



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

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

(11)



1-0028627

(51)⁷ C07D 413/10; A61P 3/04; C07D 413/12; (13) B
A61K 31/5355; A61P 35/00

(21) 1-2011-03520

(22) 19/05/2010

(86) PCT/US2010/035408 19/05/2010

(87) WO2010/135429 25/11/2010

(30) 12/468,694 19/05/2009 US

(45) 25/06/2021 399

(43) 25/06/2012 291A

(73) Athenex, Inc. (US)

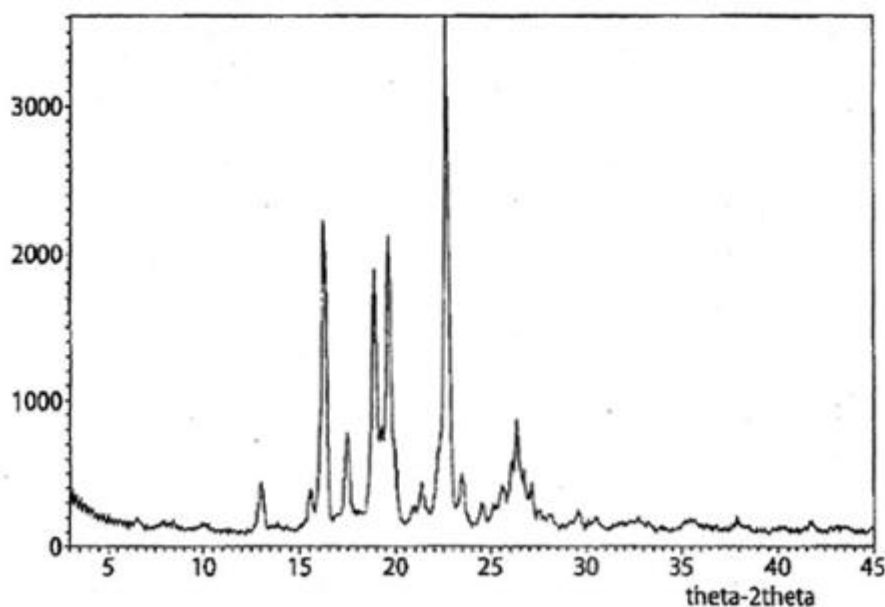
701 Ellicott Street, NY Center For Excellence In Bioinformatics And Life Sciences,
Buffalo, NY 14203, United States of America

(72) CODY, Jeremy, A. (US); HANGAUER, David, G., Jr. (US); ISBESTER, Paul, K.
(US); PALMER, Grant, J. (US); PATRA, Debasis (US); SALSBURY, Jonathon
(US).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM ĐIỀU BIẾN DẪY KINAZA VÀ QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm chứa 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit và các muối mesylat và dihydroclorua của nó. Sáng chế đề xuất quy trình hiệu quả để tổng hợp 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit và các muối mesylat và dihydroclorua của nó và mô tả phương pháp điều biến một hoặc nhiều hợp phần của dãy kinaza bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế. Sáng chế còn đề xuất dạng đa hình mới của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A), đặc trưng ở chỗ phổ nhiễu xạ tia X độc nhất và profin nhiệt lượng quét vi sai, cũng như cấu trúc tinh thể độc nhất.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến một số dạng đa hình nhất định của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (KX2-391.MSA), chế phẩm chứa nó và quy trình tổng hợp 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (KX2-391) gần như tinh khiết, và các muối mesylat và bis-hydroclorua của nó. Sáng chế còn mô tả phương pháp sử dụng chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Quá trình truyền tín hiệu là quá trình theo đó tế bào chuyển hóa một dạng tín hiệu hoặc kích thích thành dạng khác. Các quá trình được gọi là quá trình truyền tín hiệu thường liên quan đến một dãy các phản ứng sinh hoá bên trong tế bào, được thực hiện bởi enzym và liên hệ thông qua phân tử truyền tin thứ hai. Trong nhiều quá trình truyền tín hiệu, xuất hiện tăng dần các enzym và các phân tử khác tham gia vào các quá trình tiếp sau kích thích ban đầu. Trong các trường hợp này, chuỗi các quá trình như vậy được gọi là "dãy truyền tín hiệu" hoặc "con đường truyền tin thứ hai" và thường lại dẫn tới đáp ứng mạnh từ một kích thích nhỏ. Một nhóm các phân tử tham gia vào quá trình truyền tín hiệu này là họ enzym kinaza. Nhóm enzym kinaza lớn nhất là kinaza protein, là nhóm enzym tác động đến và làm biến đổi hoạt tính của các protein đặc hiệu. Nhóm các enzym này được sử dụng rộng rãi để truyền tín hiệu và khống chế các quy trình phức tạp trong tế bào.

Kinaza protein là một nhóm nhiều enzym xúc tác quá trình chuyển γ -phosphat từ ATP đến nhóm hydroxyl trên mạch bên Ser/Thr hoặc Tyr trong protein và peptit và cuối cùng tham gia vào quá trình khống chế các chức năng tế bào quan trọng khác nhau, có lẽ nổi bật nhất là: quá trình truyền tín hiệu, biệt hoá, và tăng sinh. Ước tính có khoảng 2000 kinaza protein khác nhau trong cơ thể người, và mặc dù mỗi trong số các enzym này phosphoryl hóa các cơ chất protein/peptit nhất định, tất cả chúng đều gắn

kết cùng cơ chất thứ hai, ATP, trong túi có tính bảo toàn cao. Phosphatase protein xúc tác quá trình chuyển hóa phosphat theo hướng ngược lại.

Kinaza tyrosin là enzym mà có thể chuyển nhóm phosphat từ ATP thành gốc tyrosin trong protein. Quá trình phosphoryl hóa protein do kinaza gây ra là cơ chế quan trọng trong quá trình truyền tín hiệu để điều hoà hoạt tính enzym. Các kinaza tyrosin được chia thành hai nhóm; một nhóm là protein tế bào chất và nhóm kia là kinaza được liên kết với thụ thể xuyên màng. Ở người, có 32 kinaza tyrosin protein trong tế bào chất và 58 kinaza tyrosin protein liên kết với thụ thể. Các hormon và các yếu tố sinh trưởng tác động lên các thụ thể liên kết với kinaza tyrosin bề mặt tế bào thường là có tác dụng thúc đẩy sự tăng trưởng và có chức năng kích thích sự phân chia tế bào (ví dụ, insulin, yếu tố tăng trưởng tương tự insulin 1, yếu tố tăng trưởng biểu bì).

Các chất ức chế kinaza protein hoặc phosphatase protein đã biết khác nhau có nhiều ứng dụng trị liệu. Một ứng dụng trị liệu có tiềm năng hứa hẹn cho các chất ức chế kinaza protein hoặc phosphatase protein là dùng làm tác nhân trị bệnh ung thư. Vào khoảng 50% sản phẩm của gen gây ung thư đã biết là kinaza protein tyrosin (PTK - protein tyrosine kinase) và đã chứng minh được rằng hoạt tính kinaza của chúng dẫn đến sự chuyển dạng tế bào.

Có thể phân loại các PTK này thành hai nhóm: PTK thuộc thụ thể màng (ví dụ PTK là thụ thể yếu tố tăng trưởng) và PTK không phải thụ thể (ví dụ họ Src của các sản phẩm tiền gen gây ung thư). Có ít nhất 9 thành viên thuộc họ Src trong các PTK không phải thụ thể với pp60^{c-src} (sau đây chỉ đơn giản gọi là "Src") là PTK kiểu gốc của họ này trong đó khoảng 300 miền axit amin có tính xúc tác có tính bảo toàn cao. Đã có báo cáo về sự hoạt hoá quá mức Src trong một số bệnh ung thư ở người, bao gồm ung thư ruột kết, vú, phổi, bàng quang, và da, cũng như ở bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư máu trắng có gai, và u nguyên bào thần kinh. Các tín hiệu cho sự tăng sinh tế bào bị kích thích quá mức từ các thụ thể xuyên màng (ví dụ EGFR và p185^{HER2/Neu}) đến bên trong tế bào dường như cũng chuyển qua Src. Do vậy, gần đây người ta cho rằng Src là đích chung trong trị liệu bệnh ung thư, vì sự tăng hoạt hoá

quá mức (mà không đột có biến) có liên quan đến sự khởi đầu, tiến triển, và di căn khối u trong nhiều dạng khối u quan trọng ở người.

Vì các kinaza tham gia vào quá trình điều hoà nhiều con đường truyền tín hiệu tế bào thông thường (ví dụ, sự tăng trưởng tế bào, biệt hoá, sự sống sót, sự dính bám, sự di cư, v.v.), các kinaza được cho là đóng vai trò trong nhiều bệnh và rối loạn. Do đó, sự điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza có thể là một cách thức quan trọng để điều trị hoặc phòng các bệnh và rối loạn như vậy.

Hợp chất KX2-391 là hợp chất biaryl dùng để điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza và được bộc lộ trong Patent Mỹ số 7,300,931; đơn Mỹ số 11/480,174; và đơn patent PCT số PCT/2008/004847. Các muối dihydroclorua và mesylat của KX2-391 và cả quy trình tổng hợp chúng lần lượt được mô tả trong các đơn xin cấp Patent Mỹ số 12/005,792 và 12/154,056. Các patent và đơn xin cấp patent nêu trên không bộc lộ dạng đa hình nhất định của KX2-391 MSA với các tính chất mong muốn liên quan đến độ ổn định, độ hút ẩm, độ tan, và độ kết tinh.

KX2-391 và các muối của nó là hữu ích trong các phương pháp điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza và có thể là hữu ích để điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn và/hoặc bệnh sự tăng sinh tế bào chẳng hạn như chứng suy giảm thính lực, bệnh loãng xương, bệnh tiểu đường, bệnh về mắt, chứng đột quỵ, chứng vữa xơ động mạch, đau dây thần kinh, và bệnh viêm gan B. Do đó, có nhu cầu cấp thiết tìm ra dạng hợp chất này với các đặc tính vật lý mong muốn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được nêu trong Fig 7. Sáng chế đề xuất dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2 θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ.

Sáng chế đề xuất dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) đặc trưng ở chỗ biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC - Differential Scanning Calorimetry) có một giá trị cực đại ở khoảng 164, khi được đo bằng dụng cụ đo DSC Mettler 822°. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được đưa ra trong Fig 7 và còn được đặc trưng ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164, khi được đo bằng dụng cụ đo DSC Mettler 822°. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2 θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ và còn được đặc trưng ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) với một giá trị cực đại ở khoảng 164, khi được đo bằng dụng cụ đo DSC Mettler 822°.

Sáng chế đề xuất được phẩm chứa dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) và tá dược hoặc chất mang dược dụng.

Các tác giả sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng bệnh hoặc tình trạng ở đối tượng cần sử dụng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng nêu trên sử dụng dược phẩm theo sáng chế, trong đó bệnh hoặc tình trạng bệnh nêu trên được chọn từ bệnh ung thư, chứng suy giảm thính lực, bệnh loãng xương, bệnh béo phì, bệnh tiểu đường, các bệnh về mắt, chứng đột quỵ, chứng vữa xơ động mạch, đau dây thần kinh, bệnh viêm gan B, bệnh tự miễn.

Sáng chế đề xuất quy trình điều chế dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) bao gồm bước cho axit metansulfonic vào 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid trong axeton. Theo một khía cạnh, quy trình chứa axeton với lượng lớn hơn 64 lần thể tích.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig 1 là đồ thị thể hiện DSC của KX2-391·2HCl lô 02BP111F.

Fig 2 là đồ thị thể hiện DSC của KX2-391·2HCl lô 02BP111E.

Fig 3 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391·2HCl lô 02BP111E.

Fig 4 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391·2HCl lô 02BP111F.

Fig 5 là phổ ^1H NMR của KX2-391 (lô 02BP096K).

Fig 6 là phổ ^1H NMR của KX2-391·MSA, dạng A.

Fig 7 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391·MSA, dạng A (lô GJP- S10(1)).

Fig 8 là đồ thị thể hiện DSC của KX2-391·MSA, dạng A.

Fig 9 là đồ thị thể hiện TGA của KX2-391·MSA, dạng A.

Fig 10 là đồ thị thể hiện Phân tích hút thu ẩm của KX2-391·MSA, Dạng A.

Fig 11 là sắc đồ HPLC của KX2-391·MSA, dạng A.

Fig 12 là phổ ATR-FTIR của KX2-391·MSA, dạng A.

Fig 13 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391·2HCl [lô 02BP111G].

Fig 14 là đồ thị thể hiện DSC của KX2-391·2HCl [lô 02BP111G].

Fig 15 là đồ thị thể hiện TGA của KX2-391·2HCl [lô 02BP111G].

Fig 16 là phổ ^1H NMR của KX2-391·2HCl [lô 02BP111G].

Fig 17 là đồ thị thể hiện phân tích hút thu ẩm của KX2-391·2HCl [lô 02BP111G].

Fig 18 là sắc đồ HPLC của KX2-391·2HCl [lô 02BP111G].

Fig 19 là đồ thị thể hiện đường cong ẩm trọng of KX2,391·2HCl.

Fig 20 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 p-TSA, dạng A.

Fig 21 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 p-TSA, dạng B.

Fig 22 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 fumarat.

Fig 23 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 maleat.

Fig 24 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 bis-maleat.

Fig 25 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 bis-fumarat, dạng A.

Fig 26 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 bis-fumarat, dạng B.

Fig 27 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 bis-phosphat, dạng A.

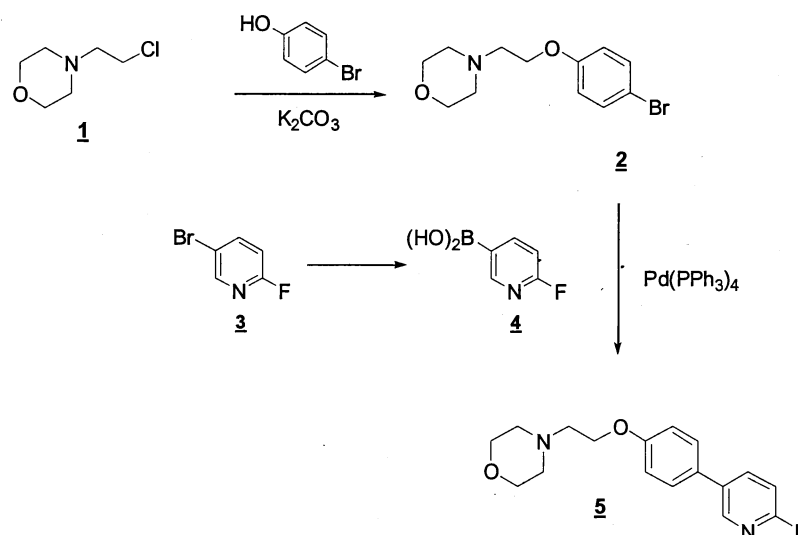
Fig 28 là đồ thị thể hiện XRPD của KX2-391 bis-p-tosylat.

Mô tả chi tiết sáng chế

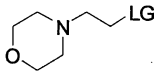
Mô tả chi tiết của một hoặc nhiều phương án theo sáng chế được đưa ra trong phần mô tả kèm theo sau đây. Mặc dù rằng có thể áp dụng các phương pháp và chất liệu bất kỳ tương tự hoặc tương đương với phương pháp và chất liệu được mô tả trong bản mô tả này để thực hiện hoặc thí nghiệm sáng chế, sẽ mô tả sau đây các phương pháp và chất liệu được ưu tiên. Các dấu hiệu khác, mục đích, và ưu điểm theo sáng chế sẽ trở nên rõ ràng từ phần mô tả sau. Trong bản mô tả này, các dạng số ít của danh từ cũng bao gồm dạng số nhiều trừ khi bản mô tả rõ ràng chỉ ra ngược lại. Trừ khi được định nghĩa khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa giống như nghĩa thường được hiểu bởi chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề xuất. Trong trường hợp có sự mâu thuẫn, bản mô tả này sẽ là quyết định. Tất cả các tài liệu công bố, đơn patent, patent, và các tài liệu tham khảo khác được đề xuất trong bản mô tả này được kết hợp vào bản mô tả này theo cách viện dẫn toàn bộ.

Điều chế KX2-391 và muối của nó

Quy trình tổng hợp 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin được thể hiện trong sơ đồ sau đây:



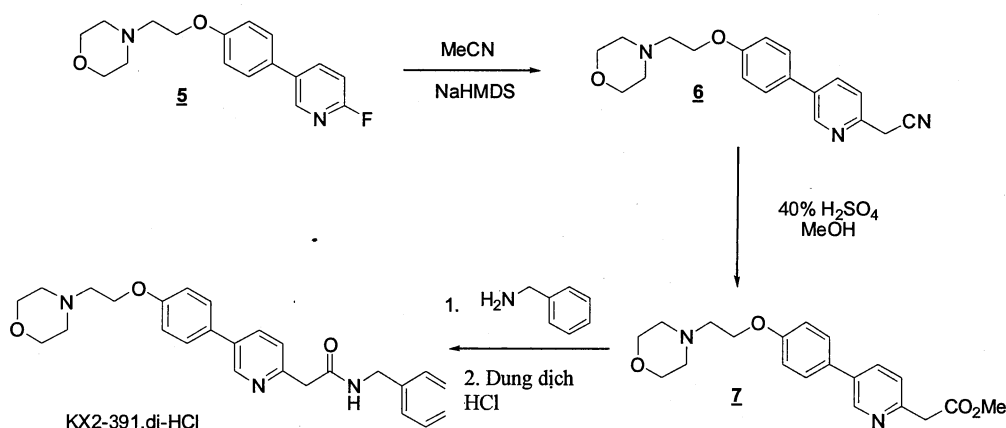
4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin (5) được tổng hợp theo 3 bước. Tổng hợp hợp chất trung gian có công thức 2 bằng cách sử dụng phản ứng liên hợp ete ví dụ, bằng cách sử dụng phương pháp tổng hợp ete Williamson. Thực hiện sự tạo thành ete giữa 4-(2-cloetyl)morpholin (1) và 4-bromophenol với sự có mặt của kali cacbonat và DMF để tạo ra 4-(2-(4-bromophenoxy)etyl)morpholin (2). Điều kiện khô nghiêm ngặt không phải là thiết yếu cho phản ứng này và áp dụng rửa bằng kiềm là natri hydroxit để tách loại 4-bromophenol còn lại bất kỳ. Theo một phương án khác của sáng chế, tổng hợp hợp chất trung gian có công thức 2 bằng cách sử dụng phản ứng tạo thành ete bất kỳ. Hợp chất trung gian có công thức 2 được tổng hợp bắt đầu từ hợp chất có công thức 1 chứa nhóm rời chuyển bất kỳ. Ví dụ, chuyên gia hóa học

trong lĩnh vực sẽ bắt đầu với hợp chất có công thức chung: , trong đó nhóm rời chuyển “LG” bao gồm nhưng không chỉ giới hạn trong số halogen, tosylat, mesylat, trifluat, v.v.

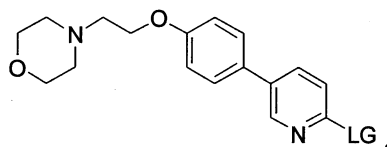
Điều chế hợp chất có công thức 5 bằng cách sử dụng phản ứng Suzuki. Tiến hành tạo ra aryl borat, axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic (4), bằng cách tạo ra anion aryl bằng cách sử dụng $n-BuLi$ sau đó là tôi *in situ* bằng triisopropylborat (Li , và các đồng tác giả, *J. Org. Chem.* 2002, 67, 5394-5397). Axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic (4) thu được được liên hợp với 4-(2-(4-bromophenoxy)etyl)morpholin (2) trong dung dịch

DME và natri cacbonat trong nước bằng cách sử dụng tetrakis(triphenylphosphin)paladi để tạo ra 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin (5), chất này được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký trên silicagel. Chuyên gia hóa học trong lĩnh vực sẽ biết rằng có thể sử dụng phản ứng liên hợp kim loại chuyển tiếp khác để điều chế hợp chất có công thức 5.

Quy trình tổng hợp 2-(5-(4-(2-morpholinoetoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid dihydroclorua được thể hiện sau đây:



Tổng hợp 2-(5-(4-(2-morpholinoetoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid dihydroclorua (KX2-391·HCl) theo trình tự bốn bước. Florua của 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin (5) được thay thế bằng anion của axetonitril được tạo ra bằng cách sử dụng NaHMDS có sẵn trên thị trường. Cho axetonitril từ từ vào hỗn hợp đã được làm lạnh của hợp chất có công thức 5 và bazơ để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoetoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril (6). Theo một phương án khác của sáng chế, hợp chất trung gian có công thức 5 có thể có nhóm rời chuyển khác flo. Do đó, các hợp chất có công thức chung:



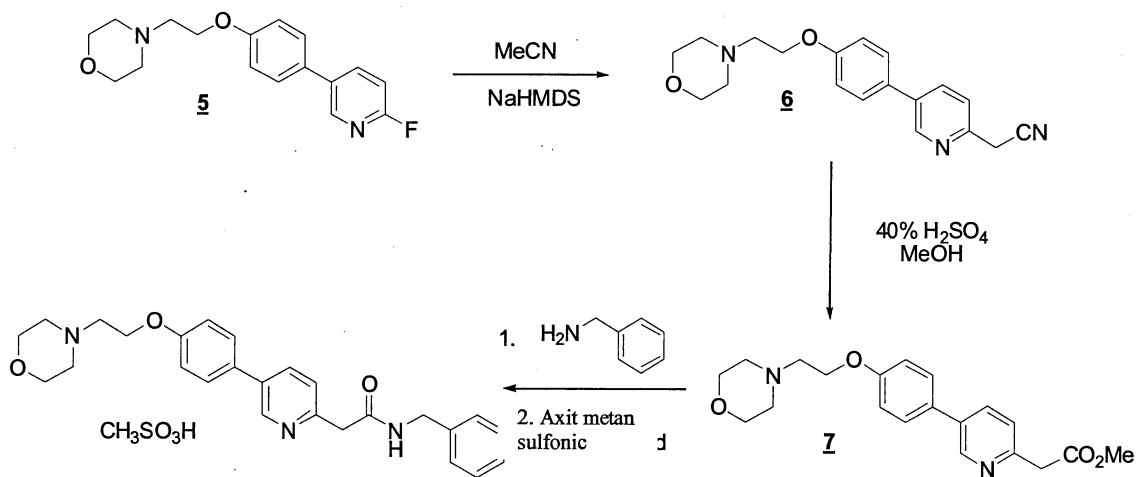
, sẽ được dùng khi LG bao gồm các nhóm rời chuyển khác đã biết đối với chuyên gia hóa học trong lĩnh vực.

Tiến hành metanol phân được xúc tác bằng axit 2-(5-(4-(2-morpholinoetoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril (6) bằng cách sử dụng hỗn hợp gồm axit sulfuric đặc và axit sulphuric bốc khói. Việc sử dụng axit sulphuric bốc khói được

loại bỏ nước còn lại từ hỗn hợp phản ứng này và làm giảm lượng sản phẩm phụ axit carboxylic tạo ra. Dập tắt hỗn hợp phản ứng này bằng cách cho hỗn hợp phản ứng này vào dung dịch chứa natri bicacbonat và diclometan bão hoà đồng thời duy trì nhiệt độ thấp hơn 20 °C. Nhiễm tạp axit carboxylic bất kỳ được loại ra một cách dễ dàng bằng bước hoàn thiện trong nước. Theo một phương án khác của sáng chế, chuyên gia trong lĩnh vực có thể sử dụng điều kiện được xúc tác bằng axit khác để rượu phân nitril của hợp chất có công thức 6 để tạo ra hợp chất có công thức 7.

Metyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat (7) thu được và benzyl amin được liên hợp trong anisol ở nhiệt độ cao để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit (KX2-391). Cho dung dịch HCl được tạo ra bằng cách thêm axetyl clorua vào etanol nguyên chất vào KX2-391 để tạo thành muối bis-HCl, 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit đihydroclorua, (KX2-đi-HCl).

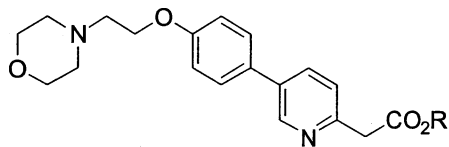
Quy trình tổng hợp của muối mesylat của KX2-391 (KX2-391•MSA) được thể hiện trong sơ đồ sau đây:



Tổng hợp 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit mesylat (KX2-391•MSA) theo trình tự bốn bước bắt đầu từ hợp chất có công thức 5. 3 bước đầu tiên được thực hiện tương tự quy trình được nêu trên cho KX2-391•2HCl để tạo ra metyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat (KX2-391). KX2-391 được chuyển hoá thành muối metansulfonat bằng cách xử lý bằng axit metansulfonic (MSA - methanesulfonic acid) trong axeton ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 2-

(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid mesylat (KX2-391MSA).

Theo một phương án khác của sáng chế, có thể tổng hợp hợp chất trung gian có công thức 7 có một nhóm không phải là -C(O)OMe. Chuyên gia hóa học trong lĩnh vực sẽ theo đuổi các hợp chất trung gian có công thức chung:



, trong đó nhóm “R” này bao gồm nhưng không chỉ giới hạn trong số hydro và alkyl.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid bao gồm các bước:

cho 4-(2-ethoxylethyl)morpholin phản ứng với 4-bromophenol để tạo ra 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin; (2) thực hiện phản ứng liên hợp 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin với axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic để tạo ra 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin;

cho 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin phản ứng với axetonitril để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril; (4) chuyển hoá 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril thành metyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat; và (5) cho metyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid.

Theo một phương án khác sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid mesylat bao gồm các bước: (1) cho 4-(2-ethoxylethyl)morpholin phản ứng với 4-bromophenol để tạo ra 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin; (2) thực hiện phản ứng liên hợp giữa 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin với axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic để tạo ra 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin; (3) cho 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin phản ứng với axetonitril để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril; (4) chuyển hoá 2-(5-(4-(2-

morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetone nitril thành methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetat; (5) cho methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid; và (6) cho 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid tiếp xúc với axit metan sulfonic để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid mesylat.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid mesylat bao gồm bước cho 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid tiếp xúc với axit metan sulfonic để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid mesylat.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid dihydrochlorua bao gồm các bước: (1) cho 4-(2-(2-ethoxy)morpholin) phản ứng với 4-bromophenol để tạo ra 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin; (2) thực hiện phản ứng liên hợp 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin với axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic để tạo ra 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin; (3) cho 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin phản ứng với acetone nitril để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetone nitril; (4) chuyển hoá 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetone nitril thành methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetat; (5) cho methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid; và (6) cho 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid tiếp xúc với axit clohydric để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid dihydrochlorua.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid dihydrochlorua bao gồm bước cho 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid tiếp xúc với

axit clohydric để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid dihydroclorua.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid bao gồm bước cho methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid bao gồm bước chuyển hoá 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril thành methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat; và cho methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid bao gồm các bước cho 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin phản ứng với axetonitril để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril; chuyển hoá 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril thành methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat; và cho methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid bao gồm các bước thực hiện phản ứng liên hợp 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin với axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic để tạo ra 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin; cho 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin phản ứng với axetonitril để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril; chuyển hoá 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril thành methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat; và cho methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat phản ứng với benzylamin để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamid.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid bao gồm bước cho 4-(2-cloetyl)morpholin phản ứng với 4-bromophenol để tạo ra 4-(2-(4-bromophenoxy)etyl)morpholin.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid bao gồm bước thực hiện phản ứng liên hợp 4-(2-(4-bromophenoxy)etyl)morpholin với axit 6-flopyridin-3-yl-3-boronic để tạo ra 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid bao gồm bước cho 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin phản ứng với axetonitril để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid bao gồm bước chuyển hoá 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril thành metyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình đã nêu trên đối với KX2-391 để điều chế mesylat 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid bao gồm bước: cho 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid tiếp xúc với axit metan sulfonic để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid mesylat.

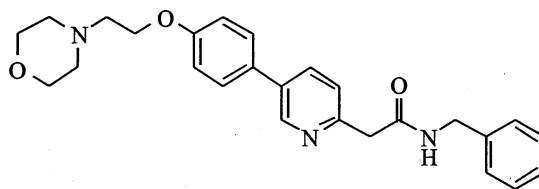
Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình đã nêu trên cho KX2-391 để điều chế dihydroclorua 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid bao gồm bước cho 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid tiếp xúc với axit clohydric để tạo ra 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid dihydroclorua.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylacetamid được điều chế bằng

quy trình được mô tả trong bản mô tả này và tiếp theo được xử lý bằng quy trình tinh chế bao gồm bước kết tinh lại chế phẩm thô của muối nêu trên từ axeton. Theo một phương án khác, dạng đa hình này được tạo ra bằng quy trình tinh chế, trong đó lượng axeton nêu trên được sử dụng là 80 lần thể tích.

Chế phẩm

Sáng chế đề xuất hợp chất 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit (KX2-391) gần như tinh khiết, và các muối, solvat, chất hydrat,



hoặc tiền dược chất của chúng:

Các tên khác cho hợp chất KX2-391 bao gồm 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit và bazơ tự do KX2-391.

Sáng chế đề xuất hỗn hợp và các quy trình tổng hợp KX2-391 có độ tinh khiết cao (> 98,0% như được xác định bằng HPLC) là quy trình an toàn và đơn giản và sản xuất KX2-391 trên quy mô lớn (> 100 g). Tốt hơn nếu quy trình tổng hợp tạo ra hợp chất này với hiệu suất cao (> 80%) và có ít tạp chất.

Theo các phương án được ưu tiên, KX2-391 trong chế phẩm theo sáng chế có độ tinh khiết cao hơn 98%. Ví dụ, độ tinh khiết của KX2-391 trong chế phẩm theo sáng chế là 98,5%, 99,0%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% hoặc 99,9%.

Theo các phương án được ưu tiên, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% tạp chất. Ví dụ, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% bất kỳ một trong các tạp chất sau đây, hoặc kết hợp của các tạp chất này: etyl clorua, etanol, etyl axetat, heptan, anisol, và paladi.

Một số tạp chất được đo theo phần tỷ, là số đo khối lượng tương đối bằng khối lượng của chất tan/khối lượng dung dịch X 1000000, ví dụ, khối lượng của etyl clorua/khối lượng mẫu KX2-391 đi-HCl X 1000000; ví dụ, khối lượng của etyl clorua/khối lượng mẫu mesylat KX2-391 X 1000000.

Theo các phương án được ưu tiên khác, hỗn hợp này chứa ít hơn 250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi. Theo một phương án, các hợp chất và các dạng bào chế theo sáng chế chứa etyl clorua với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 250ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 200 ppm, ít hơn 150 ppm, ít hơn 100 ppm, hoặc ít hơn 50ppm etyl clorua.

Các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn khoảng 100ppm paladi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa paladi với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 100ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 75 ppm, ít hơn 50 ppm, ít hơn 30 ppm, ít hơn 20 ppm, ít hơn 10 ppm, hoặc ít hơn 5ppm paladi.

Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa etanol với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 5000ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 4500 ppm, ít hơn 4000 ppm, ít hơn 3500 ppm, ít hơn 3000 ppm, ít hơn 2500 ppm, hoặc ít hơn 2000ppm etanol.

Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa etyl axetat với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 50000ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 48000 ppm, ít hơn 45000 ppm, ít hơn 40000 ppm, ít hơn 35000 ppm, ít hơn 30000 ppm, hoặc ít hơn 25000ppm etyl axetat.

Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa heptan với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 7500ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 7000 ppm, ít hơn 6500 ppm, ít hơn 6000 ppm, ít hơn 5000 ppm, ít hơn 3000 ppm, hoặc ít hơn 1000ppm heptan.

Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa anisol với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 100ppm (hoặc giá trị

bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 80 ppm, ít hơn 75 ppm, ít hơn 50 ppm, ít hơn 25 ppm, ít hơn 10 ppm, hoặc ít hơn 5ppm anisol.

Sáng chế đề xuất hỗn hợp chứa solvat của KX2-391 gần như tinh khiết.

Sáng chế còn đề xuất hỗn hợp bao gồm hydrat của KX2-391 gần như tinh khiết.

Sáng chế còn bao gồm muối cộng axit của KX2-391 gần như tinh khiết, ví dụ, muối hydroclorua. Muối cộng axit này, ví dụ, có thể là muối dihydroclorua. Ví dụ, muối cộng axit này, ví dụ, có thể là muối mesylat.

Sáng chế đề xuất hỗn hợp bao gồm muối cộng axit của KX2-391 gần như tinh khiết.

Sáng chế đề xuất hỗn hợp bao gồm muối hydroclorua của KX2-391 gần như tinh khiết. Sáng chế đề xuất hỗn hợp mà bao gồm muối dihydroclorua của KX2-391 gần như tinh khiết .

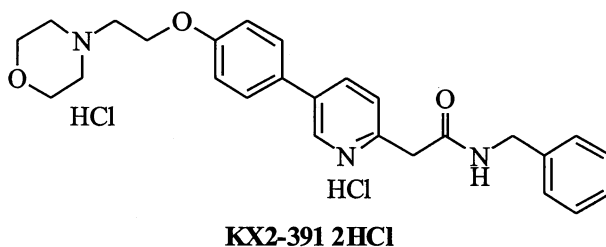
Sáng chế đề xuất hỗn hợp bao gồm muối mesylat của KX2-391 gần như tinh khiết.

Sáng chế còn bao gồm tiền dược chất của KX2-391.

Sáng chế còn bao gồm muối dược dụng của KX2-391 gần như tinh khiết.

Sáng chế còn đề xuất hỗn hợp bao gồm KX2-391 gần như tinh khiết hoặc solvat, hydrat, hoặc muối của nó, và ít nhất một tá dược dược dụng.

Sáng chế đề xuất 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit dihydroclorua gần như tinh khiết:



Sáng chế đề xuất chế phẩm và quy trình tổng hợp KX2-391·2HCl hoặc KX2-391·MSA có độ tinh khiết cao (> 98,0% như được xác định bằng HPLC) là an toàn và đơn giản và lần lượt tạo ra KX2-391·2 HCl hoặc KX2-391·MSA, trên quy mô lớn (> 100 g) với hiệu suất cao (> 80%) và với lượng etyl clorua hạn chế (<250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi).

Theo các phương án được ưu tiên, KX2-391·2HCl trong chế phẩm theo sáng chế có độ tinh khiết cao hơn 98%. Ví dụ, độ tinh khiết của KX2-391·2HCl trong chế phẩm theo sáng chế là 98,5%, 99,0%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% hoặc 99,9%.

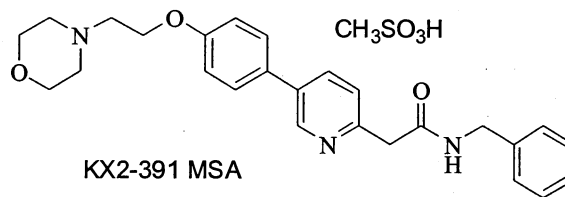
Theo các phương án được ưu tiên, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% tạp chất. Ví dụ, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% bất kỳ một trong các tạp chất sau đây, hoặc kết hợp của chúng: etyl clorua, etanol, etyl axetat, heptan, anisol, và paladi.

Theo các phương án được ưu tiên khác, hỗn hợp này chứa ít hơn 250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa etyl clorua với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 250ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, hỗn hợp chứa ít hơn 200 ppm, ít hơn 200 ppm, ít hơn 150 ppm, ít hơn 100 ppm, hoặc ít hơn 50ppm etyl clorua.

Các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn khoảng 100ppm paladi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa paladi với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 100ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 75 ppm, ít hơn 50 ppm, ít hơn 30 ppm, ít hơn 20 ppm, ít hơn 10 ppm, hoặc ít hơn 5ppm paladi.

Sáng chế còn đề xuất hỗn hợp mà bao gồm KX2-391·2HCl gần như tinh khiết và ít nhất một tá dược được dụng.

Sáng chế đề xuất 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid mesylat gần như tinh khiết (KX2-391·MSA):



Sáng chế đề xuất hỗn hợp và các quy trình tổng hợp KX2-391 MSA có độ tinh khiết cao (> 98,0% như được xác định bằng HPLC) là an toàn và đơn giản và tạo ra KX2-391 MSA trên quy mô lớn (> 100 g) với hiệu suất cao (> 80%) và với lượng etyl clorua hạn chế (<250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi).

Theo các phương án được ưu tiên, KX2-391 MSA trong chế phẩm theo sáng chế có độ tinh khiết cao hơn 98%. Ví dụ, độ tinh khiết của KX2-391 MSA trong chế phẩm theo sáng chế là 98,5%, 99,0%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% hoặc 99,9%.

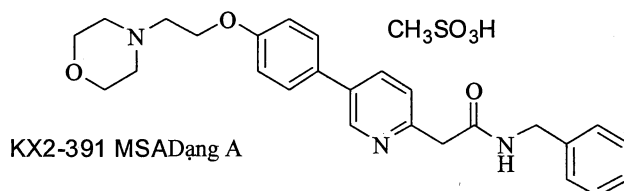
Theo các phương án được ưu tiên, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% tạp chất. Ví dụ, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% của bất kỳ một trong số các tạp chất sau đây, hoặc kết hợp của chúng: etyl clorua, etanol, etyl axetat, heptan, anisol, và paladi.

Theo các phương án được ưu tiên khác, hỗn hợp này chứa ít hơn 250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa etyl clorua với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 250ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, hỗn hợp này chứa ít hơn 200 ppm, ít hơn 200 ppm, ít hơn 150 ppm, ít hơn 100 ppm, hoặc ít hơn 50ppm etyl clorua.

Các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn khoảng 100ppm paladi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa paladi với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 100ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, hỗn hợp này chứa ít hơn 75 ppm, ít hơn 50 ppm, ít hơn 30 ppm, ít hơn 20 ppm, ít hơn 10 ppm, hoặc ít hơn 5ppm paladi.

Sáng chế còn đề xuất hỗn hợp bao gồm KX2-391 MSA gần như tinh khiết và ít nhất một tá dược được dụng.

Sáng chế đề xuất 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit mesylat gần như tinh khiết (KX2-391 MSA),



Dạng A:

Sáng chế đề xuất hỗn hợp và các quy trình tổng hợp KX2-391 MSA có độ tinh khiết cao, dạng A (> 98,0% như được xác định bằng HPLC) là an toàn và đơn giản và tạo ra KX2-391 MSA, dạng A trên quy mô lớn (> 100 g) với hiệu suất cao (> 80%) và với lượng etyl clorua hạn chế (<250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi).

Theo các phương án được ưu tiên, KX2-391 MSA, dạng A trong chế phẩm theo sáng chế có độ tinh khiết cao hơn 98%. Ví dụ, độ tinh khiết của KX2-391 MSA, dạng A trong chế phẩm theo sáng chế là 98,5%, 99,0%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% hoặc 99,9%.

Theo các phương án được ưu tiên, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% tạp chất. Ví dụ, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% của bất kỳ một trong số các tạp chất sau đây, hoặc kết hợp của chúng: etyl clorua, etanol, etyl axetat, heptan, anisol, và paladi.

Theo các phương án được ưu tiên khác, hỗn hợp chứa ít hơn 250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng

chế chứa etyl clorua với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 250ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 200 ppm, ít hơn 200 ppm, ít hơn 150 ppm, ít hơn 100 ppm, hoặc ít hơn 50ppm etyl clorua.

Các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn khoảng 100ppm paladi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa paladi với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 100ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 75 ppm, ít hơn 50 ppm, ít hơn 30 ppm, ít hơn 20 ppm, ít hơn 10 ppm, hoặc ít hơn 5ppm paladi.

Sáng chế còn đề xuất hỗn hợp mà bao gồm KX2-391·MSA, dạng A gần như tinh khiết và ít nhất một tá dược được dụng.

Một số hợp chất và các muối theo sáng chế là chất ức chế kinaza cạnh tranh không phải là ATP.

Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng là hữu ích để điều trị hoặc phòng ngừa sự lây nhiễm vi sinh vật, chẳng hạn như nhiễm vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng hoặc virus.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể được sử dụng làm dược chất. Ví dụ, a hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được sử dụng làm chất chống tăng sinh, để điều trị cho người và/hoặc động vật, chẳng hạn như để điều trị cho người và/hoặc động vật có vú khác. Các hợp chất hoặc các muối này có thể được sử dụng không mang tính giới hạn, ví dụ, như làm tác nhân trị bệnh ung thư, chống tạo mạch, kháng vi sinh vật, kháng khuẩn, trừ nấm, kháng ký sinh trùng và/hoặc kháng virus. Ngoài ra, các hợp chất hoặc các muối này có thể được sử dụng cho các rối loạn liên quan đến tăng sinh tế bào khác chẳng hạn như bệnh vông mạc do tiểu đường, thoái hoá vết và bệnh vảy nến. Tác nhân trị bệnh ung thư bao gồm tác nhân chống di căn.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được sử dụng làm dược chất, ví dụ, có thể là KX2-391, KX2-391·2HCl, KX2-391·MSA, hoặc KX2-391·MSA, dạng A gần như tinh khiết.

Sáng chế đề xuất hỗn hợp và chế phẩm mà có chứa một lượng giới hạn tạp chất. Các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế có độ tinh khiết lớn hơn khoảng 98,0% như được xác định bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, HPLC. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế có độ tinh khiết nằm trong khoảng từ 99,0% đến khoảng 100% (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, các hợp chất, muối, hỗn hợp, hoặc chế phẩm như vậy có thể có độ tinh khiết 98,1%, 98,2%, 98,3%, 98,4%, 98,5%, 98,6%, 98,7%, 98,8%, 98,9%, 99,0%, 99,1%, 99,2%, 99,3, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, hoặc 99,9%.

Để có được các dược lực học và tác dụng trị liệu tối đa của hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế, sẽ có lợi nếu hạn chế được lượng các tạp chất chẳng hạn như etyl clorua và paladi. Các tạp chất này có thể gây ra độc tính ngoài mong muốn.

Theo các phương án được ưu tiên, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% tạp chất. Ví dụ, hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn 2% của bất kỳ một trong số các tạp chất sau đây, hoặc kết hợp của chúng: etyl clorua, etanol, etyl axetat, heptan, anisol, và paladi.

Theo các phương án được ưu tiên khác hỗn hợp chứa ít hơn 250ppm etyl clorua như được xác định bằng phân tích dung môi dư trong phương pháp sắc ký khí có bộ phận hóa hơi. Theo một phương án, các hợp chất và các dạng bào chế theo sáng chế chứa etyl clorua với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 250ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm chứa ít hơn 200 ppm, ít hơn 200 ppm, ít hơn 150 ppm, ít hơn 100 ppm, hoặc ít hơn 50ppm etyl clorua.

Các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa ít hơn khoảng 100ppm paladi. Theo một phương án, các hợp chất, muối và chế phẩm theo sáng chế chứa paladi với lượng thay đổi trong khoảng từ 0ppm đến khoảng 100ppm (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên). Ví dụ, chế phẩm này chứa ít hơn 75 ppm, ít hơn 50 ppm, ít hơn 30 ppm, ít hơn 20 ppm, ít hơn 10 ppm, hoặc ít hơn 5ppm paladi.

Chế phẩm dạng đa hình

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được đưa ra trong Fig 7.

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 13,1, 15,6, 16,3, 17,5, 18,9, 19,7, 20,1, 20,9, 21,4, 22,3, 22,7, 23,5, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, và 27,1 độ.

Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X được đo bằng bức xạ Cu K α .

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở chỗ biểu đồ nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164.

Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ biểu đồ nhiệt DSC khi được đo bằng dụng cụ đo DSC Mettler 822^e.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được đưa ra trong Fig 7 và ở biểu đồ nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164.

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ

khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ và bằng biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 13,1, 15,6, 16,3, 17,5, 18,9, 19,7, 20,1, 20,9, 21,4, 22,3, 22,7, 23,5, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, và 27,1 độ và ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở chỗ phân tích nhiệt trọng là có có sự tồn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C.

Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ phân tích nhiệt trọng như được đo bằng dụng cụ Mettler851° STDA/TGA.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được nêu trong Fig 7; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164, và ở phân tích nhiệt trọng có sự tồn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C.

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164, và ở phân tích nhiệt trọng có sự tồn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 13,1, 15,6,

16,3, 17,5, 18,9, 19,7, 20,1, 20,9, 21,4, 22,3, 22,7, 23,5, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, và 27,1 độ; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164, và ở phân tích nhiệt trọng khi có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH.

Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ phân tích hấp thu ẩm như được đo bằng dụng cụ hấp thu ẩm Hiden IGAsorp.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được thể hiện trên Fig 7; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng khi có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C, và ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH.

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C, và ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở 2θ khoảng 13,1, 15,6, 16,3, 17,5, 18,9, 19,7, 20,1, 20,9, 21,4, 22,3, 22,7, 23,5, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, và 27,1 độ; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở

phân tích nhiệt trọng có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C, và ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit mesylat muối (dạng A) đặc trưng ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1.

Theo một khía cạnh, các thông số của thiết bị nhằm thu nhận phương pháp sắc ký lỏng cao áp được thể hiện ở Ví dụ 10.

Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ phương pháp sắc ký lỏng cao áp như được đo bằng thiết bị HPLC Waters Alliance.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự phổ được nêu trong Fig 7; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C; ở Phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH, và ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1.

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2 θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ; ở biểu đồ nhiệt nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C; ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH, và ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc

trung ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 13,1, 15,6, 16,3, 17,5, 18,9, 19,7, 20,1, 20,9, 21,4, 22,3, 22,7, 23,5, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, và 27,1 độ; ở biểu đồ nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng có sự tồn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C; ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH và ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid mesylat muối (dạng A) đặc trưng ở phổ hồng ngoại biến đổi Fourier trong phổ phản xạ toàn phần bên trong (ATR-FTIR Attenuated Total-Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy) có các đỉnh đặc trưng ở số sóng khoảng 1641, 1211, 1163, 1150, 1035, 831, 771, và 746 (cm^{-1}).

Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ ATR-FTIR như được đo bằng Thermo-Nicolet Avatar 370 với bộ gắn phổ phản xạ toàn phần bên trong Smart Endurance Attenuated Total-Reflection Attachment.

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X về cơ bản tương tự với phổ được nêu trong Fig 7; ở biểu đồ nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng khi có sự tồn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C; ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH; ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1, và ở phổ hồng ngoại biến đổi Fourier trong phổ phản xạ toàn phần bên trong (ATR-FTIR) có các đỉnh đặc trưng ở khoảng số sóng 1641, 1211, 1163, 1150, 1035, 831, 771, và 746 (cm^{-1}).

Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2θ khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ; ở biểu đồ nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có

một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C; ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH; ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1, và bằng phổ hồng ngoại biến đổi Fourier trong phổ phản xạ toàn phần bên trong (ATR-FTIR) có các đỉnh đặc trưng ở khoảng số sóng 1641, 1211, 1163, 1150, 1035, 831, 771, và 746 (cm^{-1}).

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) đặc trưng ở phổ nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở góc 2 θ khoảng 13,1, 15,6, 16,3, 17,5, 18,9, 19,7, 20,1, 20,9, 21,4, 22,3, 22,7, 23,5, 25,7, 26,1, 26,4, 26,8, và 27,1 độ; ở biểu đồ nhiệt lượng quét vi sai (DSC) có một giá trị cực đại ở khoảng 164; ở phân tích nhiệt trọng có sự tổn thất khối lượng không đáng kể dưới 230°C; ở phân tích hấp thu ẩm có sự hấp thu nước vào khoảng 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH; ở phương pháp sắc ký lỏng cao áp có đỉnh ở vào khoảng 9,1, và bằng phổ hồng ngoại biến đổi Fourier trong phổ phản xạ toàn phần bên trong (ATR-FTIR) có các đỉnh đặc trưng ở khoảng số sóng 1641, 1211, 1163, 1150, 1035, 831, 771, và 746 (cm^{-1}).

Theo một khía cạnh, sáng chế bao gồm dược phẩm chứa dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) và tá dược hoặc chất mang dược dụng.

Theo một khía cạnh, các tác giả sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng bệnh hoặc tình trạng cho đối tượng cần sử dụng, phương pháp nêu trên bao gồm bước cho đối tượng nêu trên sử dụng dược phẩm theo sáng chế, trong đó bệnh hoặc tình trạng bệnh nêu trên được chọn từ bệnh ung thư, chứng suy giảm thính lực, bệnh loãng xương, bệnh béo phì, bệnh tiểu đường, các bệnh về mắt, chứng đột quỵ, chứng vữa xơ động mạch, đau dây thần kinh, bệnh viêm gan B, bệnh tự miễn.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất quy trình điều chế dạng đa hình của muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (dạng A) bao gồm bước cho axit metansulfonic vào 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit trong axeton. Theo một

khía cạnh, lượng axeton nêu trên là lớn hơn 64 lần thể tích. Theo một khía cạnh, lượng axeton nêu trên là lớn hơn 64 lần thể tích và nhỏ hơn 100 thể tích. Theo một khía cạnh, lượng axeton nêu trên là 80 lần thể tích. Thuật ngữ “thể tích” dùng để chỉ thể tích chất lỏng cần đến để hòa tan khối chất liệu tức là $(\text{ml dung môi})/(\text{gam hợp chất}) = \text{thể tích}$.

