



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0028008

(51)<sup>7</sup> C07D 239/56; A61K 31/505; A61P 9/00 (13) B

(21) 1-2017-04876

(22) 21/04/2016

(86) PCT/IB2016/052279 21/04/2016

(87) WO/2016/178113 10/11/2016

(30) 62/157,067 05/05/2015 US

(45) 25/04/2021 397

(43) 26/03/2018 360A

(73) Pfizer Inc. (US)

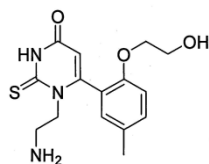
235 East 42nd Street, New York, NY 10017, United States of America

(72) RUGGERI, Roger (US).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) HỢP CHẤT 2-THIOPYRIMIDINON VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chất ức chế myeloperoxidaza có công thức I và dược phẩm chứa chất ức chế này để điều trị bệnh tim mạch.



công thức I

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chất ức chế myeloperoxidaza, được phẩm chứa chất ức chế này và việc sử dụng chất ức chế này để điều trị bệnh tim mạch, bao gồm cả hội chứng mạch vành cấp.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Myeloperoxidaza (MPO) là một enzym chứa heme thuộc siêu họ peroxidaza. Ví dụ về peroxidaza ở động vật là lactoperoxidaza, peroxidaza tuyến giáp (TPO), peroxidaza và myeloperoxidaza ưa eosin. Myeloperoxidaza có mặt trong các hạt bạch cầu trung tính sơ cấp và có mặt trong bạch cầu đơn nhân ở mức độ thấp hơn. Nó xúc tác quá trình tổng hợp axit hypoclorơ từ clorua và hydro peroxit. Axit hypoclorơ này là chất oxy hóa mạnh, nó phản ứng với các cơ chất tế bào khác nhau bao gồm protein heme, porphyrin, thiol, tâm sắt lưu huỳnh, nucleotit, ADN, lipit không no, amin và axit amin.

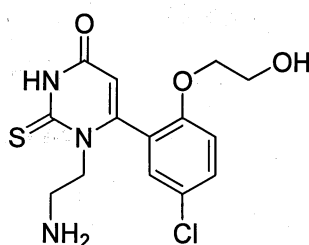
Ngoài ra, các phản ứng xúc tác bởi MPO và sản phẩm của chúng đã được phát hiện là có hoạt tính sinh học thúc đẩy việc tạo vữa xơ động mạch trong quá trình phát triển bệnh vữa xơ động mạch và bệnh tim mạch. Ví dụ, hàm lượng myeloperoxidaza trong huyết tương có liên quan đến sự xuất hiện rối loạn tim mạch ở bệnh nhân bị cơn đau thắt ngực không ổn định. Myeloperoxidaza đã được thông báo là góp phần phát triển bệnh vữa xơ động mạch bằng cách oxy hóa lipit và protein trong LDL và HDL.

Ngoài ra, đã thấy rằng các chất oxy hóa do MPO tạo ra làm giảm độ sinh khả dụng của nitơ oxit, một chất gây giãn mạch quan trọng. Do đó, mức MPO huyết tương cao có tương quan tỷ lệ nghịch với sự thành công của việc điều trị để tái tưới máu các động mạch bị tắc nghẽn. Mức MPO cao cũng liên quan đến khả năng sống sót của bệnh nhân bị suy tim xung huyết giảm đi. Ngoài ra, đã chứng minh được rằng MPO có vai trò nhất định trong việc làm mất ổn định các mảng vữa, dẫn tới việc phá vỡ mảng vữa và gây tình trạng nhồi máu cơ tim.

Do đó, MPO được cho có vai trò nhất định trong một số quá trình dẫn tới bệnh tim mạch bao gồm 1) khả năng vận chuyển cholesterol kém và sự tiến triển mảng vữa xơ động mạch thành trạng thái không ổn định, 2) làm mất ổn định mảng vữa xơ động mạch

và phá vỡ mảng, 3) tiêu thụ nitơ oxit dẫn tới giảm chức năng nội mô và dòng máu, và 4) tình trạng tổn thương mô bệnh lý sau thiếu máu cục bộ góp phần gây ra tình trạng rung nhĩ và tái cấu trúc tim có hại với thất trái phì đại dẫn tới bệnh suy tim xung huyết, phình động mạch chủ, và phình mạch máu não. Do đó, chất ức chế hoạt tính của MPO được đề xuất để tạo ra lợi ích điều trị đáng kể trong việc phòng và điều trị bệnh tim mạch.

WO 2013/068875 công bố ngày 16.5.2013 bộc lộ các hợp chất 2-thiopyrimidinon có thể được sử dụng làm chất ức chế MPO bao gồm hợp chất ức chế nêu trong ví dụ 427.



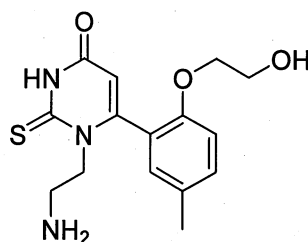
Ví dụ 427

Patent Mỹ số 8,835,449 cấp ngày 16.9.2014 và được công bố lần đầu tiên với số US 2013123230 ngày 16.5.2013 cũng bộc lộ hợp chất 2-(6-(5-clo-2-metoxypheyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)axetamit (ví dụ 1) và patent Mỹ số 8,884,314 cấp ngày 2.5.2013 và được công bố lần đầu tiên với số đơn US201313296351 ngày 7.11.2013 bộc lộ hợp chất N-(2-aminoetyl)-2-[6-(2,4-dimetoxypheyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl]axetamit (ví dụ 241).

Tuy nhiên, mặc dù MPO đã được cho là có liên quan đến nguyên nhân và sự tiến triển của bệnh tim mạch, vẫn luôn cần có chất ức chế MPO cải tiến. Do đó, vẫn cần các dược chất có hoạt tính ức chế myeloperoxidaza và có thể dùng để điều trị, phòng ngừa hoặc làm giảm nhẹ các biểu hiện của các bệnh được mô tả ở đây.

### Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



công thức I

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một khía cạnh được đặc biệt ưu tiên, sáng chế đề xuất muối hydroclorua của hợp chất có công thức I.

Theo một khía cạnh được ưu tiên khác, sáng chế đề xuất hợp chất 1-(2-aminoethyl)-6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (hợp chất A).

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị các biến cố và tình trạng tim mạch bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị sử dụng lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của hợp chất này, trong đó tình trạng hoặc biến cố tim mạch là bệnh suy tim, bệnh suy tim xung huyết, bệnh động mạch ngoại vi, bệnh tăng huyết áp động mạch phổi, bệnh viêm mạch, nhồi máu cơ tim nguyên phát hoặc thứ phát, thiếu máu cục bộ, tổn thương do tái tưới máu khi thiếu máu cục bộ, rung nhĩ, đau thắt ngực không ổn định, bệnh động mạch vành, đột quỵ hoặc phẫu thuật bắc cầu động mạch vành (coronary artery bypass graft: CABG).

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị tình trạng bệnh bao gồm việc cho động vật có vú cần điều trị sử dụng lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của hợp chất này, trong đó tình trạng bệnh nêu trên là bệnh đái tháo đường, suy thận, thâm tách, chức năng bộ phận ghép xuất hiện muộn, thải ghép cơ quan hoặc bệnh thận do chất tương phản gây ra.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I được mô tả ở đây và chất mang, chất dẫn thuốc, hoặc chất pha loãng được dụng.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm kết hợp chứa: lượng cho hiệu quả điều trị của hỗn hợp bao gồm:

hợp chất thứ nhất là hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của hợp chất này;

hợp chất thứ hai là chất ức chế enzyme chuyển hóa angiotensin, chất ức chế HMG-CoA reductaza, chất ức chế neprilysin, chất kháng viêm không steroid, chất ức chế yếu tố Xa hoặc warfarin; và/hoặc tùy ý chất mang, chất dẫn thuốc, hoặc chất pha loãng được dụng.

Tất cả các bằng sáng chế và các đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các dấu hiệu và ưu điểm khác của sáng chế sẽ trở lên rõ ràng từ phần mô tả và yêu cầu bảo hộ kèm theo để mô tả sáng chế.

### Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 thể hiện nhiều xạ đồ bột tia X đặc trưng của dạng tinh thể nêu trong ví dụ 1; chế phẩm 5 (trục thẳng đứng: cường độ (CPS); trục nằm ngang: góc 2 teta (độ)).

### Mô tả chi tiết sáng chế

Bệnh tim mạch được ưu tiên bao gồm bệnh suy tim, bệnh suy tim xung huyết, rung nhĩ, bệnh động mạch ngoại vi, bệnh tăng huyết áp động mạch phổi, bệnh động mạch vành, hoặc bệnh viêm mạch.

Bệnh tim mạch được ưu tiên khác bao gồm đau thắt ngực không ổn định hoặc bệnh nhân bị nhồi máu cơ tim cũng như đột quỵ do thiếu máu cục bộ hoặc xuất huyết.

Thuật ngữ “hợp chất có công thức I” như được sử dụng ở đây để chỉ hợp chất có công thức I và cũng bao gồm muối, chất đa hình, chất đồng phân, tautome, ion lưỡng tính, phức chất, chất đồng vị và chất tương tự như được mô tả dưới đây.

Muối được dụng của hợp chất có công thức I bao gồm các muối cộng axit và các muối bazơ của chúng. Muối cộng axit của hợp chất có công thức I là được ưu tiên. Muối cộng axit thích hợp được tạo ra từ các axit tạo thành muối không độc. Ví dụ về chúng bao gồm muối axetat, adipat, aspartat, benzoat, besylat, bicacbonat/cacbonat, bisulphat/sulphat, borat, camsylat, xitrat, xyclamat, edisylat, esylat, format, fumarat, gluceptat, gluconat, glucuronat, hexaflophosphat, hibenzat, hydroclorua/clorua, hydrobromua/bromua, hydroiodua/iodua, isethionat, lactat, malat, maleat, malonat, mesylat, metylsulphat, naphtylat, 2-napsylat, nicotinat, nitrat, orotat, oxalat, palmitat, pamoat, phosphat/hydro phosphat/dihydro phosphat, pyroglutamat, sacarat, stearat, succinat, tanat, tartrat, tosylat, trifloaxetat và xinofloat.

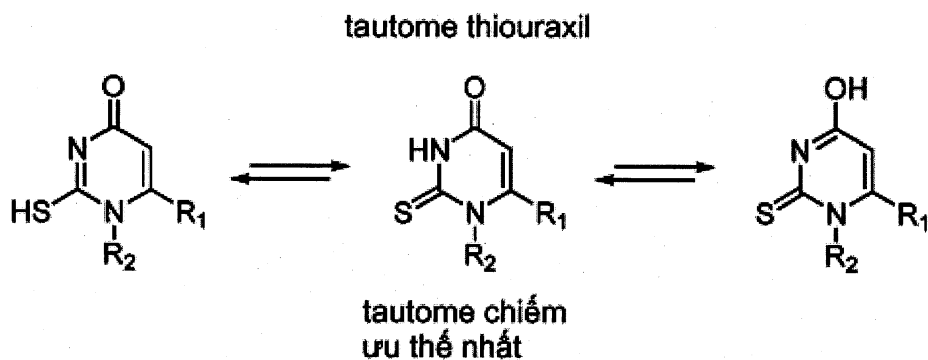
Muối bazơ thích hợp được tạo ra từ các bazơ tạo thành muối không độc. Mặc dù muối bazơ không được ưu tiên nhưng ví dụ về muối bazơ bao gồm muối nhôm, arginin, canxi, cholin, dietylamin, glyxin, lysin, magie, meglumin, olamin, kali, natri, trimetylamin và kẽm. Nửa muối của axit và bazơ cũng có thể được tạo ra, ví dụ, muối nửa sulphat và nửa canxi. Xem thông tin về các muối thích hợp trong tài liệu: Handbook

of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002).

Hợp chất có công thức I có thể tồn tại ở cả dạng solvat và không solvat. Thuật ngữ 'solvat' được sử dụng ở đây để mô tả phức chất phân tử chứa hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều phân tử dung môi được dùng, ví dụ, etanol và/hoặc nước. Phân tử dung môi này là các phân tử thường được sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm, được biết là không độc đối với người nhận, ví dụ, nước, etanol, và dung môi tương tự. Các dung môi khác có thể được sử dụng để làm solvat trung gian để điều chế solvat mong muốn hơn, như metanol, metyl t-butyl ete, etyl axetat, metyl axetat, (S)-propylen glycol, (R)-propylen glycol, 1,4-butyn-diol, và dung môi tương tự. Thuật ngữ 'hydrat' được sử dụng nếu dung môi là nước. Solvat được dùng bao gồm hydrat (ví dụ, polyhydrat; monohydrat) và các solvat khác trong đó dung môi kết tinh có thể được thể bằng chất đồng vị, ví dụ  $D_2O$ ,  $d_6$ -axeton,  $d_6$ -DMSO. Tốt hơn nếu solvat và/hoặc hydrat tồn tại ở dạng tinh thể.

Hợp chất có công thức I bao gồm các phức chất như clathrat, phức chất thành phần lồng nhau được chất-chất chủ trong đó, khác với các solvat nêu trên, được chất và chất chủ có mặt với lượng theo hệ số tỷ lệ hoặc không theo hệ số tỷ lệ. Hợp chất này cũng bao gồm các phức chất của dược chất chứa hai hoặc nhiều thành phần hữu cơ và/hoặc vô cơ, chúng có thể có mặt với lượng theo hệ số tỷ lệ hoặc không theo hệ số tỷ lệ. Các phức chất tạo ra này có thể được ion hóa, ion hóa một phần, hoặc không ion hóa. Xem thông tin về các phức chất này trong tài liệu: J Pharm Sci, 64 (8), 1269-1288, Haleblan (tháng 8.1975).

Nếu hợp chất chứa nhóm keto hoặc thiocarbonyl hoặc gốc thơm, hiện tượng đồng phân hóa tautome ('tautome hóa') có thể xảy ra. Khi đó, một hợp chất có thể có nhiều hơn một dạng đồng phân hóa. Ví dụ, sơ đồ dưới đây minh họa các tautome của hợp chất có công thức I.



Hợp chất có công thức I cũng bao gồm tất cả các dạng tautome của hợp chất có công thức I, kể cả các hợp chất có nhiều hơn một dạng đồng phân hóa, và hỗn hợp của một hoặc nhiều chất của chúng. Hợp chất có công thức I cũng bao gồm muối cộng axit hoặc muối, bazơ trong đó ion đối có tính quay quang, ví dụ, D-lactat hoặc L-lysin, hoặc raxemic, ví dụ, DL-tartrat hoặc DL-arginin.

Sáng chế bao gồm tất cả các hợp chất có công thức I được đánh dấu bằng chất phóng xạ được dụng, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay bằng nguyên tử có cùng nguyên tử số, nhưng có khối lượng nguyên tử hoặc số khối lượng khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối lượng thường thấy trong tự nhiên.

Ví dụ về các chất đồng phân thích hợp để đưa vào hợp chất theo sáng chế bao gồm chất đồng vị của hydro như  $^2\text{H}$  và  $^3\text{H}$ , cacbon như  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  và  $^{14}\text{C}$ , clo như  $^{36}\text{Cl}$ , flo như  $^{18}\text{F}$ , iot như  $^{123}\text{I}$  và  $^{125}\text{I}$ , nitơ như  $^{13}\text{N}$  và  $^{15}\text{N}$ , oxy như  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$  và  $^{18}\text{O}$ , phospho như  $^{32}\text{P}$ , và lưu huỳnh như  $^{35}\text{S}$ .

