được dùng để xác định độ ổn định vật lý của hợp chất trong dung dịch đệm ở các độ pH khác nhau. Hợp chất có công thức (I) được hòa tan trong DMSO với lượng 1mg/ml. Dung dịch đệm phosphate (PBS) được tạo ra bằng cách trộn dung dịch  $K_2HPO_4$  50mM và  $KH_2PO_4$  50mM để tạo ra 4 dung dịch đệm có độ pH là 6,0, 7,0, 7,5, 8,0.

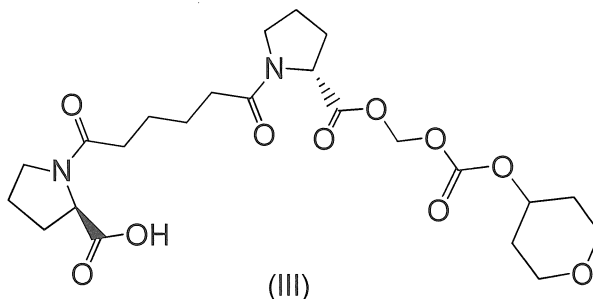
Nghiên cứu độ ổn định được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng, và bắt đầu bằng việc bổ sung 8 $\mu$ l dung dịch DMSO vào 792 $\mu$ l PBS 50mM với độ pH là 6,0, 7,0, 7,5 hoặc 8,0 (1% DMSO). 75 $\mu$ l hỗn hợp được lấy ra vào lúc 0, 1, 2, 4 và 24h và 225 $\mu$ l axetonitril chứa chất chuẩn nội được bổ sung vào.

2 $\mu$ l mẫu được tiêm vào hệ thống sắc ký lỏng và được rửa giải bằng cột Ascentis C18 ( $50 \times 2,1$ mm đường kính trong,  $2,7\mu$ m) và bằng axit formic 0,1% trong nước (A) và axit formic 0,1% trong axetonitril (B), sử dụng gradien rửa giải sau đây trong 2 phút: 5 đến 95% B trong 1,2 phút, 95% B trong 0,6 phút và 0,1 phút trong cột được làm cân bằng lại, với lượng 0,5mL/phút ở 50 °C.

Các mẫu được phân tích bằng phổ khối với nguồn phun điện tử ở chế độ dương và với sự chuyển khối sau đây:

- Hợp chất có công thức (I): 657 đến 384
- Monoeste của CPHPC: 499 đến 226
- CPHPC: 341 đến 226

Thuật ngữ “monoeste của CPHPC” có nghĩa là hợp chất axit (R)-1-(6-oxo-6-((R)-2-((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)carbonyl)oxy)methoxy)carbonyl)pyrrolidin-1-yl)hexanoyl)pyrrolidin-2-carboxylic có công thức (III).



Sự thủy phân của hợp chất có công thức (I) được đánh giá ở độ pH khác nhau (từ độ pH 6 đến độ pH 8) và kết quả được thể hiện ở Fig.2 trên đây. Hợp chất có công thức (I) dường như ít nhạy hơn với sự thủy phân ở độ pH thấp hơn

7,5. Dưới 20% hợp chất có công thức (I) bị thủy phân sau 24h trong môi trường axit (độ pH nhỏ hơn 7,0).

Sự thủy phân vi lập thể trong ruột và gan

Phương pháp thử nghiệm vi lập thể trong ruột và gan

Thử nghiệm này được dùng để xác định độ ổn định của hợp chất trong chất nền vi lập thể. Hợp chất (hợp chất có công thức (I)) được hòa tan trong DMSO ở 1mg/ml. Các dung dịch pha loãng tiếp theo được điều chế trong metanol/nước (50/50) với nồng độ 30,3ng/ml. Vi lập thể (mua từ Xenotech) được pha loãng với lượng 0,625mg protein trên ml trong dung dịch đệm phosphat 50mM có độ pH 7,4.

Quá trình ủ sơ bộ bao gồm việc làm ấm dung dịch vi lập thể 395μl bằng 100μl NaHCO<sub>3</sub> (2%) ở 37°C trong 7 phút. Quá trình ủ được bắt đầu với việc bổ sung 5μl dung dịch pha loãng tiếp theo. 50μl phần phân ước của hỗn hợp được lấy ra vào lúc 0, 3, 6, 12 và 30 phút và được làm dừng phản ứng bằng 150μl axetonitril chứa chất chuẩn nội.