Các phương pháp sử dụng

Vì các kinaza tham gia vào quá trình điều hoà một phạm vi rộng con đường truyền tín hiệu tế bào thông thường (ví dụ, sự sinh trưởng tế bào, sự biệt hoá, sự sống sót, sự dính bám, sự di cư, v.v.), nên kinaza được cho là đóng vai trò trong nhiều bệnh và rối loạn. Do đó, sự điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza có thể là một cách thức quan trọng để điều trị hoặc phòng các bệnh và rối loạn như vậy. Các bệnh và rối loạn như vậy bao gồm, ví dụ, bệnh ung thư, bệnh loãng xương, các rối loạn tim mạch, rối loạn chức năng hệ miễn dịch, bệnh tiểu đường typ II, bệnh béo phì, và sự đào thải cơ quan cấy ghép.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng là hữu ích trong quá trình điều biến một thành phần của dẫn truyền tín hiệu kinaza. Một số hợp chất hoặc muối theo sáng chế có thể là hữu ích để điều biến nhiều hơn một thành phần của dẫn truyền tín hiệu kinaza. Cụm từ “điều biến một hoặc nhiều thành phần này của dẫn truyền tín hiệu kinaza protein” có nghĩa là một hoặc nhiều thành phần của dẫn truyền tín hiệu kinaza bị tác động làm cho chức năng của tế bào thay đổi. Thành phần của dẫn truyền tín hiệu kinaza protein bao gồm protein bất kỳ tham gia trực tiếp hoặc gián tiếp vào quá trình truyền tín hiệu kinaza bao gồm phân tử truyền tin thứ hai và các đích nằm trước hoặc nằm sau.

Một số kinaza protein và phosphatase đã được biết đến, và là các đích để phát triển trị liệu. Tham khảo ví dụ ấn phẩm: Hidaka and Kobayashi, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1992, 32:377-397; Davies và các đồng tác giả, *Biochem. J.*, 2000, 351:95-105, mỗi trong số tài liệu này được kết hợp với bản mô tả này theo cách viện dẫn.

Một họ kinaza, là kinaza protein tyrosin được chia thành hai họ lớn: thụ thể kinaza tyrosin, hoặc RTK (receptor tyrosine kinase) (ví dụ, kinaza thụ thể insulin (IRK - insulin receptor kinase), thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR - epidermal growth factor receptor), thụ thể yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi kiềm tính (FGFR - basic fibroblast growth factor receptor), thụ thể yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu (PDGFR - platelet-derived growth factor receptor), thụ thể yếu tố tăng trưởng nội mô mạch (VEGFR-2 hoặc Flk1/KDR), và thụ thể yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGFR - nerve growth factor receptor)) và kinaza tyrosin phi thụ thể, hoặc NRTK (nonreceptor tyrosine kinase) (ví dụ, họ Src (Src, Fyn, Yes, Blk, Yrk, Fgr, Hck, Lck, và Lyn), Fak, Jak, Abl và Zap70). Xem chẳng hạn ấn phẩm, Parang and Sun, Expert Opin. Ther. Patents, 2005, 15:1183-1207, tài liệu này được kết hợp với bản mô tả này theo cách viện dẫn.

Vì kinaza Src tham gia vào nhiều bệnh ung thư, các kinaza này là đối tượng của một số nghiên cứu liên quan đến sự phát triển của các chất ức chế Src như là tác nhân trị liệu bệnh ung thư, bao gồm sự phát triển tế bào ung thư với mức di căn cao. Đã tìm kiếm các chất ức chế Src dùng làm tác nhân trị liệu cho nhiều bệnh ung thư, bao gồm, ví dụ, bệnh ung thư ruột kết, thương tổn ruột kết tiền ung thư, bệnh ung thư buồng trứng, ung thư vú, bệnh ung thư biểu mô, bệnh ung thư thực quản, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, bệnh ung thư tuyến tụy, và các bệnh khác. Tham khảo ví dụ Frame, Biochim. Biophys. Acta, 2002, 1602:114-130 và Parang and Sun, Expert Opin. Ther. Patents, 2005, 15:1183-1207.

Việc ức chế các kinaza khác có thể là hữu ích để điều trị và điều biến các dạng bệnh và rối loạn khác. Ví dụ, các bệnh về mắt khác nhau có thể được ức chế hoặc được phòng ngừa bằng cách sử dụng các chất ức chế thụ thể kinaza tyrosin VEGF. Các chất ức chế tyrosin phosphatase PTP-1B và/hoặc glycogen phosphorylase có thể cung cấp phép điều trị bệnh tiểu đường typ II hoặc bệnh béo phì. Các chất ức chế p56lck có thể là hữu ích để điều trị rối loạn hệ miễn dịch. Các đích khác bao gồm enzym phiên mã của ngược HIV, synthase thromboxan, EGFR TK, p55 fyn, v.v.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là các chất ức chế truyền tín hiệu Src mà gắn kết ở vị trí cơ chất peptit Src. Hoạt tính của các hợp chất khác

nhau theo sáng chế và các muối đã được nghiên cứu trong các tế bào NIH3T3 được biến nạp c-Src (527F, có hoạt tính cơ định và biến nạp) và ở các tế bào ung thư ruột kết của người (HT29). Ví dụ, trong các dòng tế bào này, KX2-391 tỏ ra là làm giảm mức phosphoryl hóa của cơ chất protein Src đã biết theo cách thức phụ thuộc liều lượng và có liên hệ tốt với tác dụng ức chế phát triển. Do đó, theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể trực tiếp ức chế Src, và có thể thực hiện như thế bằng cách gắn kết ở vị trí gắn kết peptit (đối lập với gắn kết ở vị trí biến cấu).

Đã thực hiện thử nghiệm mô hình phân tử cho thấy là các hợp chất theo sáng chế phù hợp với vị trí cơ chất Src mô hình (tham khảo ví dụ các patent Mỹ số 7,005,445 và 7,070,936). Cũng sử dụng việc mô hình hóa để cấu trúc lại vùng khung cấu trúc chất ức chế kinaza Src để hướng đích các kinaza khác, đơn giản là bằng cách sử dụng tập mạch bên khác nhau có mặt trên các phân tử và/hoặc biến đổi vùng khung cấu trúc của nó.

Không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng cấu dạng của một số kinaza (ví dụ, Src) bên ngoài tế bào so với cấu dạng bên trong tế bào khác nhau rõ rệt, vì bên trong tế bào, nhiều kinaza được gắn vào các phức hợp truyền tín hiệu đa protein. Do đó, vì vị trí gắn kết với cơ chất peptit không được tạo rõ trong kinaza được phân lập (như được chỉ ra bằng cấu trúc tia X Src), cho rằng hoạt tính chống lại kinaza được phân lập của chất ức chế liên kết với cơ chất peptit sẽ là yếu. Sự gắn kết với vị trí này trong thử nghiệm kinaza được phân lập đòi hỏi rằng chất ức chế giữ một phần trăm rất nhỏ trong tổng số protein trong thử nghiệm enzym được phân lập mà có cùng cấu dạng tồn tại bên trong tế bào. Điều này đòi hỏi một lượng dư lớn chất ức chế để rút một lượng có ý nghĩa của enzym từ chu trình xúc tác trong thử nghiệm để có thể phát hiện được.

Tuy nhiên, trong các thử nghiệm trên cơ sở tế bào, không cần đến lượng dư nhiều chất ức chế vì vị trí gắn kết peptit được cho là sẽ được tạo thành. Trong các thử nghiệm trên cơ sở tế bào, protein gắn kết miền SH2 & SH3 đã dịch chuyển cấu dạng Src sao cho vị trí gắn kết với cơ chất peptit được tạo thành hoàn toàn. Do đó, chất ức

chế với nồng độ thấp có thể loại được enzym ra khỏi chu trình xúc tác vì toàn bộ enzym này ở cấu dạng liên kết chặt.

Nhiều chất ức chế kinaza đã biết là có tính cạnh tranh ATP và thể hiện độ chọn lọc kém trong bảng thử nghiệm kinaza được phân lập. Tuy nhiên, nhiều hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được cho là các chất ức chế liên kết với cơ chất peptit. Do đó, việc sàng lọc số lượng lớn vật liệu đưa vào theo phương pháp truyền thống các hợp chất và muối đối với enzym được phân lập, chẳng hạn như Src, sẽ không thể dẫn đến việc phát hiện các hợp chất theo sáng chế và muối của chúng.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là chất ức chế kinaza. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là chất ức chế kinaza không cạnh tranh với ATP. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể ức chế kinaza trực tiếp, hoặc nó có thể ảnh hưởng đến quá trình kinaza. Theo một phương án, hợp chất hoặc muối của nó ức chế một hoặc nhiều hợp phần của dãy truyền tín hiệu kinaza protein. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối của nó là chất ức chế biến cấu. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối của nó là chất ức chế cơ chất peptit. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối của nó không ức chế sự gắn kết ATP với kinaza protein. Theo một phương án, hợp chất hoặc muối của nó ức chế kinaza protein thuộc họ Src. Theo một phương án khác, kinaza protein thuộc họ Src này là kinaza tyrosin pp60^{c-src}.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của nó là hữu ích làm tác nhân được, ví dụ, làm các tác nhân trị liệu để điều trị cho người và động vật. Các hợp chất hoặc muối của nó có thể được sử dụng không mang tính giới hạn, ví dụ, làm tác nhân trị bệnh ung thư, chống tạo mạch, chống di căn, kháng vi sinh vật, kháng khuẩn, trừ nấm, kháng ký sinh trùng và/hoặc kháng virus. Một số dạng đa hình nhất định có thể được sử dụng không mang tính giới hạn, ví dụ, làm tác nhân trị bệnh ung thư, chống tạo mạch, chống di căn, kháng vi sinh vật, kháng khuẩn, trừ nấm, kháng ký sinh trùng và/hoặc kháng virus.

Theo một phương án, việc sử dụng hỗn hợp theo sáng chế được thực hiện qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, dưới da, tĩnh mạch, qua cơ, trong màng bụng, nhỏ giọt qua đường mũi, nhỏ giọt trong khoang hoặc trong bàng quang, dùng

khu trú ví dụ, bằng cách cấp nhỏ giọt vào tai, trong động mạch, vào chỗ thương tổn, bằng cách đo lường bằng bơm, hoặc bằng cách đưa đến màng nhầy. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối của nó được cấp với chất mang được dụng.

Bệnh ung thư

Nhiều tài liệu gần đây ủng hộ cho việc nhắm đích pp60c-src (Src) như là phương pháp hữu ích rộng rãi cho phép trị liệu bệnh ung thư mà không gây ra độc tính nghiêm trọng. Ví dụ, khối u mà thể hiện sự truyền tín hiệu PTK thụ thể EGF tăng lên, hoặc biểu hiện qua mức thụ thể Her-2/neu liên quan, đã hoạt hoá cơ định Src và tăng sự xâm nhập khối u. Sự ức chế Src trong các tế bào này làm ngừng sự phát triển, gây ra quá trình chết tự nhiên của tế bào, và đảo ngược kiểu hình được biến nạp (Karni và các đồng tác giả (1999) *Oncogene* 18(33): 4654-4662). Đã biết rằng hoạt tính Src tăng lên bất thường cho phép các tế bào được biến nạp phát triển theo kiểu độc lập với cơ chất. Điều này rõ ràng gây ra do thực tế là việc truyền tín hiệu chất nền ngoại bào làm tăng hoạt tính Src trong quá trình FAK/Src, theo cách thức phối hợp với việc truyền tín hiệu tác nhân gây phân bào, và nhờ đó phong bế cơ chế chết theo chương trình của tế bào mà thông thường đã được hoạt hoá. Kết quả là sự ức chế FAK/Src trong tế bào khối u có thể gây ra quá trình chết tự nhiên của tế bào bởi vì cơ chế chết theo chương trình của tế bào mà thường trở nên hoạt hoá khi tách tự do ra khỏi chất mang ngoại bào sẽ được gây ra (Hisano, và các đồng tác giả, *Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res.* 38:A1925 (1997)). Ngoài ra, nhận thấy sự biểu hiện ARN thông tin VEGF giảm đi khi ức chế Src và khối u có nguồn gốc từ dòng tế bào bị ức chế Src này thể hiện sự phát triển hình thành mạch giảm đi (Ellis và các đồng tác giả, *Journal of Biological Chemistry* 273 (2):1052-1057 (1998)).

Src đã được đề xuất là đích “phổ biến” cho phép trị liệu bệnh ung thư vì đã nhận thấy rằng nó được hoạt hoá quá mức trong số lượng tăng lên khối u người (Levitzki, *Current Opinion in Cell Biology*, 8, 239-244 (1996); Levitzki, *Anti-Cancer Drug Design*, 11, 175-182 (1996)). Lợi ích tiềm năng của việc ức chế Src cho phép trị liệu bệnh ung thư dường như là tác dụng ức chế bốn lần của sự phát triển tế bào không kiểm soát gây ra do tác dụng vòng yếu tố tăng trưởng tự tiết, ức chế sự di căn do gây

ra sự chết tự nhiên của tế bào khi tách ra khỏi chất nền tế bào, ức chế sự tạo mạch khối u bằng cách làm giảm lượng VEGF, và độc tính giảm.

Tế bào ung thư tuyến tiền liệt đã được báo cáo là có cả biểu hiện quá mức paxillin và p130cas và được phosphoryl hóa ở mức cao (Tremblay và các đồng tác giả, *Int. J. Cancer*, 68, 164-171, 1996) và do đó có thể là đích chính cho các chất ức chế Src.

Sáng chế mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị rối loạn tăng sinh tế bào bằng cách cấp dược phẩm bao gồm KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, và ít nhất một tá dược được dùng cho đối tượng cần sử dụng. Sáng chế bao gồm gần như tinh khiết KX2-391 bis-HCl. Sáng chế bao gồm KX2-391 mesylat gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm dạng đa hình của KX2-391 MSA ví dụ, dạng A.

Ví dụ, rối loạn tăng sinh tế bào này là tiền ung thư hoặc bệnh ung thư. Rối loạn tăng sinh tế bào này được điều trị hoặc được phòng ngừa bằng các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể là bệnh ung thư, chẳng hạn như bệnh ung thư ruột kết hoặc ung thư phổi. Rối loạn tăng sinh tế bào này được điều trị hoặc phòng ngừa bằng các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể là rối loạn siêu tăng sinh. Rối loạn tăng sinh tế bào được điều trị hoặc phòng ngừa bằng các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể là bệnh vảy nến.

Việc điều trị hoặc phòng ngừa tăng sinh rối loạn có thể xảy ra thông qua tác dụng ức chế kinaza tyrosin. Ví dụ, kinaza tyrosin này có thể là kinaza Src hoặc kinaza dính bám tiêu điểm (FAK - focal adhesion kinase).

Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể được sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư não ở đối tượng. Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó để bào chế thuốc điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư não. Để bảo vệ chống lại bệnh ung thư não, hợp chất hoặc muối có thể được cấp trước khi có sự phát triển của bệnh ung thư não ở đối tượng. Theo cách khác, hợp chất hoặc muối của nó có thể được sử dụng để điều trị bệnh ung thư não ở đối tượng. A hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được sử dụng để

điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư não có thể có liên quan đến sự điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza ví dụ, chất ức chế kinaza, chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP, chất ức chế kinaza tyrosin, chất ức chế phosphatase kinaza protein hoặc chất ức chế protein-tyrosin phosphatase 1B.

Thuật ngữ “bệnh ung thư não” bao gồm nhiều dạng bệnh ung thư. Các bệnh này có thể là khối u não thực tế xuất phát từ chính não, được biết là bệnh ung thư não sơ cấp trong đó có một số dạng. Thuật ngữ “bệnh ung thư não” dùng để chỉ khối u ác tính tức là khối u phát triển và lan tràn mạnh, áp chế các tế bào khỏe mạnh bằng cách chiếm khoảng không, máu, và chất dinh dưỡng của chúng. Khối u mà không lan tràn mạnh được gọi là khối u lành tính. Khối u lành tính thường là ít nghiêm trọng hơn khối u ác tính, nhưng khối u lành tính vẫn có thể gây ra các vấn đề trong não. Ngoài ra, các khối u này cũng có thể là các di căn đến não, là sự lan tràn của các bệnh ung thư khác, chẳng hạn như ung thư phổi hoặc vú di đến não.

Khối u não được phân loại dựa trên cả tế bào não cấu thành nên chúng và hình dạng của khối u quan sát dưới kính hiển vi. Khối u não sơ cấp xuất hiện từ tế bào bất kỳ trong não, hoặc từ cấu trúc cụ thể trong não. Các tế bào thần kinh đệm hỗ trợ neuron của não và khối u xuất hiện từ các tế bào này được biết đến là khối u thần kinh đệm. Màng bao bọc quanh não cũng có thể phát triển khối u và các khối u này được gọi là u màng não. Có các dạng khối u khác, liên quan đến các cấu trúc khác của não bao gồm u tế bào màng não thất. Khối u não chủ yếu phổ biến nhất là u thần kinh đệm, u màng não, u tuyến yên, u bao sợi thần kinh tiền đình, và khối u ngoại bì thần kinh nguyên thủy (bệnh u nguyên bào tủy).

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa u nguyên bào đệm, là u tế bào hình sao ác tính phát triển nhanh của hệ thần kinh trung ương và thông thường là của bán cầu não. Các từ đồng nghĩa cho u nguyên bào đệm bao gồm u nguyên bào thần kinh đệm đa hình (GBM), u nguyên bào đệm tế bào khổng lồ, và u nguyên bào xốp đa hình. U nguyên bào thần kinh đệm là u não chủ yếu ác tính phổ biến nhất và tỏ ra là rất khó điều trị. Các khối u này thường xâm lấn và xâm nhập quanh mô não. U nguyên bào đệm xuất hiện từ các tế bào thần kinh đệm, là các tế bào tạo thành mô bao quanh và bảo vệ các tế bào thần kinh khác được tìm thấy trong não và dây thần kinh tuỷ sống. U nguyên

bào thần kinh đệm chủ yếu bao gồm các tế bào thần kinh đệm có dạng ngôi sao được biết đến như là tế bào dạng sao. Thuật ngữ “u thần kinh đệm” bao gồm dạng u não bất kỳ chẳng hạn như u tế bào hình sao, u tế bào thần kinh đệm ít gai, u tế bào màng não thất, và u nhú mô sợi màng trạch. U tế bào hình sao được chia thành bốn cấp độ dựa trên mức độ nhanh chóng các tế bào tái tạo và khả năng mà chúng xâm nhập mô gần đây. U tế bào hình sao cấp độ I hoặc II là u không cá tính và có thể được coi là các dạng cấp độ thấp. U tế bào hình sao cấp độ III và IV là dạng ác tính và có thể được coi là u tế bào hình sao dạng cấp độ cao. U tế bào hình sao cấp độ II đã được biết đến như là u sao bào không biệt hóa. U tế bào hình sao cấp độ IV đã được biết đến là u nguyên bào thần kinh đệm đa hình.

Các tác giả sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa u nguyên bào ống tủy. U nguyên bào ống tủy là dạng khối u não cơ sở có độ ác tính cao xuất phát từ cerebellum hoặc posterior fossa. Ban đầu được coi là u nguyên bào tủy, u nguyên bào ống tủy được biết đến là họ u thần kinh ngoại bì nguyên thủy ở sọ (PNET).

Khối u mà xuất hiện trong tiểu não được gọi là dưới lều vì chúng xuất hiện ở dưới lều tiểu não, là màng dày phân tách bán cầu não với tiểu não. Một thuật ngữ khác cho u nguyên bào ống tủy là PNET dưới lều. U nguyên bào ống tủy là PNET có nguồn gốc từ não phổ biến nhất. Tất cả các khối u PNET của não là khối u có tính xâm nhập và phát triển nhanh chóng, không như phần lớn các khối u não, lan truyền đến dịch não-tủy (CSF - cerebrospinal fluid) và thường di căn đến các vị trí khác nhau ở trong não và tủy sống. Bệnh u nguyên bào ống tủy xuất hiện nhiều nhất ở độ tuổi 7. 70 phần trăm u nguyên bào ống tủy xuất hiện ở người trẻ hơn 16 tuổi. U nguyên bào ống tủy tạo sợi dính thường được gặp trong thời gian ở người trưởng thành. Dạng khối u này hiếm khi xuất hiện ở những năm năm mươi.

Các tác giả sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa u nguyên bào thần kinh, một dạng bệnh ung thư tạo thành trong mô thần kinh. Các tế bào của u nguyên bào thần kinh thường giống các tế bào thần kinh phát triển ở giai đoạn rất nguyên thủy ở phôi hoặc bào thai. Thuật ngữ thần kinh dùng để chỉ "dây thần kinh" trong khi đó u nguyên bào dùng để chỉ bệnh ung thư gây ảnh hưởng đến các tế bào chưa trưởng thành hoặc đang phát triển. Các noron (các tế bào thần kinh) là thành phần chính của não và dây thần kinh tủy sống và của các dây thần kinh nối chúng với phần cơ thể còn lại. U nguyên

bào thần kinh thường bắt đầu ở tuyến thượng thận, nhưng nó cũng có thể bắt đầu ở dây thần kinh tủy sống. U nguyên bào thần kinh là dạng ung thư rắn ngoài sọ phổ biến nhất ở trẻ em. Vào năm 2007, u nguyên bào thần kinh là bệnh ung thư phổ biến nhất ở tuổi thơ, với tỷ lệ mắc bệnh hằng năm vào khoảng 650 ca mới mắc mỗi năm ở Mỹ. Gần đến 50 phần trăm ca u nguyên bào thần kinh xuất hiện ở trẻ con ít hơn hai năm tuổi. Đây là khối u thần kinh nội tiết xuất hiện từ thành phần mào thần kinh bất kỳ của hệ thần kinh giao cảm hoặc SNS (sympathetic nervous system). Một nhánh của hệ thần kinh tự trị, SNS là mạng lưới dây thần kinh mang thông tin từ não đi suốt cơ thể và chịu trách nhiệm cho đáp ứng “chống hoặc bỏ chạy” và sản xuất adrenalin hoặc epinephrin.

Các tác giả sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa u biểu mô thần kinh, là khối u ác tính của biểu mô thần kinh. U biểu mô thần kinh được gặp phổ biến nhất thường ở trẻ con và người trưởng thành còn trẻ. Khối u này xuất hiện phổ biến nhất ở thành ngực, khung xương chậu, hoặc tay chân, hoặc ở xương hoặc mô mềm. Các phương pháp được sử dụng trong quá trình chẩn đoán có thể bao gồm xét nghiệm máu và nước tiểu, chụp X quang xương bị bệnh và toàn bộ cơ thể và phổi, chọc hút tủy xương, chụp CT, và phép nghiệm huỳnh quang. Các phương pháp điều trị bao gồm phẫu thuật, xạ trị và hoá trị liệu. Khối u Ewing là ví dụ của một dạng u biểu mô thần kinh ngoại biên.

Các kinaza đã được chứng tỏ là đóng vai trò trong bệnh ung thư não. Profine biểu hiện gen của u nguyên bào thần kinh đệm đa hình đã nhận diện được các kinaza tyrosin đóng vai trò trong sự di cư/lan tràn u thần kinh đệm. Ví dụ, PYK2 là một thành viên của họ dính bám tiêu điểm của kinaza tyrosin không thụ thể; nó có liên quan chặt chẽ với sự tăng polyme hoá actin gây ra do src ở ngoại biên tế bào nguyên bào sợi. Vai trò của nó trong sự di cư/lan tràn u thần kinh đệm trở nên rõ ràng hơn, khi mà sự biểu hiện quá mức PYK2 gây ra sự di bào tế bào u nguyên bào đệm trong môi trường nuôi cấy. Mức PYK2 được hoạt hoá có mối liên hệ dương tính với kiểu hình di cư trong bốn dòng tế bào u nguyên bào đệm (SF767, G112, T98G và U118). Phân tích của PYK2 hoạt hoá trong sự lan tràn GBM in situ cho thấy sự nhuộm màu mạnh trong các tế bào GBM xâm nhập. (Tham khảo, Hoelzinger et al, Neoplasia, vol. 7(1)7-16. Do đó, sự điều biến thụ thể kinaza bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế có thể là hữu ích trong việc phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh ung thư não như u nguyên bào thần kinh đệm đa hình.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng bệnh ung thư hoặc rối loạn tăng sinh ở đối tượng, bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế còn mô tả việc cấp dạng đa hình gần như tinh khiết KX2-391·MSA ví dụ, dạng A với một lượng hữu hiệu.

Chứng suy giảm thính lực

Như được mô tả trong bản mô tả này, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể được sử dụng để bảo vệ chống lại hoặc phòng ngừa chứng suy giảm thính lực ở đối tượng. Theo một khía cạnh, có thể sử dụng dạng đa hình theo sáng chế để bảo vệ chống lại hoặc phòng ngừa chứng suy giảm thính lực ở đối tượng. Để bảo vệ chống lại chứng suy giảm thính lực, có thể cấp hợp chất hoặc muối này trước khi tiếp xúc với tiếng ồn hoặc tiếp xúc với thuốc mà gây ra chứng suy giảm thính lực để ngăn cản sự suy giảm thính lực hoặc làm giảm mức độ suy giảm thính lực. Các thuốc như vậy mà gây ra chứng suy giảm thính lực có thể bao gồm thuốc hóa trị liệu (ví dụ, thuốc trên cơ sở platin mà hướng đích các tế bào lông) và chất kháng sinh aminoglycosit. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể có tác dụng hiệp đồng với một số thuốc trị bệnh ung thư. Ví dụ, có thể sàng lọc được các chất ức chế tiềm năng trong các thử nghiệm mô khối u ở người sơ cấp, đặc biệt là để tìm ra tác dụng hợp lực với các thuốc trị bệnh ung thư đã biết khác. Ngoài ra, các chất ức chế kinaza protein có thể làm giảm độc tính của một số thuốc trị bệnh ung thư (ví dụ, thuốc trên cơ sở platin mà có độ hại cho ốc tai và thận), nhờ đó cho phép tăng liều lượng sử dụng.

Theo cách khác, có thể sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó để điều trị chứng suy giảm thính lực ở đối tượng. Theo phương án này, hợp chất hoặc muối này được cấp cho đối tượng sau khi đã bị suy giảm thính lực để làm giảm mức suy giảm thính lực. Hợp chất theo sáng chế có thể tham gia vào sự điều biến dây kinaza, ví dụ chất ức chế kinaza, chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP, chất ức chế kinaza tyrosin, chất ức chế Src hoặc chất điều biến kinaza dính bám tiêu điểm (FAK - focal adhesion kinase). Mặc dù không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp các chất ức chế kinaza ngăn cản quá trình chết tự nhiên của tế

bào các tế bào lông nhung ốc tai, nhờ đó ngăn cản chứng suy giảm thính lực. Theo một phương án, sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó cho đối tượng mắc chứng suy giảm thính lực để ngăn sự chứng suy giảm hơn nữa thính lực. Theo một phương án khác, sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được cấp cho đối tượng mắc chứng suy giảm thính lực để phục hồi thính lực bị mất. Đặc biệt là, sau khi tiếp xúc với tiếng ồn, sự liên hệ tế bào chặt chẽ giữa các tế bào lông nhung ốc tai, cũng như tương tác chất mang tế bào- ngoại bào, bị phá vỡ và bị kéo căng. Sự kéo căng của chỗ nối tế bào liên hệ chặt chẽ này làm khởi đầu quá trình chết tự nhiên của tế bào trong tế bào thông qua con đường tạo tín hiệu phức tạp trong đó kinaza tyrosin có vai trò như nút dịch chuyển phân tử, tương tác với kinaza dính bám tiêu điểm để chuyển đổi các tín hiệu của sự phá vỡ tế bào-chất mang đến nhân. Cho rằng việc sử dụng các chất ức chế kinaza ngăn cản sự khởi đầu quá trình chết tự nhiên của tế bào trong dây tín hiệu này.

Việc nhận diện quá trình chết tự nhiên của tế bào trong ốc tai đã bị tiếp xúc với tiếng ồn đã tạo ra một số khả năng mới để ngăn ngừa chứng suy giảm thính lực gây ra do tiếng ồn (NIHL - noise-induced hearing loss) (Hu, và các đồng tác giả; 2000, *Acta. Otolaryngol.*, 120, 19-24). Ví dụ, có thể bảo vệ tai không bị NIHL bằng cách sử dụng thuốc chống oxy hóa vào phần cửa sổ ốc tai của tai (Hight, và các đồng tác giả; 2003, *Hear. Res.*, 179, 21-32; Hu, và các đồng tác giả; *Hear. Res.* 113, 198-206). Cụ thể, là NIHL đã được giảm đi khi sử dụng các hợp chất chống oxy hóa được FDA phê chuẩn (N-L-acetylcysteine (L-NAC N-L-acetylcysteine) và salixylat) ở sóc sinisin (Kopke, và các đồng tác giả; 2000, *Hear. Res.*, 149, 138-146). Hơn nữa, Harris và các đồng tác giả gần đây đã mô tả tác dụng phòng ngừa NIHL bằng cách dùng các chất ức chế Src-PTK (Harris, và các đồng tác giả; 2005, *Hear. Res.*, 208, 14-25). Do đó, có thể đưa ra giả thuyết là việc sử dụng hợp chất theo sáng chế điều biến hoạt tính kinaza, có tác dụng điều trị chứng suy giảm thính lực.

Các thay đổi trong sự gắn tế bào hoặc ứng suất tế bào có thể hoạt hoá nhiều tín hiệu thông qua quá trình hoạt hoá integrin và thông qua quá trình phosphoryl hóa PTK, bao gồm họ Src của các kinaza tyrosin. Các tương tác Src được cho là có liên kết với các quá trình tạo tín hiệu làm cải biến khung tế bào và hoạt hoá nhiều dây protein kinaza điều hòa sự sống sót của tế bào và sự phiên mã gen (tham khảo trong ấn phẩm:

Giancotti và Ruoslahti; 1999, *Science*, 285, 1028-1032). Trên thực tế, các kết quả gần đây đã chứng tỏ rằng các tế bào lông ngoài (OHC), khi đã tách rời ra khỏi nền tế bào sau khi đã tiếp xúc với tiếng ồn mạnh, trải qua quá trình chết theo chương trình của tế bào. Cụ thể, dây truyền tín hiệu Src PTK được cho là có liên quan đến cả việc khởi đầu quá trình chết tự nhiên của tế bào gây ra do trao đổi chất và cơ học trong các tế bào giác quan ở ốc tai. Trong nghiên cứu gần đây, các chất ức chế Src tạo ra tác động bảo vệ với tiếng động dải quãng tám 4 kHz ở 106 dB trong thời gian 4 giờ, điều này chứng tỏ rằng Src-PTK có thể được hoạt hoá trong các tế bào lông ngoài sau khi tiếp xúc với tiếng ồn (Harris, và các đồng tác giả; 2005, *Hear. Res.*, 208, 14-25). Do đó, các hợp chất theo sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính Src, là hữu ích để điều trị chứng suy giảm thính lực.

Một khía cạnh khác theo sáng chế là phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị chứng suy giảm thính lực ở đối tượng bao gồm sử dụng chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu của KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của chúng, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA ví dụ, dạng A với một lượng hữu hiệu.

Theo một phương án, hợp chất này được cấp trước khi mắc chứng suy giảm thính lực. Theo một phương án khác, hợp chất được cấp sau khi bị chứng suy giảm thính lực.

Theo một phương án, hợp chất này được dùng kết hợp với thuốc làm suy giảm thính lực ví dụ, chất kháng sinh cis platin hoặc an aminoglycosit. Theo một phương án khác, hợp chất này được dùng kết hợp với thuốc hướng đích các tế bào lông tóc.

Bệnh loãng xương

Sáng chế mô tả phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh loãng xương ở đối tượng. Theo một khía cạnh, phương pháp này bao gồm việc bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh loãng xương bằng cách sử dụng dạng đa hình theo sáng chế. Phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc

muối của nó với một lượng hữu hiệu để bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh loãng xương. Để bảo vệ chống lại bệnh loãng xương, hợp chất hoặc muối này có thể cấp trước khi phát triển bệnh loãng xương. Theo cách khác, có thể sử dụng hợp chất hoặc muối của nó để điều trị bệnh loãng xương ở đối tượng. Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này của nó được cấp cho đối tượng sau khi phát bệnh loãng xương để làm giảm mức bệnh loãng xương.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể, ví dụ là chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza, tùy thuộc vào mạch bên cụ thể và các cải biến vùng khung cấu trúc được lựa chọn. Hợp chất theo sáng chế có thể là chất ức chế kinaza. Ví dụ, hợp chất hoặc muối của nó có thể là chất ức chế kinaza protein tyrosin (PTK). Kinaza tyrosin giàu prolin (PYK2; còn được gọi là kinaza dính bám tế bào β , kinaza tyrosin dính bám tiêu điểm tương tự, hoặc kinaza tyrosin phụ thuộc canxi) và kinaza dính bám tiêu điểm (FAK - focal adhesion kinase) là các thành viên thuộc họ riêng biệt kinaza protein tyrosin phi thụ thể mà được điều hoà bằng nhiều kích thích ngoại bào (Avraham, và các đồng tác giả; 2000, *Cell Signal.*, 12, 123-133; Schlaepfer, và các đồng tác giả; 1999, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 71, 435-478). Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là chất ức chế Src. Đã chỉ ra được rằng sự thiếu hụt Src có liên quan đến bệnh loãng xương ở chuột nhắt, vì mất chức năng tế bào hủy xương (Soriano, và các đồng tác giả; 1991, *Cell*, 64, 693-702). Theo cách khác, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể điều biến biểu hiện của kinaza M gắn với thụ thể interleukin-1 (IRAK-M interleukin-1 receptor associated kinase M). Chuột nhắt thiếu IRAK-M phát sinh bệnh loãng xương nặng, có liên quan đến sự tăng tốc biệt hoá của tế bào hủy xương, sự tăng thời gian bán thải của tế bào hủy xương, và sự hoạt hoá chúng (Hongmei, và các đồng tác giả; 2005, *J. Exp. Med.*, 201, 1169-1177).

Tế bào hủy xương đa nhân có nguồn gốc từ quá trình dung hợp thể thực bào bạch cầu đơn nhân và đóng vai trò chính trong sự phát triển xương và sự tái tổ chức thông qua sự tái hấp thu xương. Tế bào hủy xương là các tế bào đa nhân, được biệt hóa ở giai đoạn cuối làm phân hủy chất nền dạng khoáng. Trong mô xương bình thường, có sự cân bằng giữa sự tạo thành xương do các nguyên bào xương và sự tái hấp thu xương của tế bào hủy xương. Khi sự cân bằng của quá trình được điều hoà cao và biến

động này bị phá vỡ, sự tái hấp thu xương có thể mạnh hơn sự tạo thành xương làm mất xương về mặt định lượng. Vì các tế bào hủy xương là thiết yếu sự phát triển và sự tái tổ chức xương, sự tăng về số lượng và /hoặc hoạt tính của chúng dẫn đến các bệnh về chứng mất xương toàn thân (ví dụ, bệnh loãng xương) và các chứng mất xương từng phần (ví dụ, viêm đa khớp dạng thấp, bệnh viêm quanh răng).

Cả tế bào hủy xương và nguyên bào xương đều điều chỉnh nhiều quá trình tạo tín hiệu liên quan đến kinaza protein. Sự hoạt hoá tế bào hủy xương được khởi đầu bằng sự dính bám với xương, sự bố trí lại khung tế bào, sự tạo thành vùng gắn, và sự tạo thành màng gọn sóng phân cực. Cho rằng kinaza protein tyrosin 2 (PYK2) tham gia vào quá trình chuyển tín hiệu từ bề mặt tế bào đến khung tế bào, khi nó là tyrosin được phosphoryl hóa và hoạt hoá bởi tín hiệu được khởi đầu bởi sự dính bám trong tế bào hủy xương (Duong, và các đồng tác giả; 1998, *J. Clin. Invest.*, 102, 881-892). Các bằng chứng nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng sự giảm lượng protein PYK2 ức chế sự tạo thành tế bào hủy xương và sự tái hấp thu xương *in vitro* (Duong, và các đồng tác giả; 2001, *J. Bio. Chem.*, 276, 7484-7492). Do đó, sự ức chế PYK2 hoặc các kinaza protein tyrosin khác có thể làm giảm mức độ bệnh loãng xương do làm giảm sự tạo thành tế bào hủy xương và sự tái hấp thu xương. Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, có thể đưa ra giả thuyết là việc cấp hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó sẽ điều biến hoạt tính kinaza (ví dụ PTK) và do đó gây ức chế sự tạo thành tế bào hủy xương và/hoặc sự tái hấp thu xương, và vì vậy có tác dụng điều trị bệnh loãng xương.

Kinaza tyrosin Src nổi bật như là đích trị liệu đầy hứa hẹn cho các bệnh về xương thông qua các nghiên cứu làm bất hoạt gen Src ở chuột nhắt và thử nghiệm tế bào *in vitro*, điều đó gợi ý rằng Src đóng vai trò điều hoà ở cả trường hợp bệnh liên quan đến tế bào hủy xương (dương tính) và nguyên bào xương (âm tính). Ở tế bào hủy xương, Src đóng vai trò quan trọng trong chức năng vận động, phân cực, sự sống sót, hoạt hoá (sự tạo thành viền gọn sóng) và sự dính bám, bằng cách làm trung gian cho quá trình truyền tín hiệu khác nhau, đặc biệt là truyền tín hiệu xytokin và integrin (Parang và Sun; 2005, *Expert Opin. Ther. Patents*, 15, 1183-1207). Hơn nữa, sự phá vỡ gen *src* một cách có hướng đích ở chuột nhắt gây ra bệnh xương đá, là rối loạn được đặc trưng ở sự giảm tái hấp thu sự, mà không thể hiện bất kỳ bất thường hình

thái hoặc chức năng rõ rệt nào ở các mô hoặc tế bào khác (Soriano, và các đồng tác giả; 1991, *Cell*, 64, 693-702). Kiểu hình bệnh xương đá của chuột nhắt *src*^{-/-} là chỉ có ở tế bào biến đổi gen và xuất hiện từ các khuyết tật ở các tế bào huỷ xương trưởng thành, là các tế bào thường biểu hiện mức protein Src cao (Horne, và các đồng tác giả; 1991, *Cell*, 119, 1003-1013). Bằng cách làm giảm hiệu quả của của kinaza tyrosin Src, là enzym gây tạo hoạt tính tế bào huỷ xương và ức chế nguyên bào xương, các chất ức chế Src được cho là làm giảm sự phá vỡ của xương và thúc đẩy quá trình tạo thành xương. Vì tế bào huỷ xương thường biểu hiện lượng Src cao, sự ức chế hoạt tính kinaza Src có thể là hữu ích để điều trị bệnh loãng xương (Missbach, và các đồng tác giả; 1999, *Bone*, 24, 437-449). Do vậy, các chất ức chế PTK theo sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính Src là hữu ích để điều trị bệnh loãng xương.

Ví dụ, việc làm bất hoạt gen Src ở chuột nhắt chỉ gây ra một khiếm khuyết, cụ thể là tế bào huỷ xương không tạo ra viên gợn sóng và do đó không tái hấp thu xương. Tuy nhiên, chức năng tái hấp thu xương của tế bào huỷ xương được phục hồi ở các con chuột nhắt khi đưa gen Src khuyết tật kinaza vào (Schwartzberg và các đồng tác giả, (1997) *Genes & Development* 11: 2835-2844). Điều này gợi ý là có thể ức chế *in vivo* hoạt tính kinaza Src mà không gây ra độc tính duy nhất đã biết vì sự có mặt của protein Src rõ ràng là đủ để thu thập và hoạt hoá các PTK khác (là các chất thiết yếu để duy trì chức năng tế bào huỷ xương) trong phức hợp truyền tín hiệu thiết yếu của tế bào huỷ xương.

Một khía cạnh khác của sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh loãng xương cho đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA ví dụ, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi bắt đầu bị bệnh loãng xương. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối này được cấp sau khi bắt đầu bị bệnh loãng xương.

Bệnh béo phì

Như mô tả trong bản mô tả này, có thể sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó để bảo vệ chống lại hoặc phòng bệnh béo phì ở đối tượng. Theo một khía cạnh, có thể sử dụng dạng đa hình theo sáng chế để bảo vệ chống lại hoặc phòng bệnh béo phì ở đối tượng. Để bảo vệ chống lại bệnh béo phì, hợp chất hoặc muối này có thể cấp trước khi có sự phát triển bệnh béo phì ở đối tượng. Ví dụ, hợp chất hoặc muối này có thể được cấp để phòng ngừa hoặc làm giảm sự tăng cân. Theo cách khác, hợp chất hoặc muối này có thể được sử dụng để điều trị bệnh béo phì ở đối tượng. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể tham gia vào quá trình điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza, ví dụ, chất ức chế kinaza, chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP, chất ức chế kinaza tyrosin, chất ức chế phosphatase protein tyrosin, hoặc chất ức chế phosphatase protein-tyrosin 1B.

Bệnh béo phì thường có liên hệ với bệnh tiểu đường và sự tăng tính kháng insulin trong các mô đáp ứng với insulin, chẳng hạn như mô cơ xương, gan, và mỡ trắng (Klaman, và các đồng tác giả; 2000, *Mol. Cell. Biol.*, 20, 5479-5489). Insulin đóng một vai trò quan trọng trong quá trình điều hòa tính nội cân bằng của glucoza, quá trình trao đổi chất lipid, và sự cân bằng năng lượng. Tín hiệu insulin được khơi mào bằng sự gắn kết insulin với thụ thể insulin (IR - insulin receptor), là một thụ thể kinaza tyrosin. Sự liên kết với insulin gây ra một dãy quá trình phosphoryl hóa, bắt đầu là quá trình tự phosphoryl hóa của IR trên nhiều gốc tyrosyl. Quá trình tự phosphoryl hóa làm tăng hoạt tính kinaza của IR và gây ra quá trình tạo tín hiệu sau đó. Tác dụng kích thích kinaza protein tyrosin và tác dụng ức chế phosphatase protein tyrosin là những hoạt động chính của insulin. Sự truyền tín hiệu insulin thích hợp làm giảm thiểu sự dao động nhiều của nồng độ glucoza trong máu và đảm bảo sự chuyển vận thích hợp glucoza đến tế bào. Vì sự kích thích insulin dẫn đến nhiều quá trình phosphoryl hóa tyrosyl, sự tăng hoạt tính của một hoặc nhiều phosphatase protein tyrosin (PTP - protein-tyrosine phosphatase) có thể tạo ra tính kháng insulin, là quá trình có thể dẫn đến bệnh béo phì. Thật vậy, sự tăng hoạt tính PTP đã được báo cáo trong một số tình trạng kháng insulin, bao gồm bệnh béo phì (Ahmad, và các đồng tác giả; 1997, *Metabolism*, 46, 1140-1145). Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết

nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó điều biến hoạt tính kinaza (ví dụ, PTP), nhờ đó điều trị bệnh béo phì ở đối tượng.

Quá trình tạo tín hiệu insulin bắt đầu với sự hoạt hoá IR thông qua quá trình phosphoryl hóa tyrosin và cuối cùng là sự hấp thu glucoza vào tế bào bởi protein vận chuyển glucoza (transporter), GLUT4 (Saltiel và Kahn; 2001, *Nature*, 414, 799-806). Sau đó IR đã được hoạt hoá này phải được khử hoạt tính và trở về trạng thái cơ bản, một quá trình được cho là liên quan đến phosphatase protein-tyrosin 1B (PTP-1B : protein-tyrosine phosphatase-1B) (Ahmad, *et al*; 1997, *J. Biol. Chem.*, 270, 20503-20508). Sự phá vỡ của gen mã hoá cho PTP-1B ở chuột nhất gây ra tính nhạy với insulin và tăng tính đề kháng với bệnh béo phì gây ra do chế độ ăn uống (Elchebly, và các đồng tác giả; 1999, *Science*, 283, 1544-1548; Klamann, và các đồng tác giả; 2000, *Mol. Cell. Biol.*, 20, 5479-5489). Sự giảm tình trạng béo phì ở chuột nhất thiếu hụt PTP-1B là do sự giảm rõ rệt khối tế bào chất béo mà không làm giảm số tế bào tạo mỡ (Klamann, và các đồng tác giả; 2000, *Mol. Cell. Biol.*, 20, 5479-5489). Hơn nữa, tình trạng gầy ở chuột nhất thiếu hụt PTP-1B có kèm theo sự tăng lên mức trao đổi chất cơ sở và tổng tiêu hao năng lượng, mà không làm biến đổi rõ rệt sự biểu hiện của ARN thông tin thành protein không cặp đôi. Sự phá vỡ gen PTP-1B chứng tỏ rằng sự biến đổi hoạt tính PTP-1B có thể điều biến sự truyền tín hiệu insulin và mức béo phì gây ra do chế độ ăn *in vivo*. Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế có tác dụng điều biến sự truyền tín hiệu insulin (ví dụ, hoạt tính PTP-1B), là hữu ích để điều trị bệnh béo phì ở đối tượng.

Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh béo phì ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA ví dụ, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi đối tượng bị bệnh béo phì. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối này được cấp sau khi đối tượng bị bệnh béo phì.

Bệnh tiểu đường

Như mô tả trong bản mô tả này, có thể sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó bảo vệ chống lại hoặc phòng bệnh tiểu đường ở đối tượng. Theo một khía cạnh, có thể sử dụng dạng đa hình theo sáng chế để bảo vệ chống lại hoặc phòng bệnh tiểu đường. Để bảo vệ chống lại bệnh tiểu đường, hợp chất hoặc muối này có thể được cấp trước khi có sự phát triển bệnh tiểu đường ở đối tượng. Theo cách khác, hợp chất hoặc muối này có thể được dùng để điều trị bệnh tiểu đường ở đối tượng. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể tham gia vào quá trình điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza, ví dụ chất ức chế kinaza, chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP, chất ức chế kinaza tyrosin, chất ức chế phosphatase và chất tương tự gây căng thẳng ở nhiễm sắc thể 10 (PTEN : phosphatase and tension homologue on chromosome 10), hoặc chất ức chế 2-chứa inositol 5'-phosphatase 2 tương đồng trình tự (SHIP2 : sequence homology 2-containing inositol 5'-phosphatase 2).

Bệnh tiểu đường typ 2 (T2DM : type 2 diabetes mellitus) là rối loạn quá trình trao đổi năng lượng không được điều hoà. Quá trình trao đổi năng lượng phần lớn được kiểm soát bởi hormon insulin, một chất đồng hóa tiềm năng thúc đẩy quá trình tổng hợp và tích lũy protein, hydratcacbon và lipit, và ức chế sự phân hóa chúng và sự giải phóng trở về hệ tuần hoàn. Hoạt động của insulin được khởi đầu bằng sự gắn kết với thụ thể kinaza tyrosin của mình, là quá trình gây ra quá trình tự phosphoryl hóa và làm tăng lên hoạt tính xúc tác của kinaza (Patti, và các đồng tác giả; 1998, *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 9, 89-109). Quá trình phosphoryl hóa tyrosin làm cho protein chất nền thụ thể insulin (IRS : insulin receptor substrate) tương tác với siêu phân tử điều hoà p85 của phosphatidylinositol 3-kinaza (PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase), dẫn đến quá trình hoạt hoá enzym này và hướng đích nó đến vị trí dưới cấu trúc tế bào cụ thể, tùy thuộc vào dạng tế bào. Enzym này tạo ra sản phẩm lipit phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphat (PtdIns(3,4,5)P₃), có tác dụng điều hòa sự khu trú và hoạt tính của nhiều protein (Kido, và các đồng tác giả; 2001, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86, 972-979). PI3K đóng vai trò quan trọng trong quá trình hấp thu và lưu giữ glucoza được kích thích bằng insulin, ức chế sự phân giải và điều hoà biểu hiện gen ở gan (Saltiel, và các đồng tác giả; 2001, *Nature*, 414, 799-806). Sự biểu hiện quá mức của dạng chủ yếu gây nhiễu PI3K có thể phong bế sự hấp thu glucoza và.

sự chuyển vị protein vận chuyển glutamat bốn, GLUT4 : glutamate transporter four, vào màng sinh chất (Quon, và các đồng tác giả; 1995, *Mol. Cell. Biol.*, 15, 5403-5411). Do đó, việc cấp hợp chất theo sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính kinaza (ví dụ PI3K), và do đó làm tăng sự hấp thu glucoza, là hữu ích để điều trị bệnh tiểu đường.