Một số hợp chất có công thức I được đánh dấu bằng chất đồng vị, ví dụ, các hợp chất chứa chất đồng vị phóng xạ là hữu dụng trong các thử nghiệm phân bố dược chất và/hoặc cơ chất trong mô. Các chất đồng vị phóng xạ triti, tức là  $^3\text{H}$ , và cacbon-14, tức là  $^{14}\text{C}$ , là đặc biệt hữu ích đối với mục đích này do chúng dễ kết hợp và dễ phát hiện.

Việc thế bằng chất đồng vị nặng hơn như đơteri, tức là  $^2\text{H}$ , có thể có một số ưu điểm nhất định trong điều trị do độ ổn định chuyển hóa cao hơn, ví dụ, tăng chu kỳ bán hủy *in vivo* hoặc giảm yêu cầu về liều, và do đó có thể được ưu tiên trong một số trường hợp.

Việc thế bằng chất đồng vị phát xạ positron, như  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{15}\text{O}$  và  $^{13}\text{N}$ , có thể là hữu ích trong các thử nghiệm cắt lớp phát xạ positron (Positron Emission Tomography: PET) để xác định mức độ chiếm chỗ thụ thể của cơ chất.

Nói chung, hợp chất có công thức I được đánh dấu bằng chất đồng vị có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc bằng các phương pháp tương tự với các phương pháp được mô tả trong các ví dụ và ví dụ điều chế kèm theo bằng cách sử dụng chất phản ứng được đánh dấu bằng chất đồng vị thích hợp thay cho chất phản ứng không được đánh dấu sử dụng trước đây. Việc “điều trị” ở đây bao gồm điều trị chữa bệnh, giảm nhẹ bệnh và phòng bệnh.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “dung môi trơ với phản ứng” và “dung môi trơ” để chỉ dung môi hoặc hỗn hợp của chúng không tương tác với chất ban đầu, chất phản ứng, hợp chất trung gian hoặc sản phẩm theo cách ảnh hưởng bất lợi đến hiệu suất của sản phẩm mong muốn.

Thuật ngữ “được dụng” để chỉ chất mang, chất dẫn thuốc, hoặc chất pha loãng và/hoặc muối tương hợp với các thành phần khác của chế phẩm, và không có hại cho người sử dụng chế phẩm.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu làm được phẩm”, như được sử dụng ở đây, để chỉ lượng của hợp chất có công thức I (hoặc chất kết hợp hoặc hợp chất có công thức I kết hợp với chất kết hợp) để điều trị, ngăn ngừa sự khởi phát hoặc làm chậm hoặc làm giảm triệu chứng và biểu hiện sinh lý của các bệnh được mô tả ở đây.

Thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng hoặc nhiệt độ môi trường” để chỉ nhiệt độ nằm trong khoảng từ 18 đến 25°C, “HPLC” để chỉ sắc ký lỏng áp suất cao, “MPLC” để chỉ sắc ký lỏng áp suất trung bình, “TLC” để chỉ sắc ký lớp mỏng, “MS” để chỉ phổ khối, “NMR” để chỉ phổ cộng hưởng từ hạt nhân, “DCM” để chỉ diclometan, “DMSO” để chỉ dimetyl sulfoxit, “DME” để chỉ dimetoxietan, “EtOAc” để chỉ etyl axetat, “MeOH” để chỉ metanol, “Ph” để chỉ nhóm phenyl, “Pr” để chỉ propyl, “trityl” để chỉ nhóm triphenylmetyl, “ACN” để chỉ axetonitril, “DEAD” để chỉ diethylazodicarboxylat, và “DIAD” để chỉ diisopropylazodicarboxylat.

Chất ban đầu và chất phản ứng của hợp chất có công thức I được mô tả ở trên cũng dễ dàng kiếm được hoặc có thể được tổng hợp dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này bằng cách sử dụng các phương pháp tổng hợp hữu cơ thông thường. Ví dụ, nhiều hợp chất được sử dụng ở đây có liên quan đến, hoặc thu được từ các hợp chất rất được quan tâm và có nhu cầu thương mại lớn, và do đó nhiều hợp chất này là có bán trên thị trường hoặc được thông báo trong tài liệu chuyên ngành hoặc được điều

chế dễ dàng từ các chất thông thường khác bằng phương pháp được thông báo trong tài liệu chuyên ngành.

Chất đồng phân *cis/trans* có thể được tách bằng kỹ thuật thông thường mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết rõ, ví dụ, sắc ký và kết tinh phân đoạn.

Muối được dụng của hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng một hoặc nhiều phương pháp trong ba phương pháp làm ví dụ sau đây:

- (i) cho hợp chất có công thức I phản ứng với axit hoặc bazơ cần thiết;
- (ii) loại bỏ nhóm bảo vệ không bền với axit hoặc bazơ ra khỏi tiền chất thích hợp của hợp chất có công thức I, ví dụ xử lý *O-tert-butylcarbamate* bằng axit, hoặc mở vòng tiền chất mạch vòng thích hợp, ví dụ, lacton hoặc lactam, bằng cách sử dụng axit hoặc bazơ cần thiết; hoặc
- (iii) bằng cách chuyển hóa một muối của hợp chất có công thức I thành muối khác bằng cách phản ứng với axit hoặc bazơ thích hợp hoặc bằng cột trao đổi ion thích hợp.

Cả ba phản ứng này thường được thực hiện trong dung dịch. Muối tạo ra có thể kết tủa và được thu hồi bằng cách lọc hoặc có thể được thu hồi bằng cách làm bay hơi dung môi. Mức độ ion hóa trong muối thu được có thể thay đổi từ ion hóa hoàn toàn đến hầu như không ion hóa.

Một số phương pháp điều chế hợp chất theo sáng chế được đề xuất dưới dạng các dấu hiệu khác theo sáng chế và được mô tả trong phần thử nghiệm.

Hợp chất có công thức I theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với các dược chất khác (ví dụ, thuốc chống vữa xơ động mạch và thuốc chống huyết khối) để điều trị bệnh/tình trạng được mô tả ở đây.

#### Chế phẩm kết hợp

Hợp chất có công thức I có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung. Thuật ngữ "được sử dụng kết hợp" hoặc "điều trị kết hợp" để chỉ hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung được sử dụng đồng thời cho động vật có vú cần điều trị. Nếu được sử dụng kết hợp, mỗi thành phần có thể được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt theo thứ tự bất kỳ ở thời điểm khác nhau. Do đó, mỗi thành phần có thể được sử dụng riêng rẽ nhưng đủ gần nhau để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn. Do vậy, phương pháp phòng và điều trị được mô tả ở đây bao gồm sử dụng các chất kết hợp.

Các chất kết hợp được sử dụng cho động vật có vú với lượng cho hiệu quả điều trị. Thuật ngữ "lượng cho hiệu quả điều trị" để chỉ lượng hợp chất theo sáng chế mà khi được sử dụng một mình hoặc kết hợp với chất điều trị bổ sung cho động vật có vú, là hữu hiệu để điều trị bệnh/tình trạng mong muốn, ví dụ, tình trạng tim mạch như hội chứng mạch vành cấp.

Chất điều trị bổ sung bao gồm chất chống đông máu hoặc chất ức chế đông máu, chất kháng tiểu cầu hoặc chất ức chế tiểu cầu, chất ức chế thrombin, chất làm tan huyết khối hoặc chất phân hủy fibrin, chất chống loạn nhịp, chất chống tăng huyết áp, chất phong bế kênh canxi (loại L và loại T), glycosit tim, chất lợi tiểu, chất đối kháng thụ thể khoáng corticoit, chất cho NO như nitrat hữu cơ, chất thúc đẩy NO như chất ức chế phosphodiesteraza, chất làm giảm cholesterol/lipit và chất điều trị chuyển hóa lipit, chất trị bệnh đái tháo đường, chất chống trầm cảm, chất kháng viêm (steroit và không steroid), chất chống loãng xương, chất điều trị thay thế hormon, thuốc tránh thai dùng qua đường miệng, chất trị bệnh béo phì, chất chống lo âu, chất chống tăng sinh, chất kháng u, chất chống loét và chất điều trị bệnh trào ngược dạ dày-thực quản, hormon sinh trưởng và/hoặc chất tăng tiết chất hormon sinh trưởng, chất bắt chước tuyến giáp (kể cả chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp), chất kháng tuyến giáp (ví dụ, propylthiouraxil, methimazol, và carbimazol), chất chống nhiễm trùng, chất kháng virus, chất kháng khuẩn, và chất kháng nấm.

Chất điều trị bổ sung bao gồm các chất sử dụng trong khoa hồi sức cấp cứu, ví dụ, dobutamin, dopamin, epinephrin, nitroglycerin, nitroprussit v.v..

Chất kết hợp có thể dùng để điều trị bệnh viêm mạch bao gồm, ví dụ, azathioprin, xyclophosphamit, mycophenolat, mofetil, rituximab v.v..

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến hỗn hợp trong đó chất thứ hai ít nhất là một chất được chọn từ chất ức chế yếu tố Xa, chất chống đông máu, chất kháng tiểu cầu, chất ức chế thrombin, chất làm tan huyết khối, và chất phân hủy fibrin.

Chất ức chế yếu tố Xa làm ví dụ bao gồm apixaban và rivaroxaban.

Ví dụ về chất chống đông thích hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm heparin (ví dụ, heparin có trọng lượng phân tử thấp và không phân đoạn như enoxaparin và dalteparin).

Theo một phương án được ưu tiên khác, chất thứ hai ít nhất là một chất được chọn từ warfarin, heparin không phân đoạn, heparin có trọng lượng phân tử thấp, pentasacarit

tổng hợp, hirudin, argatrobanas, aspirin, ibuprofen, naproxen, sulindac, indomethacin, mefenamat, droxicam, diclofenac, sulfinpyrazon, piroxicam, ticlopidin, clopidogrel, tirofiban, eptifibatit, abciximab, melagatran, disulfatohirudin, chất hoạt hóa plasminogen mô, chất hoạt hóa plasminogen mô cải biến, anistreplaza, urokinaza, và streptokinaza.

Chất thứ hai được ưu tiên ít nhất là một chất kháng tiểu cầu. Chất kháng tiểu cầu được ưu tiên đặc biệt là aspirin và clopidogrel.

Thuật ngữ chất kháng tiểu cầu (hoặc chất ức chế tiểu cầu) như được sử dụng ở đây để chỉ chất ức chế chức năng của tiểu cầu, ví dụ bằng cách ức chế sự kết tập, dính bám hoặc tạo ra hạt tiểu cầu. Các chất này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất kháng viêm không steroid (non-steroidal anti-inflammatory drug: NSAID) đã biết khác nhau như aspirin, ibuprofen, naproxen, sulindac, indomethacin, mefenamat, droxicam, diclofenac, sulfinpyrazon, piroxicam, và muối được dụng hoặc tiền được chất của chúng. Trong số các NSAID, aspirin (axit axetylsalicylic hoặc ASA) và chất ức chế COX-2 như CELEBREX hoặc piroxicam là được ưu tiên. Chất ức chế tiểu cầu thích hợp khác bao gồm chất đối kháng IIb/IIIa (ví dụ, tirofiban, eptifibatit, và abciximab), chất đối kháng thromboxan-A<sub>2</sub>-thụ thể (ví dụ, ifetroban), chất ức chế thromboxan-A<sub>2</sub>-synthetaza, chất ức chế PDE-III (ví dụ, Pletal, dipyridamol), và muối được dụng hoặc tiền được chất của chúng.

Thuật ngữ chất kháng tiểu cầu (hoặc chất ức chế tiểu cầu) như được sử dụng ở đây còn được dự định bao gồm chất đối kháng thụ thể ADP (adenosin diphosphat), tốt hơn là chất đối kháng thụ thể tiết purin P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> và P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>, trong đó P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> còn được ưu tiên hơn nữa. Chất đối kháng thụ thể P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> được ưu tiên bao gồm ticagrelor, prasugrel, ticlopidin và clopidogrel, kể cả muối được dụng hoặc tiền được chất của chúng. Clopidogrel là chất còn được ưu tiên hơn nữa. Ticlopidine và clopidogrel cũng là hợp chất được ưu tiên do chúng được biết là tác động êm dịu đối với đường dạ dày ruột khi sử dụng.

Thuật ngữ chất ức chế thrombin (hoặc chất kháng thrombin) như được sử dụng ở đây để chỉ chất ức chế serin proteaza thrombin. Bằng cách ức chế thrombin, các quá trình trung gian bởi thrombin khác nhau, như hoạt hóa tiểu cầu trung gian bởi thrombin (ví dụ, kết tập tiểu cầu, và/hoặc tạo ra hạt chất ức chế chất hoạt hóa plasminogen 1 và/hoặc serotonin) và/hoặc tạo fibrin, bị phá vỡ. Một số chất ức chế thrombin là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và các chất ức chế này được dự định sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế. Chất ức chế này bao gồm, nhưng không chỉ

giới hạn ở, dẫn xuất bo arginin, bo peptit, heparin, hirudin, argatroban, và melagatran, bao gồm cả muối được dụng và tiền được chất của chúng. Dẫn xuất bo arginin và bo peptit bao gồm dẫn xuất N-axetyl và peptit của axit boronic, như dẫn xuất axit alpha-aminoboronic đầu C của lysin, ornithin, arginin, homoarginin và chất tương tự isothiouroni tương ứng của chúng. Thuật ngữ hirudin, như được sử dụng ở đây, bao gồm các dẫn xuất hoặc chất tương tự thích hợp của hirudin, được gọi ở đây là hirulog, như disulfatohirudin. Thuật ngữ chất làm tan huyết khối hoặc chất phân hủy fibrin, như được sử dụng ở đây, để chỉ các chất làm tan cục máu đông (huyết khối). Các chất này bao gồm chất hoạt hóa plasminogen mô (tự nhiên hoặc tái tổ hợp) và các dạng cải biến của nó, anistreplaza, urokinaza, streptokinaza, tenecteplaza (TNK), lanoteplaza (chất ức chế nPA), yếu tố VIIa, chất ức chế PAI-1 (tức là chất bất hoạt đối với chất ức chế chất hoạt hóa plasminogen mô), chất ức chế alpha2-antiplasmin, và phức chất của chất hoạt hóa plasminogen streptokinaza anisoyl hóa, kể cả muối được dụng hoặc tiền được chất của chúng. Thuật ngữ anistreplaza, như được sử dụng ở đây, để chỉ phức chất của chất hoạt hóa plasminogen streptokinaza anisoyl hóa, ví dụ, như được mô tả trong EP 028,489. Thuật ngữ urokinaza, như được sử dụng ở đây, để chỉ cả urokinaza mạch đơn và mạch kép, urokinaza mạch đơn còn được gọi ở đây là prourokinaza.

Ví dụ về chất chống loạn nhịp thích hợp bao gồm: các chất nhóm I (như propafenone); các chất nhóm II (như metoprolol, atenolol, carvedilol và propranolol); các chất nhóm III (như sotalol, dofetilol, amiodaron, azimilit và ibutilit); các chất nhóm IV (như diltiazem và verapamil); chất mở kênh  $K^+$  như chất ức chế  $I_{ACh}$ , và chất ức chế  $I_{Kur}$  (ví dụ, các hợp chất như được bộc lộ trong WO01/40231).

Hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với chất chống tăng huyết áp và hoạt tính chống tăng huyết áp này được xác định dễ dàng bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này theo các thử nghiệm chuẩn (ví dụ, đo huyết áp). Ví dụ về chất chống tăng huyết áp thích hợp bao gồm: chất phong bế alpha adrenergic; chất phong bế beta adrenergic; chất phong bế kênh canxi (ví dụ, diltiazem, verapamil, nifedipin và amlodipin); chất gây giãn mạch (ví dụ, hydralazin), chất lợi tiểu (ví dụ, clothiazit, hydroclothiazit, flumethiazit, hydroflumethiazit, bendroflumethiazit, metylclothiazit, triclomethiazit, polythiazit, benzthiazit, tricrynafen của axit ethacrynic, chlorthalidon, torsemit, furosemit, musolimin, bumetanit, triamteren, amilorit, spironolacton); chất ức chế renin; chất ức chế ACE (ví dụ, captopril, zofenopril, fosinopril, enalapril, ceranopril,

cilazopril, delapril, pentopril, quinapril, ramipril, lisinopril); chất đối kháng thụ thể AT-1 (ví dụ, losartan, irbesartan, valsartan); chất đối kháng thụ thể ET (ví dụ, sitaxsentan, atrsentan và hợp chất được bộc lộ trong paten Mỹ số 5,612,359 và 6,043,265); chất đối kháng kép ET/AII (ví dụ, hợp chất được bộc lộ trong WO 00/01389); chất ức chế endopeptidaza trung tính (neutral endopeptidase: NEP); chất ức chế vasopepsidaza (chất ức chế kép NEP-ACE) (ví dụ, gemopatrilat và nitrat). Chất kháng mạch ví dụ là ivabradin.

Ví dụ về chất phong bế kênh canxi thích hợp (loại L hoặc loại T) bao gồm diltiazem, verapamil, nifedipin và amlodipin và mibefradil.

Ví dụ về glycosit tim thích hợp bao gồm digitalis và ouabain.

Theo một phương án, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất lợi tiểu. Ví dụ về chất lợi tiểu thích hợp bao gồm (a) chất lợi tiểu quai như furosemit (như LASIX™), torsemit (như DEMADDEX™), bumetanit (như BUMEX™), và axit etacrynic (như EDECRIN™); (b) chất lợi tiểu loại thiazit như clothiazit (như DIURIL™, ESIDRIX™ hoặc HYDRODIURIL™), hydroclothiazit (như MICROZIDE™ hoặc ORETIC™), benzthiazit, hydroflumethiazit (như SALURON™), bendroflumethiazit, metyclothiazit, polythiazit, triclomethiazit, và indapamide (như LOZOL™); (c) chất lợi tiểu loại pthalimidin như chlorthalidon (như HYGROTON™), và metolazon (như ZAROXOLYN™); (d) chất lợi tiểu loại quinazolin như quinethazon; và (e) chất lợi tiểu giữ kali như triamteren (như DYRENIUM™), và amilorua (như MIDAMOR™ hoặc MODURETIC™).

Theo một phương án khác, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với chất lợi tiểu quai. Theo một phương án khác nữa, chất lợi tiểu quai được chọn từ furosemit và torsemit. Theo một phương án khác nữa, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với furosemit. Theo một phương án khác nữa, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với torsemit, chất này có thể tùy ý ở dạng giải phóng có kiểm soát hoặc biến đổi.

Theo một phương án khác, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với chất lợi tiểu loại thiazit. Theo một phương án khác nữa, chất lợi tiểu loại thiazit được chọn từ nhóm bao gồm clothiazit và hydroclothiazit. Theo một phương án khác nữa, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với clothiazit. Theo một phương án khác nữa, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với hydroclothiazit.

Theo một phương án khác, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với chất lợi tiểu loại phthalimidin. Theo một phương án khác nữa, chất lợi tiểu loại phthalimidin là clothalidon.

Ví dụ về chất đối kháng thụ thể khoáng corticoit kết hợp thích hợp bao gồm sprionolacton và eplerenon.

Ví dụ về chất ức chế phosphodiesteraza kết hợp thích hợp bao gồm: chất ức chế PDE III (như cilostazol); và chất ức chế PDE V (như sildenafil).

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất điều biến cholesterol (bao gồm chất làm giảm mức cholesterol) như chất ức chế lipaza, chất ức chế HMG-CoA reductaza, chất ức chế HMG-CoA synthaza, chất ức chế biểu hiện gen HMG-CoA reductaza, chất ức chế biểu hiện gen HMG-CoA synthaza, chất ức chế tiết MTP/Apo B, chất ức chế CETP, chất ức chế hấp thu axit mật, chất ức chế hấp thu cholesterol, chất ức chế tổng hợp cholesterol chất ức chế squalen synthetaza, chất ức chế squalen epoxidaza, chất ức chế squalen cyclaza, chất ức chế hỗn hợp squalen epoxidaza/squalen, fibrat, niacin, nhựa trao đổi ion, chất chống oxy hóa, chất ức chế ACAT hoặc chất càng hóa axit mật hoặc chất như mipomersen.

Ví dụ về chất làm giảm cholesterol/lipid thích hợp và chất điều trị chuyển hóa lipid bao gồm: chất ức chế HMG-CoA reductaza (ví dụ, pravastatin, lovastatin, atorvastatin, simvastatin, fluvastatin, NK-104 (cũng được biết là itavastatin, hoặc nisvastatin hoặc nisbastatin) và ZD-4522 (cũng được biết là rosuvastatin, hoặc atavastatin hoặc visastatin); chất ức chế squalen synthetaza; fibrat; các chất càng hóa axit mật (như questran); chất ức chế ACAT; chất ức chế MTP; chất ức chế lipoxigenaza; chất ức chế hấp thu cholesterol; và chất ức chế protein chuyển este cholesteryl.

Chất kháng viêm còn bao gồm chất ức chế sPLA2 và lpPLA2 (như darapladib), chất ức chế 5 LO (như atrelueton), chất ức chế p38 (như losmapimod), và chất đối kháng IL-1 và IL-1r (như canakinumab),

Các chất chống vữa xơ động mạch khác bao gồm các chất điều biến tác dụng của PCSK9.

Các biến chứng tim mạch của bệnh đái tháo đường typ 2 có liên quan đến mức MPO có hại; do đó, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất trị bệnh đái tháo đường, cụ thể là chất trị bệnh đái tháo đường typ 2. Ví dụ về chất trị bệnh đái tháo đường thích hợp bao gồm (insulin, metformin, chất ức chế DPP-IV, chất chủ vận,

chất tương tự và chất bắt chước GLP-1, chất ức chế SGLT1 và SGLT2). Chất trị bệnh đái tháo đường thích hợp bao gồm chất ức chế axetyl-CoA carboxylaza-(ACC) như các chất được mô tả trong WO2009144554, WO2003072197, WO2009144555 và WO2008065508, chất ức chế diacylglycerol O-acyltransferaza 1 (DGAT-1), như các chất được mô tả trong WO09016462 hoặc WO2010086820, AZD7687 hoặc LCQ908, chất ức chế diacylglycerol O-acyltransferaza 2 (DGAT-2), chất ức chế monoacylglycerol O-acyltransferaza, chất ức chế phosphodiesteraza (PDE)-10, chất hoạt hóa AMPK, sulfonylure (ví dụ, axetohexamit, clopropamit, diabines, glibenclamit, glipizua, glyburit, glimepirit, gliclazit, glipentit, gliquidon, glisolamit, tolazamit, và tolbutamit), meglitinid, chất ức chế  $\alpha$ -amylaza (ví dụ, tendamistat, trestatin và AL-3688), chất ức chế  $\alpha$ -glucosid hydrolaza (ví dụ, acarbose), chất ức chế  $\alpha$ -glucosidaza (ví dụ, adiposin, camiglibose, emiglitat, miglitol, voglibose, pradimixin-Q, và salbostatin), chất chủ vận PPAR $\gamma$  (ví dụ, balaglitazon, ciglitazon, darglitazon, englitazon, isaglitazon, pioglitazon và rosiglitazon), chất chủ vận PPAR  $\alpha/\gamma$  (ví dụ, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 và SB-219994), điguanua (ví dụ, metformin), chất điều biến peptit 1 tương tự glucagon (GLP-1) như chất chủ vận (ví dụ, exendin-3 và exendin-4), liraglutit, albiglutit, exenatit (Byetta®), albiglutit, lixisenatit, dulaglutit, semaglutit, NN-9924, TTP-054, chất ức chế protein tyrosin phosphataza-1B (PTP-1B) (ví dụ, trodusquemine, chất chiết hyrtiosal, và hợp chất được bộc lộ trong Zhang, S., et al., Drug Discovery Today, 12(9/10), 373-381 (2007)), chất ức chế SIRT-1 (ví dụ, resveratrol, GSK2245840 hoặc GSK184072), chất ức chế dipeptidyl peptidaza IV (DPP-IV) (ví dụ, các chất nêu trong WO2005116014, sitagliptin, vildagliptin, alogliptin, dutogliptin, linagliptin và saxagliptin), chất tăng tiết insulin, chất ức chế oxy hóa axit béo, chất đối kháng A2, chất ức chế c-jun amino-terminal kinaza (JNK), chất hoạt hóa glucokinaza (GKa) như các chất được mô tả trong WO2010103437, WO2010103438, WO2010013161, WO2007122482, TTP-399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 hoặc GKM-001, insulin, chất bắt chước insulin, chất ức chế glycogen phosphorylaza (ví dụ, GSK1362885), chất chủ vận thụ thể VPAC2, chất ức chế SGLT2, như các chất được mô tả trong tài liệu: E.C. Chao et al. Nature Reviews Drug Discovery 9, 551-559 (July 2010) bao gồm dapagliflozin, canagliflozin, empagliflozin, tofogliflozin (CSG452), ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 và LX4211 cũng như các chất nêu trong WO2010023594, chất điều biến thụ thể glucagon

như các chất được mô tả trong tài liệu: Demong, D.E. et al. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* 2008, 43, 119-137, chất điều biến GPR119, cụ thể là chất chủ vận, như các chất được mô tả trong WO2010140092, WO2010128425, WO2010128414, WO2010106457, Jones, R.M. et al. in *Medicinal Chemistry* 2009, 44, 149-170 (ví dụ, MBX-2982, GSK1292263, APD597 và PSN821), dẫn xuất hoặc chất tương tự FGF21 như các chất được mô tả trong tài liệu: Kharitononkov, A. et al. et al., *Current Opinion in Investigational Drugs* 2009, 10(4)359-364, chất điều biến thụ thể TGR5 (còn được gọi là GPBAR1), cụ thể là chất chủ vận, như các chất được mô tả trong tài liệu: Zhong, M., *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2010, 10(4), 386-396 và INT777, GPR40 chất chủ vận, như các chất được mô tả trong tài liệu: Medina, J.C., *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 2008, 43, 75-85, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, TAK-875, chất điều biến GPR120, cụ thể là chất chủ vận, chất hoạt hóa thụ thể axit nicotinic có ái lực cao (HM74A), và chất ức chế SGLT1, như GSK1614235. Danh sách đại diện khác về chất trị bệnh đái tháo đường có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế có thể được tìm thấy, ví dụ trang 28, dòng 35 đến trang 30, dòng 19 của WO2011005611. Chất trị bệnh đái tháo đường được ưu tiên là metformin và chất ức chế DPP-IV (ví dụ, sitagliptin, vildagliptin, alogliptin, dutogliptin, linagliptin và saxagliptin). Các chất trị bệnh đái tháo đường khác có thể bao gồm chất ức chế hoặc chất điều biến enzym carnitin palmitoyl transferaza, chất ức chế fructoza 1,6-diphosphataza, chất ức chế aldoza reductaza, chất ức chế thụ thể khoáng corticoit, chất ức chế TORC2, chất ức chế CCR2 và/hoặc CCR5, chất ức chế các đồng dạng PKC (ví dụ, PKC $\alpha$ , PKC $\beta$ , PKC $\gamma$ ), chất ức chế synthetaza axit béo, chất ức chế serin palmitoyl transferaza, chất điều biến GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1,3, protein liên kết retinol 4, thụ thể glucocorticoit, thụ thể somatostatin (ví dụ, SSTR1, SSTR2, SSTR3 và SSTR5), chất ức chế hoặc chất điều biến PDHK2 hoặc PDHK4, chất ức chế MAP4K4, chất điều biến họ IL1 bao gồm IL1beta, chất điều biến RXRalpha. Ngoài ra, chất trị bệnh đái tháo đường thích hợp bao gồm các cơ chế được nêu trong Carpino, P.A., Goodwin, B. *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2010, 20(12), 1627-51.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với các phương pháp điều trị tim mạch hoặc mạch máu não khác bao gồm PCI, CABG, ghép tim, ghép thận, đặt stent, stent phủ thuốc, liệu pháp tế bào gốc và dụng cụ y tế như máy tạo nhịp để cấy, máy khử rung tim, hoặc liệu pháp tái đồng bộ tim.

Hoạt tính myeloperoxidaza đã được chứng minh trong các tình trạng viêm thần kinh, do đó, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất chống viêm thần kinh và thoái hóa thần kinh ở động vật có vú.

Ví dụ về chất chống viêm thần kinh và thoái hóa thần kinh bổ sung bao gồm chất chống trầm cảm, chất chống loạn thần, chất chống đau, chất trị bệnh Alzheimer, và chất chống lo âu. Ví dụ về các nhóm chất chống trầm cảm cụ thể có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm chất ức chế tái hấp thu norepinephrin, chất ức chế tái hấp thu serotonin chọn lọc (selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI), chất đối kháng thụ thể NK-1, chất ức chế monoamin oxidaza (MAOI), chất ức chế thuận nghịch monoamin oxidaza (reversible inhibitor of monoamine oxidase: RIMA), chất ức chế tái hấp thu serotonin và noradrenalin (SNRI), chất đối kháng yếu tố giải phóng corticotrophin (CRF), và chất chống trầm cảm không điển hình. Chất ức chế tái hấp thu norepinephrin thích hợp bao gồm hợp chất amin bậc ba có ba vòng và hợp chất amin bậc hai có ba vòng. Ví dụ về hợp chất amin bậc ba có ba vòng và hợp chất amin bậc hai có ba vòng thích hợp bao gồm amitriptylin, clomipramin, doxepin, imipramin, trimipramin, dothiepin, butriptylin, nortriptylin, protriptylin, amoxapin, desipramin và maprotilin. Ví dụ về SSRI thích hợp bao gồm fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, và sertralin. Ví dụ về chất ức chế monoamin oxidaza thích hợp bao gồm isocarboxazit, phenelzin, và tranlylcyclopramin. Ví dụ về chất ức chế monoamin oxidaza thuận nghịch thích hợp bao gồm moclobemit. Ví dụ về SNRI thích hợp để sử dụng theo sáng chế bao gồm venlafaxin. Ví dụ về chất chống trầm cảm không điển hình thích hợp bao gồm bupropion, lithi, trazodon và viloxazin. Ví dụ về chất trị bệnh Alzheimer bao gồm chất đối kháng thụ thể NMDA như memantin; và chất ức chế cholinesteraza như donepezil và galantamin. Ví dụ về các nhóm chất chống lo âu thích hợp có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm benzodiazepin và chất chủ vận thụ thể serotonin 1A (5-HT1A), và chất đối kháng CRF. Benzodiazepin thích hợp bao gồm alprazolam, chlordiazepoxit, clonazepam, chlorazepat, diazepam, lorazepam, oxazepam, và prazepam. Chất chủ vận thụ thể 5-HT1A thích hợp bao gồm buspiron và ipsapiron. Chất đối kháng CRF thích hợp bao gồm verucerfont. Chất chống loạn thần không điển hình thích hợp bao gồm paliperidon, ziprasidon, risperidon, aripiprazol, olanzapin, và quetiapin. Chất chủ vận nicotin axetylcholin thích hợp bao gồm CP-601927 và vareniclin. Chất chống đau bao

gồm pregabalin, gabapentin, clonidin, neostigmin, baclofen, midazolam, ketamin và ziconotit.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với điều trị bằng chất điều biến miễn dịch như xyclosporin A (Sandimmune hoặc Neoral), tacrolimus, leflunomit, deoxyspergualin, mycophenolat (ví dụ, Cellcept), Atgam, steroid kháng viêm (ví dụ, prednison hoặc dexamethason), azathioprin, 6-mercaptopurin, rapamycin, chất ức chế JAK (ví dụ, Xeljanz), kháng thể TNF-alpha (ví dụ, infliximab (remicat), adalimumab (Humira), certolizumab pegol (Cimzia), golimumab (Simponi), etanercept (Enbrel)) và methotrexat.