Sau 10 phút ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút, 2μl mẫu được tiêm vào hệ thống sắc ký lỏng và được rửa giải trên cột Ascentis C18 (50 × 2,1mm đường kính trong, 2,7μm) bằng axit formic 0,1% trong nước (A) và axit formic 0,1% trong axetonitril (B), bằng cách sử dụng gradien rửa giải sau đây trong 2 phút: 5 đến 95% B trong 1,2 phút, 95% B trong 0,6 phút và 0,1 phút trong cột được làm cân bằng lại, với lượng 0,5 mL/phút ở 50°C.

Các mẫu được phân tích bằng phổ khối với nguồn phun điện tử ở chế độ dương và với sự chuyển khối sau đây:

- Hợp chất có công thức (I): 657 đến 384
- Monoeste của CPHPC: 499 đến 226
- CPHPC: 341 đến 226

Các mẫu đối chứng được dùng để xác định phần trăm mất đi của hợp chất ban đầu cũng như phần trăm xuất hiện của chất chuyển hóa có thể có, cụ thể là dạng monoeste và diaxit.

Từ Fig.3, có thể thấy rằng hợp chất có công thức (I) có tốc độ thủy phân thấp trong vi lập thể đường ruột người, thậm chí sau 60 phút, gợi ý rằng hợp chất có công thức (I) sẽ không bị mất ổn định quá mức trong ruột và vì thế chúng có sẵn để hấp thụ.

Từ ruột, hợp chất có công thức (I) được chuyển đến thành ruột và đến dòng máu và gan, cả hai vị trí này đều có SAP tuần hoàn.

#### Phương pháp xác định sự thủy phân máu

Thử nghiệm này được dùng để xác định độ ổn định của hợp chất trong máu tươi. Hợp chất (hợp chất có công thức (I)) được hòa tan trong DMSO với lượng 1mg/ml. Dung dịch pha loãng tiếp theo được điều chế trong DMSO với 100µg/ml. Máu tươi được pha loãng ½ trong dung dịch đệm đẳng trương có độ pH 7,4.

Việc ủ sơ bộ bao gồm việc làm ấm 792µl máu ở 37°C trong 7 phút. Quá trình ủ được bắt đầu bằng việc bổ sung 5µl dung dịch pha loãng tiếp theo. 50µl hỗn hợp được lấy ra vào lúc 0, 5, 15, 30 và 60 phút. 50µl nước được bổ sung vào mẫu và sau đó được làm dừng phản ứng bằng 300µl axetonitril chứa chất chuẩn nội.

Sau 10 phút ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút, 2µl mẫu được tiêm vào hệ thống sắc ký lỏng và được rửa giải bằng cột Ascentis C18 (50 × 2,1mm đường kính trong, 2,7µm) và bằng axit formic 0,1% trong nước (A) và axit formic 0,1% trong axetonitril (B), bằng cách sử dụng gradien rửa giải sau đây trong 2 phút: 5 đến 95% B trong 1,2 phút, 95% B trong 0,6 phút và 0,1 phút trong cột được làm cân bằng trước, ở 0,5mL/phút ở 50°C. Mẫu được phân tích bằng phổ khối với nguồn phun điện tử ở chế độ dương và với sự chuyển khối sau đây:

- Hợp chất có công thức (I): 657 đến 384
- Monoeste của CPHPC: 499 đến 226
- CPHPC: 341 đến 226

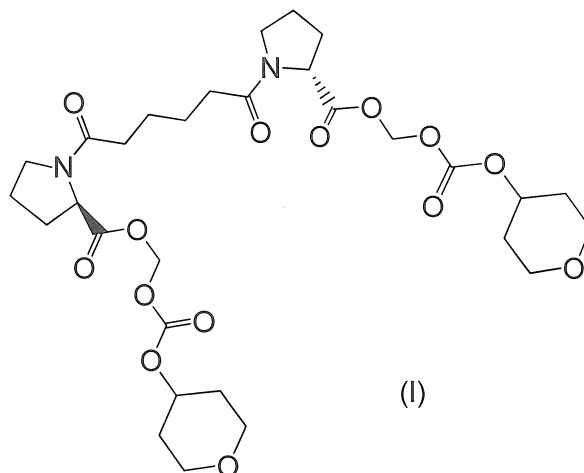
Mẫu đối chứng được dùng để xác định phần trăm biến mất của hợp chất ban đầu cũng như phần trăm xuất hiện của chất chuyển hóa có thể có, cụ thể là monoeste và dạng diaxit.

Hoạt tính vi nạp thể gan *in vitro* được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp như được mô tả trên (Phương pháp thử nghiệm vi nạp thể trong ruột và gan).