PTEN là gen điều hoà chính việc truyền tín hiệu PI3K ở nhiều dạng tế bào, và hoạt động như là gen ức chế khối u do cơ chế đối kháng hoạt tính chống sự chết theo chương trình của tế bào, tăng sinh và phôi đại của con đường PI3K (Goberdhan, và các đồng tác giả; 2003, *Hum. Mol. Genet.*, 12, R239-R248; Leslie, và các đồng tác giả; 2004, *J. Biochem.*, 382, 1-11). Mặc dù không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng PTEN làm suy yếu quá trình PI3K bằng cách khử phosphoryl hóa phân tử PtdIns(3,4,5)P₃, làm thoái biến phân tử truyền tín hiệu lipid thứ hai quan trọng này thành PtdIns(4,5)P₂. Trong nghiên cứu gần đây, sự giảm protein PTEN nội sinh lên đến 50% bằng cách sử dụng ARN can thiệp nhỏ (siRNA : small interfering RNA) làm tăng sự gia tăng sự phụ thuộc insulin ở mức PtdIns(3,4,5)P₃, và sự hấp thu glucoza (Tang, và các đồng tác giả; 2005, *J. Biol. Chem.*, 280, 22523-22529). Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính PTEN, và do đó làm tăng sự hấp thu glucoza, là hữu ích để điều trị bệnh tiểu đường.

Mức PtdIns(3,4,5)P₃ còn được khống chế bởi họ protein inositol 5'-phosphatase chứa chất tương đồng SRC 2 (SH2 : SRC homology 2) (SHIP SRC homology 2 (SH2)- containing inositol 5'-phosphatase), SHIP1 và SHIP2 (Lazar và Saltiel; 2006, *Nature Reviews*, 5, 333-342). SHIP2, được biểu hiện trong cơ xương, ngoài ra còn có các mô nhạy insulin khác, xúc tác sự chuyển hóa PtdIns(3,4,5)P₃ thành PtdIns(3,4)P₂ (Pesesse, và các đồng tác giả; 1997, *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 239, 697-700; Backers, và các đồng tác giả; 2003, *Adv. Enzyme Regul.*, 43, 15-28; Chi, và các đồng tác giả; 2004, *J. Biol. Chem.*, 279, 44987-44995; Sleeman, và các đồng tác giả; 2005, *Nature Med.*, 11, 199-205). Sự biểu hiện quá mức của SHIP2 làm giảm rõ rệt mức PtdIns(3,4,5)P₃ được kích thích bởi insulin, điều này phù hợp với đề xuất là SHIP2 có khả năng làm giảm sự hoạt hoá của chất hiệu ứng nằm sau PI3K (Ishihara, và các đồng tác giả; 1999, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 260, 265-272). Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo

sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính SHIP2, và do đó gây ra làm tăng lên sự hấp thu glucoza, là hữu ích để điều trị bệnh tiểu đường.

Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh tiểu đường ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của chúng, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA *ví dụ*, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi mắc bệnh tiểu đường. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối này được cấp sau khi bị bệnh.

Các bệnh về mắt

Như mô tả trong bản mô tả này, có thể sử dụng hợp chất theo sáng chế để bảo vệ chống lại hoặc phòng ngừa bệnh ở mắt (mắt) ở đối tượng. Theo một khía cạnh, có thể sử dụng dạng đa hình theo sáng chế để bảo vệ chống lại hoặc phòng ngừa bệnh ở mắt (mắt). Để bảo vệ chống lại bệnh về mắt, hợp chất hoặc muối này có thể được cấp trước khi có sự phát triển của bệnh mắt ở đối tượng. Theo cách khác, có thể sử dụng hợp chất hoặc muối này để điều trị bệnh về mắt ở đối tượng, ví dụ bệnh thoái hoá vệt, bệnh võng mạc, và bệnh phù nề ban. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể tham gia vào quá trình điều biến dây kinaza, ví dụ chất ức chế kinaza, chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP, chất ức chế kinaza tyrosin, ví dụ chất ức chế thụ thể kinaza tyrosin của yếu tố sinh trưởng nội mô mạch (VEGF vascular endothelial growth factor).

Sự tăng sinh bất thường mạch máu mới làm đe dọa thị lực của giác mạc mạch sinh lý có thể xảy ra. Hệnh màng lưới tăng sinh, chủ yếu là bệnh võng mạc do tiểu đường và bệnh thoái hoá vệt có liên quan đến tuổi tác, được đặc trưng ở sự tăng độ thâm thấu mạch, dẫn đến bệnh phù nề võng mạc và tích tụ dịch dưới võng mạc, và sự tăng sinh của các thành mạch mới có xu thế gây bệnh xuất huyết. Sự tạo mạch, tức là sự tạo thành mạch máu mới từ các mao quản đã có, là một phần thiết yếu của cả sự

phát triển bình thường và nhiều quá trình bệnh. VEGF, chất trung gian của dây phức hợp tạo thành mạch và là yếu tố gây thẩm tiềm năng, là đích hấp dẫn cho các trị liệu mới. VEGF là phối tử cho hai thụ thể kinaza tyrosin liên kết với màng, VEGFR-1 và VEGFR-2. Sự gắn kết với phối tử gây ra quá trình đime hóa VEGFR và sự chuyển hóa phosphoryl sau đó là quá trình hoạt hoá miền kinaza tyrosin trong tế bào. Trục việc truyền tín hiệu trong tế bào tiếp theo gây ra sự tăng sinh, sự di cư, và sự sống sót tế bào nội mô mạch. Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có tác dụng điều biến hoạt tính kinaza, ví dụ hoạt tính kinaza tyrosin, và có tác dụng ức chế sự tạo mạch và/hoặc tăng sinh mạch máu mới, là hữu ích để điều trị bệnh về mắt, ví dụ bệnh thoái hoá vết, bệnh võng mạc và/hoặc bệnh phù nề ban.

Bệnh thoái hoá vết được đặc trưng ở chỗ sự rò võng mạc qua trung gian VEGF (sự gia tăng độ thẩm thấu mạch) và đặc trưng ở sự phát triển bất thường của mạch máu nhỏ ở phía sau mắt (sự tạo mạch). Đã nhận diện được VEGF ở màng mạch tân sinh ở cả bệnh võng mạc do tiểu đường và thoái hoá vết có liên quan đến tuổi tác, và mức chất này trong mắt có liên hệ với mức độ nghiêm trọng của tăng sinh bất thường mạch máu mới ở bệnh võng mạc do tiểu đường (Kvanta, và các đồng tác giả; 1996, *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 37, 1929-1934.; Aiello và các đồng tác giả, 1994, *N. Engl. J. Med.*, 331, 1480-1487). Cơ chế đối kháng VEGF có tác dụng trị liệu trong các mô hình này tạo ra ức chế có ý nghĩa trong cả tăng sinh bất thường mạch máu mới thuộc võng mạc và thuộc màng mạch, cũng như sự giảm độ thẩm thấu mạch máu (Aiello, và các đồng tác giả; 1995, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92, 10457-10461; Krzystolik, và các đồng tác giả; 2002, *Arch. Ophthalm.*, 120, 338-346; Qaum, và các đồng tác giả; 2001, *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 42, 2408-2413). Do đó, không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính VEGF, và gây ra tác dụng ức chế sự tạo mạch và/hoặc tăng sinh bất thường mạch máu mới, là hữu ích để điều trị bệnh về mắt, ví dụ bệnh thoái hoá vết, bệnh võng mạc và/hoặc bệnh phù nề ban.

Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị các bệnh về mắt ví dụ, bệnh thoái hoá vết, bệnh võng mạc, bệnh phù nề ban, v.v. ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu

KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA ví dụ, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi mắc bệnh về mắt. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối này được cấp sau khi mắc bệnh về mắt.

Chứng đột quy

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, hoặc cải thiện chứng đột quy ở đối tượng là người có nguy cơ mắc chứng đột quy, mắc chứng đột quy hoặc đã bị mắc chứng đột quy. Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, hoặc cải thiện chứng đột quy. Các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của chúng là hữu ích trong các phương pháp điều trị bệnh nhân đã hồi phục sau chứng đột quy.

Chứng đột quy, còn được gọi là tai biến mạch máu não (CVA : cerebrovascular), là thương tổn thần kinh cấp trong đó nguồn cung cấp máu đến một phần não bị gián đoạn hoặc là do sự nghẽn động mạch hoặc vỡ thành mạch máu. Phần não trong đó nguồn cấp máu bị ngừng lại không còn nhận được oxy và/hoặc chất dinh dưỡng do máu mang lại. Các tế bào não bị phá hủy hoặc bị hoại tử, do đó làm suy giảm chức năng ở phần hoặc các phần liên quan đến não này. Các mô não ngừng hoạt động nếu mất oxy hơn 60 đến 90 giây và sau vài phút sẽ bị thương tổn không chuyển được có thể dẫn đến sự chết mô, tức là chứng nhồi máu.

Chứng đột quy được phân thành hai dạng chủ yếu: thiếu máu cục bộ, tức là phong bế sự cấp mạch máu đến não, và sốt xuất huyết, tức là chảy máu vào hoặc quanh não. Phần lớn chứng đột quy là chứng đột quy thiếu máu cục bộ. Chứng đột quy thiếu máu cục bộ thường được chia thành chứng đột quy do máu đông tại chỗ, chứng đột quy do cục đông máu di chuyển từ nơi khác trong cơ thể, chứng đột quy giảm thông máu toàn hệ (chứng đột quy Watershed), hoặc chứng huyết khối tĩnh mạch.

Trong chứng đột quy do máu đông tại chỗ, quá trình tạo thành cục huyết khối phát triển dần trong động mạch bị ảnh hưởng, cục huyết khối, tức là cục đông máu, làm giảm dần lumen của động mạch, do đó ngăn cản dòng máu đi đến mô ngoại biên. Các cục đông máu này thường tạo thành quanh các mảng huyết phù đặc xơ động mạch. Có hai dạng chứng đột quy do máu đông tại chỗ, được phân loại dựa trên dạng thành mạch mà cục huyết khối được tạo thành trên đó. Chứng đột quy do máu đông tại chỗ thành mạch lớn liên quan đến động mạch cảnh cấp máu tời đầu cổ và nội tại, đốt sống, và vòng Willis. Chứng đột quy do máu đông tại chỗ thành mạch nhỏ liên quan đến động mạch trong não, nhánh của vòng Willis, động mạch não tủy giữa, và các động mạch xuất hiện từ động mạch đốt sống ngoại biên và động mạch nền.

Cục huyết khối, ngay cả khi không làm nghẽn mạch, có thể dẫn đến chứng đột quy do cục đông máu di chuyển từ nơi khác trong cơ thể nếu như cục huyết khối bị phá vỡ ra, ở đó nó trở thành vật tắc mạch. Vật tắc mạch dùng để chỉ hạt nhỏ hoặc mảnh vỡ di chuyển trong dòng động mạch có nguồn gốc từ một nơi nào đó. Chứng đột quy do cục đông máu di chuyển từ nơi khác trong cơ thể dùng để chỉ quá trình phong bế do vật tắc mạch gây ra ngăn động mạch đưa máu đến một phần não. Vật tắc mạch thường là cục đông máu, nhưng cũng có thể là mảng xơ huyết phù đặc thoát ra khỏi thành mạch huyết phù đặc xơ động mạch hoặc một số các chất khác bao gồm chất béo, không khí, và thậm chí là tế bào ung thư. Vì vật tắc mạch xuất hiện ở đâu đó, phép trị liệu cục bộ chỉ giải quyết vấn đề này một cách tạm thời. Do đó, phải cần nhận diện nguồn vật tắc mạch. Có bốn loại chứng đột quy do cục đông máu di chuyển từ nơi khác trong cơ thể: loại do nguồn từ tim đã biết; loại với nguồn từ tim hoặc động mạch chủ tiềm năng (siêu âm tim đồ trong ngực hoặc thực quản); loại với nguồn từ động mạch; và các loại với nguồn chưa biết.

Chứng đột quy giảm thông máu toàn hệ là sự giảm dòng máu đến tất cả các phần của cơ thể. Thông thường nhất là do sự suy bơm tim do sự ngừng tim hoặc chứng loạn nhịp tim, hoặc do sự giảm hiệu suất tim gây ra do nhồi máu cơ tim, chứng nghẽn mạch phổi, tràn dịch màng ngoài tim, hoặc chảy máu. Sự giảm oxy huyết (tức là hàm lượng oxy trong máu thấp) có thể đẩy nhanh sự giảm thông máu. Vì sự giảm dòng máu là trên toàn cơ thể, nên tất cả các vùng não đều có thể bị ảnh hưởng, đặc biệt là vùng “phân vùng” là vùng ở vùng rập gianh được cấp bởi các động mạch não chính não.

Dòng máu đến những khu vực này không cần thiết bị dừng lại, mà có thể chỉ bị giảm đi ở điểm có sự phá vỡ não damage occurs.

Tĩnh mạch ở trong não có chức năng đưa máu trở lại cơ thể. Khi tĩnh mạch bị nghẽn do chứng huyết khối, việc đưa máu trở lại bị phong bế và máu bị dồn ngược trở lại, gây ra sự phù não. Sự phù não này có thể xuất hiện cả trong thiếu máu cục bộ và chứng đột quỵ xuất huyết. Quá trình này thường xuất hiện ở căn bệnh hiểm như huyết khối tĩnh mạch từ xoang.

Tiến hành chẩn đoán chứng đột quỵ ở đối tượng hoặc bệnh nhân bằng cách sử dụng một hoặc một số kỹ thuật trong số nhiều kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, chẳng hạn như kiểm tra thần kinh, xét nghiệm máu, quét CT (mà không có điều chỉnh độ tương phản sáng tối), quét MRI, siêu âm Doppler, và thủ thuật khâu động mạch (tức là chụp bằng tia X sau khi tiêm chất liệu chặn bức xạ vào dòng máu). Nếu khẳng định được chứng đột quỵ thông qua xét nghiệm hiện hình ảnh, thực hiện các nghiên cứu khác nhau để xác định xem có nguồn vật nghẽn mạch ở ngoại biên. Các nghiên cứu này bao gồm, ví dụ, nghiên cứu bằng siêu âm/doppler động mạch cảnh (để phát hiện chứng hẹp động mạch cảnh); điện tâm đồ (ECG : electrocardiogram) và siêu âm tim đồ (để nhận diện sự loạn nhịp tim và cục đông máu tạo ra trong tim mà có thể lan đến các thành mạch não thông qua dòng máu); nghiên cứu theo dõi Holter để nhận diện chứng loạn nhịp tim gián đoạn và sự chụp mạch bằng tia X của hệ mạch máu não (cho rằng sự chảy máu xuất hiện từ bất thường như chứng phình mạch hoặc động-tĩnh mạch).

Các hợp chất hoặc các muối hữu ích trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện chứng đột quỵ hoặc triệu chứng liên quan đến chứng đột quỵ là các hợp chất hoặc các muối có tác dụng điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza xảy ra trước, trong hoặc sau chứng đột quỵ. Theo một số phương án, hợp chất hoặc muối này là chất ức chế kinaza. Ví dụ, hợp chất hoặc muối này là chất ức chế kinaza tyrosin. Theo một phương án, chất ức chế kinaza tyrosin này là chất ức chế Src. Ví dụ, hợp chất hoặc muối được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện chứng đột quỵ hoặc triệu chứng liên quan đến chứng đột quỵ được mô tả trong bản mô tả này là chất ức chế biến cấu của dẫn truyền tín hiệu kinaza xảy ra trước,

trong hoặc sau khi mắc chứng đột quy. Tốt hơn nếu, hợp chất hoặc muối được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện chứng đột quy hoặc triệu chứng liên quan đến chứng đột quy được mô tả trong bản mô tả này là chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP của dây truyền tín hiệu kinaza xảy ra trước, trong hoặc sau chứng đột quy.

Sự ức chế hoạt tính Src đã được chứng tỏ là mang lại tác động bảo vệ não trong chứng đột quy. (See Paul và các đồng tác giả, *Nature Medicine*, vol. 7(2):222-227 (2001), tài liệu này được kết hợp theo cách viện dẫn toàn bộ). Yếu tố tăng trưởng nội mô mạch (VEGF), mà được tạo ra để đáp ứng lại thương tổn thiếu máu cục bộ, đã được chỉ ra là thúc đẩy sự thâm thấu mạch. Các nghiên cứu đã cho thấy là kinaza Src điều hòa VP qua trung gian VEGF ở trong não sau chứng đột quy, và việc cấp chất ức chế Src trước khi và sau chứng đột quy làm giảm tình trạng phù, cải thiện sự tưới máu não và làm giảm thể tích nhồi máu sau thương tổn xuất hiện. (Paul và các đồng tác giả, 2001). Do đó, sự ức chế Src có thể là hữu ích trong việc phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện thương tổn phụ xảy ra sau chứng đột quy.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện chứng đột quy hoặc triệu chứng liên quan đến chứng đột quy. Các triệu chứng của chứng đột quy bao gồm tình trạng tê liệt hoặc ốm yếu đột ngột, đặc biệt là ở một phía cơ thể; sự lữ lẫn đột ngột hoặc gặp khó khăn trong việc nói hoặc hiểu giao tiếp; gặp khó khăn đột ngột trong việc nhìn rõ ở một hoặc cả hai mắt; khó đi lại, chóng mặt, hoặc mất thăng bằng hoặc sự phối hợp một cách đột ngột; hoặc rúc đầu nặng một cách đột ngột mà không biết nguyên nhân.

Thông thường có ba giai đoạn điều trị chứng đột quy: phòng ngừa, phép trị liệu ngay lập tức sau khi bị chứng đột quy, và hồi phục sau chứng đột quy. Các phương pháp trị liệu để phòng ngừa chứng đột quy lần đầu hoặc tái diễn là dựa trên việc điều trị các yếu tố có nguy cơ gây ra chứng đột quy, chẳng hạn như, ví dụ, bệnh cao huyết áp, cholesterol cao, rung tâm nhĩ, và bệnh tiểu đường. Các biện pháp trị liệu chứng đột quy cấp cố gắng làm dừng chứng đột quy đó đang xảy ra bằng cách làm tan nhanh cục đông máu gây ra chứng đột quy thiếu máu cục bộ hoặc làm ngừng chảy máu trong chứng đột quy xuất huyết. Hồi phục sau chứng đột quy giúp người bệnh

khắc phục những tàn phế do biến chứng của chứng đột quy. Liệu pháp y học hoặc dùng thuốc là điều trị phổ biến nhất cho chứng đột quy. Nhóm thuốc phổ biến nhất được dùng để phòng ngừa hoặc điều trị chứng đột quy là các chất chống huyết khối (ví dụ, các tác nhân kháng tiểu cầu và chất chống đông máu) và chất gây tan cục huyết khối. Các hợp chất hoặc các muối này được cấp cho bệnh nhân là người có nguy cơ mắc chứng đột quy, đang mắc chứng đột quy hoặc đã mắc chứng đột quy ở thời điểm trước, trong, sau khi, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, xuất hiện của chứng đột quy. Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được cấp đơn lẻ, trong dược phẩm, hoặc kết hợp với phương pháp bất kỳ trong nhiều phương pháp điều trị đã biết, chẳng hạn như thuốc kháng tiểu cầu (ví dụ, aspirin, clopidogrel, dipyridamole), chất chống đông tụ (ví dụ, warfarin), hoặc thuốc gây tan cục huyết khối (ví dụ, chất hoạt hóa plasminogen (t-PA : chất hoạt hóa plasminogen mô), reteplaza, Urokinaza, streptokinaza, tenecteplaza, lanoteplaza, hoặc anistreplaza).

Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị chứng đột quy ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của chúng, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA ví dụ, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi chứng đột quy xuất hiện. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối này được cấp sau khi xuất hiện chứng đột quy.

Huyền phù đặc xơ động mạch

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, hoặc cải thiện bệnh huyền phù đặc xơ động mạch hoặc triệu chứng của nó ở đối tượng có nguy cơ mắc hoặc mắc bệnh huyền phù đặc xơ động mạch. Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện huyền phù đặc xơ động mạch hoặc triệu chứng của nó.

Huyền phù đặc xơ động mạch là căn bệnh tác động đến thành động mạch và thường được gọi là “làm cứng” động mạch. Bệnh này do sự tạo thành nhiều mảng huyền phù đặc gây ra. Các mảng huyền phù đặc xơ động mạch, cho dù được bù lại bằng sự phòng động mạch, cuối cùng dẫn đến sự gãy của mảng huyền phù đặc và gây chứng hẹp (tức là làm hẹp) động mạch, mà điều này dẫn đến là không đủ nguồn cấp máu đến cơ quan liên quan. Theo cách khác, nếu như quá trình phòng động mạch bù lại là quá nhiều, thực ra tạo ra chứng phình mạch. Các biến chứng này là mạn tính, tiến triển từ từ và tích lũy. Phổ biến nhất, là các mảng huyền phù đặc mềm bị gãy vỡ bất thành hình, làm tạo ra cục đông máu (tức là cục huyết khối) nhanh chóng làm chậm lại hoặc ngừng dòng máu, mà điều này làm chết các mô được cấp máu từ động mạch này. Hiện tượng thảm họa này được gọi là chứng nhồi máu. Ví dụ, chứng huyết khối mạch vành của động mạch vành gây nhồi máu cơ tim, thường được biết đến như là cơn đau tim. Hiện tượng nhồi máu cơ tim xảy ra khi mảng huyền phù đặc xơ động mạch từ từ bồi lớp bên trong động mạch vành và sau đó bị phá vỡ thành hình, kết quả là làm bít kín động mạch và ngăn dòng máu đến phía sau.

Chẩn đoán bệnh huyền phù đặc xơ động mạch và nhồi máu cơ tim cấp ở bệnh nhân bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ trong nhiều xét nghiệm lâm sàng và/hoặc thí nghiệm chẳng hạn như, kiểm tra cơ thể, xét nghiệm X quang hoặc siêu âm và phân tích máu. Ví dụ, thầy thuốc hoặc bác sĩ lâm sàng có thể lắng nghe động mạch của đối tượng để phát hiện tiếng nhịp bất thường, được gọi là nhịp tim. Có thể nghe được nhịp tim bằng ống nghe khi được đặt lên động mạch bị ảnh hưởng. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, thầy thuốc lâm sàng hoặc bác sĩ có thể kiểm tra các xung, ví dụ, ở chân hoặc bàn chân, để tìm ra các bất thường chẳng hạn như sự ốm yếu hay không. Thầy thuốc lâm sàng hoặc bác sĩ có thể thực hiện các phép đo máu để kiểm tra lượng cholesterol hoặc kiểm tra lượng các enzym ở tim, chẳng hạn như kinaza creatin, troponin và lactat dehydrogenaza, để phát hiện các bất thường. Ví dụ, cấu trúc siêu phân tử troponin I hoặc T, mà rất đặc trưng cho cơ tim, tăng lên trước khi phát triển thương tổn thường xuyên. Troponin dương tính ở vết bó xương vết đau ở ngực có thể dự đoán một cách chính xác có nhiều khả năng bị nhồi máu cơ tim ở tương lai gần. Các xét nghiệm khác dùng để chẩn đoán bệnh huyền phù đặc xơ động mạch và/hoặc nhồi máu cơ tim bao gồm, ví dụ, EKG (điện tâm đồ) để đo mức và mức độ đều đặn nhịp tim của đối tượng; chụp X quang ngực, đo chỉ số mắt cá chân/cánh tay, tức là so sánh huyết áp ở

phần mắt cá chân với huyết áp ở tay; phân tích siêu âm động mạch; quét CT vùng quan tâm; phép chụp tia X mạch; xét nghiệm gắng sức, phương pháp quét tim hạt nhân; và hiện hình ảnh cộng hưởng từ (MRI : magnetic resonance imaging) và quét tim bằng kỹ thuật chụp ảnh cắt lớp nhờ phát xạ positron (PET : positron emission tomography).

Các hợp chất hoặc muối hữu ích trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện huyền phù đặc xơ động mạch này hoặc triệu chứng của chúng là các hợp chất hoặc muối có tác dụng điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza ở bệnh nhân có nguy cơ mắc hoặc mắc bệnh huyền phù đặc xơ động mạch. Theo một số phương án, hợp chất hoặc muối này là chất ức chế kinaza. Ví dụ, hợp chất hoặc muối này là chất ức chế kinaza tyrosin. Theo một phương án, chất ức chế kinaza tyrosin là chất ức chế Src. Tốt hơn nữa, hợp chất hoặc muối này được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh huyền phù đặc xơ động mạch hoặc triệu chứng của chúng được mô tả trong bản mô tả này là chất ức chế biến cấu của dẫn truyền tín hiệu kinaza có liên quan đến huyền phù đặc xơ động mạch. Tốt hơn nữa, hợp chất hoặc muối được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh huyền phù đặc xơ động mạch hoặc triệu chứng liên quan đến bệnh huyền phù đặc xơ động mạch được mô tả trong bản mô tả này là chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP của dẫn truyền tín hiệu kinaza có liên quan đến huyền phù đặc xơ động mạch.

Quá trình truyền tín hiệu tế bào do Src gây ra được cho là đóng một vai trò quan trọng trong sự tăng tính thấm thành mạch, được biết đến như là tính thấm thành mạch (VP : vascular permeability). Yếu tố tăng trưởng nội mô mạch (VEGF), mà được tạo ra để đáp ứng lại thương tổn thiếu máu cục bộ, bao gồm, ví dụ, bệnh nhồi máu cơ tim, đã được chỉ ra làm thúc đẩy tính thấm thành mạch. Các nghiên cứu đã cho thấy là sự ức chế kinaza Src làm giảm VP qua trung gian VEGF. (Tham khảo Parang và Sun, Expert Opin. Ther. Patents, vol. 15(9): 1183-1206 (2005), tài liệu này được kết hợp vào bản mô tả theo cách viện dẫn toàn bộ). Chuột nhắt được xử lý bằng chất ức chế Src cho thấy sự giảm phá hủy mô liên quan đến chấn thương hoặc thương tổn đến thành mạch sau khi bị nhồi máu cơ tim, so với chuột nhắt được xử lý. (Tham khảo ví dụ, patent Mỹ với các số công bố 20040214836 và 20030130209 của Cheresch và các đồng tác giả, nội dung của các tài liệu này được kết hợp vào bản mô tả theo cách viện dẫn toàn bộ). Do đó, sự ức chế Src có thể là hữu ích trong việc phòng ngừa, điều trị

hoặc cải thiện phá hủy thứ cấp sau khi thương tổn do huyền phù đặc xơ động mạch, chẳng hạn như nhồi máu cơ tim.

Sự huyền phù đặc xơ động mạch thường thường không gây ra các triệu chứng cho đến khi nó thu hẹp động mạch nghiêm trọng và làm giảm dòng máu, hoặc cho đến khi nó gây ra sự tắc nghẽn bất thường. Các triệu chứng tùy thuộc vào nơi mà các mảng huyền phù đặc và thu hẹp phát triển, ví dụ, ở tim, não, các cơ quan quan trọng khác và ở chân hoặc gần như ở bất kỳ nơi nào của cơ thể. Các triệu chứng ban đầu của chứng vữa xơ động mạch có thể là đau hoặc chuột rút khi cơ thể cần nhiều oxy hơn, ví dụ trong quá trình luyện tập, khi người có thể có cảm giác đau ở ngực (bệnh viêm họng) vì thiếu oxy đến tim hoặc chứng chuột rút ở chân vì lack oxy đến chân. Sự hẹp động mạch cấp máu đến não có thể gây chóng mặt hoặc cơn thiếu máu cục bộ (TIA: transient ischemic attack) trong đó các triệu chứng và dấu hiệu của chứng đột quỵ kéo dài ít hơn 24 giờ. Thông thường, các triệu chứng này phát triển từ từ.

Các triệu chứng của chứng nhồi máu cơ tim được đặc trưng ở mức độ đau ngực, sự lo lắng, toát mồ hôi, ốm yếu, buồn nôn, chứng ớn lạnh, và chứng loạn nhịp tim, đôi khi gây bất tỉnh, với các mức độ khác nhau. Đau ngực là triệu chứng phổ biến nhất của bệnh nhồi máu cơ tim cấp và thường được mô tả là tình trạng căng thẳng, huyết áp, hoặc sự kiệt sức. Tình trạng đau có thể tỏa ra đến hàm, cổ, tay, lưng, và thượng vị, phổ biến nhất là ở tay trái hoặc cổ. Sự đau ngực kéo dài hơn 30 phút có thể là do nhồi máu cơ tim gây ra. Bệnh nhân mắc bệnh nhồi máu cơ tim có thể có biểu hiện là hơi thở ngắn (sự khó thở) đặc biệt là nếu như sự giảm co cơ tim do nhồi máu là đủ để làm suy não thất trái với chứng sung huyết phổi hoặc thậm chí là bệnh phù phổi.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của chúng được cấp đơn lẻ, trong dược phẩm, hoặc kết hợp với phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp đã biết điều trị bệnh huyền phù đặc xơ động mạch, chẳng hạn như thuốc giảm cholesterol (ví dụ, statin), thuốc kháng tiểu cầu, hoặc chất chống đông máu.

Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị chứng vữa xơ động mạch ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA

gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391 MSA ví dụ, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi có các triệu chứng vữa xơ động mạch. Theo một phương án khác, hợp chất này được cấp sau khi bắt đầu có các triệu chứng của bệnh huyền phù đặc xơ động mạch.

Đau thần kinh

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, cải thiện đau dây thần kinh, chẳng hạn như đau dây thần kinh mạn tính, hoặc triệu chứng của các bệnh này ở đối tượng là người có nguy cơ mắc bệnh, đang mắc bệnh, hoặc đã bị đau dây thần kinh. Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được dùng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, cải thiện đau dây thần kinh, chẳng hạn như đau dây thần kinh mạn tính, hoặc triệu chứng của bệnh này.

Đau thần kinh, còn được gọi là chứng đau dây thần kinh, về bản chất là khác với đau do cảm thụ thần kinh thông thường. Đau dây thần kinh thường được thể hiện là cảm giác rất liên tục và/hoặc “bồn chồn” và/hoặc “sốc điện”. Sự khác biệt giữa đau do cảm thụ thần kinh và đau dây thần kinh là ở chỗ đau do cảm thụ thần kinh “thông thường” chỉ kích thích các dây thần kinh cảm giác đau, trong khi đó bệnh thần kinh thường gây ra kích thích của cả dây thần kinh cảm giác đau và không đau (ví dụ, các dây thần kinh đáp ứng với sự sờ, ấm, lạnh) trong cùng một vùng, do đó tạo ra các tín hiệu dây thần kinh tuy sống và não không thường nhận được.

Đau thần kinh là tình trạng đau mạn tính phức tạp thường đi kèm với thương tổn mô. Với đau dây thần kinh, chính các sợi dây thần kinh có thể bị phá hủy, rối loạn chức năng hoặc bị thương tổn. Các sợi dây thần kinh bị phá huỷ này gửi các tín hiệu không chính xác đến các tâm đau khác. Tác động của thương tổn sợi dây thần kinh bao gồm thay đổi chức năng dây thần kinh ở cả vị trí thương tổn và vùng gần thương tổn.

Đau thần kinh được chẩn đoán ở đối tượng hoặc bệnh nhân bằng cách sử dụng một hoặc nhiều nhiều các kỹ thuật xét nghiệm và/hoặc lâm sàng đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, chẳng hạn như kiểm tra cơ thể.

Các hợp chất hoặc các muối hữu ích trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện đau dây thần kinh này, chẳng hạn như đau dây thần kinh mạn tính, hoặc triệu chứng liên quan đến đau dây thần kinh là các hợp chất điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza có liên quan đến đau dây thần kinh.

Đã chứng tỏ được rằng c-Src điều hòa hoạt tính thụ thể N-methyl-D-aspartat (NMDA). (Tham khảo Yu và các đồng tác giả, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 96:7697-7704 (1999), tài liệu này được kết hợp vào bản mô tả theo cách viện dẫn toàn bộ). Các nghiên cứu đã cho thấy là PP2, chất ức chế kinaza Src phân tử lượng thấp, làm giảm quá trình phosphoryl hóa cấu trúc siêu phân tử NM2 của thụ thể NMDA. (Tham khảo Guo và các đồng tác giả, J. Neuro., vol. 22:6208-6217 (2002), tài liệu này được kết hợp vào bản mô tả theo cách viện dẫn toàn bộ). Do đó, sự ức chế Src, đến lượt mình, ức chế hoạt tính của các thụ thể NMDA, có thể là hữu ích để phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện đau dây thần kinh, chẳng hạn như đau dây thần kinh mạn tính.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện đau dây thần kinh, chẳng hạn như đau dây thần kinh mạn tính, hoặc triệu chứng liên quan đến đau dây thần kinh. Các triệu chứng của việc đau dây thần kinh bao gồm cơn đau nhói và đau như đốt, chứng đau nhói dây thần kinh và tình trạng tê liệt.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được cấp đơn lẻ, trong dược phẩm, hoặc kết hợp với phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp điều trị đã biết, chẳng hạn như thuốc giảm đau, opioid, các chất chống trầm cảm mạch vòng ba, chất chống co giật và các chất ức chế tái hấp thu serotonin norepinephrin.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối được cấp trước khi bắt đầu chứng đau dây thần kinh mạn tính. Theo một phương án khác, hợp chất này được cấp sau khi bắt đầu đau dây thần kinh mạn tính.

Một khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp điều trị, phòng ngừa, cải thiện đau dây thần kinh hoặc triệu chứng của chúng, ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391 MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391 MSA ví dụ, dạng A.

Bệnh viêm gan B

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, hoặc cải thiện bệnh viêm gan B hoặc triệu chứng của chúng ở đối tượng là người có nguy cơ mắc hoặc đang mắc bệnh viêm gan B. Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, hoặc cải thiện bệnh viêm gan B hoặc triệu chứng của chúng.

Virut viêm gan B, một thành viên của họ Hepadnavirus, bao gồm hạt lõi protein chứa hệ gen virut ở dạng ADN sợi kép có vùng sợi đơn và vỏ bọc ngoài trên cơ sở lipid có gắn proteins. Protein vỏ bọc tham gia vào quá trình gắn kết của virut và giải phóng vào các tế bào dễ bị lây nhiễm. Vỏ capsid bên trong tái dịch chuyển hệ gen ADN vào hạt nhân của tế bào trong đó ARN thông tin virut được phiên mã. Ba sản phẩm phiên mã dưới cấu trúc hệ gen mã hoá protein vỏ bọc được tạo ra, cùng với sản phẩm phiên mã mã hoá protein X. ARN tiền hệ gen thứ tư được phiên mã, được phóng vào phân bào tan và dịch mã polymeaza và protein lõi của virut. Polymeaza và ARN tiền hệ gen được bao trong vỏ capsid trong quá trình lắp ghép các hạt lõi, nơi mà xảy ra sự phiên mã ngược dòng ARN tiền hệ gen thành ADN hệ gen do protein polymeaza. Khi đó các hạt lõi trưởng thành tồn tại trong tế bào thông qua quá trình tiết thông thường, đòi hỏi vỏ bọc cùng theo.

Virut viêm gan B một trong số virut phi retro đã biết sử dụng quá trình phiên mã ngược như là một phần của quá trình sao chép. Các virut khác sử dụng phiên mã ngược bao gồm, ví dụ, HTLV hoặc HIV.

Trong quá trình lây nhiễm HBV, đáp ứng miễn dịch của cơ thể chủ chịu trách nhiệm cho cả sự phá hủy tế bào gan và sự thanh lọc virut. Trong khi mà đáp ứng miễn

dịch bẩm sinh không đóng vai trò đáng kể trong các quy trình này, đáp ứng miễn dịch thích ứng, đặc biệt là lympho bào T gây độc tế bào đặc hiệu virus (CTL : cytotoxic T lymphocyte), là nguyên nhân của gần như tất cả thương tổn gan liên quan đến lây nhiễm HBV. Bằng cách gây chết các tế bào bị nhiễm và tạo ra các cytokin kháng virus có khả năng thanh lọc HBV từ tế bào gan sống, CTL cũng loại trừ virus. Mặc dù sự phá huỷ gan được khơi mào và qua trung gian CTL, các tế bào viêm không đặc hiệu kháng nguyên có thể làm trầm trọng sinh bệnh miễn dịch do CTL gây ra và các tiêu cầu có thể tạo thuận lợi cho sự tích lũy CTL vào gan.

Bệnh viêm gan B được chẩn đoán ở bệnh nhân bằng cách sử dụng xét nghiệm bất kỳ trong số nhiều xét nghiệm lâm sàng và/hoặc thí nghiệm chẳng hạn như, kiểm tra cơ thể, và phân tích máu hoặc huyết thanh. Ví dụ, máu hoặc huyết thanh được đánh giá về sự có mặt các kháng nguyên virus và/hoặc kháng thể được cơ thể chủ tạo ra. Trong xét nghiệm thường dùng xác định sự có mặt của bệnh viêm gan B, phát hiện kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B (HBsAg : hepatitis B surface antigen) được sử dụng để sàng lọc cho sự có mặt của viêm nhiễm. Đây là kháng nguyên virus có thể phát hiện được đầu tiên xuất hiện trong quá trình nhiễm virus này; tuy nhiên, trong giai đoạn lây nhiễm ban đầu, kháng nguyên này có thể không có mặt và nó có thể là không phát hiện được sau đó trong quá trình lây nhiễm vì nó bị cơ thể chủ thanh thải. Trong giai đoạn 'cửa sổ' này tức là thời gian trong đó cơ thể chủ vẫn bị nhiễm nhưng đã thanh thải thành công virus này, kháng thể IgM đối với kháng nguyên lõi của virus viêm gan B (IGM kháng-HBc) có thể là bằng chứng huyết thanh duy nhất về sự có mặt của bệnh.

Nhanh chóng sau sự xuất hiện của HBsAg, một kháng nguyên nữa có tên là kháng nguyên bệnh viêm gan B e (HBeAg : hepatitis B e antigen) sẽ xuất hiện. Thông thường, sự có mặt của HBeAg trong huyết thanh của cơ thể chủ gắn liền với mức sao chép virus cao hơn nhiều; tuy nhiên, một số biến thể của virus viêm gan B hoàn toàn không tạo ra kháng nguyên "e". Trong tiến trình lây nhiễm tự nhiên, HBeAg có thể bị thanh thải, và kháng thể đối với kháng nguyên "e" (kháng HBe) sẽ xuất hiện ngay sau đó. Sự chuyển hóa này thường gắn với sự giảm sao chép virus rõ rệt. Nếu cơ thể chủ có khả năng thanh thải sự lây nhiễm, cuối cùng HBsAg sẽ trở thành không thể phát hiện được và sau đó là sự có mặt của kháng thể kháng kháng nguyên bề mặt virus viêm gan

B (kháng HB). Một người được xác định là âm tính với HBsAg nhưng dương tính với kháng HB hoặc là đã thanh thải hoàn toàn sự lây nhiễm hoặc là trước đây đã được chủng ngừa. Một số người là dương tính với HBsAg có thể có sự nhân lên virus rất ít, và do vậy có thể ít có nguy cơ bị biến chứng trong thời gian dài hoặc lan truyền sự nhiễm cho những người khác.

Các hợp chất hoặc các muối hữu ích trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh viêm gan B này hoặc triệu chứng của nó là các hợp chất hoặc các muối có tác dụng điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza ở bệnh nhân có nguy cơ mắc hoặc đang mắc bệnh viêm gan B. Theo một số phương án, hợp chất hoặc muối này là chất ức chế kinaza. Ví dụ, hợp chất hoặc muối này là chất ức chế kinaza tyrosin. Theo một phương án, chất ức chế kinaza tyrosin là chất ức chế Src. Tốt hơn nếu, hợp chất hoặc muối này được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh viêm gan B hoặc triệu chứng của nó được mô tả trong bản mô tả này là chất ức chế biến cấu của dẫn truyền tín hiệu kinaza liên quan đến bệnh viêm gan B. Tốt hơn nếu, hợp chất hoặc muối được sử dụng trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh viêm gan B hoặc triệu chứng liên quan đến bệnh viêm gan B được mô tả trong bản mô tả này là chất ức chế cạnh tranh không phải là ATP của dẫn truyền tín hiệu kinaza liên quan đến bệnh viêm gan B.

Src đóng vai trò trong quá trình sao chép virus viêm gan B. Yếu tố phiên mã được mã hóa của virus HBx hoạt hoá Src trong một bước cần thiết cho sự nhân lên của virus HBV. (Tham khảo ví dụ Klein và các đồng tác giả, EMBO J., vol. 18:5019-5027 (1999); Klein và các đồng tác giả, Mol. Cell. Biol., vol. 17:6427-6436 (1997), mỗi trong số tài liệu này được kết hợp vào bản mô tả theo cách viện dẫn toàn bộ). Do đó, sự ức chế Src đến lượt mình ức chế sự nhân virus HBV qua trung gian Src, có thể là hữu ích trong việc phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện bệnh viêm gan B hoặc triệu chứng của nó.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện bệnh viêm gan B hoặc triệu chứng liên quan đến bệnh viêm gan B. Các triệu chứng của bệnh viêm gan B thường phát triển trong vòng từ 30 đến 180 ngày sau khi tiếp cận với virus. Tuy nhiên, lên đến một nửa tất cả số người bị nhiễm virus viêm

gan B không hề có triệu chứng. Các triệu chứng của bệnh viêm gan B thường tương tự như bệnh cúm, và bao gồm, ví dụ, mất ăn ngon; mệt mỏi; buồn nôn và ói mửa, ngứa ngáy trên toàn cơ thể; đau gan (ví dụ, ở phía bên phải bụng, dưới lồng ngực dưới), chứng vàng da, và thay đổi chức năng bài tiết.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được cấp đơn lẻ, trong dược phẩm, hoặc kết hợp với phương pháp bất kỳ trong nhiều phương pháp đã biết điều trị bệnh viêm gan B, chẳng hạn như interferon alpha, lamivudine (Epivir-HBV) và baraclade (entecavir).

Một khía cạnh khác của sáng chế bao gồm phương pháp bảo vệ chống lại hoặc điều trị bệnh viêm gan B ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA *ví dụ*, dạng A.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp trước khi đối tượng mắc phải bệnh viêm gan B. Theo một phương án khác, hợp chất hoặc muối này được cấp sau khi đối tượng mắc phải bệnh viêm gan B.

Điều hòa hoạt tính hệ miễn dịch

Như mô tả trong bản mô tả này, các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể được sử dụng để điều hòa hoạt tính hệ miễn dịch ở đối tượng, nhờ đó bảo vệ chống lại hoặc phòng bệnh tự miễn, ví dụ, viêm đa khớp dạng thấp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh lây nhiễm và luput cũng như sự đào thải cơ quan cấy ghép và các bệnh dị ứng. Theo cách khác, hợp chất này có thể được sử dụng để điều trị bệnh tự miễn ở đối tượng. Theo một khía cạnh, dạng đa hình theo sáng chế có thể được sử dụng để điều hòa hoạt tính hệ miễn dịch ở đối tượng. Hợp chất hoặc muối này có thể làm giảm mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng hoặc làm dừng tiến triển gây nguy hiểm của bệnh tự miễn ở đối tượng. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể tham gia vào quá trình điều biến dẫn truyền tín hiệu kinaza, ví dụ, chất ức chế kinaza, chất ức chế

cạnh tranh không phải là ATP, chất ức chế kinaza tyrosin, ví dụ, chất ức chế Src, chất ức chế p59fyn (Fyn) hoặc chất ức chế p56lck (Lck).

Các bệnh tự miễn là các bệnh gây ra do sự phá hỏng hệ tự dung nạp làm cho hệ miễn dịch thích ứng phản ứng lại với các kháng nguyên của chính nó và làm trung gian cho sự phá huỷ của tế bào và mô. Các bệnh tự miễn có thể là bệnh đặc hiệu cơ quan (ví dụ, viêm tuyến giáp hoặc bệnh tiểu đường) hoặc toàn thân (ví dụ, luput ban đỏ toàn thân). Tế bào T điều biến đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào trong hệ miễn dịch thích ứng. Ở điều kiện bình thường, tế bào T biểu hiện thụ thể kháng nguyên (thụ thể tế bào T) nhận biết mảnh peptit của các protein lạ gắn kết với phân tử phức hợp tương thích mô chính của nó. Trong số các hiện tượng nhận biết sớm nhất sau khi kích thích thụ thể tế bào T (TCR - T cell receptor) là sự hoạt hoá của Lck và Fyn, gây ra quá trình phosphoryl hóa TCR trên gốc tyrosin trong motif hoạt hoá trên cơ sở thụ thể miễn dịch tyrosin (Zamoyska, và các đồng tác giả; 2003, *Immunol. Rev.*, 191, 107-118). Các kinaza tyrosin, chẳng hạn như Lck (là thành viên của họ Src của các kinaza protein tyrosin) đóng vai trò thiết yếu trong quá trình điều hoà tín hiệu tế bào và sự tăng sinh tế bào bằng cách phosphoryl hoá các gốc tyrosin của peptit và protein (Levitzki; 2001, *Top. Curr. Chem.*, 211, 1-15; Longati, *et al.*; 2001, *Curr. Drug Targets*, 2, 41-55; Qian, and Weiss; 1997, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9, 205-211). Do đó, cho dù không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế có tác dụng điều biến hoạt tính kinaza tyrosin (ví dụ, Src) là hữu ích để điều trị bệnh tự miễn.

Cả kinaza tyrosin lck và fyn đều được hoạt hoá trong quá trình TCR; do đó, các chất ức chế lck và/hoặc fyn có khả năng dùng làm các tác nhân tự miễn (Palacios and Weiss; 2004, *Oncogene*, 23, 7990-8000). Lck và Fyn được biểu hiện chủ yếu bởi tế bào T trong phần lớn thời gian sống của chúng. Đã chứng minh được vai trò của Lck và Fyn trong sự phát triển, nội cân bằng và hoạt hoá tế bào T trong các nghiên cứu trên động vật và dòng tế bào (Parang và Sun; 2005, *Expert Opin. Ther. Patents*, 15, 1183-1207). Sự hoạt hoá của Lck có liên quan đến các bệnh tự miễn và sự đào thải cơ quan cấy ghép (Kamens, *et al.*; 2001, *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2, 1213-1219). Các kết quả đã cho thấy là dòng tế bào lck (-) Jurkat không thể tăng sinh, sản sinh xytokin, và tạo ra sự tăng về canxi, inositol phosphat, và quá trình phosphoryl hóa tyrosin trong

tế bào để đáp ứng lại kích thích thụ thể tế bào T (Straus và Weiss; 1992, *Cell.*, 70, 585-593; Yamasaki, và các đồng tác giả; 1996, *Mol. Cell. Biol.*, 16, 7151-7160). Do đó, một tác nhân ức chế lck có thể phong bế hiệu quả chức năng tế bào T, có tác dụng như chất ức chế miễn dịch, và có thể dùng trong các bệnh tự miễn, chẳng hạn như viêm đa khớp dạng thấp, bệnh xơ cứng rải rác, và luput, cũng như ở các vùng có sự đào thải cơ quan cấy ghép và các bệnh dị ứng (Hanke and Pollok; 1995, *Inflammation Res.*, 44, 357-371). Do đó, cho dù không muốn bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết nào, cho rằng việc cấp hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó điều biến một hoặc nhiều thành viên thuộc họ Src của kinaza protein tyrosin (ví dụ, lck và/hoặc fyn) là hữu ích để điều trị bệnh tự miễn.

Một khía cạnh khác của sáng chế bao gồm phương pháp điều hoà hoạt tính hệ miễn dịch ở đối tượng bao gồm việc cấp chế phẩm chứa một lượng hữu hiệu KX2-391 gần như tinh khiết, hoặc muối, solvat, hydrat, hoặc tiền dược chất của nó, ví dụ, KX2-391, KX2-391·2HCl, hoặc KX2-391·MSA gần như tinh khiết. Sáng chế bao gồm việc cấp một lượng hữu hiệu dạng đa hình gần như tinh khiết của KX2-391·MSA ví dụ, dạng A.

Định nghĩa

Để tiện theo dõi, một số thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả, phần ví dụ và yêu cầu bảo hộ kèm theo được nêu ra ở đây.