Đặc biệt là khi được sử dụng dưới dạng một đơn vị liều duy nhất, có thể xuất hiện tương tác hóa học giữa các hoạt chất kết hợp. Do đó, nếu hợp chất có công thức I và chất điều trị thứ hai được kết hợp trong một đơn vị liều duy nhất, chúng được bào chế sao cho mặc dù các hoạt chất được kết hợp trong một đơn vị liều duy nhất, mức độ tiếp xúc vật lý giữa các hoạt chất được giảm đến mức tối thiểu (tức là giảm đi). Ví dụ, một hoạt chất có thể được bao lớp bao tan trong ruột. Bằng cách bao lớp bao tan trong ruột cho một trong số các hoạt chất, không chỉ có thể giảm đến mức tối thiểu mức độ tiếp xúc giữa các hoạt chất kết hợp, mà còn có thể kiểm soát sự giải phóng một trong số các hoạt chất này trong đường dạ dày ruột để cho một trong số các hoạt chất này không được giải phóng trong dạ dày mà được giải phóng trong ruột. Một trong số các hoạt chất này cũng có thể được bao bằng chất ảnh hưởng đến sự giải phóng kéo dài qua đường dạ dày-ruột và cũng để làm giảm đến mức tối thiểu mức độ tiếp xúc vật lý giữa các hoạt chất kết hợp. Ngoài ra, hoạt chất được giải phóng kéo dài có thể được bao thêm lớp bao tan trong ruột để sự giải phóng hoạt chất này chỉ xảy ra trong ruột. Phương pháp khác nữa bao gồm việc bào chế sản phẩm kết hợp trong đó một hoạt chất được bao bằng polyme giải phóng kéo dài và/hoặc giải phóng trong ruột, và hoạt chất còn lại cũng được bao bằng polyme như hydroxypropyl methylxenluloza (HPMC) loại có độ nhớt thấp hoặc chất thích hợp khác đã biết trong lĩnh vực này để ngăn cách thêm các hoạt chất. Lớp bao polyme này dùng để tạo ra lớp ngăn bổ sung đối với sự tương tác với hoạt chất còn lại.

Các cách này cũng như các cách khác để làm giảm đến mức tối thiểu sự tiếp xúc giữa các thành phần của sản phẩm hỗn hợp theo sáng chế, bất kết được sử dụng ở dạng liều duy nhất hoặc được sử dụng ở các dạng riêng biệt nhưng đồng thời bằng cách giống

nhau, sẽ là dễ hiểu đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, dựa vào bản mô tả sáng chế.

Khi điều trị kết hợp, cả hợp chất có công thức I và các dược chất khác được sử dụng cho động vật có vú (ví dụ, người, nam hoặc nữ) bằng phương pháp thông thường.

Hợp chất có công thức I và muối của chúng đều được làm thích hợp để sử dụng trong điều trị dưới dạng chất có tác dụng ức chế myeloperoxidaza ở động vật có vú, cụ thể là người, và do đó có thể dùng để điều trị các tình trạng khác nhau (ví dụ, các tình trạng được mô tả ở đây) trong đó cần đến tác dụng này.

Myeloperoxidaza được cho là tham gia vào quá trình oxy hóa bệnh lý đối với protein, lipid và axit nucleic và góp phần vào rối loạn chức năng chuyển hóa cholesterol, gây tổn thương mô, và rối loạn chức năng mô và có thể gây ra và góp phần vào sự phát triển bệnh tim mạch và các tác động có hại kèm theo.

Bệnh/tình trạng có thể được điều trị theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh tim mạch, bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ II) và các biến chứng của bệnh đái tháo đường, tình trạng mạch, tình trạng viêm thần kinh, tình trạng thoái hóa thần kinh, tình trạng đau, bệnh ung thư, nhiễm khuẩn, bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis: NASH), tổn thương phổi và tăng huyết áp động mạch phổi, bệnh thận, và hội chứng viêm mạch, đặc biệt là hội chứng liên quan đến kháng thể bào tương kháng bạch cầu trung tính (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies: ANCA) và hội chứng tương tự.

Dựa vào mối liên hệ dương tính giữa sự hoạt hóa myeloperoxidaza với sự phát triển bệnh/tình trạng tim mạch và bệnh/tình trạng đi kèm, hợp chất có công thức I, nhờ tác dụng dược lý, có thể dùng để phòng ngừa, làm ngừng và/hoặc làm thoái triển bệnh vừa xơ động mạch và các tình trạng bệnh đi kèm với nó.

MPO được cho là có hoạt tính sinh học thúc đẩy vừa xơ động mạch trong quá trình phát triển bệnh tim mạch. Ngoài ra, đã thấy rằng chất oxy hóa do MPO tạo ra làm giảm độ sinh khả dụng của nitơ oxit, một chất gây giãn mạch quan trọng. Ngoài ra, đã thấy rằng MPO đóng vai trò trong việc làm mất ổn định mảng xơ vữa bằng cách làm hoạt hóa metaloproteinaza, dẫn tới làm yếu phần mền dạng sợi của mảng xơ vữa và sau đó làm mất ổn định và phá vỡ mảng xơ vữa. Dựa vào các tác dụng phổ rộng này của MPO, MPO đã được cho là có liên quan đến nhiều bệnh tim mạch khác nhau.

Bệnh tim mạch bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh mạch vành, hội chứng mạch vành cấp, bệnh thiếu máu cục bộ tim, nhồi máu cơ tim lần đầu hoặc tái phát, nhồi máu cơ tim thứ phát, tình trạng nhồi máu cơ tim không gia tăng đoạn ST, hoặc tình trạng nhồi máu cơ tim gia tăng đoạn ST, đột tử do thiếu máu cục bộ, cơn thiếu máu cục bộ thoáng qua, bệnh tắc động mạch ngoại vi, chứng đau thắt, bệnh vữa xơ động mạch, bệnh tăng huyết áp, bệnh suy tim (như bệnh suy tim xung huyết), rối loạn chức năng tâm trương (như rối loạn chức năng tâm trương thất trái, bệnh suy tim tâm trương, và suy giảm chức năng đồ đầy tâm trương), rối loạn chức năng tâm thu (như bệnh suy tim tâm thu có sự giảm phân suất tổng máu), rung nhĩ, loạn nhịp (thất), thiếu máu cục bộ, bệnh cơ tim phì đại, đột tử do tim, xơ hóa mạch và xơ hóa cơ tim, giảm khả năng co giãn của động mạch, tổn thương hoại tử cơ tim, tổn thương mạch, phì đại thất trái, giảm phân suất tổng máu, tổn thương tim, phì đại thạch mạch, lớp nội mạc mỏng đi, hoại tử dạng fibrin động mạch vành, tái cấu trúc có hại, đột quy, và bệnh tương tự. Ngoài ra, bệnh tim mạch bao gồm huyết khối tĩnh mạch, huyết khối tĩnh mạch sâu, viêm tĩnh mạch huyết khối, nghẽn động mạch, huyết khối động mạch vành, huyết khối động mạch não, nghẽn mạch máu não, nghẽn mạch thận, nghẽn mạch phổi, và huyết khối do (a) van nhân tạo hoặc vật cấy khác, (b) ống thông đặt bên trong, (c) stent, (d) tim phổi nhân tạo, (e) thẩm tách máu, hoặc (f) các quy trình khác trong đó máu được tiếp xúc với bề mặt nhân tạo làm thúc đẩy sự tạo huyết khối. Cần lưu ý rằng huyết khối bao gồm huyết khối tắc mạch (ví dụ, sau khi tạo sun) và tái tắc mạch (ví dụ, trong hoặc sau khi tạo hình mạch vành trong lòng mạch qua da).

Các biến chứng tim mạch của bệnh đái tháo đường typ 2 có liên quan đến mức MPO có hại, do đó, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng để điều trị bệnh đái tháo đường và các biến chứng của bệnh đái tháo đường như bệnh mạch máu lớn, tăng glucoza huyết, hội chứng chuyển hóa, tình trạng dung nạp glucoza kém, chứng tăng axit uric huyết, glucoza niệu, bệnh đục thủy tinh thể, bệnh thần kinh đái tháo đường, bệnh thận đái tháo đường, bệnh vồng mạc đái tháo đường, bệnh béo phì, rối loạn lipid huyết, bệnh tăng huyết áp, chứng tăng insulin huyết, và hội chứng kháng insulin.

Ngoài ra, mối liên hệ của hoạt tính myeloperoxidaza với bệnh đã được chứng minh trong các tình trạng viêm thần kinh và thoái hóa thần kinh. Do đó, hợp chất có công thức I được chỉ định cụ thể để điều trị tình trạng viêm thần kinh và thoái hóa thần kinh (tức là rối loạn hoặc bệnh) ở động vật có vú, kể cả người như bệnh đa xơ cứng, bệnh đau

nửa đầu; bệnh động kinh; bệnh Alzheimer; bệnh Parkinson; teo đa hệ thống; tổn thương não; đột quy; bệnh mạch máu não (bao gồm xơ cứng động mạch não, bệnh mạch máu não dạng tinh bột, xuất huyết não di truyền, và giảm oxy não-thiếu máu cục bộ); rối loạn nhận thức (bao gồm chứng quên, sa sút trí tuệ tuổi già, sa sút trí tuệ liên quan đến HIV, sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh Alzheimer, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh Huntington, bệnh sa sút trí tuệ thể Lewy, bệnh sa sút trí tuệ do mạch máu, bệnh sa sút trí tuệ do thuốc, mê sảng, và suy giảm nhận thức nhẹ); thiếu năng tâm thần (bao gồm hội chứng Down và hội chứng nhiễm sắc thể X dễ gãy); rối loạn giấc ngủ (bao gồm chứng ngủ lịm, rối loạn giấc ngủ nhịp ngày đêm, chứng mất ngủ, tình trạng cận giấc ngủ, và thiếu ngủ) và rối loạn tâm thần (như lo âu (bao gồm rối loạn stress cấp tính, rối loạn lo âu toàn thể, rối loạn lo âu xã hội, rối loạn hoảng sợ, rối loạn stress sau chấn thương và rối loạn ám ảnh-cưỡng bức); rối loạn giả tạo (bao gồm hoang tưởng ảo giác cấp tính); rối loạn kiểm soát xung động (bao gồm rối loạn bùng nổ giận dữ và đánh bạc cưỡng bức); rối loạn cảm xúc (bao gồm rối loạn lưỡng cực dạng I, rối loạn lưỡng cực dạng II, hưng cảm, trạng thái cảm xúc hỗn hợp, bệnh trầm cảm chủ yếu, bệnh trầm cảm mạn tính, bệnh trầm cảm theo mùa, bệnh trầm cảm loạn thần, và bệnh trầm cảm sau sinh); rối loạn tâm thần vận động; rối loạn loạn thần (bao gồm bệnh tâm thần phân liệt, rối loạn phân liệt cảm xúc, rối loạn thể tâm thần phân liệt, và rối loạn hoang tưởng); phụ thuộc dược chất (bao gồm phụ thuộc narcotic, nghiện rượu, phụ thuộc amphetamin, nghiện cocain, phụ thuộc nicotin, và hội chứng rút thuốc); rối loạn ăn uống (bao gồm chứng chán ăn, chứng ăn vô độ, rối loạn ăn uống say sưa, chứng ăn nhiều, và chứng nghiện ăn đá lạnh); và rối loạn tâm thần ở trẻ em (bao gồm rối loạn thiếu chú ý, rối loạn tăng động/thiếu chú ý, rối loạn hành vi đạo đức, và bệnh tự kỷ) ở động vật có vú, tốt hơn là người, bằng cách cho động vật có vú sử dụng lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I.

Các bệnh hoặc rối loạn viêm khác bao gồm bệnh hen, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh xơ nang, bệnh xơ hóa phổi tự phát, hội chứng suy hô hấp cấp tính, bệnh viêm xoang, bệnh viêm mũi, bệnh vảy nến, bệnh viêm da, bệnh viêm màng mạch nhỏ, bệnh viêm lợi, bệnh vữa xơ động mạch, bệnh viêm ruột, tổn thương cầu thận, bệnh xơ hóa gan, nhiễm khuẩn, bệnh viêm trực tràng, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, và bệnh viêm liên quan đến tổn thương do tái tưới máu, tổn thương tủy sống và tổn thương mô/tạo sẹo/dính/thải ghép.

Thuật ngữ “bệnh thận do chất tương phản gây ra” bao gồm bệnh thận do chất tương phản sau quy trình sử dụng chất hiện ảnh bao gồm phẫu thuật tim, phẫu thuật không phải ở tim và phẫu thuật ghép. Bệnh thận do chất tương phản gây ra còn bao gồm bệnh thận gây bởi việc sử dụng chất tương phản tăng cường hiện ảnh ở bệnh nhân bao gồm các bệnh nhân có nguy cơ nhồi máu cơ tim nguyên phát hoặc nhồi máu cơ tim thứ phát.

Việc sử dụng hợp chất có công thức I làm được chất để điều trị các tình trạng/bệnh được mô tả ở trên ở động vật có vú (ví dụ, người, nam hoặc nữ) được chứng minh bởi hoạt tính của hợp chất theo sáng chế trong các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* thông thường được mô tả dưới đây. Thử nghiệm *in vivo* (có các cải biến thích hợp trong khả năng của người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này) có thể được sử dụng để xác định hoạt tính của các chất khác cũng như hợp chất theo sáng chế. Các thử nghiệm này cũng là cách để hoạt tính của hợp chất có công thức I (hoặc các chất khác được mô tả ở đây) có thể được so sánh với nhau và so sánh với hoạt tính của các hợp chất đã biết khác. Kết quả so sánh này là hữu dụng để xác định mức liều ở động vật có vú, kể cả người, để điều trị các bệnh này.