Trong vi nạp thể gan người, quan sát thấy tốc độ thủy phân hợp chất có công thức (I) thành CPHPC là cao (khoảng 50% chuyển hóa thành CPHPC trong 30 phút), cho thấy hợp chất có công thức (I) có khả năng được phân cắt thành CPHPC hoạt tính khi được hấp thụ.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất (2R,2'R)-bis((((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)oxy)carbonyl)oxy)methyl)-1,1'-adipoylbis(pyrolidin-2-carboxylat) có công thức (I):



2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này ở dạng tinh thể.
3. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 2 với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh và tùy ý một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược dược dụng.
4. Kit nhiều thành phần chứa một hoặc nhiều dạng liều lượng của kháng thể kháng SAP và một hoặc nhiều dạng liều lượng của hợp chất theo điểm 1 hoặc 2.
5. Kit nhiều thành phần chứa một hoặc nhiều dạng liều lượng của kháng thể kháng SAP và một hoặc nhiều dạng liều lượng của dược phẩm theo điểm 3.

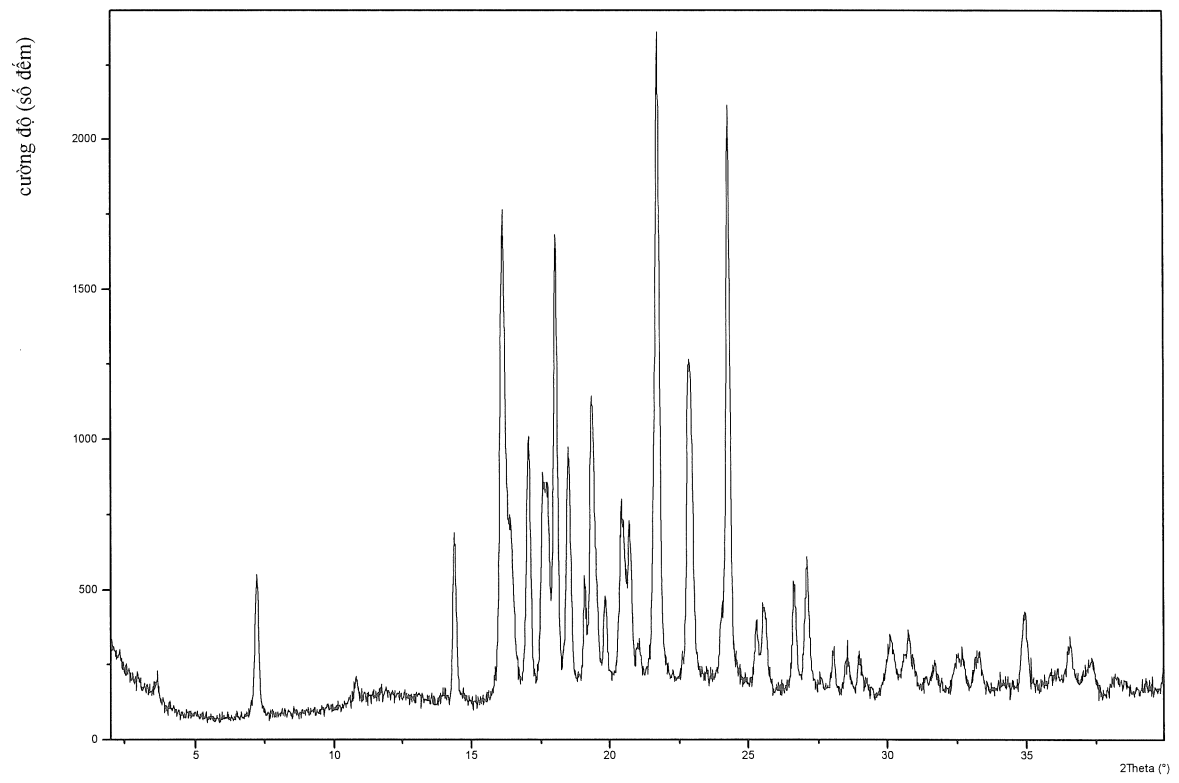
**Fig. 1**

Fig. 2

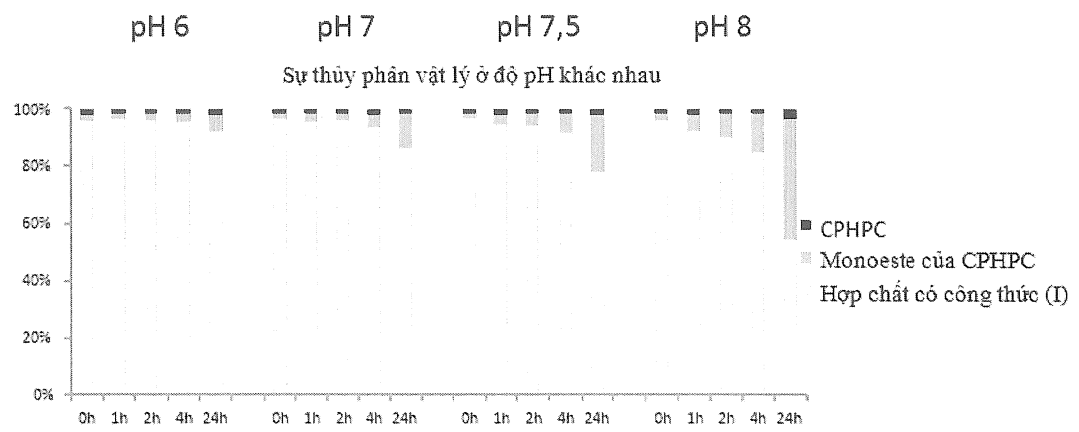


Fig. 3

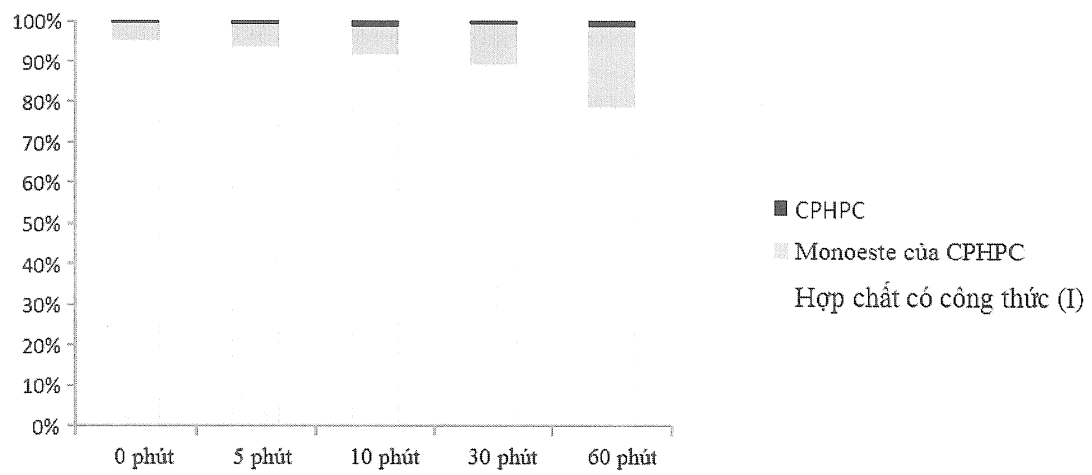


Fig. 4

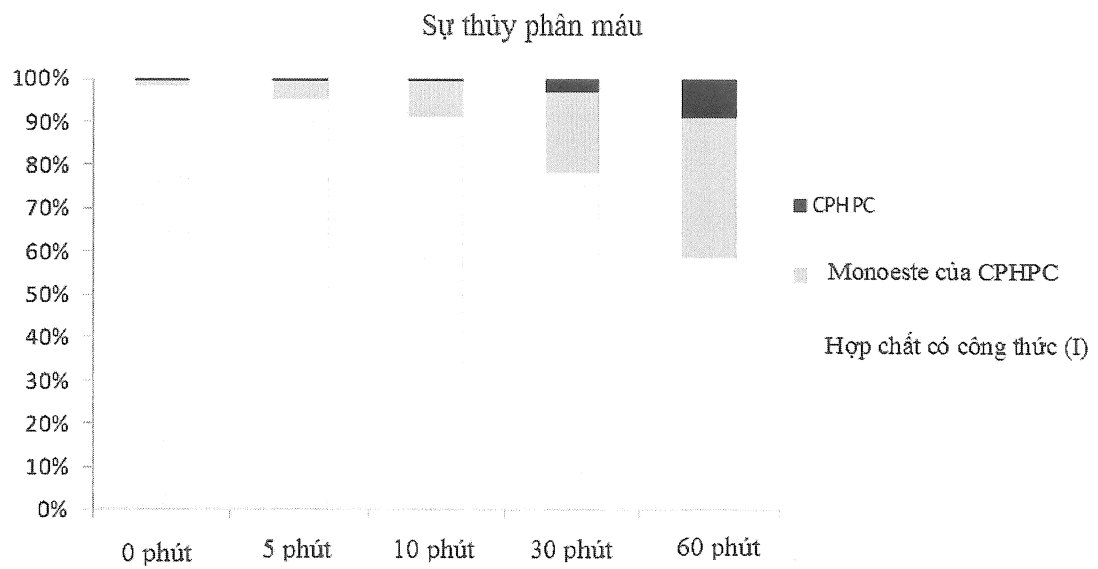


Fig. 5