Kinaza protein là nhóm gồm nhiều enzym xúc tác quá trình chuyển hóa γ -phosphat từ ATP đến nhóm hydroxyl trên mạch bên của Ser/Thr hoặc Tyr trong protein và peptit và cuối cùng tham gia vào quá trình không chế các chức năng tế bào quan trọng khác nhau, có lẽ nổi bật nhất là: quá trình truyền tín hiệu, biệt hoá, và tăng sinh. Ước tính có khoảng 2000 kinaza protein khác nhau trong cơ thể người, và mặc dù mỗi trong số chúng phosphoryl hoá cơ chất protein/peptit nhất định, tất cả chúng đều gắn kết với cùng cơ chất thứ cấp ATP trong túi có tính bảo toàn cao. Vào khoảng 50% các sản phẩm gen gây ung thư đã biết là kinaza protein tyrosin (PTK protein tyrosine kinases), và hoạt tính kinaza của chúng đã được chỉ ra là dẫn đến sự chuyển dạng tế bào.

Các PTK này có thể được phân thành hai nhóm, PTK thuộc thụ thể màng (ví dụ PTK thụ thể yếu tố tăng trưởng) và các PTK không phải thụ thể (ví dụ họ Src của các sản phẩm tiền gen gây ung thư và kinaza dính bám tiêu điểm (FAK)). Sự hoạt hoá quá mức của Src đã được báo cáo trong một số bệnh ung thư ở người, bao gồm ung thư ruột kết, vú, phổi, bàng quang, và da, cũng như bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư máu trắng có gai, và u nguyên bào thần kinh.

“Việc ức chế một hoặc nhiều hợp phần của dãy truyền tín hiệu kinaza protein” có nghĩa là một hoặc nhiều hợp phần của dãy truyền tín hiệu kinaza bị tác động làm thay đổi chức năng của tế bào. Hợp phần của dãy truyền tín hiệu kinaza protein bao gồm protein bất kỳ trực tiếp hoặc gián tiếp tham gia vào quá trình truyền tín hiệu kinaza bao gồm phân tử truyền tin thứ hai và các đích nằm trước hoặc nằm sau.

“Điều trị”, bao gồm tác động bất kỳ, ví dụ, làm nhẹ bớt, làm giảm, điều biến, hoặc giảm đi, dẫn đến sự cải thiện tình trạng, bệnh, rối loạn, v.v.. “Điều trị” hoặc “việc điều trị” tình trạng của một bệnh bao gồm: ức chế tình trạng bệnh, tức là làm ngừng sự phát triển của tình trạng bệnh hoặc các triệu chứng lâm sàng của nó; hoặc làm thuyên giảm tình trạng bệnh, tức là làm đảo ngược một cách tạm thời hoặc vĩnh viễn tình trạng bệnh hoặc các triệu chứng lâm sàng của nó.

“Việc phòng ngừa” tình trạng bệnh bao gồm việc làm cho các triệu chứng lâm sàng của tình trạng bệnh không phát triển ở đối tượng mà có thể đã bị phơi nhiễm hoặc có thể mắc tình trạng bệnh, mà chưa trải qua hoặc thể hiện các triệu chứng của tình trạng bệnh.

“Tình trạng của một bệnh” dùng để chỉ bất kỳ bệnh, rối loạn, tình trạng, triệu chứng, hoặc dấu hiệu bệnh.

Như được sử dụng ở bản mô tả này, thuật ngữ “rối loạn tăng sinh tế bào” dùng để chỉ tình trạng trong đó sự phát triển không được điều hoà và/hoặc bất thường của các tế bào có thể dẫn đến sự phát triển của tình trạng hoặc bệnh không mong muốn, mà có thể là bệnh ung thư hoặc không phải bệnh ung thư, ví dụ như bệnh vảy nến. Như được sử dụng ở bản mô tả này, thuật ngữ “tình trạng vảy nến” hoặc “bệnh vảy nến”

dùng để chỉ rối loạn liên quan đến sự siêu tăng sinh tế bào kêratin, quá trình thâm nhiễm tế bào viêm, và sự biến đổi xytokin.

Theo một phương án, rối loạn tăng sinh tế bào này là bệnh ung thư. Như được sử dụng ở bản mô tả này, thuật ngữ "bệnh ung thư" bao gồm khối u rắn, chẳng hạn như ở phổi, vú, ruột kết, buồng trứng, não, gan, tuyến tụy, tuyến tiền liệt, hắc sắc tố ác tính, bệnh ung thư u hắc sắc tố da, cũng như khối u máu và/hoặc u ác tính, chẳng hạn như bệnh bạch cầu trẻ em và u bạch huyết, đa u tủy, bệnh Hodgkin, u bạch huyết có nguồn gốc bạch huyết bào và da, bệnh bạch cầu cấp và mạn tính chẳng hạn như nguyên bào limphô cấp, bệnh bạch cầu có nguồn gốc từ tủy xương cấp hoặc bệnh bạch cầu có nguồn gốc từ tủy xương mạn tính, khối u tế bào huyết tương, khối u dạng bạch huyết và bệnh ung thư liên quan đến AIDS.

Ngoài các tình trạng bệnh vảy nến, các dạng bệnh tăng sinh mà có thể điều trị bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế u nang biểu bì và nang bì, u mỡ, u tuyến, u mạch máu mao quản và da, u mạch bạch huyết, thương tổn mạn tính nevi ở da, u quái, u thận, bệnh u xơ, khối u tạo xương, và các khối chứng loạn sản khác và các khối u tương tự. Các bệnh tăng sinh này có thể bao gồm chứng loạn sản và các rối loạn tương tự.

"Một lượng điều trị hữu hiệu" dùng để chỉ lượng hợp chất hoặc muối, mà khi được dùng cho động vật có vú để điều trị bệnh, là đủ thể điều trị như vậy có tác động cho bệnh này. Theo một phương án, một lượng điều trị hữu hiệu được cấp cho động vật có vú để làm giảm mức bệnh ví dụ, làm giảm mức độ chứng suy giảm thính lực. Theo một phương án, cấp lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất hoặc muối. Theo một phương án khác, cấp lượng hữu hiệu trị liệu của chế phẩm. "Lượng có hiệu quả điều trị" sẽ thay đổi tùy thuộc vào hợp chất hoặc muối, bệnh và mức độ nghiêm trọng của bệnh và tuổi tác, trọng lượng, v.v., của động vật có vú cần được điều trị.

Một lượng điều trị hữu hiệu của một hoặc nhiều của hợp chất hoặc các muối có thể được chế hoá cùng với chất mang được dùng để dùng cho người hoặc động vật. Theo đó, các hợp chất, các muối hoặc các chế phẩm có thể được sử dụng, ví dụ, qua đường miệng, ngoài đường tiêu hoá, hoặc qua đường khu trú, để cung cấp một lượng điều trị hữu hiệu của hợp chất. Theo các phương án khác, các hợp chất hoặc các muối

được điều chế theo sáng chế có thể được sử dụng để bao lên hoặc tẩm lên thiết bị y học, ví dụ, stent.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu phòng bệnh” dùng để chỉ một lượng hữu hiệu hợp chất hoặc muối, theo sáng chế được cấp để có tác dụng phòng ngừa bệnh này. Theo một phương án, cấp lượng hữu hiệu phòng bệnh của hợp chất hoặc muối. Theo một phương án khác, cấp lượng hữu hiệu phòng bệnh của chế phẩm.

"Tác dụng dược lý" như được sử dụng ở bản mô tả này bao gồm tác dụng tạo ra ở đối tượng đạt được mục đích trị liệu dự định. Theo một phương án, tác dụng dược lý có nghĩa là dấu hiệu bệnh chính ở đối tượng cần được điều trị được phòng ngừa, được giảm nhẹ, hoặc được thuyên giảm. Ví dụ, tác dụng dược lý sẽ là tác dụng mang lại sự phòng ngừa, thuyên giảm hoặc giảm dấu hiệu bệnh chính ở đối tượng được điều trị. Theo một phương án khác, tác dụng dược lý có nghĩa là rối loạn hoặc các triệu chứng của bệnh chính của đối tượng cần được điều trị được phòng ngừa, được giảm nhẹ, hoặc được thuyên giảm. Ví dụ, tác dụng dược lý sẽ là tác dụng gây ra việc phòng ngừa hoặc làm giảm biểu hiện bệnh chính ở đối tượng được điều trị.

Hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của nó có chứa nitơ có thể được chuyển hoá thành N-oxit bằng cách xử lý bằng tác nhân oxy hoá (ví dụ, axit 3-cloperoxybenzoic (*m*-CPBA) và/hoặc hydro peroxit) để tạo ra các hợp chất hoặc các muối khác theo sáng chế. Do đó, tất cả các hợp chất hoặc các muối chứa nitơ được chỉ ra và yêu cầu bảo hộ được xem là, khi mà hóa trị và cấu trúc cho phép, bao gồm cả hợp chất hoặc muối như đã được chỉ ra và các dẫn xuất N-oxit của chúng (có thể có cấu trúc là $N \rightarrow O$ hoặc N^+-O^-). Ngoài ra, trong các trường hợp khác, nitơ ở các hợp chất hoặc các muối theo sáng chế có thể được chuyển hoá thành các hợp chất N-hydroxy hoặc N-alkoxy. Ví dụ, có thể điều chế các hợp chất N-hydroxy bằng cách oxy hoá amin gốc bằng tác nhân oxy hoá chẳng hạn như *m*-CPBA. Tất cả các hợp chất hoặc các muối chứa nitơ được chỉ ra và yêu cầu bảo hộ được xem là, khi mà hóa trị và cấu trúc cho phép, bao gồm cả hợp chất hoặc muối như đã được chỉ ra và N-hydroxy của chúng (tức là N-OH) và N-alkoxy (tức là N-OR đó R là các dẫn xuất C_{1-6} alkyl, C_{1-6} alkenyl, C_{1-6} alkynyl, C_{3-14} vòng cacbon hoặc dị vòng có 3-14 cạnh) được thể hoặc không được thể

“Ion đối ứng” được dùng để chỉ các loại điện âm nhỏ chẳng hạn như clorua, bromua, hydroxit, axetat, và sulfat.

“Nhóm anion” như được sử dụng ở bản mô tả này, dùng để chỉ nhóm tích điện âm ở pH sinh lý. Các nhóm anion bao gồm carboxylat, sulfat, sulfonat, sulfinat, sulfamat, tetrazolyl, phosphat, phosphonat, phosphinat, hoặc phosphorothioat hoặc tương đương chức năng của chúng. “Tương đương chức năng” của các nhóm anion được dự định để bao gồm các bioisostere, *ví dụ*, các bioisostere của nhóm carboxylat. Các bioisostere bao gồm cả tương đương bioisostere truyền thống và tương đương bioisostere không truyền thống. Các bioisostere truyền thống không truyền thống đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này (tham khảo *ví dụ* Silverman, R. B. The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, Academic Press, Inc.: San Diego, Calif., 1992, trang 19-23). Theo một phương án, nhóm anion là carboxylat.

Sáng chế được dự định để bao gồm tất cả các đồng vị của các nguyên tử xuất hiện trong hợp chất theo sáng chế. Các nguyên tố đồng vị bao gồm các nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng có khối lượng nguyên tử khác nhau. Như là *ví dụ* chung và không mang tính giới hạn, các nguyên tố đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri, và các nguyên tố đồng vị của cacbon bao gồm C-13 và C-14.

Các hợp chất hoặc các muối được mô tả trong bản mô tả này có thể có các tâm bất đối. Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng chứa nguyên tử được thể bất đối có thể được phân tách thành các dạng quay quang hoặc dạng triệt quang. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, đã biết cách thức điều chế dạng quay quang, chẳng hạn như bằng cách dung giải dạng triệt quang hoặc bằng cách tổng hợp từ các chất quay quang. Nhiều dạng đồng phân hình học của olefins, mỗi liên kết đôi C=N, và các liên kết tương tự cũng có thể có mặt trong các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, và tất cả các chất đồng phân ổn định như vậy được dự đến trong sáng chế. Các chất đồng phân hình học cis và trans của hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng được mô tả và có thể được phân tách dưới dạng hỗn hợp các chất đồng phân hoặc các dạng đồng phân riêng biệt. Tất cả các dạng đồng phân không đối ảnh, đồng phân không đối quang, raxemic, và hình học của một cấu trúc được dự định, trừ khi dạng hoá lập thể

hoặc đồng phân cụ thể được quy định cụ thể. Tất cả các dạng hổ biến của các hợp chất hoặc các muối được chỉ ra hoặc được mô tả cũng được xem là cấu thành sáng chế.

Trong bản mô tả này, cấu trúc công thức của hợp chất hoặc muối là một đồng phân nhất định để tham khảo một cách thuận lợi trong một số trường hợp, nhưng sáng chế bao gồm tất cả chất đồng phân như chất đồng phân hình học, chất đồng phân dị cấu quang học trên cơ sở cacbon bất đối, đồng phân lập thể, chất hổ biến và các dạng tương tự có dạng cấu trúc chỉ ra và hỗn hợp chất đồng phân và không dự định giới hạn bản mô tả ở công thức thể hiện theo cách thuận tiện, và có thể ở dạng đồng phân bất kỳ hoặc hỗn hợp của chúng. Do đó, có thể có mặt nguyên tử cacbon bất đối trong phân tử và hợp chất quy quang và hợp chất raxemic có thể là hợp chất theo sáng chế, nhưng sáng chế không chỉ giới hạn ở các chất này và bao gồm chất bất kỳ trong đó. Ngoài ra, có thể có dạng đa hình tinh thể nhưng không chỉ giới hạn ở đó, mà còn có thể là dạng tinh thể bất kỳ có thể là dạng tinh thể đơn lẻ hoặc hỗn hợp các dạng tinh thể, hoặc anhydrit hoặc hydrat. ngoài ra, hợp chất được gọi là chất chuyển hoá được tạo ra bằng cách làm phân hủy hợp chất theo sáng chế *in vivo* được bao hàm trong phạm vi sáng chế.

"Hiện tượng đồng phân" dùng để chỉ các hợp chất hoặc các muối có công thức phân tử giống nhau nhưng khác nhau về bản chất hoặc trình tự liên kết của các nguyên tử của chúng hoặc sự bố trí của các nguyên tử của chúng trong không gian. Các chất đồng phân khác nhau về sự bố trí các nguyên tử của chúng trong không gian được gọi là "chất đồng phân lập thể". Chất đồng phân lập thể mà không phải là ảnh qua gương của nhau được gọi là "chất đồng phân không đối quang", và chất đồng phân lập thể mà là ảnh qua gương không nằm chồng lên nhau được gọi là "các chất đồng phân đối ảnh", hoặc đôi khi còn được gọi là chất đồng phân dị cấu quang học. Nguyên tử cacbon được liên kết với bốn nhóm thế không giống nhau được gọi là "tâm không đối xứng".

"Chất đồng phân không đối ảnh" dùng để chỉ hợp chất hoặc muối có ít nhất một tâm không đối xứng. Hợp chất này có hai dạng đồng phân đối ảnh có tính không đối ảnh gương đối lập nhau và có thể tồn tại hoặc ở dạng chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ hoặc dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân đối ảnh. Hỗn hợp chứa các đồng

phân đối ảnh đơn lẻ với lượng bằng nhau tạo thành tính không đối ảnh gương đối xứng nhau được gọi là "hỗn hợp raxemic". Hợp chất hoặc muối có nhiều hơn một tâm không đối xứng có 2^{n-1} cặp đồng phân đối ảnh, trong đó n là số tâm không đối xứng. Các hợp chất hoặc các muối có nhiều hơn một tâm không đối xứng có thể tồn tại dưới dạng chất đồng phân không đối quang đơn lẻ hoặc dưới dạng hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang, được gọi là "hỗn hợp đồng phân không đối quang". Khi có mặt một tâm không đối xứng, chất đồng phân lập thể có thể được đặc trưng bằng cấu hình tuyệt đối (R hoặc S) của tâm không đối xứng đó. Cấu hình tuyệt đối dùng để chỉ sự bố trí trong không gian các nhóm thế gắn với tâm không đối xứng. Các nhóm thế gắn với tâm không đối xứng để xem xét được phân cấp bậc theo nguyên tắc *Sequence Rule of Cahn, Ingold và Prelog*. (Cahn et al, *Angew. Chem. Inter. Edit.* 1966, 5, 385; errata 511; Cahn và các đồng tác giả, *Angew. Chem.* 1966, 78, 413; Cahn và Ingold, *J. Chem. Soc.* 1951 (London), 612; Cahn và các đồng tác giả, *Experientia* 1956, 12, 81; Cahn, J., *Chem. Educ.* 1964, 41, 116).

"Chất đồng phân hình học" dùng để chỉ các chất đồng phân không đối quang có cấu trúc trục quay cản trở quanh mỗi liên kết đôi. Các cấu hình này được phân biệt ở tên của chúng bởi các tiếp đầu ngữ cis và trans, hoặc Z và E, mà chỉ ra rằng các nhóm này ở cùng một phía hoặc ở các phía đối diện của mỗi liên kết đôi trong phân tử theo quy tắc Cahn-Ingold-Prelog.

Ngoài ra, các cấu trúc và các hợp chất hoặc các muối khác được bàn luận trong đơn này bao gồm tất cả chất đồng phân atropic của chúng. "Chất đồng phân atropic" là dạng đồng phân lập thể trong đó các nguyên tử của hai chất đồng phân được bố trí trong không gian một cách khác nhau. Chất đồng phân atropic có trục quay hạn chế gây ra do sự cản trở quay của nhóm lớn quanh liên kết trung tâm. Các chất đồng phân atropic như vậy thường tồn tại dưới dạng hỗn hợp, tuy nhiên kết quả của các tiến bộ gần đây trong các kỹ thuật sắc ký, có thể tách riêng hỗn hợp của hai chất đồng phân atropic trong các trường hợp chọn lọc.

Thuật ngữ "các dạng đa hình tinh thể" hoặc "các dạng đa hình khác nhau" hoặc "dạng tinh thể" dùng để chỉ các cấu trúc tinh thể trong đó hợp chất (hoặc muối hoặc solvat của chúng) có thể kết tinh theo bố trí cuộn xoắn tinh thể khác nhau, mà tất

cả các cấu trúc này có thành phần các nguyên tố giống nhau. Các dạng tinh thể khác nhau thường có phổ nhiễu xạ tia X, phổ hồng ngoại, nhiệt độ nóng chảy, độ cứng tỷ trọng, dạng kết tinh, các tính chất quang học và điện, độ ổn định và độ tan khác nhau. Sự kết tinh lại dung môi, vận tốc kết tinh, nhiệt độ bảo quản, và các yếu tố khác có thể làm cho một dạng tinh thể nổi trội. Có thể điều chế các dạng đa hình tinh thể của hợp chất bằng cách kết tinh trong các điều kiện khác nhau.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế, ví dụ, các muối của hợp chất, có thể tồn tại ở dạng được hydrat hoá hoặc không được hydrat hoá (dạng khan) hoặc dưới dạng solvat với các phân tử dung môi khác. Ví dụ không mang tính giới hạn về các chất hydrat bao gồm monohydrat, dihydrat, v.v.. Ví dụ không mang tính giới hạn về các solvat bao gồm etanol solvat, axeton solvat, v.v.

"Các solvat" dùng để chỉ dạng cộng dung môi có chứa lượng dung môi theo hệ số tỷ lệ hoặc không theo hệ số tỷ lệ. Một số hợp chất hoặc muối có xu thế thu các phân tử dung môi ở một tỷ số mol nhất định ở trạng thái tinh thể rắn, do đó tạo ra solvat. Nếu dung môi này là nước, thì solvat được tạo ra là hydrat, nếu dung môi này là rượu, thì solvat tạo ra là alcoholat. Các hydrat được tạo ra bởi sự kết hợp của một hoặc nhiều phân tử nước với một trong số các chất trong đó nước vẫn giữ ở trạng thái phân tử của nó là H_2O , kết hợp như vậy có thể tạo ra một hoặc nhiều hydrat.

"Các dạng hỗ biến" dùng để chỉ các hợp chất hoặc các muối có cấu trúc khác nhau rõ rệt về sự sắp xếp các nguyên tử, nhưng tồn tại ở dạng cân bằng dễ dàng và nhanh chóng. Cần hiểu là các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể được thể hiện dưới các dạng hỗ biến khác nhau. Ngoài ra, cũng cần hiểu rằng khi các hợp chất có dạng hỗ biến, thì tất cả các dạng hỗ biến được dự tính nằm trong phạm vi sáng chế, và việc gọi tên các hợp chất hoặc các muối không loại trừ bất kỳ dạng hỗ biến nào.

Một số hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng có thể có thể tồn tại ở dạng hỗ biến. Các chất hỗ biến cũng được dự tính nằm trong phạm vi sáng chế.

Các hợp chất, các muối và tiền dược chất theo sáng chế có thể tồn tại ở một số dạng hỗ biến, bao gồm dạng enol và imin, và dạng keto và enamín và các chất đồng

phân hình học và hỗn hợp của chúng. Tất cả các dạng hổ biến như vậy được bao gồm trong phạm vi sáng chế. Các dạng hổ biến tồn tại dưới dạng hỗn hợp của tập chất hổ biến trong dung dịch. Ở dạng rắn, thường có một chất hổ biến nổi trội. Mặc dù có thể mô tả một chất hổ biến, sáng chế bao gồm tất cả các dạng hổ biến của các hợp chất hoặc các muối theo sáng chế.

Chất hổ biến là một trong hai hoặc nhiều chất đồng phân cấu trúc tồn tại ở trạng thái cân bằng và được chuyển hóa một cách dễ dàng từ một dạng đồng phân này thành dạng đồng phân khác. Phản ứng này gây ra sự di chuyển chính thức nguyên tử hydro kèm theo sự dịch chuyển mỗi liên kết đôi liên hợp kề cận. Trong dung dịch có thể có quá trình hổ biến, sẽ đạt được sự cân bằng hóa học của các dạng hổ biến. Tỷ lệ chính xác của các dạng hổ biến tùy thuộc vào một số yếu tố, bao gồm nhiệt độ, dung môi, và độ pH. Hiện tượng mà các dạng hổ biến được chuyển hóa lẫn nhau thông qua quá trình hổ biến được gọi là hiện tượng hổ biến.

Trong số nhiều hiện tượng hổ biến khác nhau có thể có, thường nhận thấy có hai dạng. Trong hiện tượng hổ biến keto-enol, xảy ra sự dịch chuyển đồng thời của điện tử và nguyên tử hydro. Hiện tượng hổ biến nhân-chuỗi, được thể hiện bằng glucoza. Hiện tượng này xuất hiện kết quả là của phản ứng của nhóm aldehyt (-CHO) trong phân tử mạch đường với một trong các nhóm hydroxy -OH) trong cùng một phân tử để tạo ra dạng mạch vòng (dạng nhân).

Quá trình hổ biến được xúc tác bởi: Bazơ: 1. khử proton; 2. sự tạo thành khử vị trí (ví dụ enolat); 3. proton hóa ở vị trí khác nhau của anion; Axit: 1. proton hóa; 2. sự tạo thành cation ở một vị trí khác; 3. khử proton ở vị trí khác nằm cạnh cation.

Các cặp hổ biến phổ biến là: hiện tượng hổ biến keton - enol, amit - nitril, lactam - lactim, amit - axit imidic trong các nhân dị vòng (ví dụ trong nucleobazo guanin, thymin, và xytosin), amin - enamin và enamin - enamin.

Theo đó, cần hiểu rằng các chất đồng phân xuất hiện từ nguyên tử cacbon không đối xứng (ví dụ, tất cả các chất đồng phân đối ảnh và các chất đồng phân không đối quang) được bao gồm trong phạm vi sáng chế, trừ khi có quy định khác đi. Như vậy, có thể thu được chất đồng phân như vậy ở dạng gần như tinh khiết bằng các kỹ

thuật tách cổ điển và bằng cách tổng hợp có không chế lập thể hoá học. Ngoài ra, các cấu trúc và các hợp chất và các gốc khác được bàn luận trong đơn này còn bao gồm tất cả các dạng hỗn hợp của chúng. Các alkene có thể bao gồm đồng phân hình học E hoặc Z, khi thích hợp. Các hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng đồng phân lập thể, do đó có thể được tạo ra dưới dạng đồng phân lập thể riêng rẽ hoặc dưới dạng hỗn hợp.

"Dược phẩm" là chế phẩm chứa các hợp chất hoặc các muối của chúng được bộc lộ ở dạng thích hợp để cấp cho đối tượng. Theo một phương án, dược phẩm ở dạng dễ rời hoặc ở dạng đơn vị phân liều. Ưu tiên là bào chế dược phẩm thành dạng phân liều đơn vị để tạo thuận lợi cho việc sử dụng và đồng đều cả liều lượng. Dạng phân liều đơn vị như được sử dụng ở bản mô tả này dùng để chỉ các đơn vị riêng biệt về mặt vật lý thích hợp dùng làm liều lượng đơn vị cho đối tượng cần điều trị; mỗi đơn vị chứa một lượng hoạt tính định trước chất hoạt tính được tính toán để tạo ra tác dụng trị liệu mong muốn khi phối hợp với chất mang dược dụng cần thiết. Đặc tính của dạng phân liều đơn vị theo sáng chế được quyết định bởi và trực tiếp phụ thuộc vào các đặc tính độ nhất của hoạt chất và tác dụng trị liệu cụ thể cần đạt được, và những hạn chế vốn có trong lĩnh vực kỹ thuật này trong việc pha chế hoạt chất như vậy để điều trị các cá thể.

Dạng phân liều đơn vị là dạng bất kỳ trong số nhiều dạng, bao gồm, ví dụ, viên nang, túi IV, viên nén, bơm đơn trên máy hít dạng sol khí, hoặc a bình nhỏ. Lượng hoạt chất (ví dụ, chế phẩm của hợp chất được bộc lộ hoặc muối, hydrat, solvat, hoặc chất đồng phân của chúng) trong liều đơn vị của chế phẩm là lượng hữu hiệu và thay đổi tùy theo điều trị cụ thể liên quan. Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận biết rằng đôi khi cần phải thực hiện các thay đổi thông thường cho dạng liều lượng tùy thuộc vào tuổi tác và tình trạng bệnh nhân. Dạng liều lượng cũng còn phụ thuộc vào đường dùng. Nhiều đường dùng được tính đến, bao gồm đường miệng, đường phổi, đường trực tràng, ngoài đường tiêu hoá, qua chân bì, dưới da, trong tĩnh mạch, qua cơ, trong màng bụng, hít, qua má, dưới lưỡi, trong màng phổi, nội tuỷ mạc, qua đường mũi, và các đường dùng tương tự. Dạng phân liều của hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó qua đường dùng khu trú hoặc qua chân bì bao gồm dạng bột, dạng xịt, thuốc mỡ, thuốc nhão, kem, thuốc bôi xức, gel, dung dịch, cao dán và thuốc hít. Theo một phương án, hoạt chất hoặc muối này được phối trộn trong điều kiện vô

trùng với chất mang được dụng, và chất bảo quản, dung dịch đệm, hoặc các chất đầy bất kỳ cần thiết.

Thuật ngữ “liều nhanh” dùng để chỉ các dạng bào chế hợp chất là dạng phân liều phân tán nhanh.

Thuật ngữ "giải phóng tức thì" được xác định là việc giải phóng hợp chất hoặc muối từ dạng phân liều trong một khoảng thời gian tương đối ngắn, thông thường lên đến khoảng 60 phút. Thuật ngữ "giải phóng biến đổi" được xác định là bao gồm giải phóng chậm, giải phóng kéo dài, và giải phóng theo xung. Thuật ngữ "giải phóng theo xung" được xác định là một dãy giải phóng thuốc từ dạng phân liều. Thuật ngữ “giải phóng kéo dài” hoặc “giải phóng theo cách kéo dài” được xác định là sự giải phóng liên tục hợp chất hoặc muối từ dạng phân liều trong thời gian kéo dài.

“Đối tượng” bao gồm động vật có vú, ví dụ, người, động vật kiểng (ví dụ, chó, mèo, chim, và các động vật tương tự), động vật nông trại (ví dụ, bò, cừu, lợn, ngựa, gà, và các động vật tương tự) và động vật thí nghiệm (ví dụ, chuột cống, chuột nhắt, chuột lang, chim, và các động vật tương tự). Theo một phương án, đối tượng này là người.

Như được sử dụng ở bản mô tả này, cụm từ “được dụng” dùng để chỉ các hợp chất, các muối, các chất liệu, chế phẩm, chất mang, và/hoặc dạng phân liều trong phạm vi đánh giá y học đúng đắn, thích hợp để dùng trong tiếp xúc với mô người và động vật mà không gây độc tính, tẩy rớt, đáp ứng dị ứng, quá đáng hoặc các vấn đề hoặc biến chứng khác, tương ứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

"Tá được dụng" dùng để chỉ tá được hữu ích trong việc bào chế được phẩm thường là an toàn, không gây độc và không phải là chất liệu sinh học hoặc ngoài mong muốn theo cách khác, và bao gồm tá được mà chấp nhận được để dùng trong thú y cũng như làm được phẩm cho người. "Tá được dụng" như được sử dụng trong phần mô tả và Yêu cầu bảo hộ bao gồm cả một và nhiều hơn một tá được như vậy.

Cụm từ “chất mang được dụng” như được sử dụng ở bản mô tả này dùng để chỉ chất liệu, chế phẩm hoặc tá được dụng, chẳng hạn như chất độn dạng lỏng

hoặc rắn, chất pha loãng, tá dược, hoặc dung môi bao chất liệu, tham gia vào quá trình mang hoặc chuyển vận hợp chất đối tượng từ một cơ quan, hoặc phần cơ thể, đến một cơ quan, hoặc phần cơ thể khác. Mỗi chất mang phải là “chấp nhận được” với nghĩa là tương thích với các hợp phần khác của chế phẩm và không gây thương tổn cho bệnh nhân. Một số ví dụ về các chất liệu mà có thể đóng vai trò như là chất mang được dùng bao gồm: các đường, chẳng hạn như lactoza, glucoza và sucroza; tinh bột, chẳng hạn như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; xenluloza, và các dẫn xuất của nó, chẳng hạn như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; tragacan dạng bột; malt; gelatin; bột talc; tá dược, chẳng hạn như bơ cacao và các chất sáp dùng cho thuốc đạn; dầu, chẳng hạn như dầu lạc, dầu hạt bông, dầu rum, dầu vừng, dầu ôliu, dầu ngô và dầu đậu nành; các glycol, chẳng hạn như propylen glycol; các polyol, chẳng hạn như glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol; các este, chẳng hạn như etyl oleat và etyl laurat; thạch; các chất đệm, chẳng hạn như magie hydroxit và nhôm hydroxit; axit alginic; nước không chứa pyrogen; nước muối đẳng trương; dung dịch Ringer; rượu etylic; các dung dịch đệm pH; các polyeste, polycarbonat và/hoặc polyanhydrit; và các chất tương thích không độc khác được sử dụng trong dược phẩm.

Các hợp chất theo sáng chế có khả năng tạo tiếp thành các muối. Tất cả các dạng này cũng được dự tính nằm trong phạm vi của sáng chế được yêu cầu bảo hộ.

"Muối được dùng" của một hợp chất dùng để chỉ muối là được dùng và có hoạt tính dược lý mong muốn của hợp chất gốc.

Như được sử dụng ở bản mô tả này, “các muối được dùng” dùng để chỉ các dẫn xuất của các hợp chất được bộc lộ trong đó hợp chất gốc được cải biến bằng cách tạo ra các muối axit hoặc bazơ của chúng. Ví dụ về các muối được dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong số các muối axit vô cơ hoặc hữu cơ của các gốc kiềm chẳng hạn như amin, các muối kiềm hoặc hữu cơ của các gốc axit chẳng hạn như axit carboxylic, và các axit tương tự. Các muối được dùng bao gồm các muối không gây độc thông thường hoặc các muối amoni bậc bốn của hợp chất gốc được tạo ra, ví dụ, từ các axit vô cơ hoặc hữu cơ không độc tính. Ví dụ, các muối không gây độc thông thường như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong số các muối thu được từ các axit vô cơ và hữu cơ được chọn từ 2-axetoxybenzoic, 2-hydroxyetan sulfonic, axetic,

ascorbic, benzen sulfonic, benzoic, bicarbonic, carbonic, citric, edetic, etan disulfonic, 1,2-etan sulfonic, fumaric, glucoheptonic, gluconic, glutamic, glycolic, glycollyarsanilic, hexylresorxinic, hydrabamic, bromhydric, clohydric, hydroiodic, hydroxymaleic, hydroxynaphthoic, isethionic, lactic, lactobionic, lauryl sulfonic, maleic, malic, mandelic, metan sulfonic, napsylic, nitric, oxalic, pamoic, pantothenic, phenylaxetic, phosphoric, polygalacturonic, propionic, salixylic, stearic, subaxetic, suxinic, sulfamic, sulfanilic, sulfuric, tanic, tarttric, toluen sulfonic, và các axit amin thường xuất hiện, ví dụ, glyxin, alanin, phenylalanin, arginin, v.v.

Các ví dụ khác bao gồm axit hexanoic, axit xyclopentan propionic, axit pyruvic, axit malonic, axit 3-(4-hydroxybenzoyl)benzoic, axit xinamic, axit 4-clobenzensulfonic, axit 2-naphtalensulfonic, axit 4-toluensulfonic, axit camphorsulfonic, axit 4-metylbixyclo-[2.2.2]-oct-2-en-1-carboxylic, axit 3-phenylpropionic, axit trimetylaxetic, axit butylaxetic bậc ba, axit muconic, và các axit tương tự. Sáng chế cũng bao gồm các muối được tạo ra khi proton axit có mặt trong hợp chất gốc được thay bằng ion kim loại, ví dụ, ion kim loại kiềm, ion kim loại kiềm thổ, hoặc ion nhôm; hoặc tạo liên kết phối trí với bazơ hữu cơ chẳng hạn như etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, trometamin, N-metylglucamin, và các muối tương tự.

Cần phải hiểu rằng tất cả các viện dẫn đến các muối được dụng bao gồm dạng cộng dung môi (các solvat) hoặc dạng tinh thể (các dạng đa hình) như được xác định trong bản mô tả này, của cùng một muối.

Có thể tổng hợp các muối được dụng theo sáng chế từ hợp chất gốc có gốc kiềm hoặc axit theo các phương pháp hóa học thông thường. Thông thường, có thể điều chế các muối như vậy bằng cách cho dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong một dung môi hữu cơ với lượng theo hệ số tỷ lệ, hoặc trong hỗn hợp của cả hai; có thể sử dụng môi trường không phải là nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril. Có thể tham khảo danh sách của các muối thích hợp trong *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed. (Mack Publishing Company, 1990). Ví dụ, các muối có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong số các muối hydroclorua và

axetat của hợp chất béo chứa amin, chứa hydroxyl amin, và chứa imin béo theo sáng chế.

Có thể điều chế các hợp chất hoặc các muối theo sáng chế như là tiền dược chất, ví dụ như tiền dược chất được dùng. Thuật ngữ "tiền dược chất" được dùng trong bản mô tả này và dùng để chỉ hợp chất bất kỳ mà giải phóng thuốc gốc có hoạt tính. Vì tiền dược chất đã được biết đến là có thể tăng cường nhiều đặc tính mong muốn của dược phẩm (ví dụ, độ tan, mức sinh khả dụng, tính dễ sản xuất, v.v.) nên có thể phân phối các hợp chất hoặc các muối theo sáng chế ở dạng tiền dược chất. Do đó, sáng chế được dự định để bao gồm tiền dược chất của các hợp chất và các muối được Yêu cầu bảo hộ, các phương pháp phân phối chúng và chế phẩm chứa chúng. "Tiền dược chất" được dự định là bao gồm chất mang được liên kết cộng hoá trị bất kỳ mà giải phóng thuốc gốc hoạt tính theo sáng chế *in vivo* khi cấp tiền dược chất như vậy cho đối tượng. Tiền dược chất theo sáng chế được điều chế bằng cách làm biến đổi các nhóm chức có mặt trong hợp chất sao cho các cải biến này được phân cắt, hoặc là thông qua xử lý đơn giản hoặc *in vivo*, thành hợp chất hoặc muối gốc. Tiền dược chất bao gồm các hợp chất hoặc các muối theo sáng chế trong đó nhóm hydroxy, amino, sulfhydryl, carboxy, hoặc carbonyl được liên kết với nhóm bất kỳ là nhóm có thể bị phân cắt *in vivo* để tạo ra nhóm hydroxyl tự do, amino tự do, sulfhydryl tự do, carboxy tự do hoặc carbonyl tự do, tương ứng.

Ví dụ về tiền dược chất bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong số este (ví dụ, các dẫn xuất axetat, dialkylaminoaxetat, format, phosphat, sulfat, và benzoat) và carbamat (ví dụ, N,N-đimetylaminocarbonyl) của nhóm chức hydroxy, các nhóm este (ví dụ etyl este, morpholinoetanol este) của các nhóm chức carboxyl, các dẫn xuất N-axyl (ví dụ N-axetyl) của bazơ N-Mannich, bazơ Schiff và enaminon của các nhóm chức amino, oxim, axetal, ketal và enol este của keton và nhóm chức aldehyt trong các hợp chất, và các nhóm tương tự, Tham khảo Bundegaard, H. "Design of Prodrugs" p1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

"Nhóm bảo vệ" dùng để chỉ nhóm các nguyên tử mà khi gắn với nhóm dễ phản ứng trong phân tử che dấu, làm giảm hoặc ngăn cản tính phản ứng đó. Có thể tham khảo ví dụ về các nhóm bảo vệ trong Green and Wuts, Protective Groups in

Organic Chemistry, (Wiley, 2nd ed. 1991); Harrison and Harrison và các đồng tác giả, Compendium of Synthetic Organic Methods, Vols. 1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996); and Kocienski, Protecting Groups, (Verlag, 3rd ed. 2003).

“Hợp chất bền” và “cấu trúc bền” dùng để chỉ hợp chất hoặc muối mà là đủ bền để có thể phân tách ra khỏi hỗn hợp phản ứng đến mức tinh khiết hữu ích, và được bào chế thành tác nhân trị liệu hiệu quả.

Trong bản mô tả này, các dạng số ít của danh từ còn bao gồm dạng số nhiều, trừ khi rõ ràng là nội dung có thể hiểu khác đi. Trừ khi được định nghĩa khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa giống như nghĩa thường được hiểu bởi chuyên gia có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề xuất. Trong trường hợp có sự mâu thuẫn, bản mô tả này sẽ là quyết định.

Tất cả phần trăm và các tỷ lệ được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi được quy định khác đi, là theo khối lượng.

“Phép trị liệu phối hợp” (hoặc “phép đồng trị liệu”) bao gồm việc cấp hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó và ít nhất một tác nhân thứ hai như là một phần của chế độ điều trị cụ thể được dự định để tạo ra tác dụng có lợi từ sự đồng tác động của các tác nhân trị liệu này. Tác dụng có lợi của phép trị liệu phối hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong số, sự đồng tác động được động học hoặc được lực học tạo ra từ việc dùng phối hợp các tác nhân trị liệu. Việc cấp các tác nhân trị liệu này một cách phối hợp thường được thực hiện trong khoảng thời gian xác định (thông thường là một số phút, giờ, ngày hoặc tuần tùy thuộc vào phối hợp được lựa chọn). “Phép trị liệu phối hợp” có thể được dự định, nhưng thường là không, để bao gồm việc cấp hai hoặc nhiều tác nhân trị liệu này như là một phần của chế độ phép trị liệu đơn riêng rẽ mà ngẫu nhiên và tùy ý tạo ra phối hợp theo sáng chế.

“Phép trị liệu phối hợp” được dự định để bao gồm việc cấp các tác nhân trị liệu này theo một trật tự, tức là, trong đó mỗi tác nhân trị liệu được cấp ở thời điểm khác nhau, cũng như việc cấp các tác nhân trị liệu này, hoặc ít nhất hai tác nhân trị liệu, theo cách hầu như đồng thời. Việc cấp hầu như đồng thời có thể được thực hiện,

ví dụ, bằng cách cấp cho đối tượng một viên nang có tỷ lệ nhất định mỗi tác nhân trị liệu hoặc trong nhiều viên nang đơn lẻ cho mỗi trong số các tác nhân trị liệu. Việc cấp liên tiếp hoặc hầu như đồng thời mỗi tác nhân trị liệu có thể được thực hiện qua đường thích hợp bất kỳ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong số, qua đường miệng, trong tĩnh mạch, qua cơ, và hấp thu trực tiếp thông qua các mô màng niêm mạc. Các tác nhân trị liệu này có thể được phân phối qua cùng một đường hoặc theo các đường khác nhau. Ví dụ, tác nhân trị liệu đầu tiên của phép trị liệu phối hợp được lựa chọn có thể được cấp bằng cách tiêm trong tĩnh mạch còn các tác nhân trị liệu khác phép trị liệu phối hợp có thể được cấp qua đường miệng. Theo cách khác, ví dụ, tất cả các tác nhân trị liệu có thể được cấp qua đường miệng hoặc tất cả các tác nhân trị liệu có thể được cấp bằng cách tiêm trong tĩnh mạch. Trình tự cấp các tác nhân trị liệu này không phải là quyết định chặt chẽ.

“Phép trị liệu phối hợp” còn bao gồm việc cấp các tác nhân trị liệu như đã nêu trên phối hợp thêm với các hợp phần có hoạt tính sinh học khác và phương pháp trị liệu không dùng thuốc (ví dụ, điều trị bằng phẫu thuật hoặc bức xạ). Khi mà phép trị liệu phối hợp còn bao gồm điều trị không dùng thuốc, phép điều trị không dùng thuốc có thể được thực hiện ở thời điểm thích hợp bất kỳ miễn là đạt được tác dụng có lợi từ việc áp dụng đồng thời phối hợp tác nhân trị liệu và điều trị không dùng thuốc. Ví dụ, trong các trường hợp thích hợp vẫn đạt được tác dụng có lợi khi điều trị không dùng thuốc tạm thời được dừng và chỉ dùng việc cấp tác nhân trị liệu, có lẽ là vài ngày hoặc thậm chí vài tuần.

Trong suốt phần mô tả này, khi một chế phẩm được mô tả là có, gồm có, hoặc chứa hợp phần cụ thể, dự tính là chế phẩm cùng chủ yếu gồm có, hoặc gồm, hợp phần được nêu ra. Tương tự, khi các quy trình được mô tả là có, gồm có, hoặc chứa các bước quy trình cụ thể, thì các quy trình này cũng chủ yếu gồm có, hoặc gồm có, các bước quy trình được nêu ra. Ngoài ra, cần phải hiểu rằng trật tự của các bước hoặc trật tự thực hiện một số giai đoạn không phải là quan trọng miễn là sáng chế vẫn thực hiện được. Hơn nữa, hai hoặc nhiều bước hoặc giai đoạn có thể được thực hiện đồng thời.

Các hợp chất, hoặc các muối được dùng của chúng, được cấp qua đường miệng, qua đường mũi, qua chân bì, qua đường phổi, hít, qua má, dưới lưỡi, trong

màng bụng, dưới da, qua cơ, tĩnh mạch, qua đường trực tràng, trong màng phổi, trong vỏ và ngoài đường tiêu hoá. Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được cấp qua đường miệng. Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận biết được các ưu điểm của đường cấp nhất định.

Chế độ liều lượng sử dụng hợp chất hoặc muối này được lựa chọn theo nhiều yếu tố bao gồm dạng, loại bệnh, tuổi tác, thể trọng, giới tính và tình trạng y học bệnh nhân; mức độ nghiêm trọng của tình trạng cần điều trị; đường dùng; chức năng thận và gan của bệnh nhân; và hợp chất hoặc muối của nó cụ thể được sử dụng. Thầy thuốc hoặc bác sỹ thú y có trình độ trung bình có thể xác định một cách dễ dàng và kê đơn lượng hữu hiệu của thuốc cần dùng để phòng ngừa, đảo ngược hoặc làm dừng tiến triển của tình trạng.

Có thể tham khảo các kỹ thuật cho việc chế hóa và phân phối các hợp chất được bộc lộ theo sáng chế hoặc các muối của chúng trong *Remington: the Science và Practice of Pharmacy*, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995). Theo một phương án, các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, và các muối được dùng của chúng, được sử dụng trong dược phẩm kết hợp với chất mang hoặc chất pha loãng được dùng. Các chất mang được dùng thích hợp bao gồm chất độn rắn hoặc chất pha loãng trơn và dung dịch trong nước hoặc hữu cơ vô trùng. Các hợp chất hoặc các muối này sẽ có mặt trong dược phẩm như vậy với lượng đủ để tạo ra mức liều lượng mong muốn nằm trong khoảng được mô tả trong bản mô tả này.

Theo một phương án, hợp chất hoặc muối này được bào chế để dùng qua đường miệng, trong đó các hợp chất được bộc lộ hoặc các muối của chúng được kết hợp với chất mang hoặc chất pha loãng rắn hoặc lỏng thích hợp để tạo ra viên nang, viên nén, viên thuốc tròn, bột, xi rô, dung dịch, hỗn dịch và các dạng tương tự.

Viên nén, viên thuốc tròn, viên nang, và các dạng tương tự chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 99 phần trăm khối lượng và tá dược dính chẳng hạn như gôm tragacan, acacia, tinh bột ngô hoặc gelatin; tá dược chẳng hạn như đicanxi phosphat; tá dược rã chẳng hạn như tinh bột ngô, tinh bột khoai tây hoặc axit alginic; tá dược trơn chẳng hạn như magie stearat; và/hoặc chất làm ngọt chẳng hạn như sucroza, lactoza, sacarin, xylitol, và các chất tương tự. Khi dạng phân liều đơn vị là

viên nang, thông thường nó chứa, chất mang lỏng chẳng hạn như dầu béo ngoài các chất liệu thuộc dạng nêu trên.

Theo một số phương án, còn có các chất liệu khác nhau khác để dùng làm lớp phủ hoặc làm biến đổi dạng vật lý của đơn vị phân li. Chẳng hạn, theo một số phương án, viên nén được phủ bằng sen-lắc, đường hoặc cả hai chất này. Theo một số phương án, xi rô hoặc cồn thuốc ngọt còn chứa, ngoài hoạt chất, sucroza như là chất làm ngọt, metyl và propylparaben như là chất bảo quản, thuốc màu và các chất tạo hương vị chẳng hạn như chất điều hương vị anh đào hoặc cam, và các chất tương tự.

Đối với một số phương án liên quan đến việc cấp ngoài đường tiêu hóa, các hợp chất được bọc lộ hoặc các muối, các solvat, các dạng hồ biến hoặc các dạng đa hình của chúng, có thể được kết hợp với nước hoặc hữu cơ vô trùng để tạo ra các dung dịch hoặc hỗn dịch dùng để tiêm. Theo một phương án, chế phẩm dùng để tiêm là các dung dịch hoặc hỗn dịch đẳng trương trong nước. Chế phẩm này có thể được tiệt trùng và/hoặc chứa các chất bổ trợ, chẳng hạn như chất bảo quản, chất ổn định, chất thẩm ướt hoặc chất nhũ hoá, chất thúc đẩy tạo dung dịch, muối để điều hòa áp suất thẩm thấu và/hoặc dung dịch đệm. Ngoài ra, chế phẩm này còn có thể chứa các chất có giá trị trị liệu khác. Chế phẩm này are được điều chế theo các phương pháp trộn, tạo hạt hoặc bao thông thường, lần lượt, theo một phương án, chứa trong khoảng từ 0,1 đến 75%, theo một phương án, chế phẩm này chứa trong khoảng từ 1 đến 50%, hoạt chất.

Ví dụ, các dung dịch dùng để tiêm được bào chế bằng cách sử dụng các dung môi chẳng hạn như dầu vừng hoặc dầu lạc hoặc propylen glycol trong nước, cũng như dung dịch nước của các muối của hợp chất được dung tan trong nước. Theo một số phương án, các hệ phân tán được điều chế trong glyxerol, polyetylen glycol lỏng và hỗn hợp của chúng trong dầu. Trong điều kiện bảo quản và sử dụng bình thường, các chế phẩm này chứa chất bảo quản để ngăn ngừa sự phát triển của vi sinh vật. Thuật ngữ "việc cấp ngoài đường tiêu hóa" và "được cấp ngoài đường tiêu hoá" như được sử dụng ở bản mô tả này dùng để chỉ cách thức cấp không phải là cấp qua đường tiêu hóa và cấp khu trú, thông thường bằng cách tiêm, và bao gồm, không mang tính giới hạn, trong ở tiêm và tiêm truyền trong tĩnh mạch, qua cơ, trong động mạch, nội tuỷ mạc,

trong bao, trong ổ mắt, trong tim, trong da, trong màng bụng, qua khí quản, dưới da, dưới biểu bì, trong khớp, dưới bao, dưới màng nhện, vào tuỷ sống và trong ức tiêm.