Chắc chắn các quy trình sau có thể được thay đổi bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Thử nghiệm máu toàn phần của người để xác định hoạt tính ức chế thuận nghịch MPO

Để xác định tác dụng ức chế hoạt tính MPO trong hệ sinh học theo sáng chế, thử nghiệm sinh học được thực hiện với máu toàn phần của người được lấy từ người tình nguyện không sử dụng thuốc, trong các ống đã xử lý bằng heparin (APP Pharmaceuticals, LLC, cat # NDC#63323-047-10, #4710). Máu được chia thành các mẫu phân ước và xử lý bằng nồng độ khác nhau của chất ức chế MPO hoặc chất đối chứng là chất dẫn thuốc và xử lý đồng thời khi có hoặc không có lipopolysaccharit của vi khuẩn (LPS, InVivogen) để kích thích bạch cầu đồng thời tạo ra  $H_2O_2$  (cơ chất MPO cần thiết) và giải phóng MPO. Sau khi ủ trong 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng, phần huyết tương được thu hồi sau khi ly tâm ở tốc độ 2000Xg ở nhiệt độ 4°C.

Phần huyết tương được chia đôi để phân tích tổng lượng MPO và lượng MPO hoạt tính. Tổng lượng MPO được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA kiểu bán kẹp chuẩn (kháng thể bắt giữ và phát hiện: Cell Sciences, Cat# HP9048, và Cell Sciences, Cat# HM2164, dòng 266-6K1) và được tính so với đường cong chuẩn của

MPO tinh khiết (Myeloperoxidaza, Calbiochem, cat# 475911) được điều chế bằng cách pha loãng trong huyết tương của người cho tự rụng. Hoạt tính MPO được xác định bằng cách bắt giữ tổng lượng MPO trong huyết tương bằng bước bắt giữ như được mô tả đối với phương pháp ELISA nêu trên. Sau khi rửa chất trong huyết tương không liên kết bao gồm chất ức chế MPO không phản ứng, cơ chất phản ứng MPO được bổ sung [ $\text{H}_2\text{O}_2$  (2 $\mu\text{M}$ ) và Amplex Red (Invitrogen, Cat# A12222)] và Vmax của cơ chất Amplex Red chuyển hóa thành resorufin nhờ xúc tác MPO được xác định bằng cách đo mức tăng cường độ huỳnh quang (bước sóng kính thích 530nm, bước sóng phát xạ 580nm) bằng thiết bị đọc đĩa huỳnh quang trong phân tích động học. Hoạt tính MPO của chất được bắt giữ được so sánh với hoạt tính MPO thu được với đường cong chuẩn của MPO tinh khiết (Myeloperoxidaza, Calbiochem, cat# 475911) được điều chế trong huyết tương của người cho tự rụng. Tỷ lệ phần trăm myeloperoxidaza ‘hoạt tính’ của mỗi mẫu được tính từ tỷ lệ myeloperoxidaza hoạt tính trong thử nghiệm Amplex Red và tổng lượng myeloperoxidaza trong thử nghiệm ELISA của mỗi mẫu. Đường cong đáp ứng liều của nồng độ hợp chất theo hoạt tính MPO được vẽ đồ thị để xác định  $\text{IC}_{50}$ .

#### Thử nghiệm hERG

Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trong tế bào CHO đã được chuyển nhiễm gen hERG là sản phẩm của Millipore (dòng tế bào tái tổ hợp PreciSION hERG-CHO CYL3038). Dòng tế bào này được phát triển trong DMEM/F-12, GlutaMAX™ chứa 10% huyết thanh bào thai bò, 1% Penicillin-Streptomycin, 1% Geneticin và 1% dung dịch đệm HEPES 1M, và được duy trì ở nhiệt độ khoảng 37°C trong môi trường ẩm chứa 5% cacbon dioxit. Tế bào được cấy chuyển sau mỗi 3-5 ngày dựa vào mức độ nhập dòng. Vào ngày thử nghiệm, tế bào có mức độ nhập dòng 50%-80% được thu hoạch từ bình nuôi cấy 175  $\text{cm}^2$  bằng Detachin™. Sau khi tiếp xúc với Detachin™ trong 10 phút ở 37°C, tế bào được ly tâm trong 1 phút ở tốc độ 1000 vòng/phút. Dịch nổi được loại bỏ và viên vón tế bào được tái tạo trong 5-8ml môi trường không chứa huyết thanh và chứa 2,5% dung dịch HEPES 1M, cho lên thiết bị Qstirrer™, và để hồi phục. Sau khi hồi phục trong khoảng 30 phút, thử nghiệm được bắt đầu.

Dòng điện hERG được tạo ra và ghi bằng cách sử dụng hệ thống Qpatch HT™ tự động (như được mô tả trong tài liệu: Kutchinsky J, Friis S, Asmild M, et al. Characterization of potassium channel modulators with QPatch automated patch-clamp technology: system characteristics and performance. Assay Drug Dev Technol

2003;1(5):685-93). Tế bào đã tạo hỗn dịch trong thiết bị Qstirrer™ được chuyển sang 48 buồng ghi riêng biệt trên thiết bị Qplate 48™ chứa dung dịch nước muối ngoại bào bao gồm (tính theo mM): 138 NaCl, 5,3 KCl, 1,3 CaCl<sub>2</sub>, 0,5 MgCl<sub>2</sub>, 5,6 glucoza, 5 HEPES, 0,4 MgSO<sub>4</sub>, 0,44 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 4,2 NaHCO<sub>3</sub>, 0,34 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, và điều chỉnh tới độ pH= 7,4 ± 0,1 bằng NaOH. Dung dịch nước muối nội bào bao gồm (tính theo mM): 130 KCl, 1 MgCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, 5 Mg-ATP, và 5 EGTA, và điều chỉnh tới độ pH= 7,2 ± 0,1 bằng KOH. Dòng điện qua màng được ghi ở nhiệt độ trong phòng.

Dòng điện hERG được tạo ra từ điện áp duy trì -80mV với bước điện áp tới +30 mV trong 1 giây, sau đó giảm dần tới -80 mV ở 0,55 mV/ms. Xung thử nghiệm được tạo ra ở tần số 0,25 Hz. Tối đa 4 nồng độ khác nhau được thử nghiệm trên mỗi tế bào, mỗi lần tiếp xúc kéo dài 5 phút hoặc cho đến khi quan sát được tác dụng ở trạng thái ổn định. Trong một bộ thử nghiệm riêng, mỗi liên hệ nồng độ tối đa-đáp ứng và IC50 được xác định đối với đối chứng dương là cisapride (Jules C. Hancox, Mark J. McPate, Aziza El Harchi, Yi hong Zhang, The hERG potassium channel and hERG screening for drug-induced torsades de pointes, Pharmacology & Therapeutics, Volume 119, Issue 2, August 2008, Pages 118-132).

Bằng cách sử dụng chương trình phần mềm thử nghiệm Sophion Qpatch, độ rộng của đỉnh bên ngoài dòng điện hERG khi tái phân cực tăng dần được xác định. Cường độ dòng điện được xác định bằng cách lấy giá trị trung bình của 5 đỉnh dòng điện cuối cùng trong mỗi điều kiện xử lý. Tỷ lệ phần trăm ức chế được xác định bằng cách tính tỷ lệ của dòng điện đo được ở trạng thái ổn định khi có mặt sản phẩm thử nghiệm ( $I_{\text{sản phẩm thử nghiệm}}$ ) với dòng điện đối chứng ( $I_{\text{đối chứng}}$ ), và được thể hiện dưới dạng: % ức chế =  $100 - (I_{\text{sản phẩm thử nghiệm}}/I_{\text{đối chứng}}) * 100$ . Nếu có thể, đường cong nồng độ-đáp ứng được vẽ và dữ liệu được làm khớp bằng cách sử dụng chương trình phần mềm Qpatch để xác định IC50.

Bảng 1 dưới đây thể hiện hoạt tính ức chế myeloperoxidaza trong máu toàn phần của người của hợp chất theo sáng chế (dưới dạng muối HCl) và của một số ví dụ được bộc lộ trong WO 2013/068875 công bố ngày 16.5.2013 theo thử nghiệm được mô tả ở trên. Ngoài ra, bảng này thể hiện hoạt tính hERG và tỷ lệ điều trị theo tính toán IC50 đối với hERG / IC50 đối với MPO của các hợp chất này.

Đã bất ngờ phát hiện được rằng hợp chất nêu trong ví dụ 1 của đơn này có ưu điểm về tỷ lệ IC50 đối với hERG / IC50 đối với MPO liên quan đến độ an toàn tim mạch

so với các hợp chất C, D và E (được bộc lộ trong WO 2013/068875) như được mô tả đầy đủ hơn dưới đây.

Trong bảng 1 dưới đây, IC<sub>50</sub> đối với MPO (được xác định theo thử nghiệm máu toàn phần của người về tác dụng ức chế không thuận nghịch MPO nêu trên) cho thấy nồng độ hợp chất cần thiết để ức chế không thuận nghịch 50% MPO hoạt tính có mặt trong mẫu máu người được thử nghiệm ngoại sinh. Hợp chất A (ví dụ 1 của đơn này) ức chế hữu hiệu MPO trong huyết tương người ở nồng độ thấp hơn mỗi hợp chất D hoặc E, và do vậy là mạnh hơn cho phép cần nồng độ huyết tương thấp hơn để đạt được lợi ích điều trị cho trước. Ngoài ra, cần lưu ý rằng chất tương tự metylphenyl (hợp chất B và D) chứa nhóm thế clophenyl (hợp chất F và C) có sự tăng IC<sub>50</sub> đối với MPO. Do đó, bất ngờ là chất tương tự metylphenyl (hợp chất A) có IC<sub>50</sub> MPO giảm so với chất tương tự clophenyl (hợp chất E).

Ngoài ra, hoạt tính ngoài đích đáng kể và không mong muốn của chất điều trị tác dụng toàn thân bất kỳ là ức chế kênh kali hERG. Tác dụng có hại của việc ức chế kênh ion này là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này do có liên quan đến sự kéo dài khoảng QTc trên điện tâm đồ (electrocardiogram: ECG) của bệnh nhân và có thể gây ra tình trạng “xoắn đỉnh” và nhịp tim nhanh thất (Bernard Fermini, Anthony A. Fossa, Pre-Clinical Assessment of Drug-Induced QT Interval Prolongation. Current Issues and Impact on Drug Discovery, Annual Reports in Medicinal Chemistry, Academic Press, 2004, Volume 39, Pages 323-334). Tỷ lệ nồng độ cao hơn cần thiết để ức chế hoạt tính hERG và myeloperoxidaza (trong trường hợp này là tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> của MPO) có ưu điểm là nó cho phép ức chế an toàn MPO tới mức cao hơn trước khi có thể gặp phải các tác dụng tim mạch có hại liên quan đến hERG. Tỷ lệ này tỷ lệ thuận với chỉ số điều trị (nồng độ trong huyết tương khi quan sát được tác dụng có hại chia cho nồng độ trong huyết tương khi có tác dụng điều trị). Chỉ số điều trị liên quan đến hoạt tính ức chế hERG là một ưu điểm đặc biệt quan trọng của chất ức chế myeloperoxidaza do nhóm đối tượng quan trọng được hướng tới là các bệnh nhân gần đây bị đau tim và do vậy dễ bị loạn nhịp và các hậu quả có hại của nó hơn. Do đó, đặc biệt có lợi nếu sử dụng được chất có profin độ an toàn tim mạch cao cho các bệnh nhân bị bệnh tim mạch hoặc bệnh mạch vành.

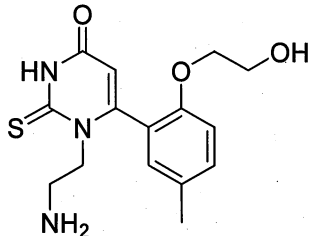
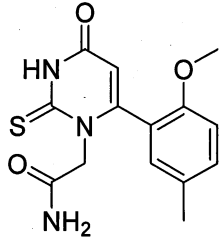
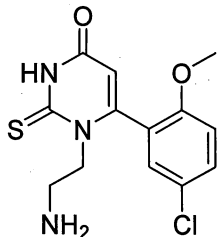
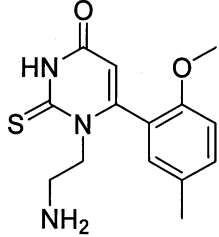
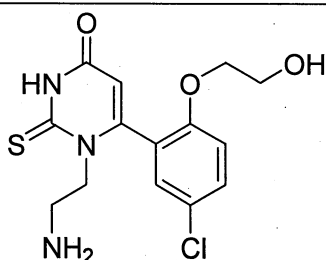
Ưu điểm đáng kể của chất ức chế myeloperoxidaza là có tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG với IC<sub>50</sub> đối với MPO cao hơn để làm tăng đến mức tối đa tỷ lệ lợi ích điều trị tiềm năng

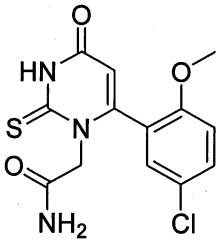
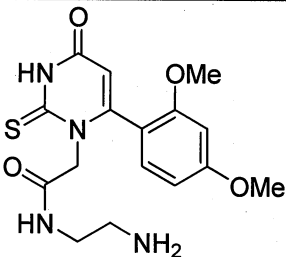
với độ an toàn. Trong bảng 1, hợp chất A (ví dụ 1 của đơn này) có tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO bằng 5515 (IC<sub>50</sub> đối với hERG = 3033μM; được ngoại suy từ 9% ở 300μM:  $[300\mu\text{M} \times ((100 - 9) / 9)]$ ) so với tỷ lệ này của hợp chất D (tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO = 162; IC<sub>50</sub> đối với hERG = 160μM: làm khớp với đường cong bao gồm 40% ở 100μM và 63% ở 300 uM) và hợp chất E (tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO = 260; IC<sub>50</sub> đối với hERG = 335μM được ngoại suy từ 23% ở 100μM:  $[100\mu\text{M} \times ((100 - 23) / 23)]$ ). (xem phương pháp ngoại suy trong tài liệu: “Optimizing Higher Throughput Methods to Assess Drug-Drug Interactions for CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, rCYP2D6, and CYP3A4 In Vitro Using a Single Point IC<sub>50</sub>” *J Biomol Screen* (2002) 7:373). Bằng cách phân tích tương tự, hợp chất F có tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO bằng 900 (IC<sub>50</sub> đối với hERG = 1700μM; được ngoại suy từ 15% ở 300μM:  $[300\mu\text{M} \times ((100 - 15) / 15)]$ ); hợp chất C có tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO bằng 41 (IC<sub>50</sub> đối với hERG = 33μM; làm khớp với đường cong bao gồm 49% ở 30μM và 75% ở 100μM); và hợp chất G có tỷ lệ IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO bằng 1500 (IC<sub>50</sub> đối với hERG = 900μM; được ngoại suy từ 25% ở 300μM:  $[300\mu\text{M} \times ((100 - 25) / 25)]$ ). [kết quả của hợp chất B không được xác định.]

Do đó, hợp chất A (ví dụ 1 của đơn này) có tỷ lệ độ an toàn IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO gấp 34 lần (tức là 5515/162) so với hợp chất D và tỷ lệ độ an toàn IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO cao gấp 21 lần (tức là 5515/260) so với hợp chất E. Độ chọn lọc cao khác thường này của tác dụng ức chế MPO so với hoạt tính hERG của hợp chất A có ưu điểm về độ an toàn tim mạch bất ngờ đáng kể, đặc biệt là đối với hợp chất cần sử dụng cho bệnh nhân bị bệnh tim mạch.

Theo cách tương tự, hợp chất A (ví dụ 1 của đơn này) có tỷ lệ độ an toàn IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO cao gấp 135 lần (tức là 5515/41) so với hợp chất C, tỷ lệ độ an toàn IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO cao gấp 6,1 lần (tức là 5515/900) so với hợp chất F, và tỷ lệ độ an toàn IC<sub>50</sub> đối với hERG / IC<sub>50</sub> đối với MPO cao gấp 3,7 lần (tức là 5515/1500) so với hợp chất G.