Để cấp qua đường trực tràng, được phẩm thích hợp, ví dụ, là chế phẩm, thuốc đạn hoặc thuốc thụt dùng khu trú. Tốt hơn nếu thuốc đạn được điều chế từ nhũ tương hoặc hỗn dịch béo. Chế phẩm này có thể được tiết trùng và/hoặc chứa các chất bổ trợ, chẳng hạn như các chất bảo quản, chất ổn định, chất thấm ướt hoặc chất nhũ hoá, các chất thúc đẩy tạo dung dịch, các muối để điều hòa áp suất thẩm thấu và/hoặc các dung dịch đệm. Ngoài ra, chúng có thể còn chứa các chất có giá trị trị liệu khác. Các chế phẩm này được bào chế theo phương pháp phối trộn, tạo hạt hoặc bao thông thường, lần lượt, và chứa trong khoảng từ 0,1 đến 75%, theo một phương án khác, chế phẩm chứa trong khoảng từ 1 đến 50%, hoạt chất.

Theo một số phương án, các hợp chất hoặc các muối này được bào chế để phân phối hoạt chất bằng cách cấp qua đường phổi, ví dụ, cấp chế phẩm dạng sol khí chứa hoạt chất từ, ví dụ, bơm phun xịt vận hành bằng tay, máy khí dung hoặc máy hít định liều nén. Theo một số phương án, các chế phẩm thích hợp thuộc dạng này còn bao gồm các tác nhân khác, chẳng hạn như tác nhân khử tĩnh điện, để duy trì tình trạng các hợp chất hoặc các muối được bộc lộ như là dạng sol khí hữu hiệu.

Thiết bị phân phối thuốc dùng để phân phối sol khí là hộp nhỏ sol khí thích hợp có van đo lường chứa được phẩm dạng sol khí như đã mô tả và bộ khởi động thích hợp để giữ hộp nhỏ và thực hiện việc phân phối thuốc. Hộp nhỏ trong thiết bị phân phối thuốc có khoảng trống ở đầu lớn hơn khoảng 15% tổng thể tích của hộp nhỏ. Thông thường, polyme dự định để phân phối qua đường phổi được hoà tan, được tạo huyền phù hoặc nhũ hóa trong hỗn hợp gồm dung môi, chất hoạt động bề mặt và chất đẩy. Hỗn hợp này được duy trì trong điều kiện áp suất trong hộp nhỏ đã được gắn van đo lường.

Để cấp qua đường mũi, có thể sử dụng chất mang rắn hoặc chất mang lỏng. Chất mang rắn bao gồm bột thô có cỡ hạt nằm trong khoảng, ví dụ, từ 20 đến 500 micron và chế phẩm này được cấp bằng cách hít nhanh qua ống đường mũi. Theo một số phương án trong đó có sử dụng chất mang lỏng, chế phẩm này được cấp dưới dạng

dịch phun hoặc giọt nhỏ qua đường mũi và bao gồm dung dịch hoạt chất trong dầu hoặc nước.

Hoạt chất có thể được điều chế cùng với chất mang sẽ bảo vệ chống lại sự thanh thải nhanh chóng ra khỏi cơ thể. Ví dụ, có thể sử dụng chế phẩm giải phóng có kiểm soát, bao gồm các viên cấy và các hệ phân phối vi nang. Có thể sử dụng polyme tương thích sinh học có khả năng bị phân huỷ sinh học chẳng hạn như etylen vinyl axetat, polyanhydrit, axit polyglycolic, collagen, polyortho este, và axit polylactic. Các phương pháp bào chế các dạng bào chế như vậy sẽ là rõ ràng đối với các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, các chất liệu này cũng có thể mua được từ Alza Corporation và Nova Pharmaceuticals, Inc. Cũng có thể sử dụng huyền phù mỡ (bao gồm liposom hướng đích đến các tế bào bị nhiễm có kháng thể đơn dòng chống lại các kháng nguyên virus) làm các chất mang được dụng. Có thể điều chế các chất này theo các phương pháp đã biết đối với các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, như mô tả trong patent Mỹ số 4,522,811.

Hỗn hợp và chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất làm khô. Các chất làm khô thích hợp mà có thể được sử dụng theo sáng chế là các chất an toàn dùng làm dược phẩm, và bao gồm, ví dụ, các chất tinh khiết cấp dược phẩm là silicagel, natri tinh thể, kali hoặc canxi aluminosilicat, silic đioxit dạng keo, canxi sulphat khan và các chất tương tự. Chất hút ẩm có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 1,0% đến 20,0%, hoặc nằm trong khoảng từ 2% đến 15% khối lượng/khối lượng (hoặc giá trị bất kỳ trong khoảng nêu trên).

Các dạng bào chế cũng được dự định là dạng phân liều phân tán nhanh, còn được gọi là dạng "liều nhanh". Đặc biệt là, một số phương án của sáng chế là chế phẩm được bào chế giải phóng hoạt chất trong đó trong một khoảng thời gian ngắn, ví dụ, thông thường ít hơn khoảng năm phút, theo một phương án khác, ít hơn khoảng 90 giây, theo một phương án khác, ít hơn khoảng 30 giây và theo một phương án khác, ít hơn khoảng 10 hoặc 15 giây. Các dạng bào chế như vậy thích hợp để cấp cho đối tượng qua nhiều đường, ví dụ như bằng cách cài vào khoang cơ thể hoặc cấp vào bề mặt cơ thể ẩm hoặc vết thương mở.

Thông thường, “liều lượng nhanh” là dạng phân liều rắn được cấp qua đường miệng, phân tán một cách nhanh chóng trong miệng, và do đó không đòi hỏi phải nuốt và cho phép hợp chất được đưa vào hoặc hấp thu nhanh chóng qua màng niêm mạc miệng. Theo một số phương án, dạng phân liều phân tán nhanh thích hợp còn được dùng trong các ứng dụng khác, bao gồm việc điều trị vết thương và các chấn thương cơ thể khác và các tình trạng bệnh trong đó giải phóng thuốc bằng ẩm được cấp bên ngoài là không thể được.

Các dạng “liều nhanh” là đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này; xem chẳng hạn, dạng viên sủi phân liều và lớp phủ giải phóng nhanh vi hạt không tan trong các patent Mỹ số 5,578,322 và 5,607,697; bột và chất lỏng được sấy ở điều kiện lạnh trong các patent Mỹ số 4,642,903 và 5,631,023; kéo sợi từ dạng nóng chảy của dạng phân liều trong các patent Mỹ số 4,855,326, 5,380,473 và 5,518,730; sản xuất dạng không định hình rắn theo patent Mỹ số 6,471,992; chất nền mang trên cơ sở sacarit và tá được dính lỏng theo các patent Mỹ số 5,587,172, 5,616,344, 6,277,406, và 5,622,719; và các dạng khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối của chúng còn được bào chế dưới dạng các dạng bào chế “giải phóng theo xung”, trong đó hợp chất hoặc muối được giải phóng ra khỏi dược phẩm theo các đợt giải phóng (tức là các xung). Các hợp chất hoặc các muối òn được bào chế dưới dạng bào chế “giải phóng kéo dài” trong đó hợp chất hoặc muối được giải phóng một cách liên tục ra khỏi dược phẩm trong một khoảng thời gian kéo dài.

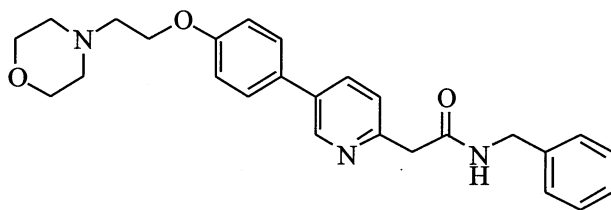
Ngoài ra cũng được dự tính là các dạng bào chế, ví dụ, các dạng bào chế lỏng, bao gồm tác nhân bao nang hoặc solvat hóa mạch vòng hoặc không mạch vòng, ví dụ, xyclodextrin, polyete, hoặc polysacarit (ví dụ, metylxenluloza), hoặc theo một phương án khác, các dẫn xuất β -cyclodextrin polyanion với nhóm muối natri sulfonat được tách riêng ra khỏi khoang ưa chất béo bằng nhóm liên kết không gian alkyl ete hoặc polysacarit. Theo một phương án, tác nhân này là metylxenluloza. Theo một phương án khác, tác nhân này là dẫn xuất β -cyclodextrin polyanion với nhóm muối natri sulfonat được tách riêng ra khỏi khoang ưa chất béo bằng nhóm liên kết không gian butyl ete, ví dụ, CAPTISOLđ (CyDex, Overland, KS). Chuyên gia trong lĩnh vực kỹ

thuật này có thể đánh giá các tỷ lệ thích hợp chế phẩm tác nhân/ hợp chất được bộc lộ bằng cách điều chế dung dịch chứa tác nhân này trong nước, ví dụ, 40% khối lượng dung dịch; điều chế các pha loãng theo bậc, ví dụ để tạo ra các dung dịch 20%, 10, 5%, 2,5%, 0% (đối chứng), và các dung dịch tương tự; thêm một lượng dư (so với lượng mà tác nhân có thể hòa tan) hợp chất hoặc muối được bộc lộ; trộn trong điều kiện thích hợp, ví dụ, gia nhiệt, khuấy trộn, dùng siêu âm, và các phương pháp tương tự; ly tâm hoặc lọc hỗn hợp thu được này để tạo ra dung dịch trong; và phân tích dung dịch này để cô đặc hợp chất hoặc muối được bộc lộ.

Tất cả các công bố và các tư liệu patent được viện dẫn trong bản mô tả này được kết hợp vào bản mô tả này theo cách viện dẫn như là mỗi tài liệu công bố hoặc tài liệu như vậy được chỉ ra cụ thể và đơn lẻ là được kết hợp vào bản mô tả này theo cách viện dẫn. Sự viện dẫn đến tài liệu công bố hoặc tài liệu không dự định là thừa nhận rằng tài liệu bất kỳ là tình trạng kỹ thuật thích hợp, cũng như không thừa nhận về nội dung hoặc ngày của các tài liệu này. Sáng chế nay được mô tả thông qua phần mô tả, chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận biết được sáng chế có thể được thực hiện theo nhiều phương án và phần mô tả nêu trên và các ví dụ sau đây chỉ là cho mục đích minh họa chứ không nhằm giới hạn các điểm Yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Tổng hợp quy mô nhỏ KX2-391



Quá trình tổng hợp sơ bộ được mô tả sau đây đã được minh họa trong US20060160800A1. Quy trình này là hữu ích cho các phản ứng quy mô nhỏ, ví dụ, các phản ứng tạo ra lên đến 50 g sản phẩm.

Để dùng cho quy trình tổng hợp sau đây, trừ khi được quy định khác đi, các chất phản ứng và dung môi được sử dụng như là dạng mua được từ nhà cung cấp thương mại. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton và cacbon thu được trên thiết bị đo

quang phổ Bruker AC 300 hoặc Bruker AV 300 ở 300 MHz đối với proton và 75 MHz đối với cacbon. Các phổ được ghi theo ppm (δ) và hằng số liên hợp, J , được ghi theo Hertz. Tetrametylsilan được sử dụng làm chất chuẩn nội tại cho phổ proton và các đỉnh của dung môi được dùng làm đỉnh tham chiếu cho phổ cacbon. Phổ khối và số liệu LC-MS được thu trên thiết bị đo phổ khối ion hoá tại áp suất khí quyển (APCI atmospheric pressure ionization) Perkin Elmer Sciex 100. Thu được phân tích LC-MS bằng cách sử dụng cột Luna C8(2) (100 x 4,6 mm, Phenomenex) với phát hiện UV ở 254 nm bằng cách sử dụng chương trình gradient dung môi chuẩn (Phương pháp B). Phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC thin-layer chromatography) được thực hiện bằng cách sử dụng các đĩa silicagel Analtech và được hiện hình ảnh bằng ánh sáng tử ngoại (UV ultraviolet), iot, hoặc 20% khối lượng axit phosphomolybđic trong etanol. Thu được các phân tích HPLC bằng cách sử dụng cột Prevail C18 (53 x 7 mm, Alltech) với việc phát hiện UV ở 254 nm bằng cách sử dụng chương trình gradient dung môi chuẩn (Phương pháp A hoặc B).

Phương pháp A:

A = Nước với 0,1 thể tích/thể tích axit trifloaxetic

B = Axetonitril với 0,1 thể tích/thể tích axit trifloaxetic

Thời gian (phút)	Dòng chảy (ml/phút)	%A	%B
0,0	3,0	95,0	5,0
10,0	3,0	0,0	100,0
11,0	3,0	0,0	100,0

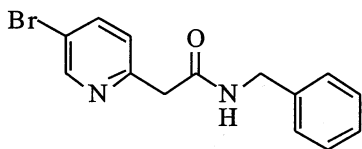
Phương pháp B:

A = Nước với 0,02 thể tích/thể tích axit trifloaxetic

B = Axetonitril với 0,02 thể tích/thể tích axit trifloaxetic

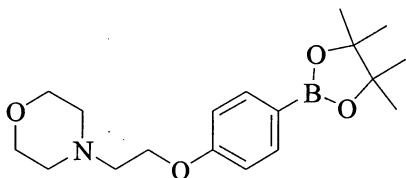
Thời gian (phút)	Dòng chảy (ml/phút)	%A	%B
0,0	2,0	95,0	5,0
4,0	2,0	5,0	95,0

Tổng hợp *N*-benzyl-2-(5-bromopyridin-2-yl)axetamit:



Nạp 5-(5-bromopyridin-2(1H)-yliden)-2,2-dimetyl-1,3-dioxan-4,6-dion (1,039 g, 3,46 mmol), benzylamin (0,50 ml, 4,58 mmol), và toluen (20 ml) vào bình thót cổ. Hỗn hợp phản ứng này được cho hồi lưu dưới khí nitơ trong thời gian 18 giờ, sau đó được làm lạnh và đưa vào tủ đá cho đến khi lạnh. Thu gom sản phẩm bằng cách lọc và rửa bằng hexan để tạo ra khối tinh thể màu trắng sáng (1,018 g, 96%).

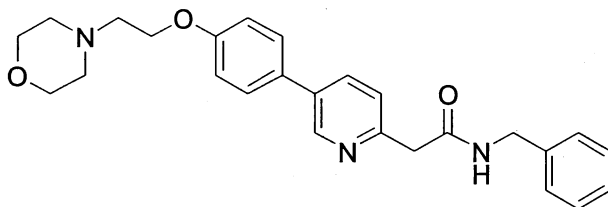
Tổng hợp 4-(2-(4-(4,4,5,5-tetrametyl[1,3,2]đioxaborolan-2-yl)-phenoxy)etyl)morpholin:



Cho từng giọt DIAD (2,82 g, 13,9 mmol) vào dung dịch có khuấy gồm 4-(4,4,5,5-tetrametyl[1,3,2]đioxaborolan-2-yl)-phenol (2,55 g, 11,58 mmol), 2-morpholin-4-yletanol (1,60 ml, 1,73 g, 13,2 mmol) và triphenyl phosphin (3,64 g, 13,9 mmol) trong metylen clorua (60 ml) ở nhiệt độ 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Sau 18 giờ, bổ sung phần triphenyl phosphin (1,51 g, 5,8 mmol), 2-morpholin-4-yletanol (0,70 ml, 5,8 mmol), và DIAD (1,17 g, 5,8 mmol) vào. Sau khi khuấy thêm 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng cô đặc hỗn hợp phản ứng này và tinh chế phần còn lại bằng cách sắc ký nhanh (5% đến 25% EtOAc trong CHCl₃) để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (2,855 g, 74%).

Tổng hợp 2-(5-(4-(2-morpholinoetoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit

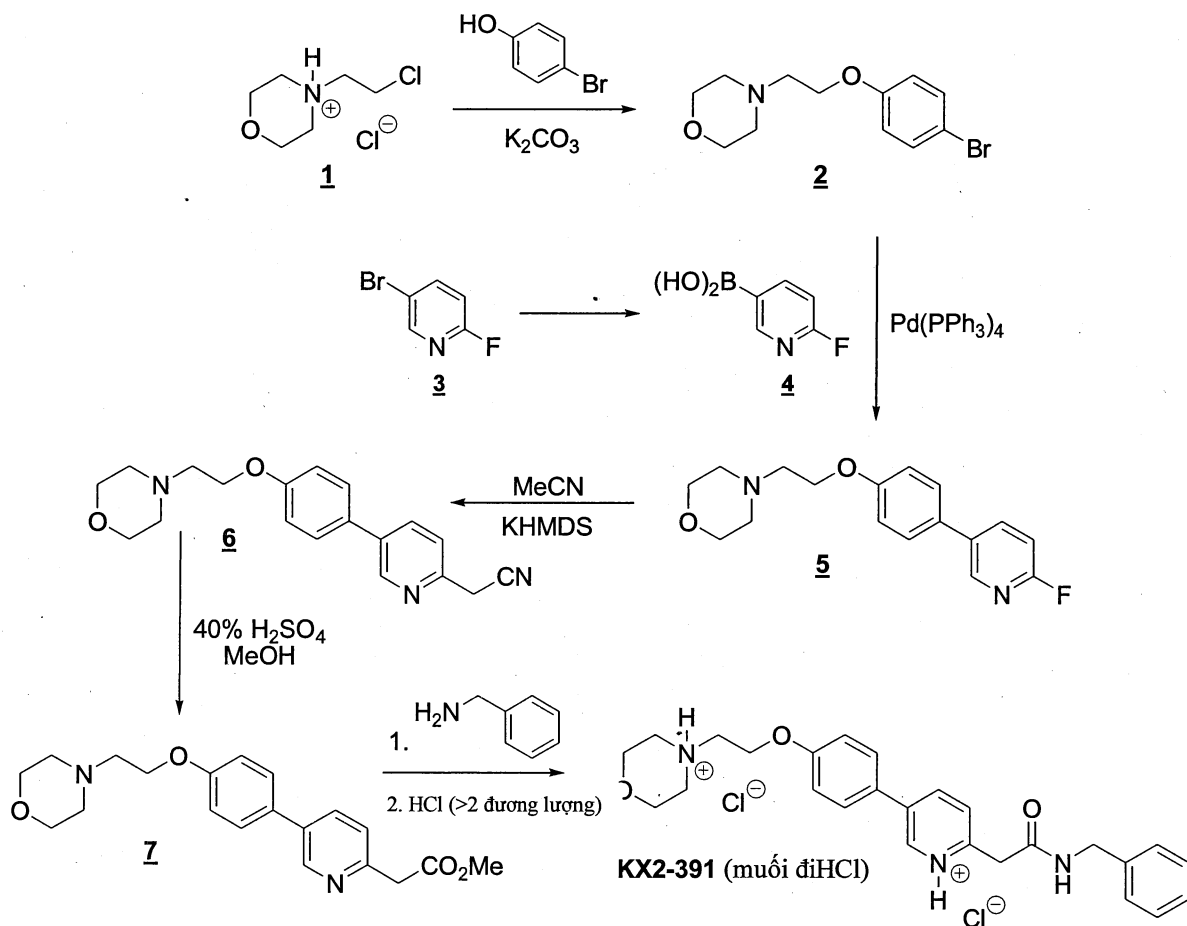
KX2-391



Nạp *N*-benzyl-2-(5-bromopyridin-2-yl)axetamit (123 mg, 0,403 mmol), 4-(2-(4-(4,4,5,5-tetrametyl[1,3,2]đioxaborolan-2-yl)-phenoxy)etyl)morpholin (171 mg, 0,513 mmol), và FibreCat 1007 (30 mg, 0,015 mmol) vào ống phản ứng có dung tích 10 ml có nút là vách ngăn và thanh khuấy. Cho etanol (3 ml) vào, sau đó là dung dịch kali cacbonat trong nước (0,60 ml, 1,0 M, 0,60 mmol). Ống này được đậy lại và được gia nhiệt trong điều kiện vi sóng ở nhiệt độ 150°C trong thời gian 10 phút. Làm nguội hỗn hợp phản ứng và cô đặc để tách loại phần lớn etanol, và sau đó cho vào 10 ml etyl axetat và rửa liên tiếp bằng nước và dung dịch natri clorua bão hoà. Làm khô lớp hữu cơ bằng MgSO₄, lọc và cô đặc tạo ra chất rắn màu trắng. Chất rắn màu trắng này được nghiền với etyl ete để tạo ra KX2-391 dưới dạng chất rắn màu trắng (137 mg, 79%): mp 135–137°C.; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,70 (d, 1H, *J*=2,0 Hz), 7,81 (dd, 1H, *J*=2,4 Hz, *J*=8,0 Hz), 7,65 (br s, 1H), 7,49 (d, 2H, *J*=8,8 Hz), 7,37–7,20 (m, 6H), 7,01 (d, 2H, *J*=8,8 Hz), 4,49 (d, 2H, *J*=5,8 Hz), 4,16 (t, 2H, *J*=5,7 Hz), 3,82 (s, 2H), 3,78–3,72 (m, 4H), 2,84 (t, 2H, *J*=5,7 Hz), 2,62–2,58 (m, 4H); HPLC (Phương pháp B) 98,0% (AUC), *t_R* = 1,834 phút.; APCI MS *m/z* 432 [M+H]⁺.

Ví dụ 2: Tổng hợp quy mô vừa KX2-391 đi-hydroclorua

Phương pháp tổng hợp được phác thảo trong ví dụ này có thể được sử dụng cho các phản ứng quy mô vừa. Quy trình điều chế mở gồm ít nhất 50 g muối đihydroclorua của KX2-391 được thể hiện trên Sơ đồ 1. Phương pháp tổng hợp tuyến tính bao gồm 6 bước, với bước thứ bảy là điều chế một trong số các chất phản ứng, axit 6-flopyridin-3-ylboronic (là có sẵn trên thị trường). Hiệu suất chung cho cả quá trình là 35% với hiệu suất trung bình 83%, với bước tạo hiệu suất thấp nhất là 68%. Trong số bảy bước chỉ có một bước cần đến phương pháp sắc ký. Quy trình được liệt kê sau đây được thực hiện trên quy mô 70 g.



Bước đầu tiên là phương pháp tổng hợp ete Williamson giữa 4-bromophenol (131 g) và N-cloethylmorpholin (1 như là muối HCl; 141 g) bằng cách sử dụng bột K_2CO_3 (3 đến 3,5 đương lượng) làm bazơ và axetonitril làm dung môi. Các thành phần này được phối trộn và được khuấy ở điều kiện hồi lưu qua đêm với mức chuyển hóa cao (96,3-99,1%). Sau khi pha loãng với diclometan và heptan, hỗn hợp phản ứng này được lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm mong muốn 2 với hiệu suất hầu như theo định lượng (216 g). Lưu ý là với các cơ chất tương tự (ví dụ, 4-bromo-3-florophenol), mức chuyển hóa (thậm chí với mức gia nhiệt dư) không phải lúc nào cũng cao (ví dụ, 59,9-98,3%). Tốt hơn nếu cả alkyl clorua và K_2CO_3 là được mua từ Aldrich. Nếu tiếp tục, việc gia nhiệt cũng không hướng phản ứng đến thực hiện hoàn toàn, bromophenol không phản ứng có thể được loại ra một cách dễ dàng bằng cách hoà tan hỗn hợp phản ứng thô trong 4 phần toluen và việc rửa phenol bằng 4 phần NaOH trong nước 15%.

Một chất phản ứng cần thiết cho bước thứ hai (phản ứng liên hợp Suzuki) là axit 6-flopyridin-3-ylboronic (4). Mặc dù có sẵn trên thị trường, chất phản ứng này được điều chế một cách dễ dàng bằng trao đổi lithi-bromua 5-bromo-2-flopyridin (3,

102 g) với n-butyl lithi (1,2 đương lượng) ở nhiệt độ thấp ($<-60^{\circ}\text{C}$) trong TBME sau đó bổ sung triisopropylborat (1,65 đương lượng). Cả hai giai đoạn phản ứng này là ngắn, với tổng thời gian phản ứng (bao gồm cả thời gian bổ sung) là khoảng ~3 giờ. Quá trình tối được thực hiện bằng 24% NaOH trong nước, quá trình này cũng chiết sản phẩm để lại tạp chất trong lớp hữu cơ. Khi lớp nước được loại ra, sau đó lớp này được trung hoà bằng HCl và chiết bằng EtOAc. Sau khi làm khô chất hữu cơ và pha loãng bằng một phần heptan, quá trình cô đặc dẫn đến kết tủa/ kết tinh sản phẩm. Bước lọc tạo ra axit boronic có công thức 4 với độ tinh khiết tương đối cao (96,4% AUC) và hiệu suất tốt (69 g, 79-90%; tham khảo lưu ý về đánh giá hiệu suất của phần thử nghiệm), chất này có thể được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Bước phản ứng thứ hai là trình tự tuyến tính (phản ứng liên hợp Suzuki) là phản ứng đơn giản để thiết lập; tất cả các chất phản ứng [2 (111 g), Na_2CO_3 trong nước, DME, và $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,04 đương lượng)] được nạp vào bình phản ứng thót cổ và hỗn hợp này được đun hồi lưu; lưu ý là hỗn hợp phản ứng này đã được loại khí để tách loại oxy. Khi phản ứng diễn ra hoàn toàn (trong thời gian 7 giờ), bước hoàn thiện bao gồm việc làm lắng gạn (hoặc hút bằng xifông) dung dịch phản ứng từ các muối hữu cơ ở một phía bình (không nhận thấy có lớp nước), rửa bình, và làm khô, và tách loại dung môi ra khỏi chất hữu cơ hỗn hợp. Việc kết tinh sản phẩm thô có công thức 5 từ isopropanol/heptan tạo ra chất liệu có độ tinh khiết được cải thiện so với sản phẩm thô, nhưng vẫn cần dùng đến phương pháp sắc ký (tỷ lệ silicagel so với sản phẩm thô là ~8,5:1) để thu được chất liệu đủ tinh khiết ($>98\%$); hiệu suất là 68% (79,5 g). Việc sử dụng hợp chất có công thức 5 sạch thì sẽ không cần dùng đến phương pháp sắc ký trong bước tiếp theo, thay thế axetonitril cho flo.

Việc thay thế florua bằng axetonitril cũng là một phản ứng đơn giản, và quá trình kết tinh ở nhiệt độ trong phòng đơn giản sản phẩm thô tạo ra hợp chất có công thức 6 sạch với hiệu suất và độ tinh khiết cao. Phản ứng này bao gồm việc tạo thành ban đầu “enolat” từ axetonitril (6,5 đương lượng) bằng cách sử dụng kali hexametyldisilan KHMDS (8 đương lượng)/THF ở nhiệt độ -10°C ngay lập tức sau đó thêm florua 5 (79 g). Phản ứng này diễn ra nhanh chóng và sau một giờ thật được quá trình tối bằng nước muối bão hoà. Sau khi làm khô và làm bay hơi dung môi gồm các chất hữu cơ, hỗn hợp thô thu được bao gồm chỉ hai thành phần, sản phẩm mong

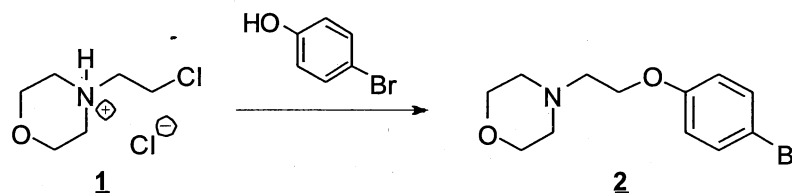
muôn và sản phẩm có cực với lượng ít hơn nhiều xuất hiện từ quá trình tự ngưng tụ rõ rệt axetonitril. Hỗn hợp thô này được khuấy mạnh trong isopropanol/heptan và được để qua đêm, tạo ra quá trình kết tinh hoàn toàn sản phẩm, chất này được lọc đi và rửa để tạo ra hợp chất có công thức 6 có độ tinh khiết cao (99,3% AUC) với hiệu suất tốt (64 g, 76%).

Thực hiện quá trình metanol phân hợp chất có công thức 6 (64 g) bằng cách gia nhiệt trong 40% H_2SO_4 (trong MeOH) cho đến khi phản ứng diễn ra hoàn toàn (25 giờ). Sau đó, hỗn hợp phản ứng này được làm lạnh, khuấy bằng MgSO_4 để chuyển hoá lượng vết sản phẩm thủy phân ($\text{ArCH}_2\text{-CO}_2\text{Me}$) trở thành sản phẩm, và sau đó được cho vào K_2CO_3 được làm lạnh, trong nước, với quá trình chiết đồng thời vào diclometan. Làm khô và làm bay hơi phần lớn DCM sau đó bổ sung 5% EtOAc (trong heptan) và cô đặc tiếp làm kết tinh sản phẩm. Lọc chất rắn và rửa tạo ra sản phẩm có độ tinh khiết cao (98,9% AUC) có công thức 7 với hiệu suất tốt (82%), cùng với sản phẩm có độ tinh khiết cao bổ sung (4 g) thu được từ nước cái cho hiệu suất tổng là 61,7 g (87%).

Bước amit hoá cũng bao gồm bước nạp bình phản ứng với các thành phần (hợp chất có công thức 7 (61 g), benzyl amin (3 đương lượng), và anisol có điểm sôi cao) và sau đó gia nhiệt ở điều kiện hồi lưu cho đến khi phản ứng là hoàn toàn. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng này tạo ra sự kết tinh hoàn toàn hợp chất đích với độ tinh khiết cao (98,9%) và hiệu suất tốt (81%).

Bước cuối là tạo ra muối diclohydric của hợp chất đích. Để đảm bảo quá trình proton hóa hoàn toàn ở cả hai vị trí cơ bản, phản ứng này được thực hiện trong etanol nguyên chất, chất này hoà tan tự do muối dihydroclorua. Sau khi làm bay hơi đến gần khô, hỗn hợp phản ứng này được “đuổi” bằng etanol hai lần để tách loại hydro clorua dư. Dầu nhớt thu được được hoà tan trong etanol (2 phần) và sau đó được cho vào, bằng cách khuấy nhanh, đến thể tích lớn (20 phần) EtOAc (etyl axetat). Lọc, rửa bằng etyl axetat (không có heptan) và làm khô trong chân không tạo ra muối dihydroclorua của KX2-391 dưới dạng bột màu trắng như kem. Thu được tổng số 68 g (hiệu suất 97%) muối cuối với độ tinh khiết cao (99,6% AUC), mà có chứa lượng vết EtOAc (4,8% khối lượng/khối lượng), EtOH (0,3% khối lượng/khối lượng), và heptan (0,6%

khối lượng/khối lượng; từ nước rửa cuối bằng heptan trước khi làm khô trong chân không). Muối này còn được kết tinh (thay cho phương pháp kết tủa đã nêu trên) từ EtOH/EtOAc nóng để tạo ra hạt ở dạng tinh thể có lượng dung môi bị hấp thụ thấp hơn nhiều (chỉ 0,26% khối lượng/khối lượng EtOAc và 0,45% khối lượng/khối lượng EtOH) và ở dạng chảy tự do.

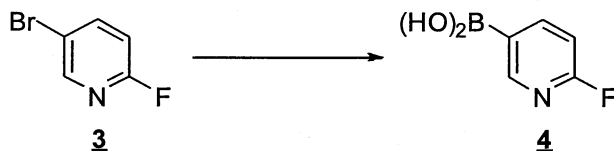


Điều chế 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin (2):

Nạp hợp chất có công thức 1 (140,7 g, 0,756 mol), 4-bromophenol (130,6 g, 0,755 mol), bột K₂CO₃ khan (367,6 g, 2,66 mol, 3,5 đương lượng), và axetonitril (1,3 L) bình thót cổ ba cổ đáy bằng dung tích 5 L, được trang bị máy khuấy cơ học, nhiệt kế với bộ điều hợp, bộ ngưng tụ, và đường dẫn khí nitơ (ở đỉnh bộ ngưng tụ). Hỗn hợp này được khuấy mạnh (lưỡi dao đến tận đáy bình thót cổ) ở nhiệt độ 80 °C (qua đêm), sau đó pha loãng với DCM (500 ml) và heptan (200 ml) và lọc qua Xelit. Làm bay hơi đến khô (thiết bị bay hơi thùng quay, sau đó chân không cao) tạo ra hợp chất có công thức 2 dưới dạng dầu thô màu vàng sáng (216,00 g, hiệu suất 100%, 96,3% AUC, chứa 3,7% bromophenol không phản ứng). Chất liệu này được sử dụng thành công mà không cần tinh chế thêm.

¹H NMR (CDCl₃) δ 2,57 (t, 4 H), 2,79 (t, 2 H), 3,73 (t, 4 H), 4,08 (t, 2 H), 6,78 (d, 2 H), 7,37 (d, 2 H). MS (từ LC/MS): *m/z* 287,1 [M + 1].

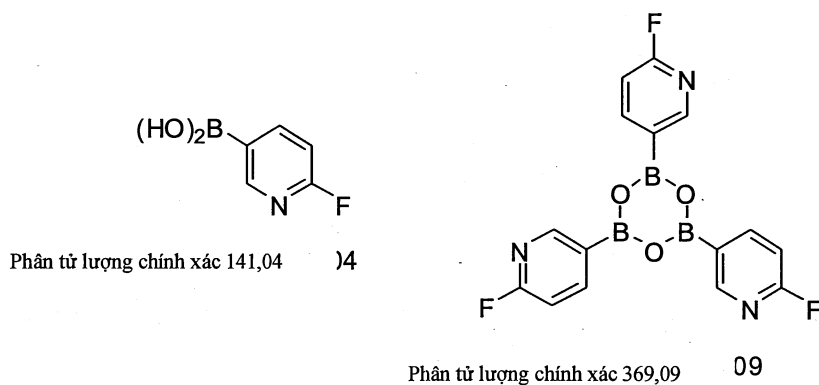
Việc bromophenol có thể được loại bỏ một cách dễ dàng được chứng minh trên 2 g mẫu bằng cách trước hết hoà tan mẫu này trong toluen (8 g) và rửa bằng 8 g 15% NaOH trong nước; phương pháp sắc ký lỏng cho thấy là không có dấu vết của bromophenol không phản ứng trong sản phẩm được thu hồi (1,97 g; hiệu suất thu hồi 98,5%).



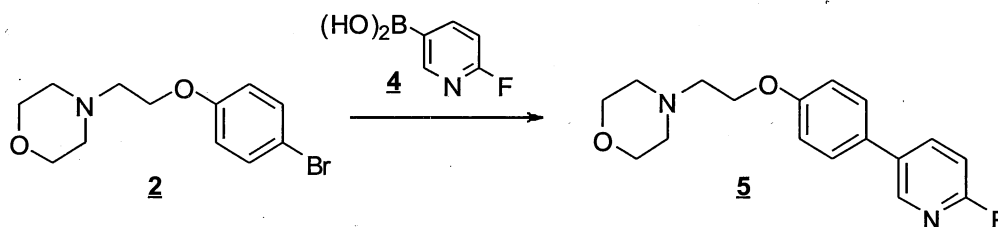
Điều chế axit 6-flopyridin-3-ylboronic (4):

Cho (bằng xi ranh) 2 M BuLi (352 ml, 0,704 mol, 1,2 đương lượng) vào [TBME] khan được khuấy và làm lạnh (trong bể đá -axeton khô) (620 ml; trong bình thót cổ ba cổ đáy bằng dung tích 3 L được trang bị máy khuấy cơ học, mẫu dò nhiệt độ với bộ điều hợp, và đường dẫn khí nitơ). Cho dung dịch chứa hợp chất có công thức 3 (102,2 g, 0,581 mol) trong TBME khan (100 ml) vào hỗn hợp được khuấy nhanh và được làm lạnh ($< -75^{\circ}\text{C}$) này trong thời gian 13 phút trong thời gian đó nhiệt độ bên trong tăng lên đến -62°C . Khuấy hỗn hợp phản ứng này trong 45 phút nữa (nhiệt độ được duy trì trong khoảng -62°C đến -80°C), sau đó bổ sung nhanh và và theo trình tự bốn phần triisopropylborat (tổng cộng 180 g, 0,957 mol, 1,65 đương lượng). Vào lúc cuối quá trình bổ sung, nhiệt độ bên trong đã tăng lên đến -33°C . Sau khi khuấy thêm 45 phút bể làm lạnh (nhiệt độ bên trong giảm xuống từ -33°C đến -65°C), bể làm lạnh được loại ra và hỗn hợp được khuấy tăng nhiệt độ của mình lên đến -22°C trong thời gian 50 phút. Sau khi làm ấm (nhờ bể nước) đến nhiệt độ 6°C trong thời gian 15 phút, hỗn hợp phản ứng được khuấy này được đưa vào bể nước đá và sau đó được tôi dưới khí nitơ bằng dung dịch NaOH đã được làm lạnh (160 g) trong nước (500 ml). Khi quá trình bổ sung hoàn thành, nhiệt độ bên trong là 20°C . Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ. Lớp nước được loại ra, làm trung hoà đến độ pH 7 bằng ~ 350 ml HCl đặc, và sau đó chiết bằng EtOAc (3 x 1 L). Vì độ pH nay là 8-9, lớp nước được điều chỉnh đến độ pH 7 bằng cách sử dụng ~ 15 ml HCl đặc và chiết tiếp (2 x 1 L) bằng etyl axetat. Dịch chiết EtOAc kết hợp được làm khô (Na_2SO_4), lọc, và cô đặc đến thể tích bằng khoảng ~ 150 ml. Cùng với việc khuấy xoáy dịch cô đặc này, cho heptan vào từng phần (tổng thể tích 300 ml) để tạo ra dạng kết tủa/kết tinh của sản phẩm. Tiến hành lọc, rửa chất rắn bằng heptan (100 ml, 300 ml, sau đó 300 ml nữa), và làm khô bằng không khí tạo ra sản phẩm nêu ở tiêu đề dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (68,6 g, hiệu suất 79-90%*; độ tinh khiết LC 96,4%, NMR cho thấy ước tính có heptan với lượng 5,5% khối lượng/khối lượng), chất này được sử dụng thành công mà không cần tinh chế thêm. LC/MS cho thấy là chất này là hỗn hợp gồm

hai chất sau, mật độ của chất có khối lượng phân tử cao hơn là chủ yếu (*Lưu ý: hiệu suất phản ứng là 79% nếu giả sử rằng axit boronic là thành phần duy nhất và 90% nếu giả sử rằng borat mạch vòng là thành phần duy nhất):



^1H NMR (CDCl_3) δ 7,14 (dd, 1 H), 8,27 (ddd, 1 H), 8,39 (br s, 2 H, 2 OH), 8,54 (d mịn, 1 H). MS (từ LC/MS): m/z 143,0 [$M + 1$; đối với axit boronic] và 370,0 [$M + 1$; đối với borat mạch vòng nêu trên].



Điều chế 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)etyl)morpholin (5):

Nạp hợp chất có công thức 2 (110,7 g, 0,387 mol), 4 (71,05 g, 0,477 mol, 1,23 đương lượng) và DME (700 ml) vào bình thót cổ ba cổ đáy bằng dung tích 2 L được trang bị máy khuấy cơ học, nhiệt kế và bộ điều hợp, bộ ngưng tụ, và đường dẫn khí nitơ (ở đỉnh bộ ngưng tụ). Dung dịch được khuấy thu được được loại khí bằng cách chuyển dòng nitơ đi nhanh qua dung dịch được khuấy này trong thời gian 5 phút, sau đó bổ sung dung dịch Na_2CO_3 đã loại khí (121,06 g, 1,142 mol, 3 đương lượng) trong H_2O (250 ml) và ngoài ra là $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ rắn (19,8 g, 0,044 đương lượng). Ngay lập tức sau lần bổ sung cuối, khoảng trống phía trên của hỗn hợp phản ứng này được sục khí nitơ và sau đó hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 80-85 °C (nhiệt độ bên trong) trong thời gian 7 giờ, sau đó làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Vì không có lớp nước, dịch nổi trên bề mặt được lắng gạn, để lại phía sau các muối vô cơ (với nước được hấp

phụ). Bình phản ứng thốt cổ có các muối vô cơ được rửa bằng 50% điclorometan/ethyl axetat (2 x 250 ml), các phần dịch rửa được cho vào dịch nổi trên bề mặt được lắng gạn. Các chất hữu cơ hỗn hợp này được làm khô (Na_2SO_4), lọc, và làm bay hơi đến khô thành dầu màu nâu sẫm màu (148 g). Cho 150 g 50% heptan/ rượu isopropyl (IPA isopropyl alcohol) vào dầu này và sau khi khuấy xoáy và làm nguội (bằng bể nước đá), quá trình kết tinh bắt đầu. Bổ sung heptan nữa (50 g) vào và chất rắn thu được được lọc, rửa, và làm khô trong không khí để tạo ra 48 g chất rắn màu nâu sáng. Sau khi làm bay hơi dịch lọc đến khô, hỗn hợp thu được này được khuấy xoáy trong 100 ml 50% heptan/IPA, sau đó thêm một phần heptan nữa (~100 ml), đóng nút và đưa vào tủ đá cho quá trình kết tinh. Chất rắn tạo ra được lọc, rửa bằng heptan, và làm khô trong không khí để tạo ra 61 g chất rắn như gồm. Làm bay hơi dịch lọc thu được tạo ra dầu (34 g) mà có chứa lượng tạp chất có cực bao gồm $\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$ ít hơn đáng kể và được chia tách giữa 2 N HCl (240 ml) và EtOAc (220 ml). Lớp nước ở phía đáy được loại ra và sau đó khuấy bằng EtOAc đồng thời trung hoà bằng K_2CO_3 đến độ pH bằng 7-8. Lớp EtOAc này được làm khô, lọc, và làm bay hơi đến khô (22 g). Các phần 48 g, 61 g, và 22 g được cho sắc ký trên silicagel (1,1 Kg) được đóng gói trong DCM. Sự giải hấp bằng DCM (400 ml), 50% DCM/EtOAc (5 lít), và sau đó 50% DCM/EtOAc (8 lít) chứa lượng MeOH/ Et_3N tăng lên (bắt đầu với 1,5% MeOH/1% Et_3N và kết thúc với 5% MeOH/3% Et_3N) tạo ra 77,68 g dầu nhớt (độ tinh khiết 98,0%) chất này kết tinh ngay lập tức khi khuấy xoáy trong heptan (300 ml). Tiến hành lọc, rửa bằng heptan và làm khô bằng không khí tạo ra 75,55 g (98,7% AUC) chất rắn có công thức 5. Thu được thêm hợp chất có công thức 5 tinh khiết (tổng cộng 3,9 g, 98,6-99,3% AUC) từ các phân đoạn sắc ký trước chứa $\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$ bằng cách làm sạch chúng như đã được thực hiện cho 34 g mẫu nêu trên, sau đó là kết tinh bay hơi. Hiệu suất tổng thu hợp chất có công thức 5 là 79,5 g (68%).

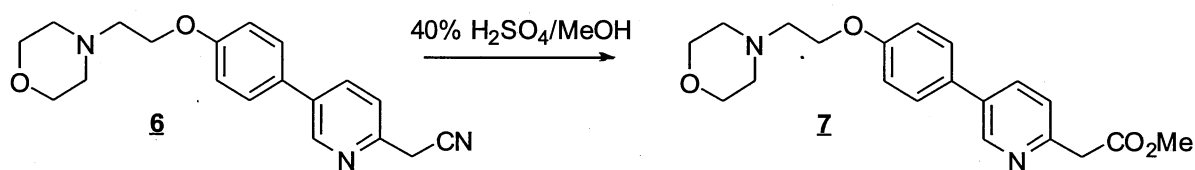
^1H NMR (CDCl_3) δ 2,59 (t, 4 H), 2,84 (t, 2 H), 3,75 (t, 4 H), 4,16 (t, 2 H), 6,97 (dd, 1 H), 7,01 (d, 2 H), 7,46 (d, 2 H), 7,92 (ddd, 1 H), 8,37 (fine d, 1 H). MS (từ LC/MS): m/z 303,2 [$M + 1$].



Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril (6):

Bình thót cổ ba cổ đáy bằng dung tích 3 L được trang bị máy khuấy cơ học, nhiệt kế và bộ điều hợp, phễu nạp nữa, và đường dẫn khí nitơ (trên đỉnh của phễu nạp, áp suất dương qua máy sục khí). Bằng dòng khí nitơ thổi nhanh qua máy sục khí, nút được bật ra và nạp bình với KHMDS (415,8 g, 2,08 mol) và sau đó là THF khan (1 L). Cho từng giọt dung dịch chứa MeCN (70 g) trong THF (110 ml) vào dung dịch KHMDS/THF được khuấy và được làm lạnh (bể đá/metanol, nhiệt độ bên trong dung dịch là -8°C) trong thời gian 22 phút, ngay sau đó là bổ sung một cách tương đối nhanh (4 phút) dung dịch chứa hợp chất có công thức 5 (79,06 g, 0,262 mol) trong THF (400 ml), sau thời gian này nhiệt độ bên trong của hỗn hợp phản ứng đạt đến 10°C . Nhờ làm nguội tiếp (1 giờ), nhiệt độ bên trong là -6°C và theo TLC phản ứng dường như là hoàn toàn. Sau 30 phút nữa (nhiệt độ bên trong -3°C), hỗn hợp phản ứng này được tôi bằng nước muối bão hoà (1 L) và pha loãng bằng EtOAc (500 ml). Sau khi loại lớp nước, dung dịch hữu cơ được làm khô (Na_2SO_4), lọc, và làm bay hơi đến khô (thành dầu), sau đó hoàn toàn hoà tan trong IPA (150 ml), pha loãng bằng heptan (300 ml), thêm mầm tinh thể (được điều chế bằng cách hoà tan $\sim 100\text{mg}$ dầu thô trong IPA ($\sim 150\text{ mg}$) và pha loãng bằng heptan ($\sim 2,5\text{ ml}$)), và để qua đêm. Sau khi khuấy để phá vỡ chất rắn ở dạng tinh thể, chất rắn này được lọc, rửa bằng 250 ml 2:1 heptan/IPA và sau đó rửa nhiều lần bằng heptan và làm khô trong không khí để tạo ra 64,38 g (hiệu suất 76%) sản phẩm nêu ở tiêu đề có công thức 6 dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt tinh thể (độ tinh khiết LC 99,3%). Thu được 5,88 g nữa chất liệu kém tinh khiết hơn từ dịch lọc.

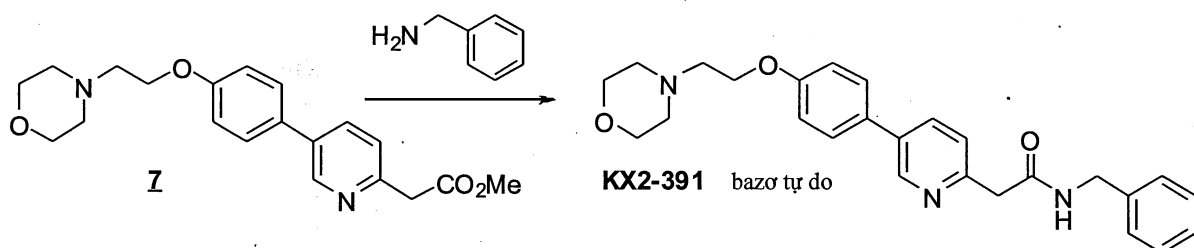
^1H NMR (CDCl_3) δ 2,59 (t, 4 H), 2,84 (t, 2 H), 3,74 (t, 4 H), 3,97 (s, 2 H), 4,17 (t, 2 H), 7,02 (d, 2 H), 7,46 (d, 1 H), 7,51 (d, 2 H), 7,87 (dd, 1 H), 8,77 (fine d, 1 H). MS (từ LC/MS): m/z 324,4 $[\text{M} + 1]$.



Điều chế methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat (7):

Nạp hợp chất có công thức 6 (64,00 g, 0,198 mol) và MeOH (360 g) vào bình thót cổ một cổ đáy bằng dung tích 2 L, sau đó bổ sung từng giọt H₂SO₄ (240 g) một cách từ từ và cẩn thận, và khuấy dung dịch đồng nhất tạo ra ở điều kiện hồi lưu (115 °C bề dầu) cho đến khi phản ứng diễn ra hoàn toàn (25 h với 0,8% chất liệu không phản ứng) với 3,5% ArCH₂CO₂H. Sau khi làm nguội nhanh chóng, cho MgSO₄ (75 g) vào, và hỗn hợp này được khuấy xoáy và để yên thêm 45 phút nữa (thành phần này là 96,3% sản phẩm, 0,8% chất liệu không phản ứng, và 2,5% ArCH₂CO₂H). Sau đó, cho từ từ hỗn hợp phản ứng này vào hỗn hợp của DCM (2 L) và dung dịch chứa K₂CO₃ (450 g) trong H₂O (600 ml) được khuấy nhanh và được làm lạnh (bể nước đá). Để yên nhũ tương thu được qua đêm. Phần dung dịch hữu cơ trong được hút bằng xifông đi và phần còn lại được xử lý lặp lại với nước và DCM, phần dịch hữu cơ trong được kết hợp với phần ban đầu mà được hút bằng xifông đi. Dịch hữu cơ hỗn hợp được làm khô (Na₂SO₄), lọc, và cô đặc đến thể tích ~1,2 L, sau đó bổ sung 300 ml 5% EtOAc (trong heptan) và sau đó là heptan (300 ml) và hỗn hợp này được cô đặc tiếp (thiết bị bay hơi thùng quay cùng với nhiệt) để tách loại DCM. Vào thời điểm này, cho 15 ml EtOAc vào và khuấy xoáy hỗn hợp nóng này cho đến khi quá trình kết tinh bắt đầu, khuấy xoáy tiếp tục cho đến khi quá trình kết tinh là gần như hoàn toàn, và sau đó để yên và làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng để cho quá trình kết tinh hoàn toàn. Sau đó, chất rắn được lọc, rửa bằng 300 ml 5% EtOAc (trong heptan) và heptan (100 ml) và sau đó làm khô trong không khí hoàn toàn để tạo ra 57,74 g (hiệu suất 82%) hợp chất có công thức 7 dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (98,9% AUC). Thu được 3,94 g sản phẩm sạch nữa (97,9% AUC) từ dịch lọc (hiệu suất tổng 87%).