Bảng 1. Tỷ lệ điều trị dựa vào hoạt tính MPO/hERG

| Hợp chất     | Ví dụ số                | Cấu trúc                                                                            | IC <sub>50</sub> đối với MPO trong máu toàn phần của người | IC <sub>50</sub> đối với hERG (được xác định bằng cách làm khớp đường cong hoặc được ngoại suy từ % hoạt tính được thể hiện) | Tỷ lệ điều trị IC <sub>50</sub> đối với hERG / IC <sub>50</sub> của MPO |
|--------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| A<br>Ví dụ 1 | xem Ví dụ 1 của đơn này |    | 0,55μM                                                     | 3033 μM<br>(9% @ 300μM)                                                                                                      | 5515                                                                    |
| B            | WO13068875<br>Ví dụ 164 |    | 2,5μM                                                      | Không xác định                                                                                                               | Không xác định                                                          |
| C            | WO13068875<br>Ví dụ 63  |   | 0,80μM                                                     | 33μM<br>(49% ở 30μM)<br>(75% ở 100μM)                                                                                        | 41                                                                      |
| D            | WO13068875<br>Ví dụ 159 |  | 0,99μM                                                     | 160μM<br>(40% ở 100μM)<br>(63% ở 300μM)                                                                                      | 162                                                                     |
| E            | WO13068875<br>Ví dụ 427 |  | 1,3μM                                                      | 335μM<br>(23% ở 100μM)                                                                                                       | 260                                                                     |

|   |                                                                                                                                                  |                                                                                   |              |                                     |      |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|------|
| F | Ví dụ 1 của<br>WO13068875<br>2-(6-(5-clo-2-<br>metoxy-phenyl)-4-<br>oxo-2-thioxo-3,4-<br>dihydro-pyrimidin-<br>1(2H)-yl)-axetamit                |  | 1,9 $\mu$ M  | 1700 $\mu$ M<br>(15% ở 300 $\mu$ M) | 900  |
| G | WO13068875<br>Ví dụ 241<br>N-(2-amino-etyl)-2-<br>[6-(2,4-<br>dimetoxypheyl)-4-<br>oxo-2-thioxo-3,4-<br>dihydro-pyrimidin-<br>1(2H)-yl]-axetamit |  | 0,60 $\mu$ M | 900 $\mu$ M<br>(25% ở 300 $\mu$ M)  | 1500 |

### Thử nghiệm hoạt tính của MPO Amplex Red

Hoạt tính của MPO peroxidaza được xác định bằng cách theo dõi mức độ tạo resorufin từ quá trình oxy hóa Amplex Red (10-axetyl-3,7-dihydroxyphenoxazin; Invitrogen, Carlsbad, CA) by MPO (Gomes, Fernandes et al. 2005). Hỗn hợp thử nghiệm (tổng thể tích 100 $\mu$ l) chứa 50 mM NaPi pH 7,4, 150 mM NaCl, 1 mM DTPA (axit diethylentriaminpentaaxetic), 2% DMSO, 2 $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30 $\mu$ M Amplex Red và phản ứng được khơi mào bằng cách bổ sung 100pM MPO (được tinh chế từ bạch cầu đa nhân của người và là sản phẩm của Calbiochem/EMD Biosciences, Gibbstown, NJ). Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trong các đĩa polystyren màu đen có 96 lỗ, có bề mặt không liên kết, diện tích một nửa (Corning) và mức độ tạo ra resorufin (bước sóng kích thích 530nm, bước sóng phát xạ 580nm) được theo dõi mỗi 20 giây trên phổ quang kế Spectramax M2 Microplate (Molecular Devices, Palo Alto, CA) với chương trình phần mềm Softmax Pro (Molecular Devices, Palo Alto, CA). Phản ứng để xác định tốc độ phản ứng nền bao gồm tất cả các thành phần thử nghiệm và 4 $\mu$ l catalaza của bò 500 đơn vị/ml (Sigma) trong 50mM KPi pH 7,0. Tốc độ nền này được trừ đi đối với mỗi đường cong diễn biến phản ứng. Tất cả các dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng phương pháp phân tích hồi quy không tuyến tính trong chương trình Microsoft Excel và Kaleidagraph (Synergy Software).

Để xác định hiệu lực của chất ức chế ( $k_{\text{inact}}/K_I$ ) đối với MPO, 600 giây đầu tiên của đường cong diễn biến phản ứng được làm khớp với công thức 1, trong đó  $V_0$  là tốc độ ban đầu tính theo RFU/giây và  $t$  là thời gian tính bằng giây, để thu được hằng số tốc độ bậc nhất để bất hoạt enzym ( $k_{\text{obs}}$ ) ở mỗi nồng độ chất ức chế.

$$\text{Sản phẩm} = \frac{V_0}{k_{\text{obs}}} [1 - \exp(-k_{\text{obs}} t)] \quad (1)$$

Công thức 1 là một biến thể của công thức chuẩn đối với sự ức chế liên kết chậm trong đó tốc độ ở trạng thái ổn định ( $V_s$ ) được đặt bằng 0. Mỗi giá trị  $k_{\text{obs}}$  được hiệu chỉnh đối với sự tự bất hoạt enzym bằng cách trừ đi giá trị  $k_{\text{obs}}$  đối với phản ứng không được ức chế. Giá trị  $k_{\text{obs}}$  đã hiệu chỉnh này được vẽ đồ thị theo nồng độ chất ức chế ( $[I]$ ) và lắp vào công thức 2

$$k_{\text{obs}} = \frac{k_{\text{inact}}[I]}{K_I + [I]} \quad (2)$$

trong đó  $k_{\text{inact}}$  là tốc độ bất hoạt tối đa và  $K_I$  là nồng độ chất ức chế tạo ra một nửa tốc độ bất hoạt tối đa (Copeland 2005).

#### Thử nghiệm hoạt tính peroxidaza tuyến giáp (TPO) Amplex Red

Hoạt tính của TPO được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm giống như MPO với  $2\mu\text{M H}_2\text{O}_2$ ,  $30\mu\text{M Amplex Red}$  và phản ứng được khơi mào bằng  $1,3\mu\text{g}$  protein lấy từ màng tế bào HEK293 biểu hiện TPO của người. cADN mã hóa 933 axit amin của TPO của người có chiều dài đầy đủ được tạo dòng vào vector biểu hiện cảm ứng pcDNA5/frt/to (Invitrogen), các dòng tế bào 293 ổn định được chọn bằng cách sử dụng  $100\mu\text{g/ml}$  hygromycin và  $15\mu\text{g/ml}$  blasticidine trong DMEM trọng lượng/ 10% FBS. Khi tế bào đạt tới mức độ nhập dòng 50-60%, sự biểu hiện TPO được cảm ứng trong môi trường chứa tất cả các thành phần nêu trên và  $10\mu\text{g/ml}$  doxycycline và  $5\mu\text{g/ml}$  hemin (Sigma). Màng tế bào được tách ra khỏi HEK293hTPO bằng cách thu hoạch tế bào trong PBS. Tế bào được tạo viên vón ở tốc độ  $1000 \times g$  trong 5 phút ở nhiệt độ  $4^\circ\text{C}$ , tái tạo hỗn dịch trong dung dịch đệm làm đồng nhất ( $1\text{mM}$  natri bicarbonat, độ pH=7,4) chứa chất ức chế proteaza không có mặt EDTA (Roche), và ủ trên nước đá trong 10 phút, sau đó làm đồng nhất bằng thiết bị Dounce. Nhân và tế bào chưa phân giải được loại bỏ bằng cách tạo viên vón ở tốc độ  $1000 \times g$  trong 10 phút ở nhiệt độ  $4^\circ\text{C}$ . Dịch nổi bề mặt được ly tâm ở tốc độ  $25000 \times g$  trong 20 phút ở nhiệt độ  $4^\circ\text{C}$ . Viên vón này được tái tạo hỗn dịch trong

dung dịch đệm làm đồng nhất và ly tâm lại ở tốc độ 25000 x g trong 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Viên vón cuối cùng được tạo hỗn dịch trong dung dịch đệm bảo quản (50 mM Tris pH 7, 150 mM NaCl) chứa chất ức chế proteaza như được mô tả ở trên. Nồng độ màng được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm Protein BCA (Pierce). Hoạt tính TPO được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm Amplex Red như được mô tả ở trên. Các mẫu phân ước được tạo ra dựa vào hoạt tính tương ứng và được bảo quản ở -80°C.

IC<sub>50</sub> được xác định bằng cách vẽ đồ thị tốc độ ban đầu (từ 200 giây đầu tiên của mỗi đường cong diễn biến phản ứng) theo tỷ lệ phần trăm ức chế so với phản ứng không ức chế (DMSO) theo hàm số của nồng độ chất ức chế. Dữ liệu này được lắp vào công thức 3:

$$y = \frac{100}{1 + (x/IC_{50})^z} \quad (3)$$

trong đó IC<sub>50</sub> là nồng độ chất ức chế ở mức ức chế 50% và z là độ dốc Hill (độ dốc của đường cong ở điểm uốn của nó).

#### Tài liệu tham khảo

Copeland, R. A. (2005). *Evaluation of Enzyme Inhibitors in Drug Discovery A Guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists*. Hoboken, Wiley.

Gomes, A., E. Fernandes, et al. (2005). "Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species." *J Biochem Biophys Methods* 65(2-3): 45-80.

Việc sử dụng hợp chất có công thức I (hoặc hỗn hợp của chúng) có thể được thực hiện bằng phương pháp bất kỳ để cung cấp hợp chất (hoặc hỗn hợp của chúng) qua đường toàn thân và/hoặc khu trú. Các phương pháp này bao gồm đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, trong tá tràng, trong miệng, trong mũi, đường khu trú v.v.. Nói chung, hợp chất có công thức I (hoặc hỗn hợp của chúng) được sử dụng qua đường miệng, nhưng việc sử dụng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, tĩnh mạch, trong cơ, dưới da hoặc nội tủy) có thể được sử dụng, ví dụ, nếu việc sử dụng qua đường miệng là không thích hợp đối với đích hoặc nếu bệnh nhân không thể uống thuốc.

Để sử dụng cho người, liều hằng ngày qua đường miệng của hợp chất có công thức I có thể nằm trong khoảng từ 1mg đến 5000mg tùy thuộc vào cách sử dụng và tần suất sử dụng, tình trạng bệnh, và tuổi và tình trạng của bệnh nhân, v.v.. Liều hằng ngày qua đường miệng nằm trong khoảng từ 3mg đến 2000mg có thể được sử dụng. Liều hằng

ngày dùng qua đường miệng khác nằm trong khoảng từ 5mg đến 1000mg. Để thuận tiện, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng ở dạng liều đơn vị. Nếu cần, nhiều liều trong một ngày của dạng liều đơn vị có thể được sử dụng để tăng tổng liều hàng ngày. Dạng liều đơn vị, ví dụ, có thể là viên nén hoặc viên nang chứa 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 500, hoặc 1000mg hợp chất có công thức I. Tổng liều hàng ngày có thể được sử dụng theo các liều duy nhất hoặc liều chia nhỏ và có thể nằm ngoài khoảng thông thường nêu ở đây theo quyết định của bác sĩ điều trị.

Để sử dụng cho người, liều để truyền hằng ngày của hợp chất có công thức I có thể nằm trong khoảng từ 1mg đến 2000mg phụ thuộc vào cách sử dụng và tần suất sử dụng, tình trạng bệnh, và tuổi và tình trạng của bệnh nhân, v.v.. Liều để truyền hằng ngày khác nằm trong khoảng từ 5mg đến 1000 mg. Tổng liều hàng ngày có thể được sử dụng theo các liều duy nhất hoặc liều chia nhỏ và có thể nằm ngoài khoảng thông thường nêu ở đây theo quyết định của bác sĩ điều trị.

Hợp chất có công thức I cũng có thể được sử dụng cho động vật không phải người, ví dụ, đối với các chỉ định điều trị nêu trên. Liều chính xác được sử dụng của mỗi hoạt chất sẽ thay đổi phụ thuộc vào một số yếu tố bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, loại động vật và loại tình trạng bệnh được điều trị, tuổi của động vật, và đường sử dụng.

Liều lượng của dược chất kết hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất có công thức I là hữu hiệu đối với chỉ định được điều trị. Liều lượng này có thể được xác định bằng các thử nghiệm chuẩn như các thử nghiệm nêu trên và được đưa ra ở đây. Các chất kết hợp này có thể được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt theo thứ tự bất kỳ.

Liều lượng này là dựa trên người trung bình có thể trọng nằm trong khoảng từ 60kg đến 70kg. Bác sĩ điều trị sẽ có thể dễ dàng xác định liều cho các đối tượng có trọng lượng nằm ngoài khoảng này, như trẻ em và người già.

Chế độ liều có thể được điều chỉnh để tạo ra đáp ứng tối ưu mong muốn. Ví dụ, liều lớn duy nhất có thể được sử dụng, một số liều chia nhỏ có thể được sử dụng theo thời gian hoặc liều lượng này có thể tăng hoặc giảm theo tỷ lệ như được chỉ ra bởi tình huống điều trị khẩn cấp. Đặc biệt có lợi nếu bào chế dược phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa ở dạng đơn vị liều dễ sử dụng và thu được liều đồng nhất. Dạng đơn vị liều như được sử dụng ở đây để chỉ các đơn vị riêng biệt thích hợp để làm liều đơn vị cho đối tượng động vật có vú cần điều trị; mỗi đơn vị chứa lượng định trước của hoạt chất được tính để tạo ra tác dụng điều

trị mong muốn kết hợp với chất mang được dụng cần thiết. Yêu cầu kỹ thuật của dạng đơn vị liều theo sáng chế được quyết định bởi và phụ thuộc trực tiếp vào (a) đặc tính khác thường của chất hóa trị liệu và tác dụng điều trị hoặc dự phòng cụ thể cần đạt được, và (b) các hạn chế vốn có trong lĩnh vực trộn hoạt chất này để xử lý tính miễn cảm của từng người.

Do đó, dựa trên nội dung bộc lộ ở đây, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng liều lượng và chế độ liều được điều chỉnh theo các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực điều trị bệnh. Tức là, liều dung nạp tối đa có thể được xác định dễ dàng, và lượng hữu hiệu để tạo ra lợi ích điều trị có thể phát hiện được cho bệnh nhân cũng có thể được xác định, cũng như có thể xác định các yêu cầu theo thời gian để sử dụng mỗi chất để tạo ra lợi ích điều trị có thể phát hiện được cho bệnh nhân. Do đó, mặc dù một số liều và chế độ sử dụng được nêu ví dụ ở đây, các ví dụ này không làm giới hạn liều lượng và chế độ liều có thể cung cấp cho bệnh nhân trong việc thực hành sáng chế.