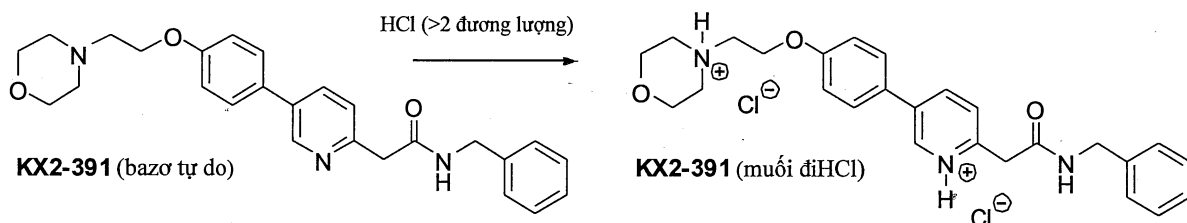
¹H NMR (CDCl₃) δ 2,60 (t, 4 H), 2,84 (t, 2 H), 3,74 (t và s nằm chồng lên nhau, 6 H), 3,89 (s, 2 H), 4,17 (t, 2 H), 7,01 (d, 2 H), 7,34 (d, 1 H), 7,49 (d, 2 H), 7,80 (dd, 1 H), 8,74 (fine d, 1 H). MS (từ LC/MS): *m/z* 357,4 [M + 1].



Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylacetamid (KX2-391 bazơ tự do).

Nạp hợp chất có công thức 7 (61,4 g, 0,172 mol), benzyl amin (55,6 g, 0,519 mol, 3 đương lượng), và khan anisol (300 g) vào bình thót cổ một cổ đáy bằng dung tích 1 L và sau đó khuấy ở điều kiện hồi lưu cho đến khi phản ứng hầu như hoàn toàn (23 giờ, nhiệt độ bể dầu 165 °C; nhiệt độ bên trong 147 °C) và sau đó làm nguội xuống nhiệt độ gần nhiệt độ phòng. Pha loãng một phần (1 ml) hỗn hợp phản ứng này với toluen (1 ml) tạo ra sự kết tinh hoàn toàn của phần đó. Sau đó, cho mẫu này vào hỗn hợp phản ứng và để yên cho đến khi toàn bộ hỗn hợp phản ứng đã kết tinh thành một khối. Cho toluen (150 ml) vào và khuấy xoay hỗn hợp này để phá vỡ chất rắn. Cho heptan/toluen (1:1, 100 ml) vào và hỗn hợp rắn này bị phá vỡ tiếp. Cuối cùng, cho heptan (50 ml, sau đó 25 ml) vào và hỗn hợp này còn bị phá vỡ tiếp, để yên thêm 30 phút trước khi lọc chất rắn này. Lọc chất rắn, rửa bằng 2:1 toluen/heptan (300 ml), 1:2 toluen/heptan (300 ml), và sau đó heptan (2 x 300 ml), và tiếp đó làm khô (không khí, sau đó chân không cao) tạo ra 60,16 g (hiệu suất 81%) sản phẩm nêu ở tiêu đề dưới dạng chất rắn màu trắng ($\geq 98,9\%$ AUC). Thu được thêm 2,5 g nữa chất liệu có độ tinh khiết kém hơn (97,4%) từ nước cái.

^1H NMR (CDCl_3) δ 2,60 (t, 4 H), 2,83 (t, 2 H), 3,74 (t, 4 H), 3,82 (s, 2 H), 4,18 (t, 2 H), 4,49 (d, 2 H), 7,01 (d, 2 H), 7,2-7,35 (m, 6 H), 7,49 (d, 2 H), 7,64 (br t, 1 H), 7,81 (dd, 1 H), 8,69 (fine d, 1 H). MS (từ LC/MS): m/z 432,5 $[\text{M} + 1]$.



Điều chế 4-(2-(4-(6-(2-(benzylamino)-2-oxoethyl)pyridini-3-yl)phenoxy)ethyl)-morpholin-4-ium clorua (KX2-391, diHCl muối).

Cho 170 ml 2,5 M HCl (trong etanol) vào huyền phù có khuấy của KX2-391 (bazơ tự do, 60,00 g) trong EtOH nguyên chất (600 ml), rửa sạch thành bình bằng 25 ml EtOH. Khuấy dung dịch đồng nhất tạo ra ở nhiệt độ trong phòng (20 phút) và sau đó làm bay hơi đến gần khô (đến sủi bọt). Sau khi đuổi khí bằng EtOH (2 x 150 ml), phần còn lại lại được cho vào EtOH (150 ml) và sau đó thêm từ từ heptan cho đến khi hỗn hợp này ở dạng bão hoà (cần 33 ml để giữ được tình trạng vẩn đục). Sau khi để qua đêm, tạo ra hai lớp. Sau khi bổ sung thêm heptan nữa (250 ml) cũng không thể gây ra quá trình kết tinh và vì vậy hỗn hợp phản ứng này được cô đặc đến thể tích ~200 ml, ở thời gian này hỗn hợp này là đồng nhất. Cho từng giọt dung dịch đồng nhất đặc này vào EtOAc (2 L) được khuấy rất nhanh (khuấy cơ học). Sau khi bổ sung xong, rửa bình thốt cổ ban đầu bằng 25 ml EtOH và cho phễu nạp vào hỗn hợp được khuấy nhanh này. Quá trình khuấy nhanh được tiếp tục thêm khoảng ~1 h nữa và sau đó hỗn hợp này được lọc và rửa chất rắn (một phần như gôm) bằng EtOAc (300 ml) và sau đó là heptan. Ngay khi bắt đầu rửa bằng heptan, chất rắn trở thành dạng gôm nhiều hơn. Phễu Buchner nguyên liệu thủy tinh và các chất chứa trong đó được đẩy lại (giấy toilet/dải cao su) và được đưa ngay vào lò chân không. Sau khi để ở điều kiện chân không qua đêm ở nhiệt độ ~45 °C, rút điều kiện chân không bằng cách đưa nitơ vào, và phễu Buchner chứa sản phẩm (chất rắn dạng bột) được đưa ngay vào túi khóa kéo và sau đó, được đưa ngay dưới khí nitơ (túi găng tay) vào chai và chất rắn như bột được đập (bằng dao bay) thành bột. Đêm thứ hai trong điều kiện chân không cao (~45 °C) chỉ tạo ra 1,3 g thất thoát khối lượng bổ sung. Về cơ bản đạt được khối lượng ổn định vào đêm hút chân không cao thứ ba (~45 °C) trong đó chỉ mất 0,2 g khối lượng. Khối lượng cuối của chất liệu là 68,05 g (hiệu suất 97%), chứa 0,29 đương lượng (4,8% khối lượng/khối lượng) EtOAc, 0,035 đương lượng (0,3% khối lượng/khối lượng) EtOH, và 0,03 đương lượng (0,6% khối lượng/khối lượng) heptan. Độ tinh khiết là 99,6%.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 3,1-3,3 (m, 2 H), 3,45-3,65 (m, 4 H), 3,8-4,0 (m, 4 H), 4,11 (s, 2 H), 4,32 (d, 2 H), 4,57 (t, 2 H), 7,19 (d, 2 H), 7,2-7,4 (m, 5 H), 7,88 (d, 2 H),

7,93 (d, 1 H), 8,68 (dd, 1 H), 8,99 (br t, 1 H), 9,10 (fine d, 1 H), 11,8 (br s, 1 H). MS (từ LC/MS): m/z 432,5 [$M + 1$ of bazơ tự do].

Phân tích nguyên tố (cho $C_{26}H_{29}N_3O_3 \bullet 2 HCl \bullet 0,035 EtOH \bullet 0,29 EtOAc \bullet 0,03 heptan \bullet 0,8 H_2O$):

được tính toán (%): C, 60,03; H, 6,54; N, 7,65; Cl, 12,91

Theo thực nghiệm (%): C, 59,85/59,97; H, 6,54/6,47; N, 7,67/7,67; Cl, 3,10/13,24

FW tính toán: 534,63 (không tính đến 0,8 H_2O mà có thể xuất hiện trong quá trình xử lý bột rất hút ẩm này, vì 1H NMR không cho thấy sự có mặt của H_2O).

Đo lượng etyl clorua trong chất liệu này và nhận thấy là 98ppm. Ngoài ra, mẫu cũng được phân tích và nhận thấy là chứa 5800ppm heptan.

Phân tích một phần khác của mẫu này cho các kết quả sau đây: 99,6% AUC, 1640ppm etanol, 41,480ppm etyl axetat, 5600ppm heptan, không phát hiện được anisol, và 120ppm etyl clorua.

Quy trình để kết tinh lại muối này cũng được phát triển bằng cách sử dụng muối được sấy trên đây. Quy trình này chỉ hoạt động tốt với muối thô có độ tinh khiết cao (chứa EtOH dư) thu được từ quá trình cô đặc hỗn hợp phản ứng tạo muối HCl:

Muối này (575 mg) được hoà tan làm hai lần trong khối EtOH nguyên chất (1,157 g) và sau đó được gia nhiệt dưới khí nitơ. Cho 1,6 g 25% EtOH (trong EtOAc), sau đó là cho EtOAc (0,25 ml) vào dung dịch nóng này (được khuấy) tạo ra trạng thái vẫn đục duy trì. Dung dịch nóng ở trạng thái vẫn đục này được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng trong thời gian đó xảy ra quá trình kết tinh. Sau quá trình kết tinh xảy ra hoàn toàn (2 giờ), chất rắn ở dạng tinh thể được lọc, rửa bằng EtOAc khan (~40 ml), và làm khô trong chân không để tạo ra 424mg muối dihydroclorua của KX2-391 dưới dạng chất rắn chảy tự do (hạt nhỏ, 99,8% AUC) chỉ chứa 0,05 đương lượng (0,45% khối lượng/khối lượng) EtOH và 0,015 đương lượng (0,26% khối lượng/khối lượng) EtOAc. Đạt được hiệu suất thu hồi hơi cao hơn (460mg từ 586 mg) bằng cách sử dụng

isopropanol/EtOAc nhưng lượng dung môi bị mắc lại là cao hơn [0,085 đương lượng (1,0% khối lượng/khối lượng) isopropanol và 0,023 đương lượng (0,4% khối lượng/khối lượng) EtOAc].

Ví dụ 3: Tổng hợp quy mô lớn KX2-391 đi-HCl

Các chất phản ứng và dung môi được sử dụng ở dạng nhận được từ nhà cung cấp thương mại. Theo dõi tiến trình phản ứng bằng HPLC, GC/MS, hoặc ^1H NMR. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện bằng cách sử dụng các đĩa silicagel Analtech và được hiện hình ảnh bằng ánh sáng UV (254 nm). Thực hiện phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC - high pressure liquid chromatography) trên dụng cụ Agilent 1100 Series. Thu nhận phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton và cacbon bằng cách sử dụng Bruker AV 300 ở 300 MHz cho proton và 75 MHz cho cacbon. Các đỉnh của dung môi được dùng làm đỉnh tham chiếu cho phổ proton và cacbon.

Điều chế 4-(2-(4-Bromophenoxy)ethyl)morpholin (2)

Nạp 4-(3-clopropyl)morpholin (2,44 kg, 0,54 mol), 4-bromophenol (2,27 kg, 0,54 mol, 1,0 đương lượng), kali cacbonat dạng bột (6,331 kg, 1,88 mol, 3,50 đương lượng), và DMF (12,2 L) vào bình phản ứng được trang bị có lớp cách nhiệt dung tích 50 L có bộ ngưng tụ hồi lưu và mẫu dò nhiệt độ và khuấy. Sau đó, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ 60-65 °C và khuấy qua đêm. Sau 17,5 giờ, làm nguội hỗn hợp phản ứng này xuống nhiệt độ 20-25 °C. Nạp hỗn hợp phản ứng này vào một bình phản ứng khác được trang bị van ở dưới đáy để xử lý hoàn thiện. Nạp nước DI (48,7 L) vào bình phản ứng này đồng thời duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng 20-30 °C. Các pha được tách riêng. Chiết lớp nước bằng MTBE (3 x 24,4 L). Cho nước DI (18,3 L) và sau đó là 6M natri hydroxit (18,2 L) vào lớp hữu cơ hỗn hợp. Khuấy hỗn hợp này trong thời gian 2-5 phút và các pha được tách riêng. Pha hữu cơ này được rửa bằng nước (24,4 L) và nước muối (24,4 L), làm khô bằng magie sulfat, lọc, và cô đặc để tạo ra 3370g dầu thô màu vàng (hiệu suất thô 89%, AUC 99,4% theo HPLC).

Điều chế axit 6-flopyridin-3-ylboronic (4)

Bình phản ứng có dung tích 72 L được trang bị bộ ngưng tụ hồi lưu, và mẫu dò nhiệt độ. Nạp 5-bromo-2-flopyridin (1,17 L, 0,568 mol), toluen (18,2 L), và triisopropyl borat (3,13 L, 0,68 mol, 1,2 đương lượng) vào bình phản ứng và khuấy. Cho tetrahydrofuran (4,4 L) vào bình phản ứng và làm nguội hỗn hợp phản ứng này xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ -35 đến -50 °C. Cho cẩn thận n-butyl lithi (2,5 M dung dịch hexan, 5,44 L, 0,68 mol, 1,2 đương lượng) vào bình phản ứng đồng thời duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ -35 đến -45 °C. Sau 5 giờ, phản ứng được cho là diễn ra hoàn toàn và làm ấm hỗn hợp phản ứng này tới nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15 đến -20 °C. Cho 2M HCl (11,80L) vào hỗn hợp phản ứng trong bình phản ứng đồng thời duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15 °C đến 0 °C. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 18 đến 23 °C trong thời gian (16 giờ) và các pha được tách riêng. Sau đó, chiết lớp hữu cơ bằng 6 M natri hydroxit (6,0 L). Trộn pha nước anbasic có tính axit vào bình phản ứng và cho 6 M HCl (2,5 L) vào cho đến khi đạt được độ pH 7,5. Sau đó, bổ sung natri clorua (6,0 kg) vào pha nước. Tiếp theo, chiết pha nước bằng THF (3 x 20 L). Làm khô lớp hữu cơ hỗn hợp bằng magie sulfat và cô đặc để tạo ra 1300 g chất rắn màu nâu vàng (hiệu suất thô 81%).

Điều chế 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin (5)

Nạp axit 6-flopyridin-3-ylboric (2,84 kg, 1,24 đương lượng), 4-(2-(4-bromophenoxy)ethyl)morpholin (4,27 kg, 1,0 đương lượng), và DME (27 L) vào bình phản ứng có dung tích 72 L được trang bị bộ ngưng tụ hồi lưu, ống sục, máy sục khí, và mẫu dò nhiệt độ. Bắt đầu khuấy trộn và sau đó nạp natri cacbonat (4,74 kg, 3,0 đương lượng) dưới dạng dung dịch trong nước DI (17,1 L) vào hỗn hợp phản ứng này. Sục khí argon vào hỗn hợp phản ứng trong thời gian 50 phút. Cho tetrakis(triphenylphosphin)paladi (750 g, 0,04 đương lượng) vào hỗn hợp phản ứng này dưới dạng huyền phù đặc trong DME (1,0 L), dưới khí argon. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ 75 - 85 °C và khuấy qua đêm (17 giờ). Làm nguội hỗn hợp phản ứng này xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ 18 đến 22°C. Cho nước DI (26,681kg) và MTBE (26,681 L) vào bình phản ứng này và khuấy trong thời gian 5 phút. Các pha được tách riêng và chiết pha nước bằng MTBE (2 x 26,7 L). Chiết lớp hữu cơ hỗn hợp bằng 2M HCl (1 x 15,0 L, 3 x 21,8 L). Sau đó, nạp pha nước trở lại bình phản ứng và cho etyl axetat vào (26,7 L). Điều chỉnh độ pH đến 6,2 bằng cách sử

dụng 6 M natri hydroxit (26,7 L) đồng thời duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 25 °C. Các pha được tách riêng và chiết pha nước bằng etyl axetat (2 x 26,7 L). Làm khô lớp hữu cơ hỗn hợp này bằng magie sulfat và cô đặc để tạo ra 4555 g phần cặn (hiệu suất thô 101%, AUC 67,1% bằng HPLC).

Tinh chế 4-(2-(4-(6-flopyridin-3-yl)phenoxy)ethyl)morpholin (5)

Tinh chế sản phẩm thô (575 g) bằng sắc ký trên silicagel với rửa giải bằng metanol/etyl axetat/heptan (30% etyl axetat/heptan, 50% etyl axetat/heptan, 75% etyl axetat/heptan, 100% etyl axetat, và 5% metanol/etyl axetat). Cô đặc các phân đoạn tinh khiết bằng TLC (10% metanol/diclorometan, $R_f = 0,3$) tạo ra 420 g chất rắn màu nâu nhạt (hiệu suất thu hồi 73%, AUC bằng HPLC >99,9%).

Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril (6)

Cho dung dịch 1 M NaHMDS (2,0 L, 5,0 đương lượng) trong THF vào bình thót cổ có dung tích 5 lít và làm lạnh xuống nhiệt độ từ -20 đến -15 °C. Nạp florua (119,7g, 1,0 đương lượng) trong THF (500 ml) vào bình trong thời gian 20 phút đồng thời duy trì nhiệt độ thấp hơn -10 °C. Cho axetonitril (82,5 ml, 4,0 đương lượng) trong THF (170 ml) vào bình trong thời gian 20 phút, đồng thời duy trì nhiệt độ thấp hơn -10 °C. Sau đó, khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 1 giờ. Cho nước muối (1,5 L, 12,6 thể tích) vào hỗn hợp phản ứng này với tốc độ để duy trì nhiệt độ thấp hơn 10 °C. Tiếp theo, làm ấm dung dịch này đến nhiệt độ trong phòng và để các lớp được tách riêng. Lọc hỗn hợp này trên Xelit và rửa bằng THF (1 x 200 ml, 1 x 100 ml). Chiết pha nước bằng toluen (750 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được làm khô bằng magie sulfat, lọc, rửa bằng toluen (2 x 250mL), và cô đặc đến khô. Cho toluen (1L) vào và cô đặc tiếp dung dịch này đến khô để tạo ra 169,8 g dầu. Cho MTBE (1190 ml, 7 thể tích) vào dầu này ở nhiệt độ 50 °C và khuấy trong thời gian 15 phút. Cho heptan (850 ml, 5vol.) vào trong thời gian mười phút ở nhiệt độ 50 °C. Tiếp theo, làm nguội hỗn hợp này xuống nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 h và khuấy trong thời gian 2 giờ. Huyền phù này được lọc, rửa bằng 1:4 MBTE/heptan (2 x 100 ml), và làm khô trong lò qua đêm ở nhiệt độ 45 °C để tạo ra 102,3 g chất rắn màu trắng nhạt (hiệu suất 80%, AUC bằng HPLC 98,8%).

Điều chế methyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)acetat có công thức (7)

Nạp nitril có công thức 6 (101 g) và metanol (1,01 L, 10 thể tích) vào bình thót cổ có dung tích 3 lít được trang bị thanh khuấy và cặp nhiệt điện. Cho từng giọt H_2SO_4 đặc (175 ml, 10,0 đương lượng) vào dung dịch này trong thời gian 15 phút đồng thời duy trì nhiệt độ thấp hơn 60°C . Sau đó 30% cho từng giọt axit sulphuric bốc khói (124 ml) vào dung dịch này đồng thời duy trì nhiệt độ thấp hơn 60°C . Tiếp theo, gia nhiệt dung dịch này đến hồi lưu bằng cách gia nhiệt nhẹ nhàng và khuấy qua đêm. Khi phản ứng này được cho là hoàn toàn, thì làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ 20°C . Trong bình thót cổ thứ hai (22 L), cho natri bicacbonat bão hoà (10,7 L) và điclorometan (1,1 L) vào và làm lạnh xuống nhiệt độ 15°C . Cho hỗn hợp phản ứng này vào hỗn hợp natri bicacbonat/điclorometan đồng thời duy trì nhiệt độ thấp hơn 20°C . Hỗn hợp tối này được khuấy trong thời gian 15 phút và các pha được tách riêng. Chiết pha nước bằng điclorometan (1 x 550mL, 1 x 300mL). Làm khô lớp hữu cơ hỗn hợp bằng magie sulfate và cô đặc đến khô để tạo ra 105 g chất rắn màu da cam (hiệu suất thô 94%, AUC bằng HPLC 97,7%).

Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylacetamid (KX2-391)

Cho este có công thức 7 (103 g), anisol (513 ml, 5 thể tích), và benzylamin (94 ml, 3,0 đương lượng) vào bình thót cổ có dung tích 3 L được trang bị cặp nhiệt điện và thiết bị trộn treo. Sau đó, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ 142°C và khuấy trong thời gian hai ngày. Làm nguội hỗn hợp phản ứng này xuống nhiệt độ $45-50^\circ\text{C}$ và khuấy trong thời gian 2 giờ. Cho từng giọt n-heptan (1,5 L) vào hỗn hợp này trong thời gian một giờ. Làm nguội dung dịch này xuống nhiệt độ trong phòng trong thời gian ba giờ và sau đó khuấy qua đêm. Lọc huyền phù đặc thu được, rửa bằng 4:1 Anisol/n-heptan (200 ml) và n-heptan (3 x 100 ml). Làm khô trong lò qua đêm, sản phẩm tạo ra là 112,1g chất rắn màu nâu vàng (hiệu suất 90%, AUC bằng HPLC 99,6%). Việc sử dụng chỉ một chất đồng phân của heptan là thiết yếu để định lượng thích hợp dung môi dư. Tham khảo Fig 5 cho ^1H NMR của KX2-391.

Điều chế muối 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylacetamid dihydroclorua (KX2-391·2HCl)

Nạp EtOH (1,0 L) vào bình thót cổ có dung tích 2 L và cho từ từ axetyl clorua (62,5 ml, 3,0 đương lượng) vào bình này và khuấy trong thời gian 40 phút. Cho dung dịch tạo ra vào KX2-391 (100 g) trong thời gian 30 phút đồng thời duy trì nhiệt độ 30 °C. Cho dung dịch cô đặc này vào khối 270 g. Cho dung dịch cô đặc này vào etyl axetat (2 L) trong thời gian 20 phút bằng cách khuấy nhanh. Khuấy hỗn hợp này qua đêm và sau đó lọc dưới khí nitơ để tạo ra hai sản phẩm rắn riêng biệt, chất rắn màu nâu vàng (73,5 g) và chất rắn sẫm màu hơn (42,2 g). Các chất rắn này được phối trộn khô để tạo ra hiệu suất kết hợp 99%. Phân tích HPLC cho thấy độ tinh khiết 99,0% (AUC). Phân tích cho thấy rằng etanol có mặt ở lượng 2530 ppm, etyl axetat 48,110 ppm, etyl clorua 170 ppm, và không phát hiện được heptan và anisol. Phân tích hàm lượng paladi ba lần và đo được là 29 ppm, 2 ppm, và nhỏ hơn 1ppm.

Nghiên cứu kết tinh KX2-391·2HCl

Thực hiện các thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 1 để tìm hiểu các điều kiện kết tinh và kết tủa khác nhau của KX2-391·2HCl.

Bảng 1: Nghiên cứu kết tinh KX2-391 2HCl

Điều kiện tạo muối					Điều kiện kết tinh					Bàn luận
Thử nghiệm	Amit (g)	Lô	Dung môi	Axit	Dung môi (thể tích)	Lô	EtOAc (thể tích)	Nhiệt độ (C)	Chất rắn dễ chịu (y/n)	
02BP09 7A	0,1	02BP0 90D (màu trắng nhạt)	IPA	IPA-HCl (5M)	IPA (10)	--	10	60	N	Chất rắn như gồm / huyền phù đặc được tạo ra khi cho EtOAc vào
02BP09 7B	0,1	02BP0 91E (màu trắng)	IPA	IPA-HCl (5M)	IPA (10)	--	--	60	N	Tạo ra dạng gồm khi làm nguội
02BP09 7C	0,1	02BP0 91E (màu trắng)	IPA	IPA-HCl (5M)	IPA (15)	--	6	65	N	Làm khô khi cho EtOAc đầu tiên; sản phẩm tạo ra dầu khi làm nguội
02BP09 7D	0,1	02BP0 91E (màu trắng)	--	IPA-HCl (5M)	EtOAc/IP A	--	--	60	N	cho IPA-HCl vào dung dịch amit tạo ra gồm trong quá trình bổ sung (2 giọt)
02BP09 7E	0,3	02BP0 90D	EtOH	IPA-HCl	EtOH (3,3)	Acros	6,3	30-60	Y	Quan sát được chất

		(màu trắng nhạt)		(5M)						rắn ở nhiệt độ 30°C sau khi cho EtOAc vào; lọc từ từ
02BP09 7F	0,3	02BP0 93G (chất rắn màu nâu vàng)	EtOH	IPA-HCl (5M)	EtOH (3,3)	Acros	6,6	60	Y	Quan sát được chất rắn trong quá trình làm nguội sau khi cho EtOAc vào; lọc từ từ
02BP09 7G	0,3	02BP0 93G (chất rắn màu nâu vàng)	PrOH	IPA-HCl (5M)	PrOH (3,3)	--	1,7	60	Y	Quan sát được chất rắn trong quá trình làm nguội sau khi cho EtOAc vào; lọc từ từ
02BP09 7H	0,3	02BP0 93G (chất rắn màu nâu vàng)	BuOH	IPA-HCl (5M)	BuOH (5)	--	1,2	60	Y	Quan sát được chất rắn trong quá trình làm nguội sau khi cho EtOAc vào; lọc rất từ từ
02BP09	1,0	02BP0	EtOH	IPA-	EtOH	Ald	4 - 6	60	N	Nhận thấy

8A,B,C		93G (chất rắn màu nâu vàng)		HCl (5M)	(3,3)					tình trạng vẫn đục sớm hơn dự tính; tạo ra dầu
02BP09 8D	1,0	02BP0 93G (chất rắn màu nâu vàng)	EtOH	EtOH-HCl (2,5M)	EtOH (3,3)	Ald	4,6	60	N	Tạo ra dầu sau khi làm nguội
02BP09 8E	0,3	02BP0 90D (màu trắng nhạt)	EtOH	EtOH-HCl (2,5M)	EtOH (3,3)	Ald	5,3	60	N	Tạo ra dầu từ khi bổ sung EtOAc
02BP09 8F	0,3	02BP0 91E (màu trắng)	EtOH	IPA-HCl (5M)	EtOH (3,3)	Acro s	6	60	N	Tạo ra dầu khi bổ sung EtOAc
02BP09 8G	0,3	02BP0 91E (màu trắng)	PrOH	IPA-HCl (5M)	PrOH (3,3)	--	4	60	N	Tạo ra dầu khi làm nguội

Thực hiện quá trình kết tủa bằng cách bổ sung ngược KX2-391·2HCl trong dung dịch etanol đặc đến thể tích lớn etyl axetat được khuấy nhanh. Thực hiện quá trình kết tủa này cho mẽ chứng minh tạo ra khi có sự tạo thành hai dạng chất rắn riêng biệt. Hai dạng chất rắn riêng biệt này được tách riêng về mặt vật lý và được lọc riêng rẽ. Chất rắn màu nâu vàng kém đặc hơn (lô 02BP111E, 74 g, AUC bằng HPLC 99,1%) được lọc trước tiên, sau đó đến chất rắn sẫm màu đặc hơn (lô 02BP111F, 43 g, AUC bằng HPLC 99,1%). Sau khi làm khô trong lò chân không và trước khi pha trộn hai chất rắn này, mỗi loại mẫu được giữ lại cho phân tích. Các số liệu quan tâm là

nhiệt lượng quét vi sai (DSC Differential Scanning Calorimetry, các Fig. 1 và 2) và nhiễu xạ bằng tia X trên bột (XRPD X-ray Powder Diffraction, Các Fig. 3 và 4). Các số liệu HPLC cho hai mẫu này là tương tự nhau còn DSC và XRPD là khác nhau.

Cả hai chế phẩm theo phân tích HPLC đều có độ tinh khiết cao hơn 99,0% (theo% diện tích), mẫu ở lô 02BP111E cho thấy có một điểm thu nhiệt ở vào khoảng 198 °C còn mẫu ở lô 02BP111F cho thấy có hai điểm thu nhiệt ở 117 °C và 189 °C. Số liệu XRPD cho hai mẫu này cũng là khác nhau, mẫu ở lô 02BP111E dường như ở dạng tinh thể, còn mẫu ở lô 02BP111F dường như là dạng vô định hình. Các số liệu HPLC, số liệu XRPD và số liệu DSC cho thấy là hai mẫu này là các dạng khác nhau của cùng một chất liệu.

Hai lô KX2-391·2HCl (lô 02BP111E và 02BP111F) được phối trộn khô tạo ra lô KX2-391·2HCl (lô 02BP111G) mới. KX2-391·2HCl (lô 02BP111G) có 170ppm etyl clorua.

Ví dụ 4: Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-*N*-benzylaxetamit mesylat (KX2-391·MSA).

Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetonitril có công thức (6)

Nạp natri bis(trimetyldisilyl)amit (1,0 M trong THF, 23,2 L) vào bình phản ứng đáy tròn 1 và làm lạnh dung dịch này xuống $\leq -10^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 52 phút. Cho hợp chất có công thức 5 (1400 g, 1 khối lượng) và THF (7,0 L, khan, 5 thể tích) vào bình thủy tinh, dưới khí nitơ. Khuấy mẻ này bằng thiết bị khuấy được vận hành bằng không khí dưới khí nitơ. Mẻ này là không hòa tan hoàn toàn và là dung dịch mù. Cho dung dịch chứa hợp chất có công thức 5 vào bình phản ứng 1 trong thời gian 41 phút thông qua phễu nạp 5 lít. Chuẩn bị dung dịch chứa axetonitril (965 ml, khan, 0,69 thể tích) trong THF (2,0 L, khan, 1,43 thể tích) và cho vào bình phản ứng 1 trong thời gian 48 phút ở nhiệt độ $\leq -10^{\circ}\text{C}$ qua cùng một phễu nạp (một lượng nhỏ chất rắn màu vàng có mặt trên thành của bình phản ứng này). Sau khi làm lão hóa trong thời gian 45 phút ở nhiệt độ $\leq 10^{\circ}\text{C}$ lấy mẫu mẻ này để phân tích và hợp chất có công thức 5 là 0,03% theo chuyển hóa (thông số $\leq 1,5\%$ theo chuyển hóa). Một giờ 24 phút sau khi lấy mẫu,

cho nước muối (17,6 L, 12,6 thể tích) vào bình phản ứng 1 trong thời gian 52 phút và tạo ra dung dịch được khuấy kém (giống như nhũ tương). Điều chế tấm diatomit trên phễu polypropylen 24 insơ (1026 g Xelit 545 được tạo huyền phù trong 3,3 L nước với dịch lọc được bỏ đi). Mẻ này được lọc ở điều kiện hút thông qua tấm và rửa bình phản ứng này bằng THF (1,75 L, 1,25 thể tích) và nước rửa được đưa vào bã lọc ép. Rửa bã lọc ép bằng một phần THF thứ hai (1,75 L, 1,25 thể tích) và tổng thời gian lọc là 1 giờ 17 phút. Dịch lọc được chuyển tới bình phản ứng 2 và các pha được tách riêng và được giữ qua đêm (mẻ này được giữ trong bình phản ứng dưới khí nitơ). Pha hữu cơ (vào khoảng 34,5 L) và pha nước được chiết bằng toluen (8,1 L, 5,8 thể tích), khuấy trong thời gian 16 phút và để lắng trong thời gian 12 phút. Có thể bỏ bước chiết toluen và chỉ cần cho toluen trực tiếp pha hữu cơ sau khi tách. Loại pha nước (vào khoảng 19 L) ra và các pha hữu cơ được trộn với nhau và làm khô trong bình phản ứng 2 bằng magie sulfat (1400 g, 1 khối lượng, khan) trong thời gian 55 phút. Mẻ này được lọc qua phễu polypropylen 24 insơ được trang bị phễu lọc nối tiếp hoá vào bình thủy tinh. Mẻ này được phủ bằng argon và được bảo quản trong phòng lạnh ($2-8^{\circ}\text{C}$) chưa rõ nồng độ. Trong ngày tiếp theo, mẻ này được cô đặc thành phần còn lại và được rửa bằng toluen (11,8 L, 8,4 thể tích), mà sau đó phần này được cô đặc (bể nước $50 \pm 5^{\circ}\text{C}$). Vào thời điểm bổ sung toluen, mẻ này là huyền phù đặc màu da cam và vẫn giữ ở trạng thái đó sau khi cô đặc. Tổng thời gian cô đặc là 5 giờ 3 phút.

Cho MTBE (13,9 L, 9,9 thể tích, ACS) vào bình phản ứng 3, chất này sau đó được gia nhiệt đến nhiệt độ $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$. làm khô MTBE và khoảng 2 L MTBE được dùng để tạo huyền phù đặc mẻ này từ bầu vào bình phản ứng 3. Cho MTBE còn lại vào bình phản ứng 3 đồng thời duy trì nhiệt độ mẻ này ở $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$ và sau đó làm lão hóa mẻ này trong thời gian 33 phút ở khoảng nhiệt độ này. Sau đó cho *n*-heptan (10 L, 7,1 thể tích, 99%) vào bình phản ứng 3 trong thời gian 39 phút đồng thời duy trì mẻ này ở nhiệt độ $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Nguồn nhiệt được bỏ đi, và làm nguội mẻ này xuống nhiệt độ $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 4 giờ 5 phút và lão hóa ở khoảng nhiệt độ đó trong thời gian 27 giờ 4 phút. Tiếp theo, mẻ này được lọc ở điều kiện hút qua phễu polypropylen 24 insơ (vải PTFE), được đập và được hút khô dưới khí nitơ. Tổng thời gian lọc là 20 phút. Làm khô mẻ màu da cam (khối lượng ướt thực 1322 g) đến khối lượng không đổi trong thời gian 48 giờ 3 phút trong lò chân không được thiết lập ở $45 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Mẻ

này được chuyển vào hai bình thủy tinh hồ phách dung tích 80 oz (nút lót Teflon) và được phủ argon (1217 g hợp chất có công thức 6, hiệu suất 81% theo lý thuyết).

Điều chế metyl 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)axetat (7)

Cho hợp chất có công thức 6 (900 g, 2,78 mol) và metanol (9,0 L, 10 thể tích, khan) vào bình phản ứng dung tích 22 L. Cho axit sulphuric (1115 ml, fuming) vào huyền phù này trong thời gian 2 giờ 11 phút để tạo ra dung dịch sẫm màu. Nhiệt độ tối đa là 65,5°C (đỉnh <65°C). Cho axit sulphuric (1565 ml, 1,74 thể tích, đặc) vào mẻ này trong thời gian 1 giờ 49 phút và sau đó gia nhiệt mẻ này đến điều kiện hồi lưu nhìn thấy được (74°C) trong thời gian 18 phút. Duy trì mẻ này ở nhiệt độ đó trong thời gian 16 giờ 57 phút. Không thấy có sự hồi lưu nhẹ nhận thấy được, vì thế sau đó mẻ này được gia nhiệt tiếp đến điều kiện hồi lưu ở nhiệt độ 79-80°C trong thời gian 2 giờ 15 phút. Mẻ này được duy trì ở nhiệt độ đó ($80 \pm 5^\circ\text{C}$) trong thời gian 10 giờ 57 phút và sau đó nguồn nhiệt được bỏ đi; tiến hành nạp bổ sung metanol (0,75 L, 0,8 thể tích, khan) sau 26 giờ 4 phút để cung cấp thêm thể tích dung môi bị mất. Ước tính bị mất 2,5-3,3 L dung môi do quá trình bay hơi. Phân tích HPLC sau 42 giờ 31 phút từ khi hồi lưu cho thấy rằng lượng hợp chất có công thức 6 là 0,6% theo chuyển hóa (đặc điểm kỹ thuật =1,0%). Nạp metylen clorua (4,8 L, 5,3 thể tích) và dung dịch natri hydro cacbonat (48 L, 53,3 thể tích, bão hoà) vào mỗi trong số bình phản ứng 1 và 2. Dung dịch natri hydro cacbonat được bảo quản qua đêm ở nhiệt độ 2-8°C và được loại bỏ sáng hôm sau. Một nửa mẻ này từ bình phản ứng dung tích 22 L được cho từng phần vào mỗi bình phản ứng trong thời gian lần lượt là 47 và 44 phút (nhiệt độ của mẻ lần lượt là 12-13 và 14-15°C). Sự sôi này có kèm theo sự thoát cacbon đioxit (mạnh ở điều kiện khuấy xoáy). Tiếp theo, các mẻ từ mỗi bình phản ứng được đưa vào bình phản ứng dung tích 200 L và mẻ này được khuấy trong thời gian 16 phút, sau đó được để lắng trong thời gian 25 phút và các pha hữu cơ được tách riêng. Pha nước được chiết liên tiếp bằng hai phần metylen clorua (5 L, 5,6 vol và 2,7 L, 3 thể tích); mỗi lần chiết diễn ra trong thời gian khuấy là 15 phút cùng với sự lắng lần lượt trong thời gian 6 và 9 phút. Chuyển pha hữu cơ hỗn hợp tới bình phản ứng 3 và làm khô bằng magie sulfat (900 g, 1 khối lượng, khan) trong thời gian 35 phút. Tiếp theo, lọc mẻ này ở điều kiện hút qua phễu polypropylen 24 inơ được lắp tấm vải Sharkskin và được trang bị phễu lọc nối tiếp hoá (10 micron, Pall P/N 12077). Cô đặc dịch lọc trên thiết bị bay hơi

kiểu quay trong tổng thời gian 2 giờ 18 phút ở nhiệt độ $40 \pm 5^\circ\text{C}$ (nhiệt độ bể nước). Sau 54 phút, mẻ này hóa rắn và tạo thành bóng. Những bóng này bị phá vỡ và tiếp tục cô đặc. Tiếp theo, mẻ này (hỗn hợp gồm chất rắn mịn và khúc giòn) được nghiền tiếp và đưa trở lại bầu và tiếp tục cô đặc. Mẻ này được chuyển tới vào lọ hồ phách dung tích 80-oz có nắp đáy lót Teflon và được phủ argon để tạo ra hợp chất có công thức 7 (871 g, hiệu suất 88% theo lý thuyết).

Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (KX2-391)

Nạp hợp chất có công thức 7 (650 g, 1,82 mol), anisol (3,25 L, 5 thể tích, khan) và benzylamin (600 ml, 0,92 thể tích, 3 đương lượng) vào bình phản ứng dung tích 22 lít. Gia nhiệt mẻ này (vào khoảng 18°C) đến nhiệt độ $142 \pm 5^\circ\text{C}$ trong thời gian 1 giờ 44 phút, trong đó quá trình hoà tan xảy ra ở nhiệt độ 30°C . Duy trì mẻ này ở nhiệt độ $142 \pm 5^\circ\text{C}$ trong thời gian 69 giờ 30 phút tại thời điểm đó phân tích HPLC cho thấy rằng hợp chất có công thức 7 là 0,9% chuyển hóa (đặc điểm kỹ thuật $\leq 1,7\%$ theo chuyển hóa). Làm nguội mẻ này xuống nhiệt độ $45\text{--}50^\circ\text{C}$ trong thời gian 5 giờ 12 phút (để trợ giúp cho quá trình làm nguội tăng dòng nitơ khi mẻ này đạt đến nhiệt độ khoảng 72°C). Ở khoảng nhiệt độ đó, mẻ này khó khuấy và khi phối trộn, nhiệt độ của mẻ được tăng lên đến 52°C . Mẻ có nhiệt độ $>50^\circ\text{C}$ trong thời gian ≤ 15 phút. Mẻ này được lão hóa trong thời gian 2 giờ 2 phút khi ban đầu $<50^\circ\text{C}$, sau đó cho *n*-heptan (9,75 L, 15 thể tích, 99%) vào mẻ này trong thời gian 1 giờ 56 phút, đồng thời duy trì nhiệt độ của mẻ ở nhiệt độ $45\text{--}50^\circ\text{C}$. Sau đó, việc gia nhiệt được ngừng lại và mẻ này được làm nguội xuống nhiệt độ 25°C trong thời gian 10 giờ 32 phút và sau đó đến khoảng 20°C trong thời gian 20 phút. Tổng thời gian mà mẻ này được duy trì $\leq 25^\circ\text{C}$ là 4 giờ 50 phút (2 giờ 47 phút ở vào khoảng 20°C). Lọc mẻ này ở điều kiện hút qua phễu lọc polypropylen 24 inơ (được lắp vải PTFE) và bình phản ứng này được rửa bằng anisol/*n*-heptan (1,3 L, 4: 1) và nước rửa được chuyển vào bã lọc. Tiếp theo, rửa liên tiếp bã lọc ép này bằng hai phần *n*-heptan (1,3 L, 0,65 L). Tổng thời gian lọc là 39 phút. Mẻ này (khối lượng ướt thực 1004 g KX2•391) được chuyển tới ba đĩa thủy tinh và được đưa vào lò chân không được thiết lập ở nhiệt độ 50°C và làm khô đến khối lượng không đổi trong thời gian 96 giờ 26 phút.

Điều chế 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamid mesylat (KX2-391•MSA)

Chuyển KX2-391 (520. g, 1,21 mol) vào bình phản ứng 1 bằng cách sử dụng axeton (41,6 thể tích, 80 thể tích, ACS) để tạo thuận lợi cho chuyển đổi. Gia nhiệt mẻ này đến nhiệt độ $50 \pm 5^\circ\text{C}$ trong thời gian 33 phút với quá trình hoà tan xảy ra ở nhiệt độ 30°C . Mẻ này được cho làm trong vào bình phản ứng thứ hai thông qua bơm vận chuyển được lắp bộ lọc nối tiếp hoá (Pall P/N 12077, 10 micron) và được gia nhiệt lại ở nhiệt độ từ 46°C đến $50 \pm 5^\circ\text{C}$. Cho axit metansulfonic (121,4 g, 1,05 đương lượng, 99% siêu tinh khiết) vào mẻ màu vàng nhạt này trong thời gian 12 phút và khi đó ngừng gia nhiệt. Sau mười bốn phút, nhận thấy có chất rắn màu trắng, chất này tăng lên về số lượng để tạo ra huyền phù màu trắng sau 59 phút. Mẻ này ở nhiệt độ nằm trong khoảng $25 \pm 5^\circ\text{C}$ sau thời gian 7 giờ 51 phút và được lão hóa trong thời gian 19 giờ 21 phút nữa (10 giờ 30 phút ở nhiệt độ $\leq 27^\circ\text{C}$). Lọc mẻ này ở điều kiện hút qua phễu lọc polypropylen 24 inơ (vải PTFE) và rửa bình phản ứng này bằng axeton (2,0 L, được làm trong, ACS) và dịch rửa được chuyển vào bã lọc ép. Bao phủ bã lọc ép bằng nắp đậy bằng thép không gỉ và hút khô trong dòng nitơ. Tổng thời gian lọc là 21 phút. Mẻ này (khối lượng ướt thực 764 g) được chuyển tới ba khay làm khô bằng thủy tinh và làm khô trong lò chân không đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ $25 \pm 5^\circ\text{C}$ trong thời gian 21 giờ 54 phút (565 g, 89% theo lý thuyết). Lấy mẫu ra để phân tích và mẻ này được giữ trong chân không ở nhiệt độ $25 \pm 5^\circ\text{C}$. Tiếp theo, Mẻ này được đưa vào hai chai thủy tinh hồ phách dung tích 80 oz (nắp đậy polypropylen được lót Teflon), được phủ argon và được bảo quản ở nhiệt độ -10 đến -20°C .

Ví dụ 5: Phân tích nhiễu xạ bằng tia X trên bột KX2-391•MSA, dạng A

Tiến hành phân tích nhiễu xạ bằng tia X trên bột (XRPD) bằng cách sử dụng nhiễu xạ kế Shimadzu XRD-6000 cho KX2-391•MSA, dạng A thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 4). Nhiễu xạ kế này được trang bị ống tia X Cu K α được vận hành ở 40 kV, 40 mA. Các mẫu này được đặt lên bộ giữ mẫu siêu vi lượng tự chuyển về mức không Si (Si zero-return ultra-micro sample holder). The khe phân kỳ được thiết lập ở 1,00 độ, khe tán xạ là 1,00 độ và khe nhận là ở 0,30 mm. Khoảng quét là 3,0–45,0 độ theo phương thức quét liên tục với kích cỡ bước là 0,04 độ và tốc độ quét

2 ° / phút. Fig 7 thể hiện nhiễu xạ đồ tia X cho KX2-391 MSA, dạng A. Các số liệu tương ứng cho nhiễu xạ đồ tia X được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2: XRPD của KX2-391 MSA, dạng A

# 3 đỉnh mạnh nhất							
số	đỉnh số	2Theta (độ)	d (Å)	I/II	FWHM (độ)	Cường độ (số đếm)	Int hợp khối (số đếm)
1	11	22,7377	3,90769	100	0,29390	2624	20079
2	3	16,3047	5,43208	62	0,29020	1623	13145
3	6	19,6782	4,50779	60	0,29280	1563	13084

# Danh sách số liệu đỉnh						
đỉnh số	2Theta (độ)	d (Å)	I/II	FWHM (độ)	Cường độ (số đếm)	Int hợp khối (số đếm)
1	13,0767	6,76484	10	0,29390	260	2343
2	15,6073	5,67320	7	0,29270	191	1749
3	16,3047	5,43208	62	0,29020	1623	13145
4	17,5438	5,05111	18	0,28760	467	4096
5	18,9449	4,68059	48	0,30900	1259	12580
6	19,6782	4,50779	60	0,29280	1563	13084
7	20,0800	4,41849	11	0,15360	298	2037
8	20,9600	4,23492	3	0,24000	87	682
9	21,4163	4,14571	8	0,30340	207	1843
10	22,2800	3,98692	14	0,35400	375	4393
11	22,7377	3,90769	100	0,29390	2624	20079
12	23,5116	3,78078	10	0,35120	260	2664
13	24,6429	3,60972	4	0,24270	108	641
14	25,2400	3,52566	4	0,28180	92	706
15	25,7200	3,46094	7	0,47700	190	1954
16	26,1200	3,40884	12	0,32600	321	2629
17	26,4400	3,36830	21	0,30440	557	4954
18	26,8000	3,32387	9	0,00000	229	0
19	27,1200	3,28537	7	0,37760	185	2917
20	29,6287	3,01266	3	0,28250	84	986

Ví dụ 6: Phân tích nhiệt lượng quét vi sai KX2-391 MSA, dạng A

Tiến hành phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) bằng cách sử dụng dụng cụ đo DSC Mettler 822[°] trên KX2-391 MSA, dạng A thu được theo quy trình theo sáng

chế (Ví dụ 4). Các mẫu được cân trong chảo nhôm, được phủ bằng đĩa được khoét lỗ, và sau đó được rạch khía. Phân tích được bắt đầu ở nhiệt độ 30°C đến 300–350°C độ dốc 10°C / phút. Ghi nhận được một điểm thu nhiệt ở nhiệt độ 164°C theo DSC. Fig 8 thể hiện biểu đồ nhiệt DSC cho KX2-391 MSA, dạng A.

Ví dụ 7: Phân tích nhiệt trọng (TGA) KX2-391 MSA, dạng A

Tiến hành phân tích nhiệt trọng bằng cách sử dụng dụng cụ Mettler 851^e SDTA / TGA trên KX2-391 MSA, dạng A thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 4). Các mẫu được cân trên nồi nấu kim loại bằng nhôm oxit và được phân tích từ 30°C đến 230°C và với tỷ lệ tăng tốc 10°C / phút. Không phát hiện được sự tổn thất khối lượng bằng TGA dưới 230°C. Fig 9 thể hiện sắc ký đồ TGA cho KX2-391 MSA, dạng A.