Cần lưu ý rằng liều lượng có thể thay đổi theo loại và mức độ nặng của tình trạng cần được giảm nhẹ, và có thể bao gồm một liều hoặc nhiều liều. Cũng cần hiểu rằng đối với đối tượng cụ thể bất kỳ, chế độ liều cụ thể cần được điều chỉnh theo thời gian tùy theo yêu cầu và quyết định chuyên môn của người cho sử dụng hoặc giám sát việc sử dụng được phẩm, và khoảng liều nêu ở đây chỉ để làm ví dụ và không được dự định làm giới hạn phạm vi hoặc việc sử dụng được phẩm theo sáng chế. Ví dụ, liều lượng có thể được điều chỉnh dựa trên các thông số dược động học, các thông số này có thể bao gồm các tác dụng lâm sàng như tác dụng độc hại và/hoặc giá trị xác định trong phòng thí nghiệm. Do đó, sáng chế bao gồm việc tăng liều ở bệnh nhân như được xác định bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Việc xác định liều lượng thích hợp và chế độ sử dụng của chất hóa trị liệu là đã biết rõ trong lĩnh vực này và sẽ được hiểu là thuộc khả năng của người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này dựa vào nội dung được bộc lộ ở đây.

Sáng chế còn bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức I để làm thuốc (như viên nén dạng liều đơn vị hoặc viên nang dạng liều đơn vị). Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức I để bào chế thuốc (như viên nén dạng liều đơn vị hoặc viên nang dạng liều đơn vị) để điều trị một hoặc nhiều tình trạng được xác định ở trên trong phần bản luận về phương pháp điều trị.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế, đóng gói, hoặc bán ở dạng sản phẩm rời, dưới dạng liều đơn vị duy nhất, hoặc nhiều liều đơn vị. Như được sử dụng ở đây, "liều đơn vị" là lượng riêng rẽ của dược phẩm chứa lượng định trước của hoạt chất. Lượng hoạt chất thường bằng với liều hoạt chất sẽ được sử dụng cho đối tượng hoặc phần thuận tiện của liều này, ví dụ, một phần hai hoặc một phần ba liều này.

Hợp chất có công thức I (hoặc hỗn hợp của chúng) có thể được sử dụng dưới dạng chế phẩm chứa lượng hữu hiệu làm dược phẩm của hợp chất có công thức I (hoặc hỗn hợp của chúng), kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dụng bao gồm chất pha loãng, chất dẫn thuốc và chất pha loãng. Thuật ngữ "tá dược" ở đây để chỉ chất bất kỳ, bản thân nó không phải là chất điều trị, được sử dụng làm chất pha loãng, chất phụ trợ, hoặc chất dẫn thuốc để cung cấp chất điều trị cho đối tượng hoặc được bổ sung vào dược phẩm để cải thiện đặc tính gia công hoặc bảo quản của nó hoặc để cho phép hoặc tạo thuận lợi cho việc bào chế dạng liều rắn như viên nén, viên nang, hoặc dung dịch hoặc hỗn dịch thích hợp để sử dụng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, trong chân bì, dưới da, hoặc khu trú. Tá dược có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất pha loãng, chất phân rã, chất kết dính, chất dính, chất thấm ướt, polyme, chất làm trơn, chất trượt, chất ổn định, chất được bổ sung để che hoặc trung hòa vị hoặc mùi khó chịu, chất điều vị, thuốc nhuộm, chất tạo hương, và các chất được bổ sung để cải thiện hình thức của dược phẩm. Tá dược được dụng bao gồm (nhưng không chỉ giới hạn ở) axit stearic, magie stearat, magie oxit, muối natri và canxi của axit phosphoric và sulfuric, magie cacbonat, bột talc, gelatin, gôm acacia, natri alginat, pectin, dextrin, manitol, sorbitol, lactoza, sucroza, tinh bột, gelatin, chất xenluloza, như xenluloza este của axit alkanoic và xenluloza alkyl este, sáp có điểm nóng chảy thấp, bơ hoặc bột ca cao, polyme như polyvinyl-pyrrolidon, rượu polyvinyllic, và polyetylen glycol, và các chất được dụng khác. Ví dụ về tá dược và việc sử dụng chúng có thể được tìm thấy trong tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition (Lippincott Williams & Wilkins, 2000). Việc chọn tá dược sẽ phụ thuộc nhiều vào các yếu tố như cách sử dụng cụ thể, tác động của tá dược đối với độ tan và độ ổn định, và bản chất của dạng liều.

Hợp chất có công thức I (hoặc hỗn hợp của chúng) có thể được bào chế để sử dụng qua đường miệng, trong miệng, trong mũi, ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, tĩnh mạch, trong cơ hoặc dưới da) hoặc đường trực tràng hoặc ở dạng thích hợp để sử dụng bằng cách xông. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được bào chế để cung cấp kéo dài.

Phương pháp bào chế các dược phẩm khác nhau chứa một lượng nhất định hoạt chất là đã biết, hoặc sẽ biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa vào bản mô tả này. Xem ví dụ về phương pháp bào chế dược phẩm trong tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition (Lippincott Williams & Wilkins, 2000).

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa hợp chất theo sáng chế với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 95%, tốt hơn là 1%-70%. Trong trường hợp bất kỳ, dược phẩm cần sử dụng sẽ chứa hợp chất theo sáng chế với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh/tình trạng của đối tượng được điều trị.

Do sáng chế có khía cạnh liên quan đến việc điều trị bệnh/tình trạng được mô tả ở đây bằng hỗn hợp các hoạt chất, các hoạt chất này có thể được sử dụng riêng rẽ, sáng chế cũng đề cập đến việc kết hợp các dược phẩm riêng rẽ ở dạng kit. Kit này chứa hai dược phẩm riêng rẽ: hợp chất có công thức I và hợp chất thứ hai như mô tả ở trên. Kit này chứa phương tiện để chứa các dược phẩm riêng rẽ như đồ chứa, lọ chia ngăn, gói chia ngăn làm bằng lá kim loại. Thông thường, kit này chứa hướng dẫn sử dụng các thành phần riêng rẽ. Dạng kit này là đặc biệt có lợi khi các thành phần riêng rẽ được sử dụng ở các dạng liều khác nhau (ví dụ, dạng liều sử dụng qua đường miệng và ngoài đường tiêu hoá) được sử dụng ở các thời khoảng sử dụng liều khác nhau, hoặc khi cần chuẩn độ các thành phần riêng biệt của hỗn hợp bởi bác sỹ kê đơn.

Ví dụ về kit này là gói được gọi là vỉ bấm. Vỉ bấm là đã biết rõ trong ngành công nghiệp đóng gói và được sử dụng rộng rãi để đóng gói các dạng liều đơn vị dược phẩm (viên nén, viên nang, và dạng tương tự). Vỉ bấm thường bao gồm tấm vật liệu tương đối cứng được phủ lớp vật liệu chất dẻo trong suốt. Trong quá trình đóng gói, các hốc lõm được tạo ra trong lớp chất dẻo. Các hốc này có kích thước và hình dạng của viên nén hoặc viên nang cần đóng gói. Tiếp theo, viên nén hoặc viên nang này được đặt vào các hốc lõm và tấm vật liệu tương đối cứng được gắn với lớp chất dẻo ở mặt của lớp chất dẻo đối diện với hướng mà trong đó các hốc được tạo ra. Do đó, viên nén hoặc viên nang được bịt kín trong các hốc lõm giữa lớp chất dẻo và tấm vật liệu. Tốt hơn nếu độ bền của tấm này là sao cho viên nén hoặc viên nang có thể được lấy ra khỏi vỉ bấm bằng cách ấn bằng tay lên các hốc lõm nhờ đó tạo ra khe hở trên tấm này ở vị trí hốc lõm. Sau đó, viên nén hoặc viên nang có thể được lấy ra qua khe hở này.

Có thể cần có bộ phận trợ nhớ trên kit này, ví dụ, ở dạng các con số bên cạnh viên nén hoặc viên nang, trong đó các con số này tương ứng với số ngày của chế độ liều mà viên nén hoặc viên nang đã chỉ ra cần được uống. Ví dụ khác về bộ phận trợ nhớ này là lịch in trên thẻ, ví dụ, như sau: "tuần thứ nhất, thứ hai, thứ ba, ..., tuần thứ hai, thứ hai, thứ ba,..." v.v.. Các phương án khác của bộ phận trợ nhớ sẽ dễ dàng thấy rõ. "Liều hằng ngày" có thể là một viên nén hoặc một viên nang hoặc một số viên nén hoặc viên nang cần được sử dụng trong một ngày nhất định. Ngoài ra, liều hằng ngày của hợp chất có công thức I có thể bao gồm một viên nén hoặc viên nang trong khi liều hằng ngày của hợp chất thứ hai có thể bao gồm một số viên nén hoặc viên nang và ngược lại. Bộ phận trợ nhớ cần thể hiện điều này.

Theo một phương án cụ thể khác của sáng chế, dụng cụ phân phối thuốc được thiết kế để phân phối các liều hằng ngày riêng rẽ theo thứ tự sử dụng của chúng được đề xuất. Tốt hơn nếu dụng cụ phân phối thuốc này có lắp bộ phận trợ nhớ để tạo điều kiện thuận lợi hơn cho việc tuân thủ chế độ điều trị. Ví dụ về bộ phận trợ nhớ này là máy đếm cơ học để cho biết số liều hằng ngày đã được cung cấp. Ví dụ khác về bộ phận trợ nhớ này là bộ nhớ microchip chạy bằng pin lắp với bộ phận hiển thị tinh thể lỏng, hoặc tín hiệu nhắc nhở nghe được, ví dụ, hiển thị ngày mà liều hằng ngày cuối cùng đã được sử dụng và/hoặc nhắc nhở khi liều tiếp theo cần được uống.

Ngoài ra, do một khía cạnh của sáng chế liên quan đến việc điều trị bệnh/tình trạng được mô tả ở đây bằng hỗn hợp các hoạt chất có thể được sử dụng cùng nhau, sáng chế còn đề cập đến việc kết hợp các dược phẩm riêng rẽ ở dạng liều đơn, như (nhưng không chỉ giới hạn ở) một viên nén hoặc viên nang, viên nén hoặc viên nang hai lớp hoặc nhiều lớp, hoặc sử dụng các thành phần hoặc khoang riêng biệt trong viên nén hoặc viên nang.

Hoạt chất có thể được cung cấp ở dạng dung dịch trong chất dẫn thuốc hệ nước hoặc không nước, có hoặc không có dung môi bổ sung, chất đồng dung môi, tá dược hoặc chất tạo phức được chọn từ chất pha loãng, tá dược, chất dẫn thuốc, hoặc chất mang dược dụng.

Dược phẩm dùng qua đường tĩnh mạch làm ví dụ được bào chế như sau:

## Dung dịch dùng qua đường tĩnh mạch

| Thành phần                                            | Lượng |
|-------------------------------------------------------|-------|
| Hoạt chất hòa tan trong dextroza 5% dùng để tiêm, USP | 150mg |
| Dextroza 5% dùng để tiêm, USP                         | 1,0ml |

Dung dịch chứa các hoạt chất nêu trên được sử dụng qua đường tĩnh mạch cho bệnh nhân ở tốc độ khoảng 1ml/phút.

Hoạt chất này có thể được bào chế ở dạng thể phân tán rắn hoặc hệ cung cấp được chất tự nhũ hóa (self-emulsified drug delivery system: SEDDS) cùng với tá dược được dùng.

Hoạt chất này có thể được bào chế ở dạng viên nén hoặc viên nang giải phóng ngay hoặc giải phóng biến đổi. Theo cách khác, hoạt chất có thể được cung cấp dưới dạng hoạt chất duy nhất trong vỏ nang mà không có tá dược bổ sung.

## Quy trình thử nghiệm chung

Tất cả các hóa chất, chất phản ứng và dung môi là sản phẩm có bán trên thị trường và được sử dụng không cần tinh chế thêm. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ( $^1\text{H}$  NMR) được ghi bằng phổ kế Varian 400 và 500MHz. Độ dịch chuyển hóa học được tính theo phần triệu xuôi trường so với tetrametylsilan. Hình dạng của đỉnh được ký hiệu như sau: s, đỉnh đơn; d, đỉnh đôi; t, đỉnh ba; q, đỉnh bốn; m, đa đỉnh; br s, đỉnh đơn rộng. Phân tích phổ khối (MS) được thực hiện thông qua nguồn ion hóa học ở áp suất khí quyển (atmospheric pressure chemical ionization: APCI) hoặc ion hóa tán xạ electron (electron scatter: ES). Khối lượng quan sát được trong các bảng tương ứng với khối lượng chính xác của phân tử gốc + 1, nếu không được chỉ rõ theo cách khác. Phương pháp sắc ký trên silicagel được thực hiện chủ yếu bằng cách sử dụng hệ thống Biotage hoặc ISCO ở áp suất trung bình bằng các cột sắc ký nạp sẵn là sản phẩm của các nhà sản xuất khác nhau bao gồm Biotage và ISCO. Việc phân tích vi lượng được thực hiện bởi Quantitative Technologies Inc. và bằng khoảng 0,4% giá trị theo lý thuyết. Thuật ngữ “cô” và “làm bay hơi” để chỉ việc loại bỏ dung môi ở áp suất giảm trên thiết bị làm bay hơi kiểu quay với nhiệt độ của bể nhỏ hơn 60°C.

## Nhiều xạ bột tia X

Phân tích nhiều xạ bột tia X được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều xạ kế Bruker AXS D4 Endeavor lắp với nguồn bức xạ Cu. Khe phân kỳ được đặt ở 0,6mm trong khi

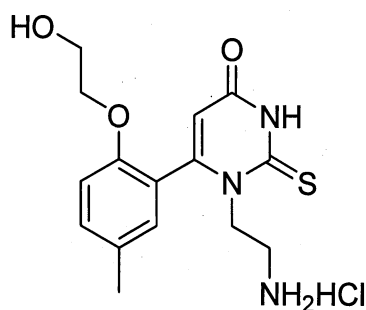
thiết bị quang học thứ cấp sử dụng khe khả biến. Bức xạ nhiễu xạ được phát hiện bằng bộ phát hiện PSD-Lynx Eye. Điện áp và cường độ dòng điện của ống tia X được đặt ở 40kV và 40mA tương ứng. Dữ liệu được thu thập trong máy đo góc Teta-2Teta ở bước sóng Cu  $K\alpha_1 = 1,54056 \text{ \AA}$  trong khoảng từ  $3,0$  đến  $40,0^\circ$  2-Teta sử dụng bước một bậc là  $0,020^\circ$  và thời gian một bậc là 0,3 giây. Mẫu được chuẩn bị bằng cách cho chúng vào bộ phận chứa mẫu bằng silic có mức nền thấp và quay trong khi ghi dữ liệu. Dữ liệu được thu thập bằng cách sử dụng chương trình phần mềm Bruker DIFFRAC Plus và phân tích bằng chương trình phần mềm EVA Diffract Plus.