Ví dụ 8: Phân tích hấp thu ẩm và các nghiên cứu phòng ẩm của KX2-391 MSA

Tiến hành thử nghiệm hấp thu ẩm bằng cách sử dụng dụng cụ hấp thu ẩm Hiden IGAsorp trên KX2-391 MSA thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 4). Trước hết, làm khô mẫu này ở độ ẩm tương đối 0% (RH Relative Humidity) và 25°C cho đến khi đạt được sự cân bằng khối lượng hoặc trong tối đa bốn giờ. sau đó, mẫu này được xử lý quét hấp phụ đẳng nhiệt (25°C) ở RH từ 10 đến 90% trong các bước 10%. Mẫu này được để cân bằng đến khối lượng tiệm cận ở mỗi điểm trong tối đa bốn giờ. Sau khi hấp phụ, chạy sự quét khử hấp thụ từ RH 85 đến 0% (ở nhiệt độ 25°C) theo các bước–10% thêm nữa cho phép tối đa là bốn giờ để cân bằng đến khối lượng tiệm cận. Tiếp theo, làm khô mẫu này trong thời gian một giờ ở nhiệt độ 80°C và chất rắn thu được được phân tích bằng XRPD. Theo một khía cạnh, phân tích hút thu ẩm cho thấy là mẫu KX2-391 MSA có tính hơi hút ẩm, hấp thu 1,1% khối lượng nước ở 60% RH và 5,7% khối lượng nước ở 90% RH. Nhận thấy chất liệu tạo ra từ thử nghiệm hấp thu ẩm tạo ra an nhiều xạ đồ XRPD phù hợp với dạng nguyên liệu. Fig 10 thể hiện sự thay đổi phần trăm hàm lượng nước theo hàm ẩm tương đối cho KX2-391 MSA, dạng A.

Việc xác định tiếp độ hút ẩm của muối mesylat được thực hiện bằng cách sử dụng một số buồng ẩm để bao hàm một phạm vi độ ẩm từ 75, 88 đến 95% RH. Chuẩn bị các buồng 75, 88, và 95% RH lần lượt bằng NaCl, BaCl₂·2H₂O, và Na₂HPO₄·12H₂O và cân bằng trong thời gian 48 giờ trước khi đưa các mẫu vào. Các mẫu được đưa vào chảo nhôm và được theo dõi bằng cách bằng mắt trong thời gian lên đến năm ngày. Bảng 3 tổng kết các quan sát ở thời điểm 0, 3, 5, 24, 48, 72, 96 và 120 giờ. Muối mesylat này là ổn định ở 75% RH vì chất này không tan ra cũng như không thể hiện sự phân huỷ theo như phân tích HPLC. Khi ở trong môi trường 88% RH chất này cho màu vàng sẫm và sự giảm chất lượng vào khoảng 10% diện tích theo phân tích HPLC. Trong môi trường 95% RH, nhận thấy là sự tan ra trong ba giờ sau khi tiếp xúc với độ ẩm cao.

Bảng 3: Tổng kết nghiên cứu độ hút ẩm của KX2-391-MSA, dạng A ở độ ẩm tương đối (RH) 75, 88 và 95%

Lô mẫu	phòng ẩm ** (% RH/Muối)	Quan sát/thời gian (giờ)								XRPD*	Thử nghiệm HPLC (% độ tinh khiết theo diện tích)
		0	3	5	24	48	72	96	120		
GJP-S-17(1)	Ban đầu	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Phù hợp	99,4
	75%-NaCl	FF	FF	FF	FF	FF	FF	FF	FF	Phù hợp	99,4
	88%-BaCl ₂ ·2H ₂ O	FF	CC	CC	CC	CC	CC	CC	CC	Phù hợp	89,3
	95%-Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	FF	D	D	D	D	D	D	D	NA	NA

FF - bột chảy tự do

D - Tan ra hoàn toàn mẫu quan sát

CC - Sự đổi màu của mẫu quan sát

NA - Mẫu không được phân tích

* - Mẫu so với nhiễu xạ đồ XRPD của lô tài trợ

** - độ ẩm tương đối dựa trên các giá trị trong tài liệu cho các dung dịch muối ở 25-25°C

Ví dụ 9: Các nghiên cứu độ ổn định của KX2-391 MSA, dạng A

Tiến hành các nghiên cứu độ ổn định trên KX2-391 MSA thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 4) bằng cách áp dụng điều kiện được liệt kê trong Bảng 4 để xác định ảnh hưởng của việc đặt trong nhiệt độ môi trường và/hoặc độ ẩm tương đối cao đến dạng tinh thể của KX2-391 MSA, dạng A. Sau 2 tuần, các mẫu này được phân tích bằng XRPD và HPLC để xác định xem có bất kỳ sự thay đổi về hình thức hoặc sự giảm chất lượng đã xuất hiện. Các kết quả được trình bày ở Bảng 5. Các mẫu JSS-T-99 (6), (7), (8), (9), và (11), mà được nhận thấy là tạo ra cùng dạng tinh thể, theo XRPD và HPLC không cho thấy có sự giảm chất lượng có ý nghĩa. Chất liệu này, JSS-T-99 (10), được bảo quản ở 95% RH, phát hiện được là tan ra trong các điều kiện này trong ít hơn 16 giờ. Các kết quả này cho thấy là KX2-391 MSA, dạng A là dạng tinh thể ổn định sau khi để trong điều kiện ổn định tăng lên được áp dụng.

Bảng 4:

60°C / độ ẩm môi trường, lò

51% RH, phòng muối bão hoà [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]

75% RH, phòng muối bão hoà [NaCl]

88% RH, phòng muối bão hoà [$\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]

95% RH, phòng muối bão hoà [$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$]

40°C / 75% RH, phòng độ ổn định tăng lên

Bảng 5:

Các nghiên cứu độ ổn định

Mã NB	KX2-391-MSA Amt (mg)	Điều kiện tiếp xúc	Dạng ban đầu (XRPD)	Dạng sau 2 Tuần (XRPD)	Độ tinh khiết HPLC (AUC)
JSS-T-99(6)	17,9	60 °C	Dạng A	Dạng A	>99%
JSS-T-99(7)	3,619	RH 51%		Dạng A	>99%
JSS-T-99(8)	4,125	RH 75%		Dạng A	>99%
JSS-T-99(9)	3,997	RH 88%		Dạng A	>99%
JSS-T-99(10)	5,756	RH 95%		Tan ra <16 giờ	Không có
JSS-T-99(11)	59,2	40 °C/75%		Dạng A	>99%

Ví dụ 10: Sắc ký lỏng có độ hiển thị cao KX2-391 MSA, dạng A

Thực hiện phương pháp sắc ký lỏng có độ hiển thị cao (HPLC) bằng cách sử dụng hệ thống Waters Alliance HPLC trên KX2-391 MSA, dạng A thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 4). Hệ thống HPLC này được trang bị thiết bị dò UV, dung môi gradient, và bộ thu và xử lý số liệu điện tử, hoặc bộ phận tương đương, bộ lấy mẫu tự động có khả năng phun 10 µL, cột phân tích Thermo Hypersil Gold, 4,6 x 150 mm, 3,0 µm, P/N 25003-154630, cân phân tích có khả năng cân đến số dư ± 0,01 mg, ống hút thể tích nhóm A và bình thốt cổ.

Cột được sử dụng cho phân tích là Thermo Hypersil Gold, 4,6 x 150 mm, 3,0 µm và cột và nhiệt độ của bộ lấy mẫu tự động là nhiệt độ môi trường. Việc phát hiện hợp chất được rửa giải xuất hiện ở 248 nm (KX2-391 được phát hiện ở 248 nm) và 210 nm (benzylamin được phát hiện ở 210 nm). Pha động A là 0,05% TFA trong nước và Pha động B là 0,05% TFA trong axetonitril với tốc độ chảy 1,0 ml/phút. Gradient giải hấp được thể hiện trong Bảng 6. Sử dụng thể tích tiêm 10 µL cho tất cả các mẫu với thời gian phân tích 30 phút. Thời gian tái cân bằng và Thời gian thu gom số liệu lần lượt là 8 phút và 22 phút. Việc rửa kim khi thực hiện hoàn toàn được thực hiện trong 50:50 axetonitril/Nước. Fig 11 thể hiện sắc đồ HPLC và các kết quả pic cho KX2-391 MSA, dạng A.

Bảng 6: Gradient giải hấp HPLC cho KX2-391 MSA, dạng A

Thời gian (phút)	% A	% B
0,0	95	5
20,0	30	70
21,0	0	100
22,0	0	100
22,5	95	5
30,0	95	5

Ví dụ 11: Phân tích hồng ngoại biến đổi Fourier trong phổ phản xạ toàn phần bên trong KX2-391 MSA, dạng A

Thực hiện phân tích phổ hồng ngoại biến đổi Fourier phổ phản xạ toàn phần bên trong (ATR-FTIR Attenuated Total-Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy) trên KX2-391 MSA, dạng A thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 4). Sau khi đạt đến nền là điều kiện môi trường phòng thí nghiệm, các mẫu này được đặt lên ATR, được nén bằng cái đe và thu lấy phổ. Fig 12 thể hiện ảnh phổ ATR-FTIR cho KX2-391 MSA, dạng A như được đo bằng Thermo-Nicolet Avatar 370 có bộ giữ phổ phản xạ toàn phần bên trong Smart Endurance Attenuated Total-Reflection Attachment.

Ví dụ 12: XRPD của KX2-391 2HCl

Thực hiện phân tích nhiễu xạ bằng tia X trên bột (XRPD) bằng cách sử dụng nhiễu xạ kế Shimadzu XRD-6000 trên KX2-391 HCl thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 3). Nhiễu xạ kế này được trang bị ống tia X Cu K α được vận hành ở 40 kV, 40 mA. Các mẫu được đặt lên bộ giữ mẫu siêu vi lượng tự chuyển về mức không Si. Khe phân kỳ được thiết lập ở 1,00 độ, khe tán xạ là ở 1,00 độ và khe nhận là ở 0,30 mm. Khoảng quét là 3,0–45,0 độ theo phương thức quét liên tục với kích cỡ bước 0,04 độ và tốc độ quét 2 ° / phút. Fig 13 thể hiện nhiễu xạ đồ tia X cho KX2-391 2HCl (lô 02BP111G). Số liệu tương ứng cho nhiễu xạ đồ tia X được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7: XRPD của KX2-391 2HCl

3 đỉnh mạnh nhất

số	đỉnh số	2Theta (độ)	d (Å)	I/II	FWHM (độ)	Cường độ (số đếm)	Int hợp khối (số đếm)
1	19	22,7110	3,91222	100	0,45330	408	5232
2	20	23,5201	3,77944	96	0,38820	392	4280
3	8	15,5737	5,68537	82	0,32590	336	2893

Danh sách số liệu đỉnh

đỉnh số	2Theta (độ)	d (Å)	I/II	FWHM (độ)	Cường độ (số đếm)	Int hợp khối (số đếm)
1	3,1741	27,81298	6	0,15180	23	116
2	4,5300	19,49070	5	0,34000	22	294
3	8,7600	10,08629	14	0,38160	58	554
4	9,1153	9,69393	23	0,35070	93	802
5	13,3200	6,64181	3	0,32000	12	142
6	13,7571	6,43175	14	0,36220	56	552
7	14,9200	5,93296	3	0,28800	14	181
8	15,5737	5,68537	82	0,32590	336	2893
9	16,3015	5,43314	12	0,27690	49	361
10	17,0241	5,20412	28	0,46820	114	1110
11	17,4400	5,08094	17	0,48000	68	728
12	18,1931	4,87228	22	0,34260	90	842
13	19,3172	4,59121	74	0,52120	301	3628
14	19,8800	4,46249	19	0,38400	77	929
15	20,3857	4,35291	16	0,34860	64	559
16	20,8704	4,25290	23	0,31920	94	743
17	21,4000	4,14883	12	0,22220	50	314
18	21,7790	4,07748	76	0,36530	309	3085
19	22,7110	3,91222	100	0,45330	408	5232
20	23,5201	3,77944	96	0,38820	392	4280
21	24,5793	3,61891	21	0,38530	86	1079
22	25,5200	3,48761	15	0,24620	63	525
23	26,0463	3,41832	27	0,35920	110	1113
24	26,8326	3,31991	14	0,40930	57	714
25	27,6000	3,22932	22	0,45860	89	1353
26	28,0000	3,18409	24	0,00000	97	0
27	28,3200	3,14883	18	0,00000	72	0
28	28,8464	3,09256	27	0,53290	111	1789
29	29,7600	2,99966	4	0,24000	15	142
30	30,2962	2,94778	14	0,34100	57	521
31	31,0000	2,88245	10	0,42000	41	570
32	31,3200	2,85372	11	0,00000	43	0
33	31,6000	2,82907	10	0,80000	40	709
34	32,4762	2,75472	17	0,46100	70	825
35	33,1600	2,69946	9	0,32000	35	415
36	34,1366	2,62443	3	0,32670	14	118

37	38,3914	2,34279	3	0,17710	13	64
38	38,7800	2,32021	3	0,28000	13	113
39	39,4166	2,28419	3	0,28670	13	169
40	40,9400	2,20264	3	0,20000	14	95
41	41,6020	2,16911	6	0,43600	24	303
42	43,0450	2,09967	3	0,15000	12	54

Ví dụ 13: DSC của KX2-391·2HCl

Thực hiện phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) bằng cách sử dụng dụng cụ đo DSC Mettler 822° trên KX2-391·2HCl thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 3). Các mẫu được cân trong chảo nhôm, được phủ bằng đĩa được khoét lỗ, và sau đó được rạch khía. Phân tích được bắt đầu ở nhiệt độ 30°C đến 300–350°C độ dốc ở 10°C / phút. Đường cong DSC cho thấy ba điểm thu nhiệt ở 189, 266, và 285°C. Fig 14 thể hiện biểu đồ nhiệt DSC cho KX2-391·2HCl (lô 02BP111G).

Ví dụ 14: TGA của KX2-391·2HCl

Thực hiện phân tích nhiệt trọng bằng cách sử dụng dụng cụ Mettler 851° SDTA / TGA trên KX2-391·2HCl thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 3). Các mẫu được cân trên nồi nấu kim loại bằng nhôm oxit và được phân tích từ 30°C đến 230°C và tỷ lệ tăng tốc 10°C / phút. Phát hiện được sự tổn thất khối lượng 9,2% trong khoảng 30–230°C. Fig 15 thể hiện sắc ký đồ TGA cho KX2-391·2HCl (lô 02BP111G).

Ví dụ 15: Phân tích hút thu ẩm cho KX2-391·2HCl

Thực hiện thử nghiệm hấp thu ẩm bằng cách sử dụng dụng cụ hấp thu ẩm Hiden IGAsorp Moisture Sorption Instrument trên KX2-391·2HCl thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 3). Trước hết, làm khô mẫu này ở độ ẩm tương đối 0% (RH) và 25°C cho đến khi đạt được sự cân bằng khối lượng hoặc trong tối đa bốn giờ. Sau đó, mẫu này được xử lý quét hấp phụ đẳng nhiệt (25°C) từ 10 đến 90% RH theo các bước cách nhau 10%. Mẫu này được để cân bằng đến khối lượng tiệm cận ở mỗi điểm đo trong tối đa bốn giờ. Sau khi hấp phụ, chạy sự quét khử hấp thụ từ 85 đến 0% RH (ở 25°C) theo các bước–10% với cho phép tối đa là bốn giờ để cân bằng đến khối

lượng tiệt cận. Sau đó, làm khô mẫu này trong thời gian một giờ ở nhiệt độ 80°C và phân tích chất rắn thu được bằng XRPD. Theo một khía cạnh, phân tích hút thu ẩm cho thấy là mẫu này là hút ẩm đáng kể, hấp thu 16,7% khối lượng nước ở 60% RH và 27,0% khối lượng nước ở 90% RH điều đó cho thấy có sự tan ra với điểm cong nằm trong khoảng 40–50% RH. Fig 19 thể hiện đường cong ẩm trọng của KX2-391·2HCl (lô 02BP111G).

Bảng 8 đưa ra số liệu được trình bày trên Fig 17. Tiến hành các nghiên cứu hấp thu ẩm được thực hiện ở nhiệt độ môi trường bằng cách sử dụng các buồng ẩm bằng dung dịch muối để đánh giá độ ổn định của chất rắn bằng quan sát bằng mắt. Các kết quả này được thể hiện trong Bảng 9. Nhận thấy là các mẫu tan ra hoàn toàn ở 51 và 95% RH trong 12 giờ. Khi đưa KX2-391·2HCl đến 42% RH, phát hiện được sự tan ra trong vòng ba giờ và tiếp tục duy trì tình trạng này trong bảy ngày tiếp theo. Tuy nhiên, khi đưa KX2-391·2HCl đến 32% RH, nhận thấy rằng chất này vẫn ổn định trong cùng thời gian bảy ngày, điều này cho thấy độ ẩm làm tan ra ở nhiệt độ môi trường là nằm trong khoảng 32–42% RH.

Bảng 8: Phân tích hút thu ẩm của KX2-391·2HCl

%RH	TW/mg	Mg nước	% khối lượng/nước	Mmol nước	Phần mol (nước:mẫu)
-0,0500	6,6919	0,3936	5,8814	0,0218	1,7493
10,0011	6,7707	0,4724	6,9776	0,0262	2,0998
20,0071	6,8565	0,5582	8,1412	0,0310	2,4810
29,9953	6,9250	0,6267	9,0498	0,0348	2,7855
39,9936	7,0029	0,7046	10,0615	0,0391	3,1317
50,0083	7,3749	1,0766	14,5986	0,0597	4,7853
59,9940	7,5634	1,2651	16,7261	0,0702	5,6228
70,0044	7,7942	1,4959	19,1922	0,0830	6,6487
80,0002	7,9711	1,6728	20,9856	0,0928	7,4350
90,0102	8,6234	2,3251	26,9630	0,1290	10,3345
90,0102	8,6234	2,3251	26,9630	0,1290	10,3345
84,9979	8,1862	1,8879	23,0617	0,1048	8,3910
75,0016	7,5530	1,2547	16,6119	0,0696	5,5767
64,9989	7,4448	1,1465	15,3997	0,0636	5,0957
54,9876	7,3912	1,0929	14,7870	0,0607	4,8578
45,0063	7,3402	1,0419	14,1945	0,0578	4,6309
35,0089	7,2811	0,9828	13,4981	0,0545	4,3683
25,0029	7,2130	0,9147	12,6812	0,0508	4,0655
15,0035	6,7598	0,4615	6,8271	0,0256	2,0512
4,9957	6,6101	0,3118	4,7176	0,0173	1,3860
-0,0430	6,3667	0,0684	1,0737	0,0038	0,3038

Bảng 9: Độ hút ẩm của KX2-391·2HCl

%RH	Các kết quả	Thời gian
95	Tan ra	<12h
51	Tan ra	<12h
42	Tan ra	<3h
32	Chất rắn	7 ngày

Ví dụ 16: Phương pháp sắc ký lỏng có độ hiển thị cao KX2-391·2HCl

Thực hiện phương pháp sắc ký lỏng có độ hiển thị cao (HPLC) cho KX2-391·2HCl thu được theo quy trình theo sáng chế (Ví dụ 3). Hệ thống HPLC này được

trang bị thiết bị dò UV, khả năng biến đổi gradient, và bộ gom và xử lý số liệu điện tử, hoặc bộ phận tương đương, bộ lấy mẫu tự động có khả năng phun 10 μL , cột phân tích Thermo Hypersil Gold, 4,6 x 150 mm, 3,0 μm , P/N 25003-154630, Cân phân tích có khả năng cân nặng đến mức sai số $\pm 0,01$ mg, ống hút thể tích nhóm A và bình thót cổ.

Cột được sử dụng cho các phép phân tích là Thermo Hypersil Gold, 4,6 x 150 mm, 3,0 μm và nhiệt độ của cột và bộ lấy mẫu tự động là nhiệt độ môi trường. Việc phát hiện hợp chất được rửa giải xuất hiện ở 248 nm (KX2-391 được phát hiện ở 248 nm) và 210 nm (benzylamin được phát hiện ở 210 nm). Pha động A là 0,05% TFA trong nước còn pha động B là 0,05% TFA trong axetonitril với tốc độ chảy 1,0 ml/phút. Gradient giải hấp được thể hiện trong Bảng 10. Dung thể tích phun là 10 μL cho tất cả các mẫu với thời gian phân tích là 30 phút. Thời gian tái cân bằng và thời gian thu gom số liệu lần lượt là 8 phút và 22 phút. Thực hiện rửa kim khi chạy hoàn toàn trong 50:50 axetonitril/nước. Fig 18 thể hiện sắc đồ HPLC cho KX2-391·2HCl (lô 02BP111G).

Bảng 10: Gradient giải hấp HPLC cho KX2-391·2HCl

Thời gian (phút)	% A	% B
0,0	95	5
20,0	30	70
21,0	0	100
22,0	0	100
22,5	95	5
30,0	95	5

Ví dụ 17: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của KX2-391·MSA, dạng A.

Thực hiện đo phổ ^1H NMR bằng 2-10mg mẫu đã được hoà tan trong 0,8 ml DMSO- d_6 . Thu nhận phổ bằng cách sử dụng quét từ 32 đến 64 với sự trễ của xung 1,0 giây và chiều rộng xung 10 μ giây (30°). Fig 6 thể hiện phổ ^1H NMR cho KX2-391·MSA, dạng A.

Ví dụ 18: Đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của KX2-391·2HCl.

Thực hiện đo phổ ^1H NMR bằng 2-10mg mẫu được hoà tan trong 0,8 ml DMSO- d_6 . Thu nhận phổ bằng cách sử dụng 32 đến 64 lần quét với sự trễ của xung 1,0 giây và chiều rộng xung 10 μs (30°). Fig 5 thể hiện phổ ^1H NMR cho dạng bazơ tự do KX2-391. Fig 16 thể hiện phổ ^1H NMR cho KX2-391 $\cdot 2\text{HCl}$ (lô 02BP111G).

Ví dụ 19: Tối ưu hóa quy trình cho KX2-391 MSA, dạng A

Tiến hành tối ưu hóa quy trình muối mesylat vì cho rằng muối mesylat là dạng mong muốn nhất. Trong muối này axeton che chắn với 200 lần thể tích dung môi được sử dụng để tạo ra muối mesylat. Để thực hiện quy trình có quy mô, lượng axeton phải được giảm đi đến thể tích vận hành được. Bảng sau đây tổng kết các số liệu đưa ra.

Mã NB	Lượng chất liệu (mg)	Dung môi	Lượng dung môi (ml)	Thể tích dung môi được sử dụng	Nhiệt độ $^\circ\text{C}$	Lượng thu hồi (mg)	Hiệu suất (%)	Các kết quả XRPD *	Lượng theo hệ số tỷ lượng (HNMR)	HPLC (độ tinh khiết theo % diện tích)
GJP-S-15(1)	155,0	Axeton	10,0	64	50	171,0	90,2	Phù hợp	1,03:1	99,3
GJP-S-16(1)	100,3	MEK	5,0	50	70	104,6	85,3	Phù hợp	1,09:1	98,7
GJP-S-16(2)	104,8	MIBK	5,0	50	90	118,0	92,1	Phù hợp	1,10:1	99,0
GJP-S-17(1)	100,3	Axeton	8,0	80	50	106,0	86,4	Phù hợp	1,04:1	99,4
GJP-S-18(1)	3507,4	Axeton	280	80	50	4019,7	93,2	Phù hợp	1:01:1	99,5

*Kết quả chỉ ra mô tả mức độ tương tự đến quy mô lên đến lô GJP-S-10(1)

Tiến hành thử nghiệm đầu tiên bằng cách sử dụng 64 thể tích axeton và bổ sung MSA nguyên chất. Lượng này được lấy như là điểm bắt đầu và tương ứng với 10 ml dung môi cho 0,155 g được dùng trong thử nghiệm này. Thể tích của axeton được tính như sau: $(10 \text{ ml axeton}) / (0,155 \text{ g}) = 64$ thể tích. Nhận thấy có chất liệu dạng hơi giống dầu trong khối phản ứng được hóa rắn khi làm nguội và kết tủa ra khỏi dung dịch sau khi bổ sung axit. Chất rắn chảy tự do này tạo ra các kết quả phù hợp theo XRPD, ^1H NMR và HPLC khi so với việc tăng quy mô cuối của muối mesylat. Dựa trên thử nghiệm này, lượng dung môi cần thiết để giữ không cho chất liệu này bị tạo dầu được xác định là hơn 64 lần thể tích.

Trong nỗ lực làm giảm lượng chất liệu dầu tạo ra trong các phản ứng này, khảo sát các dung môi keton với điểm sôi cao hơn chẳng hạn như metyl etyl keton (MEK, 80 °C) và metyl isobutyl keton (MIBK, 117 °C).

Khi sử dụng MEK, cân bazơ tự do này vào bình nhỏ và hoà tan trong 5 ml MEK (50 thể tích). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ 70 °C trong thời gian năm phút để đảm bảo quá trình hoà tan. Cho axit metansulfonic (đặc) vào làm một lần (16 µL, 1,05 đương lượng). Dung dịch này trở nên đục sau khi cho axit vào và tạo ra dầu màu nâu ở đáy bình nhỏ. Khuấy dung dịch đục này trong thời gian hai phút trước khi làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ môi trường với tốc độ 10 °C/giờ. Xuất hiện kết tủa trong pha làm nguội. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 18 giờ. Gom chất rắn bằng cách lọc chân không. Dầu này đã được hóa rắn và được loại ra khỏi bình. Tất cả các chất rắn được làm khô trong chân không ở nhiệt độ môi trường và 30 in. Hg. Phản ứng này tạo ra 105mg (hiệu suất 90,2%) chất rắn màu trắng nhạt. Các kết quả XRPD là phù hợp với các kết quả cho quy mô tăng lên GJP-S-10(1). Độ tinh khiết HPLC là 98,7.

Khi sử dụng MIBK, cân bazơ tự do vào bình nhỏ và hoà tan trong 5 ml MIBK (50 thể tích). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ 90 °C trong thời gian năm phút để đảm bảo quá trình hoà tan. Cho axit metansulfonic (đặc) vào làm một lần (16,5 µL, 1,05 đương lượng). Dung dịch này trở nên đục sau khi cho axit vào và tạo ra dầu màu nâu ở đáy bình nhỏ. Khuấy dung dịch đục này trong thời gian 2 phút trước khi làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ môi trường với tốc độ 10 °C/giờ. Xuất hiện kết tủa trong pha làm nguội. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 18 giờ. Gom chất rắn bằng cách lọc chân không. Dầu này đã được hóa rắn và được loại ra khỏi bình. Tất cả các chất rắn được làm khô trong chân không ở nhiệt độ môi trường và 30 in. Hg. Phản ứng này tạo ra 118,0mg (hiệu suất 92,1%) chất rắn màu trắng nhạt. Các kết quả XRPD là phù hợp với các kết quả cho quy mô tăng lên GJP-S-10(1). Độ tinh khiết HPLC là 99,0.

Khi dùng các dung môi, MEK và MIBK được gia nhiệt đến nhiệt độ cao hơn phản ứng axeton, cả hai phản ứng tạo ra lượng chất liệu dầu nhiều hơn so với các phản ứng dùng axeton. Cả hai phản ứng cũng tạo ra chất rắn chảy tự do mà cho các kết quả

phù hợp theo XRPD, ^1H NMR và HPLC khi so với quy mô cuối tăng lên của lô muối mesylat; tuy nhiên nhận thấy có sự thoái hóa nhẹ khi sử dụng MEK làm dung môi chính.

Axeton được khảo sát lại bằng cách dùng lượng thể tích dung môi lớn hơn (80 so với 64). Phản ứng này tạo ra dung dịch đục sau khi cho axit vào, nhưng không tạo ra chất liệu dầu bất kỳ khi làm nguội xuống nhiệt độ môi trường. Phản ứng này tạo ra hiệu suất 86% chất rắn màu trắng nhạt với các kết quả phù hợp XRPD, ^1H NMR và HPLC khi so với việc tăng quy mô cuối muối mesylat. Quy trình này được sử dụng trong quy mô lên đến 3,5 g phản ứng tạo ra 4,0 g chất rắn màu trắng nhạt với hiệu suất 93,7% và quy trình này đã được đưa vào cGMP cho bước tổng hợp cuối.

Ví dụ 20: Nhiệt lượng quét vi sai

Thực hiện phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) trên KX2-391 MSA, dạng A thu được theo quy trình được mô tả trong bản mô tả này (Ví dụ 4), và trên một số mẫu của các muối KX2-391 khác. Các mẫu được cân trong chảo nhôm, được bao phủ bằng đĩa được khoét lỗ, và sau đó được rạch khía. Phân tích được bắt đầu ở nhiệt độ 30°C đến $300\text{--}350^\circ\text{C}$ ở độ dốc nhiệt độ 10°C / phút.

Mẫu KX2•391	Nhiệt độ ban đầu (° C)	Nhiệt độ đỉnh (° C)
Bazơ tự do	131,9	136,2
Muối đi-HCl	156,4	188,9
Muối mono-p-tosylat dạng A	110,3	112,7
	130,2	158,9
Muối mono-p-tosylat dạng B	105,8	111,1
	157,9	162,8
Muối mono-fumarat	136,1	153,4
Muối mono-maleat	143,7	149,9
Muối mono-mesylat, dạng A	159,6	163,8
Muối bis-maleat	50,2	63,8
Muối bis-fumarat dạng A	128,8	141,5
Muối bis-fumarat dạng B	155,6	157,3
Muối bis-phosphat	78,0	93,7
	120,7	128,0
	188,3	211,6
Muối bis-p-tosylat	84,2	94,6
	171,6	171,6

Như được thể hiện từ số liệu được trình bày trong bản mô tả này, KX2-391 MSA, dạng A có biểu đồ nhiệt DSC độc nhất, có sự khác biệt so với các muối KX2-391 khác. DSC của KX2-391 MSA, dạng A luôn tạo ra một đỉnh DSC đơn, ngược lại với một số dạng muối KX2-391 khác, dường như là vạch đôi.

Ví dụ 21: Đặc tả các muối mono KX2-391: muối p-tosylat, fumarat, và maleat

Tạo ra mono-tosylat của KX2-391 dạng A bằng 1 đương lượng p-TSA trong đioxan và tạo ra kiểu mẫu bán tinh thể theo XRPD như được thể hiện trên Fig 20. Tạo ra mono-tosylat KX2-391 dạng B từ 1 đương lượng p-TSA trong đioxan và tạo ra kiểu mẫu ở dạng tinh thể theo XRPD mà được nhận thấy là độc nhất so với 1 đương lượng dạng A quy mô trung gian. XRPD cho dạng B được thể hiện trên Fig 21.

Muối fumarat của KX2-391 được tạo ra bằng 1 đương lượng axit fumaric và có XRPD như được thể hiện trên Fig 22.

Muối maleat được tạo ra từ 2 đương lượng (mặc dù 1 đương lượng là tỷ lệ đích) axit maleic và có XRPD như được thể hiện trên Fig 23.

Bảng sau đây tổng kết số liệu đặc điểm bổ sung cho các muối fumaric và maleat KX2-391 MSA và so sánh nó với dạng bazơ tự do, bis-HCl, và các muối MSA đã nêu trên. Thu được các kết quả thể hiện trong bảng sau đây bằng cách áp dụng quy trình đã nêu trên ở các Ví dụ 5 (XRPD), 6 (DSC), 7 (TGA), và 8 (hấp thu ẩm).

Muối	Ion đối ứng (Đương lượng, dung môi)	XRPD (dạng)	% tồn thất khối lượng theo TGA	Hệ số tỷ lượng (¹ HNMR)	độ tan mg/ml (pH)	Hấp thu ẩm% khối lượng nước ở 90%RH
Bazơ tự do	N/A, H ₂ O, DCM	ở dạng tinh thể	NA	phù hợp	DI H ₂ O: NA pH 2: NA	3,7
Bis-HCl	2, EtOH	ở dạng bán tinh thể	9,2	phù hợp	DI H ₂ O: >500 (2,1) pH 2: >500 (1,9)	27,0
MSA	1, Axeton	ở dạng tinh thể	0,0	1,07: 1	DI H ₂ O: >500 (4,6) pH 2: >500 (4,3)	5,7
Fumaric	1, Axeton	dạng tinh thể A	1,7	0,96: 1	DI H ₂ O: 7,6 (4,5*) pH 2: 21,5 (4,5*)	0,5
Maleat	1, Axeton	dạng tinh thể A	0,0	0,99: 1	DI H ₂ O: 7,3 (4,5*) pH 2: 21,2 (4,5*)	1,4

N/A - mẫu không được phân tích

pH dựa trên đo tương đối bằng cách sử dụng giấy pH thay cho thiết bị đo do thể tích không đủ

Ví dụ 22: Đặc tả bằng XRPD các muối KX2-391 tạo ra từ hai đương lượng: các muối maleat, fumarat, và phosphat

Bis-maleat KX2-391 dạng A được tạo ra bằng 2 đương lượng axit maleic trong axeton và tạo ra kiểu mẫu bán tinh thể theo XRPD như được chỉ ra trên Fig 24. Nhận thấy rằng kiểu mẫu này là độc nhất so với dạng bazơ tự do điều này thể hiện sự tạo muối thành công. Hệ số tỷ lượng theo $^1\text{H NMR}$ was 1,86:1.

Bis-fumarat KX2-391, dạng A được tạo ra bằng 2 đương lượng axit fumaric trong rượu isopropyllic (IPA isopropyl alcohol) và tạo ra kiểu mẫu ở dạng tinh thể theo XRPD như được chỉ ra trên Fig 25. Nhận thấy kiểu mẫu này là độc nhất khi so với dạng bazơ tự do, điều này gợi ý rằng sự tạo muối thành công. Hệ số tỷ lượng theo $^1\text{HNMR}$ là 1,93:1. Bis-fumarat KX2-391, dạng B được thể hiện trên Fig 26.

Bis-phosphat KX2-391 được tạo ra bằng 2 đương lượng axit phosphoric trong THF tạo ra kiểu mẫu bán tinh thể theo XRPD (dạng A) như được thể hiện trên Fig 27 và được nhận thấy là độc nhất so với bazơ tự do, điều này thể hiện sự tạo muối thành công. Phần trăm tổn thất khối lượng là 0,3 và 1,7 khi đo bằng TGA như được mô tả ở Ví dụ 7. Hệ số tỷ lượng $^1\text{HNMR}$ là 1,95:1.

Bis-p-tosylat KX2-391 được tạo ra bằng 2 đương lượng p-TSA trong dioxan và tạo ra kiểu mẫu bán tinh thể theo XRPD như được chỉ ra trên Fig 27.

Ví dụ 23: Thử nghiệm độ tan cho các muối KX2-391

Thực hiện thử nghiệm hoà tan trên các muối KX2-391 để hiểu biết tốt hơn tương tác của các muối này trong nước. Quá trình này được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm hoà tan 5 mg/ml nước DI trong đó 5mg của mỗi muối được cân vào bình nhỏ và cho 1 ml nước DI vào. Dung dịch này được theo dõi bằng mắt bằng cách khuấy từ trong khoảng thời gian 20 phút để phát hiện thời gian hoà tan. Các kết quả

của thử nghiệm độ tan 5 mg/ml cho KX2-391 mesylat dạng A, các muối fumaric, và maleic được thể hiện ở bảng sau đây. Nhận thấy các muối fumarat và maleat không hòa tan chất rắn trong thời gian 10 phút và do đó bổ sung 1 ml nước DI vào.

Mã NB	Nguyên liệu (Ion đối ứng)	Các điều kiện thí nghiệm (Sử dụng máy khuấy từ)	Thời gian (giây/phút)							
			0 giây	30 giây	1 phút	2 phút	5 phút	10 phút (1ml nước DI được thêm vào)	15 phút	20 phút
SUC-B-81(1)	GJP-S-10(1) (MSA)	5,13mg trong 1 ml nước DI	P	P	D					
SUC.B.81(2)	GJP-S-10(2) (Fumaric)	5,31mg trong 1 ml nước DI	P	P	P	P	P	P	P	D
SUC-B-81(3)	GJP-S-10(3) (Maleic)	5,10mg trong 1 ml nước DI	P	P	P	P	P	P	P	P

P-Hạt được hoà tan một phần

D-Hạt được hoà tan hoàn toàn

Thử nghiệm độ hòa tan còn được thực hiện bằng cách sử dụng dung dịch đệm phosphat pH 2,0 và nước DI pH 6,9 và KX2-391 MSA, dạng A. Mỗi bình nhỏ được đổ khoảng 50mg KX2-391 MSA, dạng A và cho các phân phân ước 100 µL dung môi tương ứng vào cho đến khi phát hiện được quá trình hoà tan hoàn toàn, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian một đến năm ngày. Chất rắn thu được được phân tách bằng cách lọc, làm khô trong chân không ở nhiệt độ trong phòng và phân tích bằng HPLC. Độ tinh khiết HPLC ban đầu của KX2-391 MSA, dạng A là 99,4 (% diện

tích). Độ hòa tan theo HPLC của KX2-391-MSA, dạng A trong dung dịch đệm phosphat /nhiệt độ phòng là >500 mg/ml và độ tinh khiết HPLC được đo là 99,4. Độ tan theo HPLC của KX2-391-MSA, dạng A trong H₂O DI/ nhiệt độ phòng là >500 mg/ml và độ tinh khiết HPLC được đo là 99,4.

Ví dụ 24: Phân tích lưỡng chiết quang

Phân tích lưỡng chiết quang cung cấp đánh giá về mức độ kết tinh thể hiện của chất rắn tạo ra từ quá trình sàng lọc muối. Bằng cách đặt đĩa 96 giếng giữa màng phân cực nằm ngang, chất rắn của từng lỗ được phân tích bằng mắt cho lưỡng chiết quang có ý nghĩa hoặc hạt tinh thể xác định. Mỗi lỗ chứa chất rắn được đánh số thứ tự 0 đến 3 theo sự tăng độ kết tinh như được thể hiện trong bảng sau đây.

		1 đương lượng axit						2 đương lượng axit					
		ACN	AXETON	DIOXAN	THF	EtOH	IPA	ACN	AXETON	DIOXAN	THF	EtOH	IPA
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Malic	A	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fumaric	B	1	2	2	1	0*	0*	1	1	1	1	0	1
Tartaric	C	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maleic	D	1	0*	1	1	1	0*	0	1	1	1	0	0
MSA	E	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
p-TSA	F	0*	1*	1*	1*	0*	0*	0	0	0	0	0	0
Sulfuric	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phosphoric	H	1	1	1	1	0	1	0	2	1	1	0	1

3
2
1
0
-

Tinh thể
Bán tinh thể
Vô định hình
Dầu/Không phát hiện được
Biểu thị sự tạo ra tinh thể trong quá trình hòa tan đến ngưỡng

Ví dụ 25: Độ hòa tan ngưỡng

Độ hòa tan ngưỡng được đánh giá bằng cách cho các phần phân ước 200 μL của nước đã khử ion lên đến 1 ml vào mỗi lỗ của đĩa 96 giếng được tạo ra trong quá trình sàng lọc muối và được theo dõi cho sự hoàn toàn hoà tan. Sau mỗi lần bổ sung, đĩa này được lắc để thúc đẩy sự phối trộn trong thời gian ít nhất 5 phút trước khi đánh giá. Khi đánh giá, dùng các mức số (từ 1 đến 5) biểu thị sự tăng độ hòa tan như được thể hiện trong bảng sau đây.

		1 đương lượng axit						2 đương lượng axit					
		ACN	AXETON	ĐIOXAN	THF	EtOH	IPA	ACN	AXETON	ĐIOXAN	THF	EtOH	IPA
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Malic	A			1									
Fumaric	B	5	5	4	5	2	2	5	5	2	5		2
Tartaric	C			1									
Maleic	D	N	N	N	N	N	N		1	1	1		
MSA	E		1	1	1								
p-TSA	F	5	5	5	5	5	5						
Sulfuric	G												
Phosphoric	H	1	5	1	1		1		1	1	1		1

N Biểu thị rằng không phát hiện được sự hòa tan cho 1 ml sau 24 h

1-5 Biểu thị số phần phân ước 200 μL của nước DI được cho vào để hòa tan hoàn toàn

Ví dụ 26: Tổng hợp quy mô nhỏ KX2-391-MSA, dạng A từ bazơ tự do

Cân bazơ tự do (350,1 mg) vào bình thót cổ đáy bằng dung tích 100 ml, và hoà tan trong axeton (52 ml) bằng cách khuấy trộn và gia nhiệt (50 °C) trong thời gian 5 phút để đảm bảo sự hoà tan. Cho axit metansulfonic (850 μL , dung dịch 1M trong axeton) vào làm một lần và dung dịch này vẫn trong. Làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ môi trường với tốc độ 20 °C/giờ. Khi đạt đến nhiệt độ môi trường, chất liệu kết tủa ra khỏi dung dịch. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 16 giờ. Thu gom chất rắn này bằng cách lọc chân không và làm khô trong chân không ở nhiệt độ môi trường và 30 in. Hg. Phản ứng này tạo ra 351,6mg (72%) chất rắn màu be.

Ví dụ 27: Nghiên cứu huyền phù đặc

Thực hiện thử nghiệm huyền phù đặc bằng cách sử dụng axeton và nước DI trên KX2-391MSA, dạng A. Mỗi bình nhỏ được đổ khoảng 30mg KX2-391MSA, dạng A và từ 0,5 đến 1 ml dung môi tương ứng, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian từ một đến năm ngày. Chất rắn thu được được tách bằng cách lọc, sấy khô trong chân không ở nhiệt độ trong phòng, và phân tích bằng HPLC và XRPD. Độ tinh khiết KX2-391MSA ban đầu là 99,4%. Điều kiện thử nghiệm huyền phù đặc axeton/nhiệt độ trong phòng tạo ra chất rắn cho XRPD phù hợp với kiểu mẫu KX2-391MSA ban đầu, dạng A và độ tinh khiết HPLC đo được là 99,3%.

Ví dụ 28: Ứng suất do nhiệt

Thử nghiệm ứng suất do nhiệt được thực hiện trên KX2-391MSA, dạng A. Mỗi bình nhỏ hồ phách 1 dram được đổ bằng khoảng 20mg KX2-391MSA, dạng A được bọc và được bảo quản trong chân không ở nhiệt độ 60 °C trong thời gian một tuần. Chất rắn thu được được phân tích bằng XRPD và HPLC. Các điều kiện thử nghiệm nhiệt/60 °C tạo ra chất rắn cho XRPD phù hợp với kiểu mẫu của KX2-391MSA ban đầu, dạng A và độ tinh khiết HPLC được đo là 99,3%. Kiểu mẫu của KX2-391MSA ban đầu, dạng A là phù hợp với kiểu mẫu được thể hiện ở Fig 7.

Ví dụ 29: Ảnh hưởng của dung môi và profin làm nguội đến dạng tinh thể

Ảnh hưởng của dung môi và profin làm nguội đến dạng tinh thể KX2-391 mesylat được xác định bằng cách sử dụng kết tinh một hoặc hai dung môi trong cả điều kiện làm nguội nhanh và từ từ. Một dạng tinh thể được phát hiện là dạng A. Dạng tinh thể theo dõi tạo ra nhiễu xạ XRPD phù hợp với kiểu mẫu được thể hiện ở Fig 7.

Ví dụ 30: Các nghiên cứu ảnh hưởng của áp suất và nghiền

Các nghiên cứu của áp suất và nghiền được thực hiện để xác định ảnh hưởng của ứng suất vật lý đến dạng tinh thể KX2-391 mesylat dạng A. Không phát hiện được sự thay đổi dạng tinh thể.

Ví dụ 31: Các nghiên cứu huyền phù đặc

Thực hiện nghiên cứu các dạng huyền phù đặc KX2-391 mesylat dạng A trong năm điều kiện (IPA, 1-butanol, MeCN, THF:nước, và đioxan:nước) để thử xác định nếu có thể tạo ra dạng tinh thể, solvat, hoặc hydrat ổn định hơn. Sau 2 tuần giữ huyền phù đặc ở điều kiện môi trường, các chất rắn được phân tách và phân tích bằng XRPD và HPLC. Nhận thấy không có thêm dạng nào theo XRPD. Các kết quả này được thể hiện trong bảng sau đây.

Mã NB	Lượng KX2-391-MSA (mg)	Dung môi	Lượng dung môi (ml)	Dạng ban đầu (XRPD)	Dạng sau 2 tuần (XRPD)	Độ tinh khiết HPLC (AUC)
JSS-T-99(1)	58,7	IPA	1,0	Dạng A	Dạng A	>99%
JSS-T-99(2)	53,7	1-butanol	1,0		Dạng A	>99%
JSS-T-99(3)	57,9	MeCN	1,0		Dạng A	>99%
JSS-T-99(4)	51,9*	THF:nước (~0,9:0,1)	1,5		Dạng A	>99%
JSS-T-99(5)	55,6*	đioxan:nước (~0,9:0,1)	1,5		Dạng A	>99%

*Thêm chất rắn nữa cho đến khi quan sát được chất rắn dư, ~100 mg

Ví dụ 32: Nghiên cứu độ tan trong nước

Xác định độ tan của KX2-391 mesylat, dạng A trong SGF (pH 2), axetat dung dịch đệm (pH 4,5), và phosphat dung dịch đệm (pH 7,2). Huyền phù của KX2-391 mesylat trong dung dịch đệm được để cân bằng qua đêm ở nhiệt độ 37 °C. Sau đó, chất rắn này được phân tách và dịch nổi trên bề mặt được pha loãng và được phân tích bằng HPLC. Sau đó, đáp ứng của dịch nổi trên bề mặt được so với đường cong chuẩn độ để xác định độ tan. Các kết quả này được thể hiện trong bảng sau đây.

Mã NB	Dung dịch đệm	Độ pH sau khi tạo huyền phù	Độ hòa tan trung bình (mg/mL)
JSS-T-100(4)	SGF (pH=2,0)	4,5	700
JSS-T-100(5)	Axetat (pH=4,5)	4,4	737
JSS-T-100(6)	phosphat (pH=7,2)	4,3	150

Dung dịch đệm không duy trì độ pH. Do nhận thấy KX2-391 mesylat, dạng A có độ tan cao, không có khả năng là dung dịch đệm sẽ duy trì độ pH ở mức mong muốn trong khoảng pH nghiên cứu.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (Dạng A) ở dạng đa hình, khác biệt ở chỗ, mẫu nhiễu xạ tia X hầu như là giống với mẫu được nêu trong FIG. 7.
2. Muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (Dạng A) ở dạng đa hình, khác biệt ở chỗ, mẫu nhiễu xạ tia X bao gồm các đỉnh ở khoảng 22,7, 19,7, 18,9 và 16,3 độ 2 θ .
3. Muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit (Dạng A) ở dạng đa hình, khác biệt ở chỗ, biểu đồ nhiệt đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) có giá trị tối đa duy nhất là ở khoảng 164, như được xác định bằng thiết bị Mettler 822e DSC.
4. Muối mesylat theo điểm 1, còn khác biệt ở chỗ, biểu đồ nhiệt đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) có giá trị tối đa duy nhất là ở khoảng 164, như được xác định bằng thiết bị Mettler 822e DSC.
5. Muối mesylat theo điểm 2, còn khác biệt ở chỗ, biểu đồ nhiệt đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) có giá trị tối đa duy nhất là ở khoảng 164, như được xác định bằng thiết bị Mettler 822e DSC.
6. Dược phẩm chứa muối mesylat ở dạng đa hình theo điểm 2 và tá dược hoặc chất mang dược dụng.
7. Quy trình điều chế muối mesylat ở dạng đa hình theo điểm 2, bao gồm các bước:

Thêm axit metanesulfonic vào 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit trong axeton để tạo thành muối mesylat của 2-(5-(4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)pyridin-2-yl)-N-benzylaxetamit; trong đó lượng axeton nêu trên là lớn hơn 64 thể tích; và

tái kết tinh muối mesylat từ axeton nêu trên.