Tập dữ liệu PXRD không được xử lý trước khi tìm kiếm đỉnh. Bằng cách sử dụng thuật toán tìm kiếm đỉnh trong chương trình phần mềm EVA, các đỉnh được chọn với giá trị ngưỡng bằng 1 và độ rộng bằng 0,3 được sử dụng để gán đỉnh sơ bộ. Tín hiệu ra của việc gán tự động được kiểm tra bằng mắt để đảm bảo tính hợp lý và điều chỉnh bằng tay nếu cần. Các đỉnh có cường độ tương đối  $\geq 3\%$  được nêu tóm tắt trong bảng 2. Các đỉnh không được phân giải hoặc phù hợp với tín hiệu nhiễu không được chọn. Sai số thông thường liên quan đến vị trí đỉnh so với PXRD nêu trong USP và JP tối đa là  $\pm 0,2^\circ$  2-teta.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

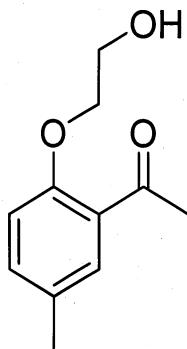
#### Ví dụ 1

1-(2-aminoethyl)-6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on hydroclorua



#### Ví dụ điều chế 1

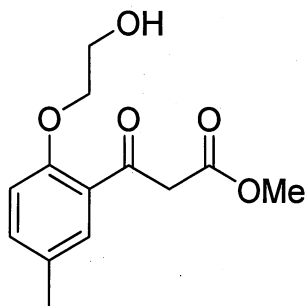
1-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)etanon



Thiết bị phản ứng có vỏ bọc được nạp 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)etanon (30,0g, 0,200mol, 1,0 đương lượng) và dimetyl sulfoxit (DMSO, 210ml), và hỗn hợp tạo ra được khuấy ở 20°C. Xesi cacbonat (200g, 0,608mol, 3 đương lượng) được bổ sung, sau đó bổ sung 2-cloetanol (27,0ml, 0,40mol, 2 đương lượng) và hỗn hợp tạo ra được khuấy ở 80°C cho đến khi hoàn thành phản ứng. Hỗn hợp tạo ra được làm nguội tới 15°C trước khi nước (500ml) được bổ sung vào. Hỗn hợp tạo ra được chiết bằng etyl axetat (500ml và sau đó 300ml). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (300ml) và tiếp đó xử lý bằng Darco G-60 (10g) trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường, trước khi được lọc qua Celite và cô để thu được sản phẩm mong muốn, 1-[2-(2-hydroxyetoxy)-5-methyl-phenyl]etanon (34,35g, 89%) dưới dạng dầu màu da cam.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,53-7,48 (m, 1H), 7,29-7,22 (m, 1H), 6,91-6,85 (m, 1H), 4,21-4,15 (m, 2H), 4,02-3,94 (m, 2H), 2,83 (b, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,31 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 200,11, 159,91, 134,18, 130,64, 130,44, 128,26, 113,67, 70,69, 61,23, 31,27, 20,30.

Ví dụ điều chế 2

Metyl 3-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-methylphenyl)-3-oxopropanoat

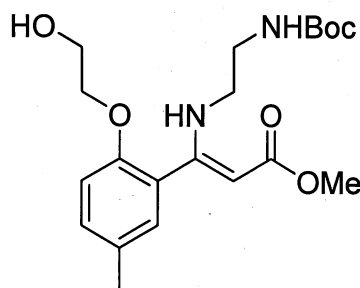


Thiết bị phản ứng có vỏ bọc được nạp kali tert-butoxit (48,9g, 0,427mol) và tetrahydrofuran (170ml) và hỗn hợp tạo ra được khuấy ở 20°C khi dimetyl cacbonat (47,1g, 0,523mol, 3,0 đương lượng) được bổ sung dẫn tới sự tỏa nhiệt nhẹ với sự tạo ra hỗn dịch màu trắng. Hỗn hợp này được bổ sung dung dịch chứa 1-[2-(2-hydroxyetoxy)-5-methyl-phenyl]etanon (33,84g, 0,174mol) trong tetrahydrofuran (170ml) và hỗn hợp tạo

ra được làm ấm tới 30°C. Sau 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng dung dịch axit axetic (57,5ml, 1,00mol) trong nước (338ml). Sau khi khuấy trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được chiết bằng etyl axetat (340ml) và pha hữu cơ được xử lý bằng Darco (2,0g) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi hỗn hợp này được lọc qua Celite, cô, hòa tan trong rượu isopropylic (160ml), và sau đó cô để thu được dầu màu đỏ. Sản phẩm thô này được hấp thụ trong rượu isopropylic (65ml), làm lạnh tới 0°C và tiếp đó nước (120ml) được bổ sung từ từ trong 15 phút. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở 0-5°C, nước (240ml) được bổ sung trong 30 phút, và hỗn hợp này được khuấy trong 30 phút trước khi chất rắn tạo ra được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước (200ml) và làm khô để thu được methyl 3-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-3-oxopropanoat (37,2g, 85%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,69-7,65 (m, 1H), 7,33-7,27 (m, 1H), 6,89-6,83 (m, 1H), 4,16-4,11 (m, 2H), 3,99 (s, 2H), 3,98-3,93 (m, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,53-3,40 (b, 1H), 2,30 (s, 3H). <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 192,39, 169,63, 156,40, 135,46, 131,31, 130,46, 125,75, 112,39, 70,73, 60,85, 52,55, 50,26, 20,15 ppm. *m/z* (EI<sup>+</sup>) của hợp chất C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> 253,1 (M+H)<sup>+</sup>.

Ví dụ điều chế 3

(Z)-metyl 3-(2-(tert-butoxycarbonylamino)etylamin)-3-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)acrylat

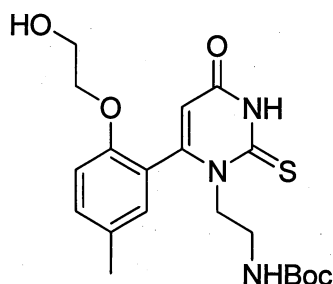


Thiết bị phản ứng có vỏ được bổ sung rượu isopropylic (250ml), methyl 3-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-3-oxopropanoat (36,0g, 0,143mol), tert-butyl 2-aminoethylcarbamate (35,0g, 0,218mol) và axit axetic (12,3ml, 0,215mol), và hỗn hợp này được gia nhiệt ở 84°C. Sau 8 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm nguội tới 15°C và nước (830ml) được bổ sung từ từ cho đến khi dung dịch trở nên vẩn đục, tiếp đó ngừng bổ sung để chất rắn tạo ra trong 15 phút trước khi từ từ hoàn thành việc bổ sung nước. Huyền phù đặc tạo ra được khuấy ở 15°C trong 3 giờ, tiếp đó lọc và bánh lọc được rửa bằng nước (290ml). Chất rắn được làm khô trong lò chân không ở nhiệt độ 50°C trong 16 giờ để thu được (Z)-metyl 3-(2-(tert-butoxycarbonylamino)etylamin)-3-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)acrylat (51,96g, 92%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ

8,69-8,52 (m, 1H), 7,18 (dd,  $J=8,6, 1,6$  Hz, 1H), 7,01-6,91 (m, 2H), 6,83 và 6,45 (b, tổng tích phân = 1H), 4,79 (t,  $J=5,3$  Hz, 1H), 4,25 (s, 1H), 3,99 (b, 2H), 3,67 (q,  $J=5,3$ Hz, 2H), 3,53 (s, 3H), 3,17-2,80 (m, 4H), 2,24 (s, 3H), 1,36 (s, 9H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  169,48, 162,05, 155,61, 152,99, 130,92, 129,80, 129,34, 124,32, 112,21, 82,80, 77,66, 69,84, 59,46, 49,58, 43,20, 40,53, 28,17, 19,91.  $m/z$  (EI+) for  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$  395,3 (M+H) $^+$ .

Ví dụ điều chế 4

*tert*-butyl 2-(6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)etylcarbamát

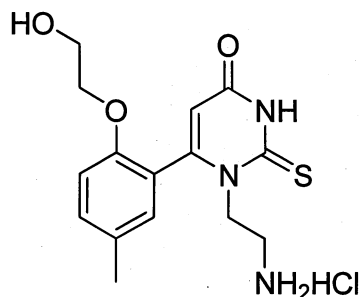


Thiết bị phản ứng có vỏ bọc được nạp butyl axetat (70ml), (Z)-metyl 3-(2-(*tert*-butoxycarbonylamino)etylamin)-3-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-acrylat (10,00g, 25,35mol) và isothioxanatotrimetylsilan (10,0ml, 70,98mol). Dung dịch tạo ra được gia nhiệt tới 80°C và khuấy trong 8 giờ trước khi hỗn hợp phản ứng được làm nguội tới nhiệt độ môi trường. Sau 12 giờ, heptan (100ml) được bổ sung từ từ vào hỗn hợp phản ứng trong thời gian 10 phút. Huyền phù đặc tạo ra được làm ấm tới 40°C và khuấy trong 3 giờ trước khi làm nguội tới 20°C. Sau 3 giờ, chất rắn được tách ra bằng cách lọc, rửa bằng dung dịch 1:1 heptan/butyl axetat (50ml), và để khô qua đêm. Chất rắn thu được (9,57g) được trộn với butyl axetat (60ml) và hỗn hợp này được khuấy ở 40 °C trong 3 giờ, tiếp đó làm nguội tới 25°C trong 30 phút và khuấy trong 3 giờ. Chất rắn thu được được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng butyl axetat (20ml) và làm khô trong lò chân không ở nhiệt độ 35°C trong 24 giờ để thu được *tert*-butyl 2-(6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)etylcarbamát (7,75g, 72,5%).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  12,52 (s, 1H), 7,21 (d,  $J=8,2$ Hz, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,97 (d,  $J=8,6$ Hz, 1H), 6,51 (t,  $J=5,9$ Hz, 1H), 5,62 (d,  $J=2,0$ Hz, 1H), 4,51 (m, 1H), 3,96 (m, 2H), 3,56 (t,  $J=5,1$ Hz, 2H), 3,47 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,23 (s, 3H), 1,27 (s, 9H).  $^{13}\text{C}$ -NMR (101 MHz,  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  177,53, 159,93, 155,77, 154,89,

152,96, 132,54, 131,00, 130,08, 122,89, 112,76, 109,22, 78,10, 70,44, 59,92, 50,94, 37,75, 28,69, 20,59.  $m/z$  (EI<sup>+</sup>) của hợp chất C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S 422,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Ví dụ điều chế 5

1-(2-aminoethyl)-6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on hydroclorua



Bình đáy tròn khô dung tích 1 lít được nạp ethanol (515ml) và làm lạnh tới 0°C trước khi axetyl clorua (160ml, 2,25mol) được bổ sung bằng phễu bổ sung kết hợp với khuấy trong 20 phút. Dung dịch tạo ra được gia nhiệt ở 50°C trong 30 phút và tiếp đó làm lạnh tới nhiệt độ môi trường. Bình đáy tròn dung tích 4l riêng biệt lắp với máy khuấy cơ học được nạp *tert*-butyl 2-(6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-4-oxo-2-thioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)etylcarbamat (95,0g, 0,23mol) và ethanol (515ml) để thu được hỗn dịch màu trắng. Dung dịch HCl đã điều chế trước trong bình đáy tròn dung tích 1l được bổ sung từ từ kết hợp với khuấy vào huyền phù trong bình đáy tròn dung tích 4l. Hỗn hợp tạo ra được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 20 phút trước khi làm ấm tới 50°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được để nguội từ từ tới nhiệt độ môi trường và sau khi khuấy trong 3 giờ, etyl axetat (550ml) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Huyền phù đặc tạo ra được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 1 giờ trước khi chất rắn được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng hỗn hợp etyl axetat/heptan 1:1 (2,5l). Chất rắn tách ra được làm khô trong lò chân không ở nhiệt độ 50°C trong 20 giờ để thu được 1-(2-aminoethyl)-6-(2-(2-hydroxyetoxy)-5-metylphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on hydroclorua (78,78g, 98%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 12,82 (br. s., 1H), 7,95 (br. s., 3H), 7,32 (dd, J=8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,17 (d, J=1,8 Hz, 1H), 7,10 (d, J=8,8 Hz, 1H), 5,76 (s, 1H), 4,88 (t, J=5,0 Hz, 1H), 4,52 (br. s., 1H), 4,06 (t, J=5,0 Hz, 2H), 3,98-4,04 (m, 1H), 3,64 (d, J=4,7 Hz, 2H), 2,93-3,01 (m, 1H), 2,86-2,93 (m, 1H), 2,28 (s, 3H); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 177,2, 159,3, 153,9, 152,7, 132,4, 130,1, 129,8, 121,6, 112,9, 109,3, 70,1, 59,3, 47,0, 35,9, 20,0;  $m/z$  (EI<sup>+</sup>) for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S 322,1 (M+H)<sup>+</sup>.

Nhiều xạ đồ bột tia X PXRD của sản phẩm tinh thể tạo ra được thể hiện trên Fig.1.

Bảng 2 dưới đây thể hiện danh sách đỉnh PXRD\* của sản phẩm tinh thể này.

Bảng 2: danh sách đỉnh PXRD \* của tinh thể

| Góc $2\Theta$ (°) | Cường độ tương đối (%) |
|-------------------|------------------------|
| 8,1               | 11                     |
| 9,4               | 10                     |
| 10,4              | 51                     |
| 11,8              | 8                      |
| 15,8              | 5                      |
| 16,1              | 4                      |
| 16,5              | 3                      |
| 17,0              | 7                      |
| 18,2              | 48                     |
| 18,9              | 6                      |
| 21,0              | 18                     |
| 21,2              | 28                     |
| 21,4              | 100                    |
| 22,3              | 51                     |
| 22,5              | 54                     |
| 22,8              | 22                     |
| 22,9              | 34                     |
| 23,6              | 9                      |
| 23,8              | 18                     |
| 24,1              | 39                     |
| 24,7              | 21                     |
| 25,8              | 53                     |
| 26,3              | 10                     |
| 27,2              | 5                      |
| 27,5              | 7                      |
| 27,8              | 4                      |
| 28,1              | 20                     |

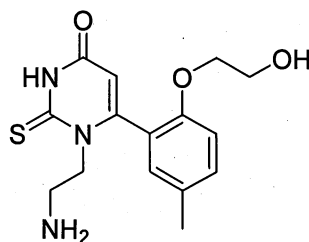
|      |    |
|------|----|
| 28,3 | 4  |
| 28,6 | 11 |
| 29,1 | 3  |
| 29,7 | 38 |
| 30,1 | 3  |
| 30,8 | 9  |
| 31,2 | 19 |
| 31,9 | 11 |
| 32,0 | 11 |
| 32,4 | 7  |
| 32,6 | 7  |
| 34,1 | 4  |
| 34,5 | 5  |
| 34,9 | 10 |
| 35,8 | 11 |
| 36,3 | 12 |
| 36,8 | 7  |
| 37,8 | 8  |
| 38,5 | 15 |
| 39,1 | 17 |

\*Lưu ý: vị trí đỉnh đặc trưng được chọn dựa trên việc quan sát cường độ và hình dạng đỉnh bằng mắt thường.

Mặc dù sáng chế đã được mô tả ở trên dựa vào các phương án cụ thể, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng hiểu được rằng các thử nghiệm cụ thể chỉ nhằm mục đích minh họa sáng chế. Cần hiểu rằng các cải biến khác nhau có thể được thực hiện mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



công thức I

hoặc muối được dụng của nó.

2. Muối hydroclorua của hợp chất có công thức I.

3. Hợp chất 1-(2-aminoethyl)-6-(2-(2-hydroxyethoxy)-5-methylphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on.

4. Dược phẩm chứa lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của hợp chất này và chất mang, chất dẫn thuốc hoặc chất pha loãng được dụng.

5. Dược phẩm kết hợp chứa lượng cho hiệu quả điều trị của hỗn hợp bao gồm:

hợp chất thứ nhất là hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của hợp chất này;

hợp chất thứ hai là chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất ức chế HMG-CoA reductaza, chất ức chế neprilysin, chất kháng viêm không steroid, chất ức chế yếu tố Xa hoặc warfarin; và

chất mang, chất dẫn thuốc hoặc chất pha loãng được dụng.

FIG. 1