8. Quy trình theo điểm 7, trong đó lượng axeton nêu trên là lớn hơn 64 và nhỏ hơn 100 thể tích.

9. Quy trình theo điểm 8, trong đó lượng axeton nêu trên là 80 thể tích.

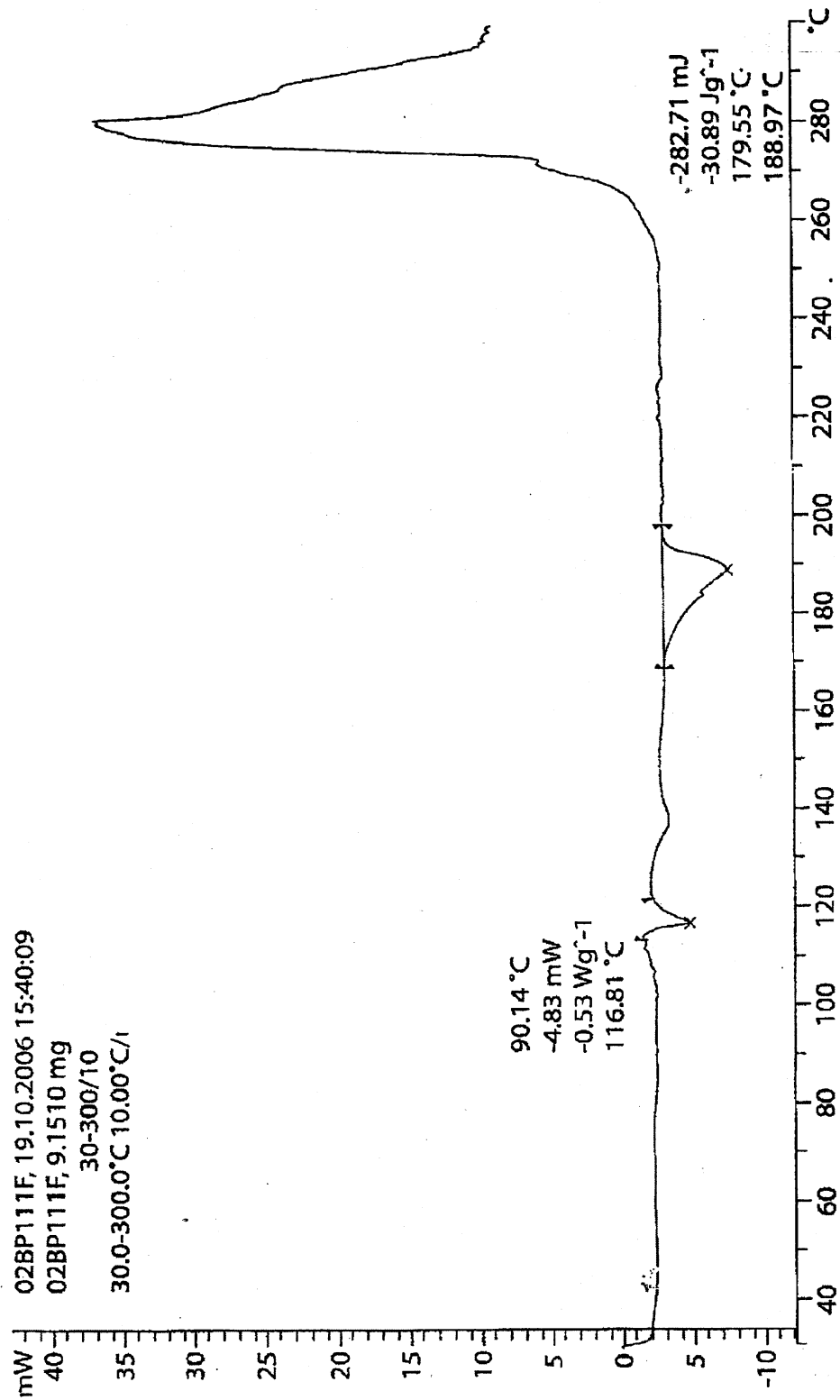


Fig. 1

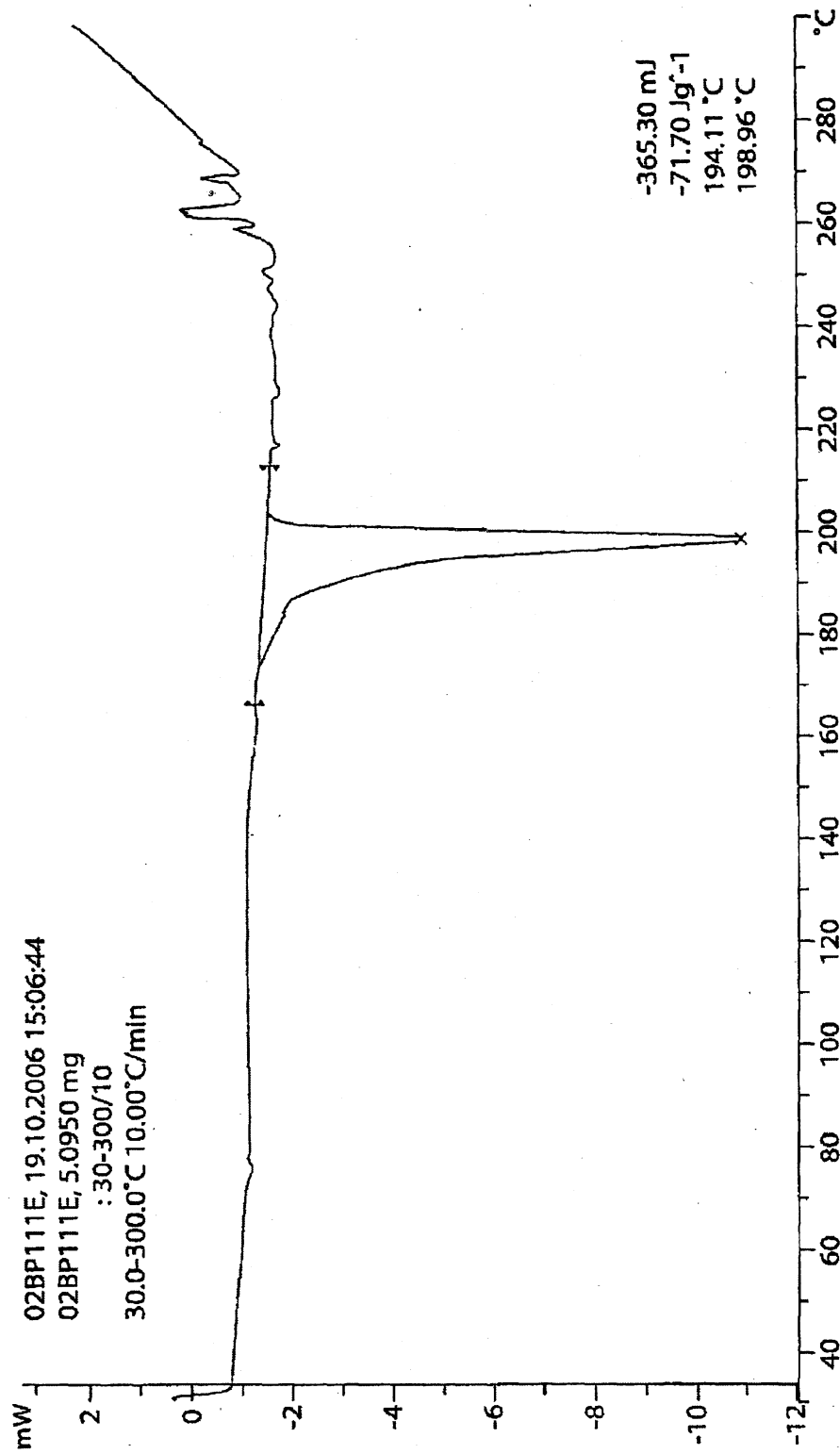


Fig. 2

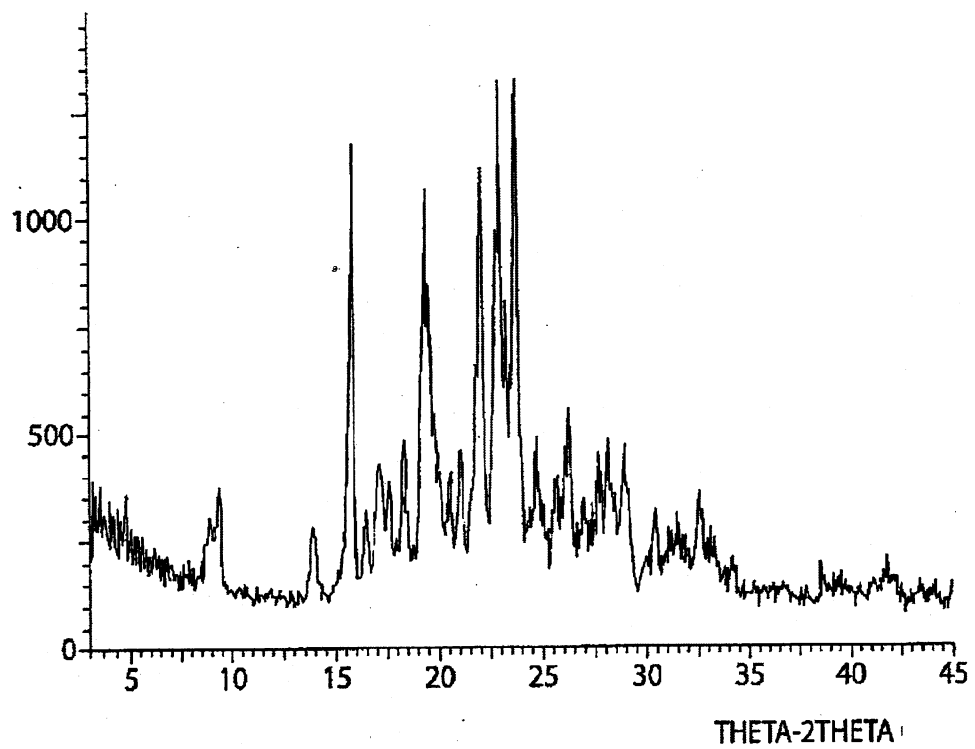


Fig. 3

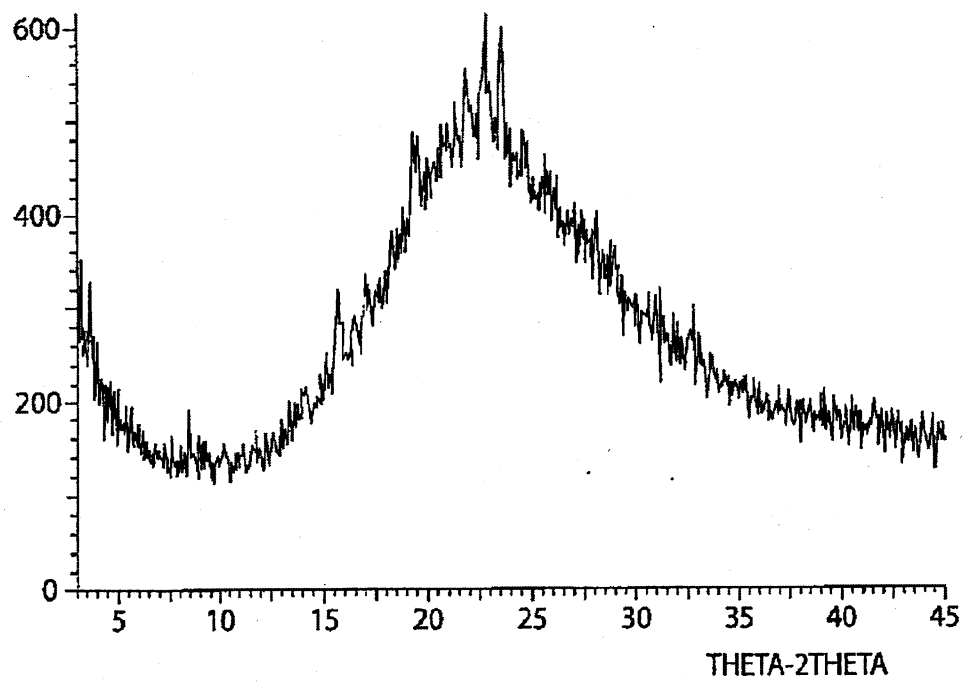
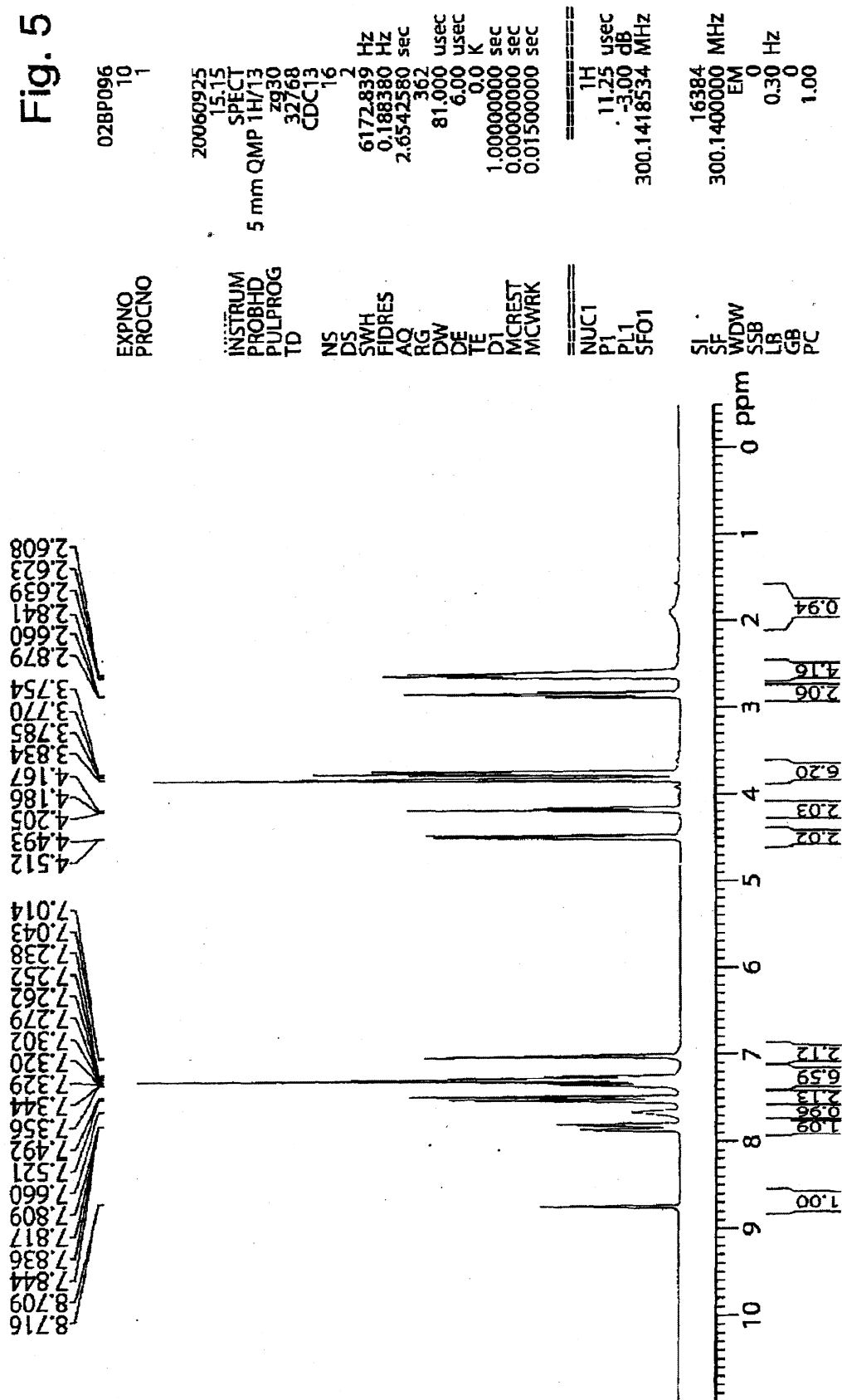
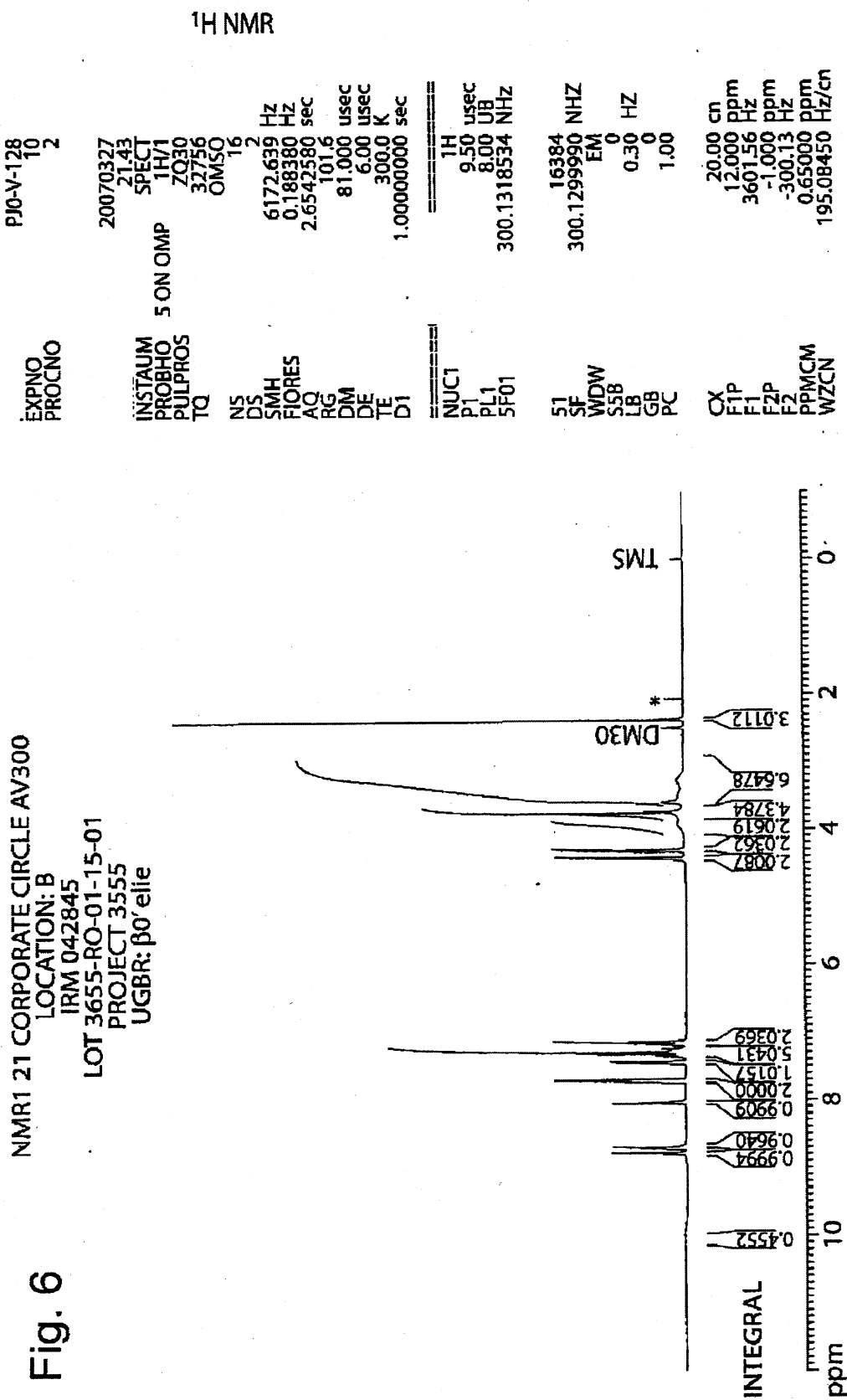


Fig. 4

Fig. 5





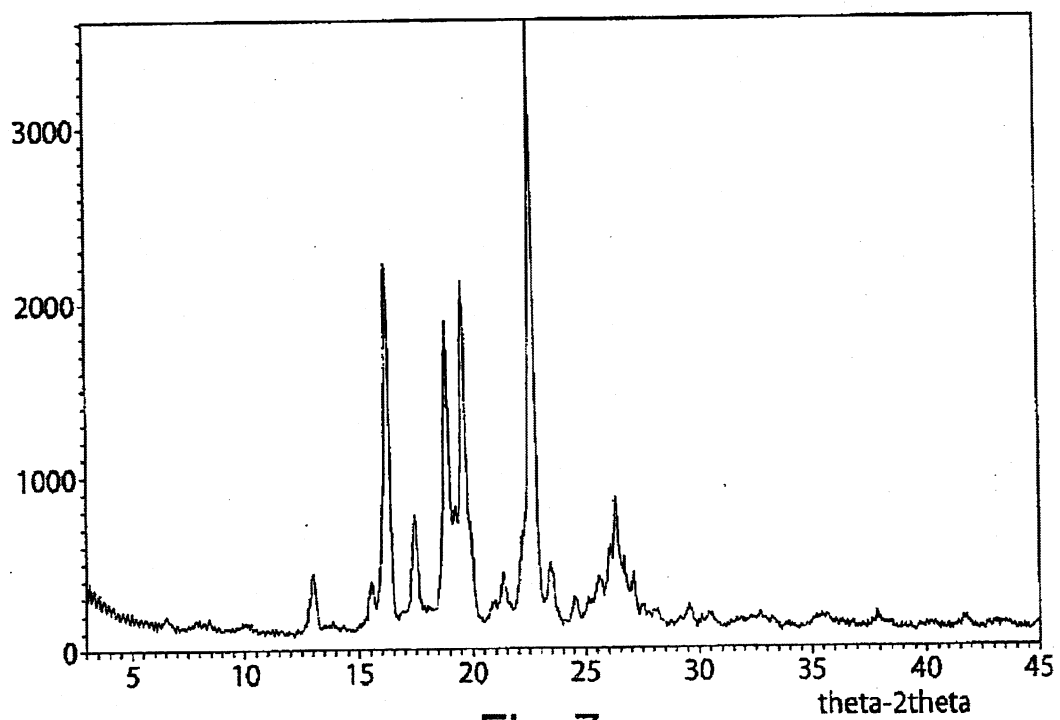


Fig. 7

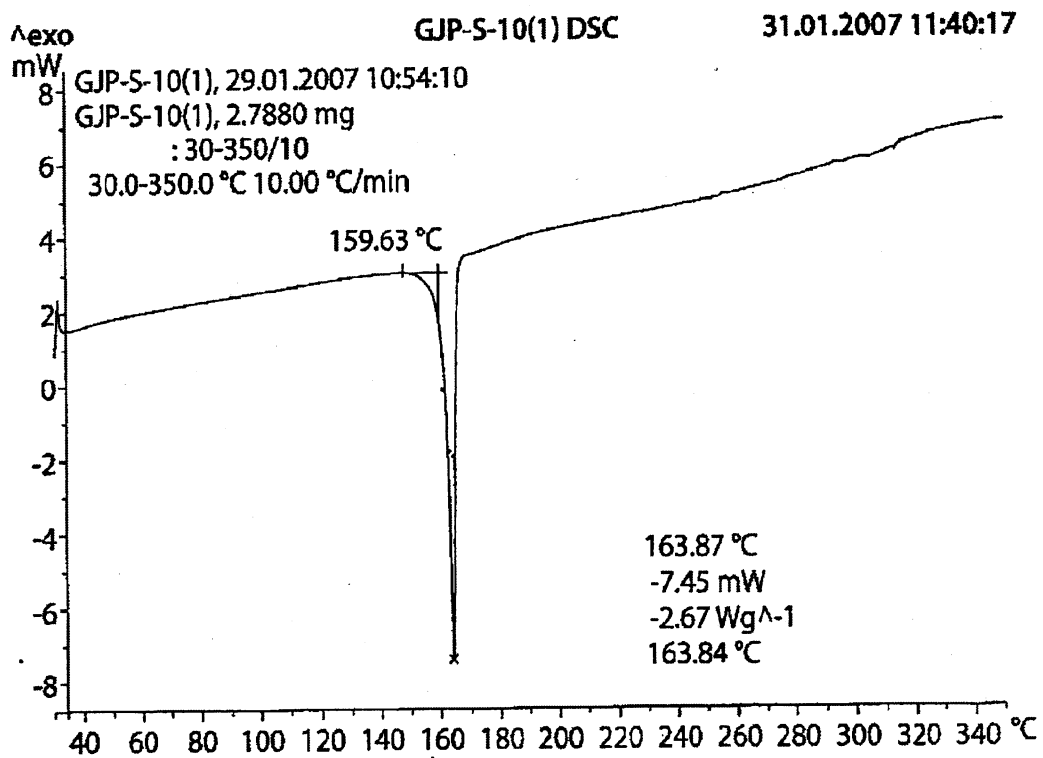


Fig. 8

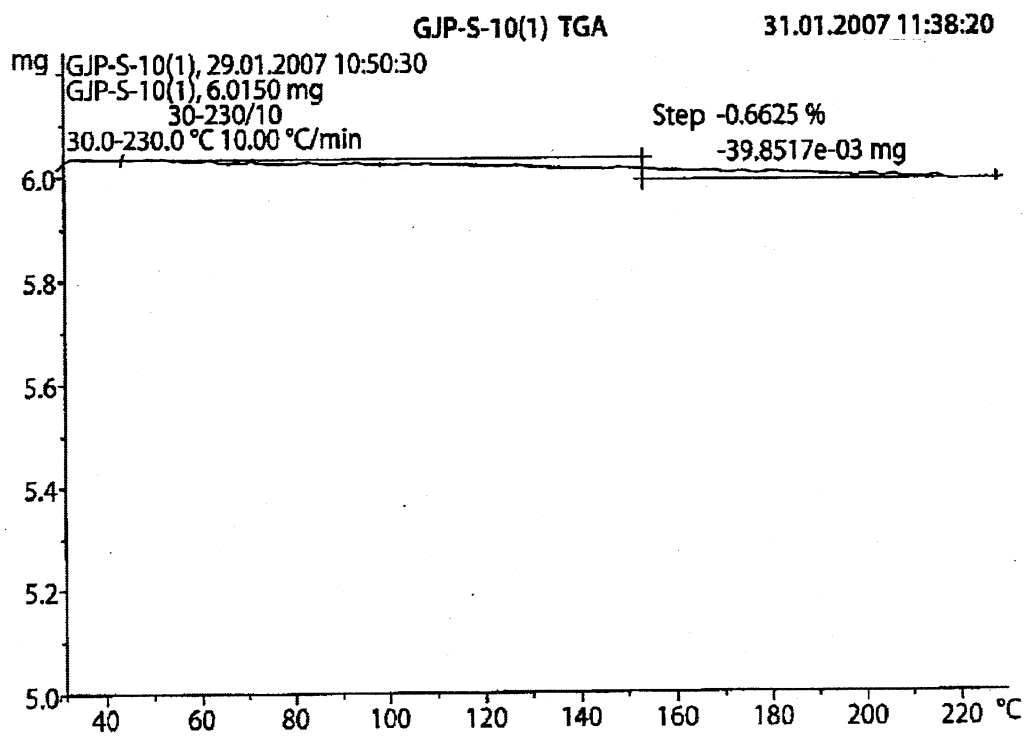


Fig. 9

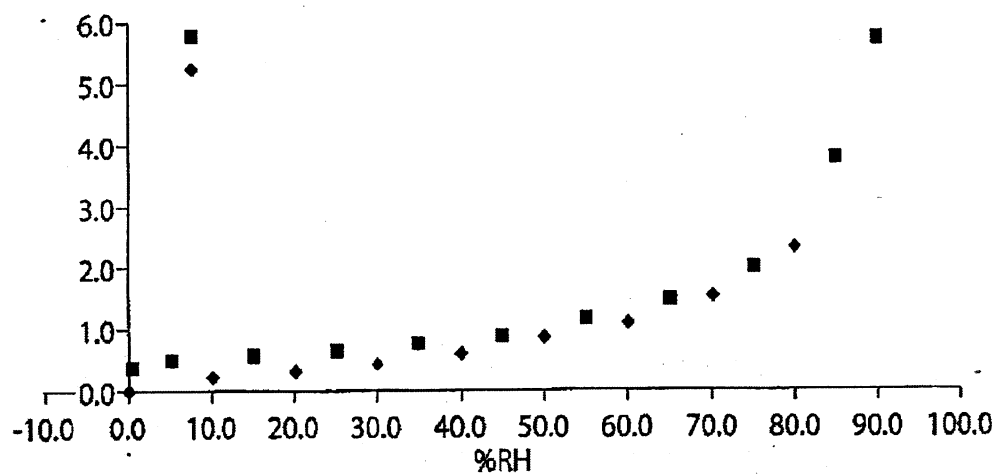


Fig. 10

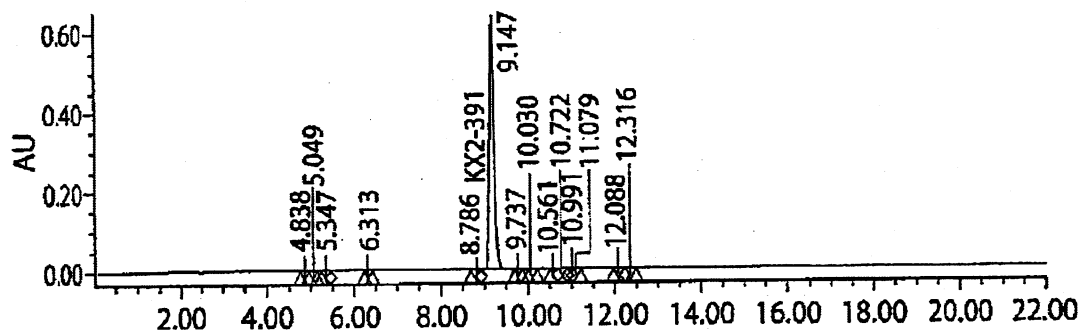


Fig. 11

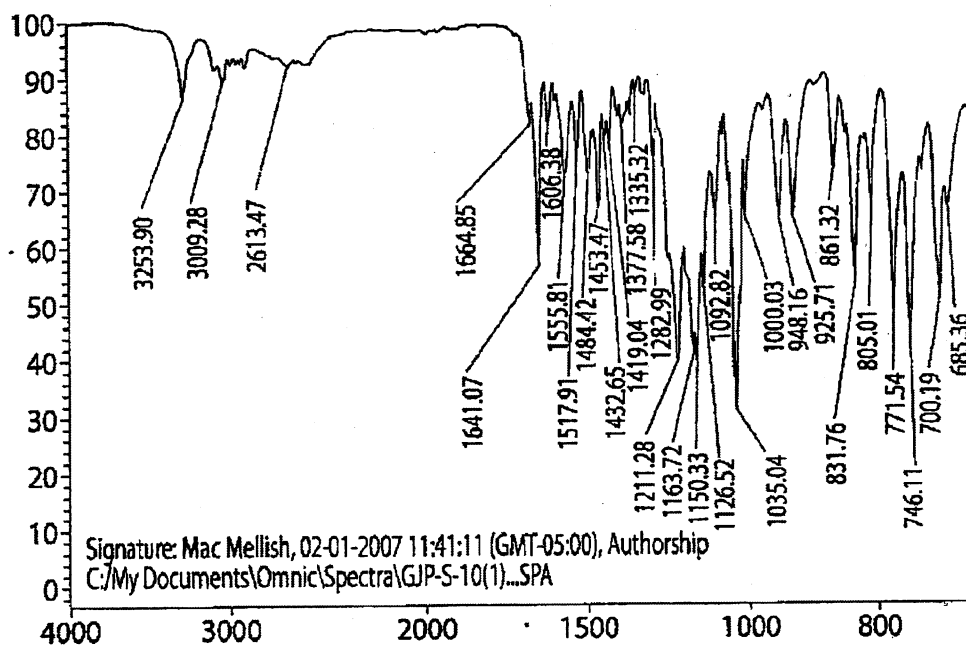


Fig. 12

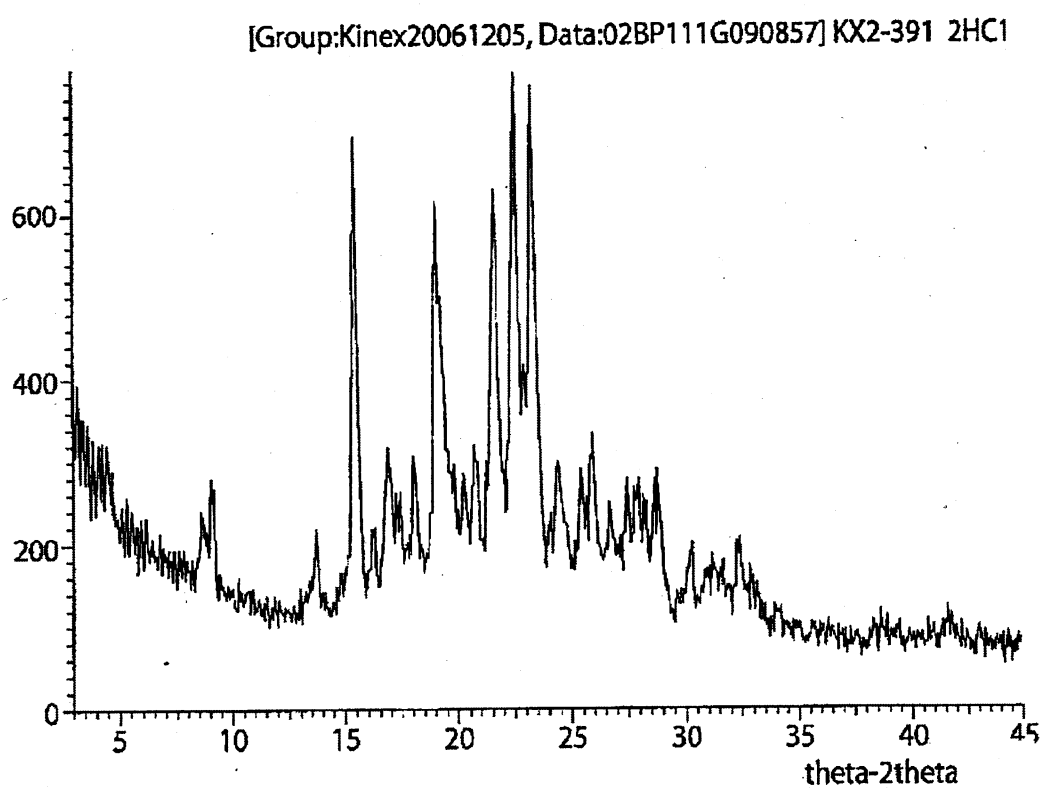


Fig. 13

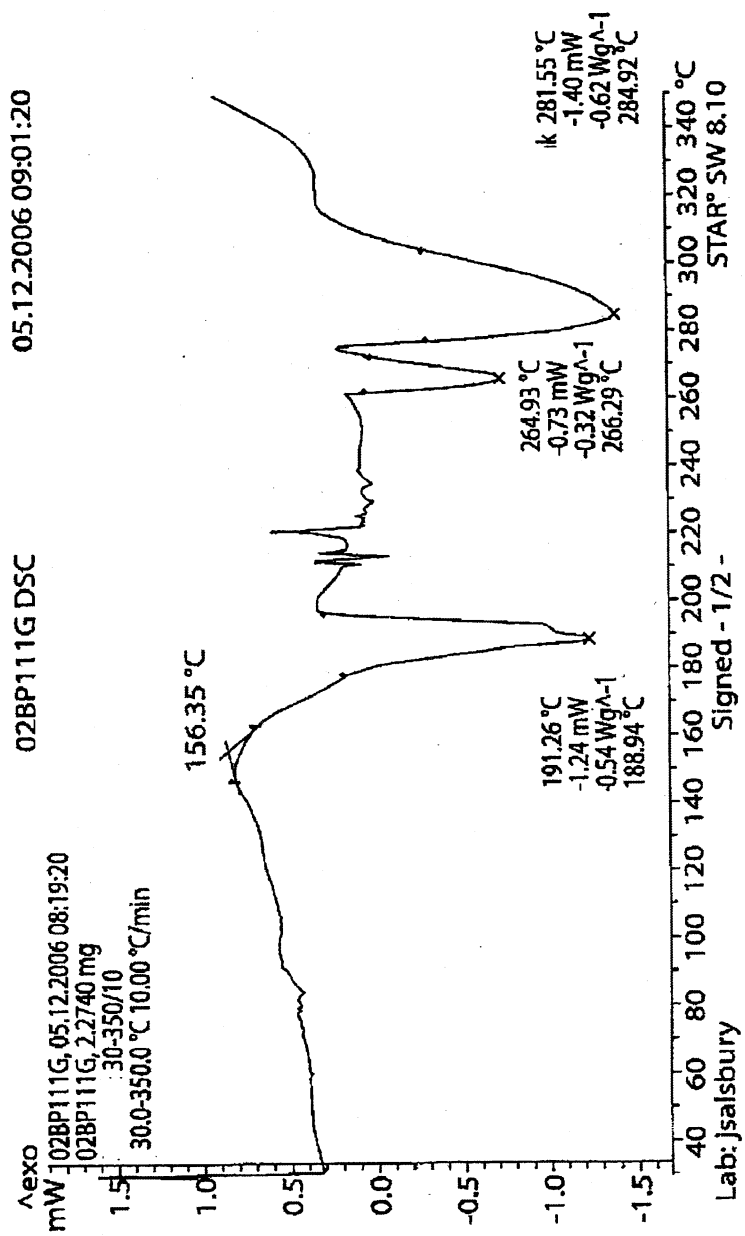


Fig. 14

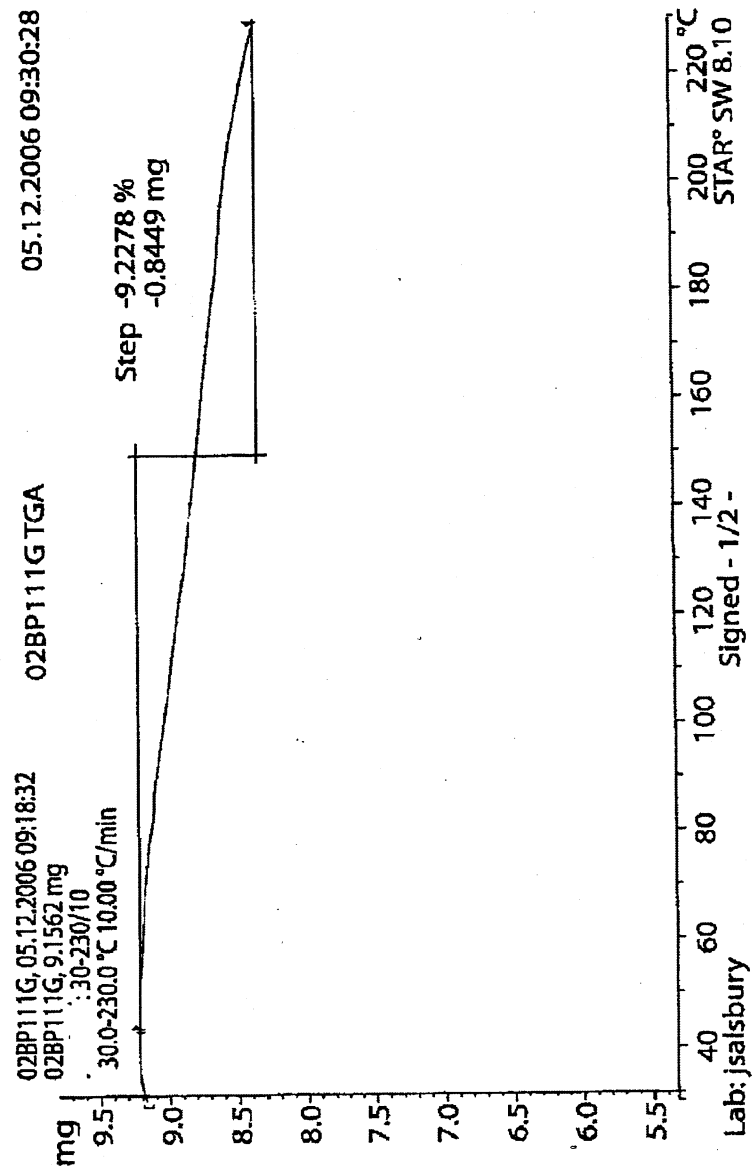


Fig. 15

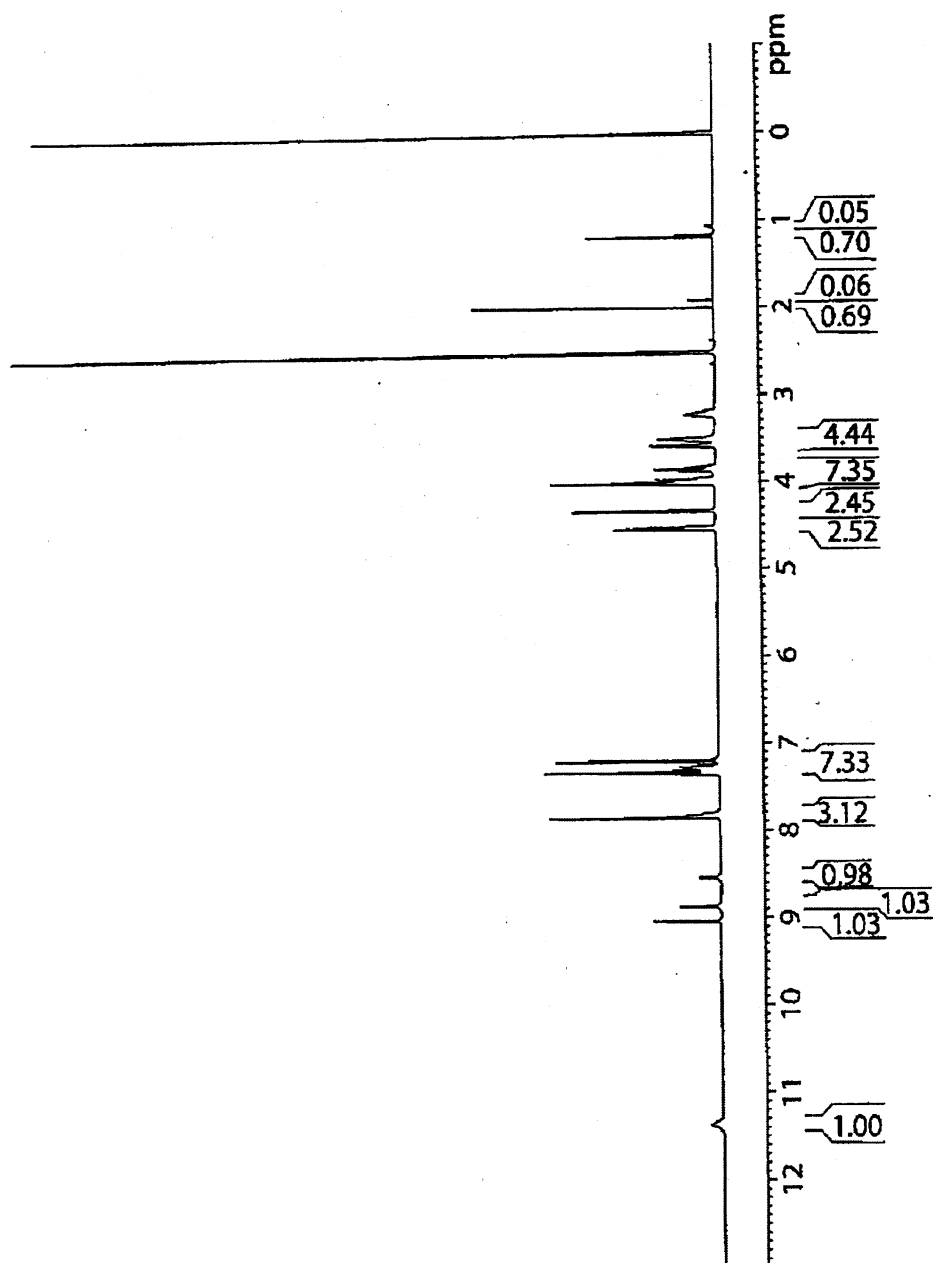


Fig. 16

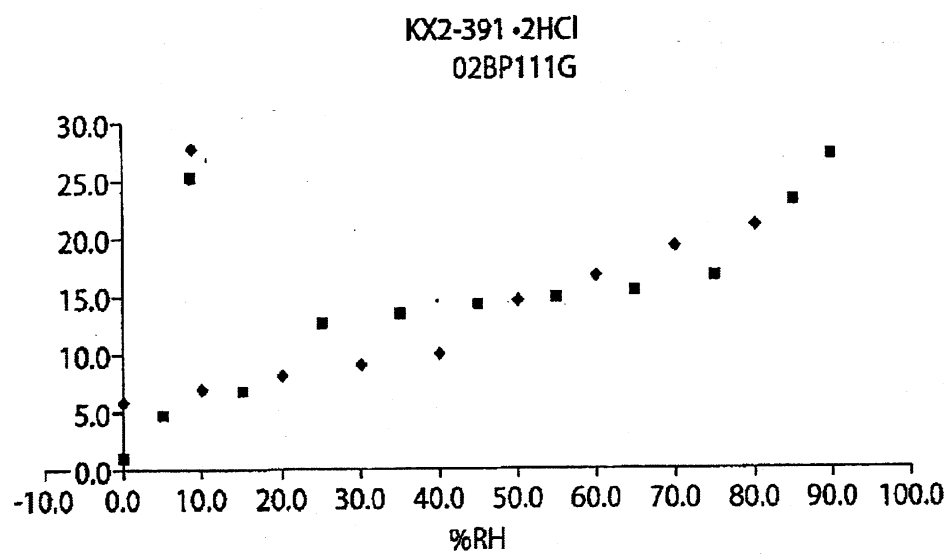


Fig. 17

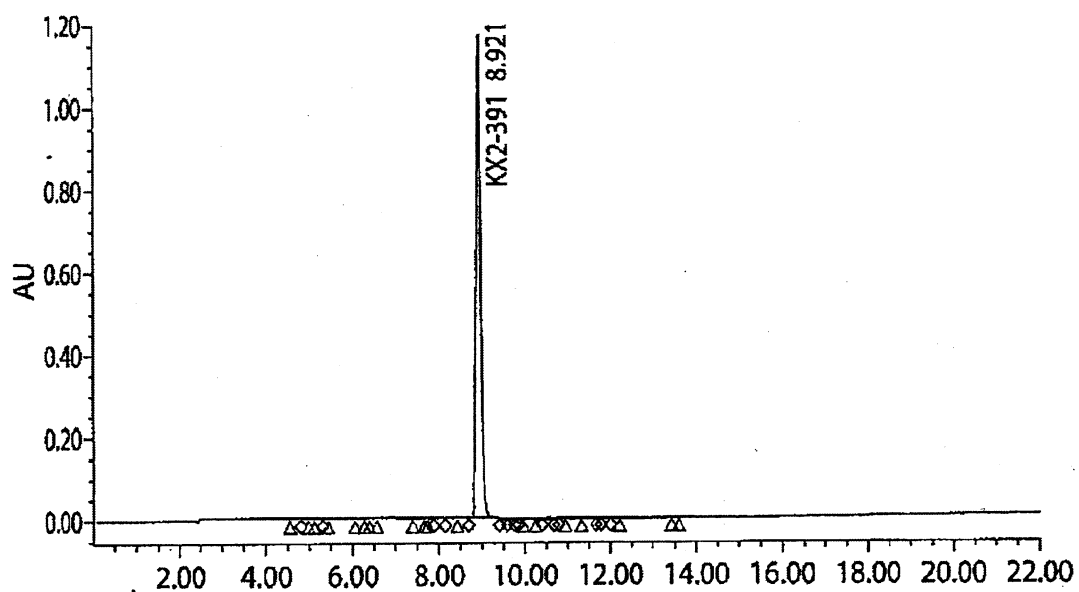


Fig. 18

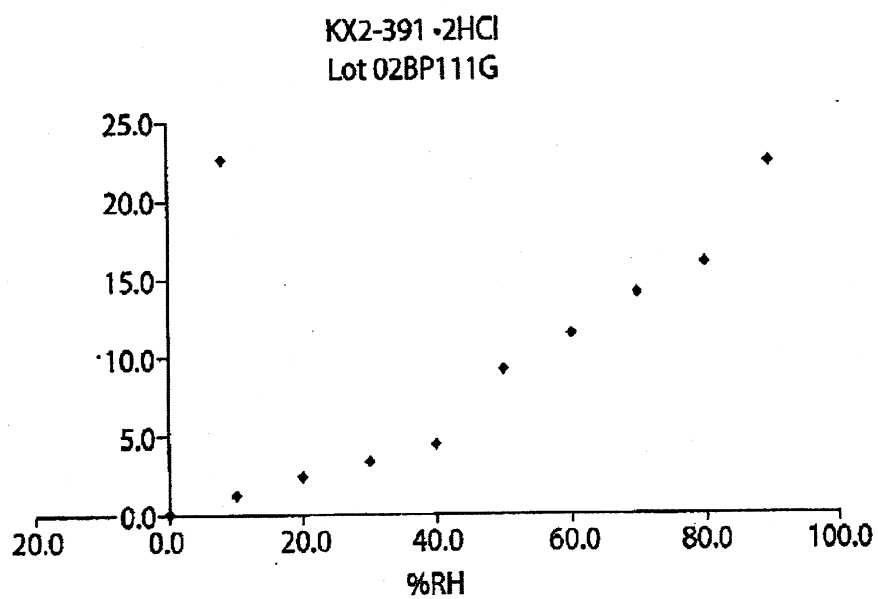


Fig. 19

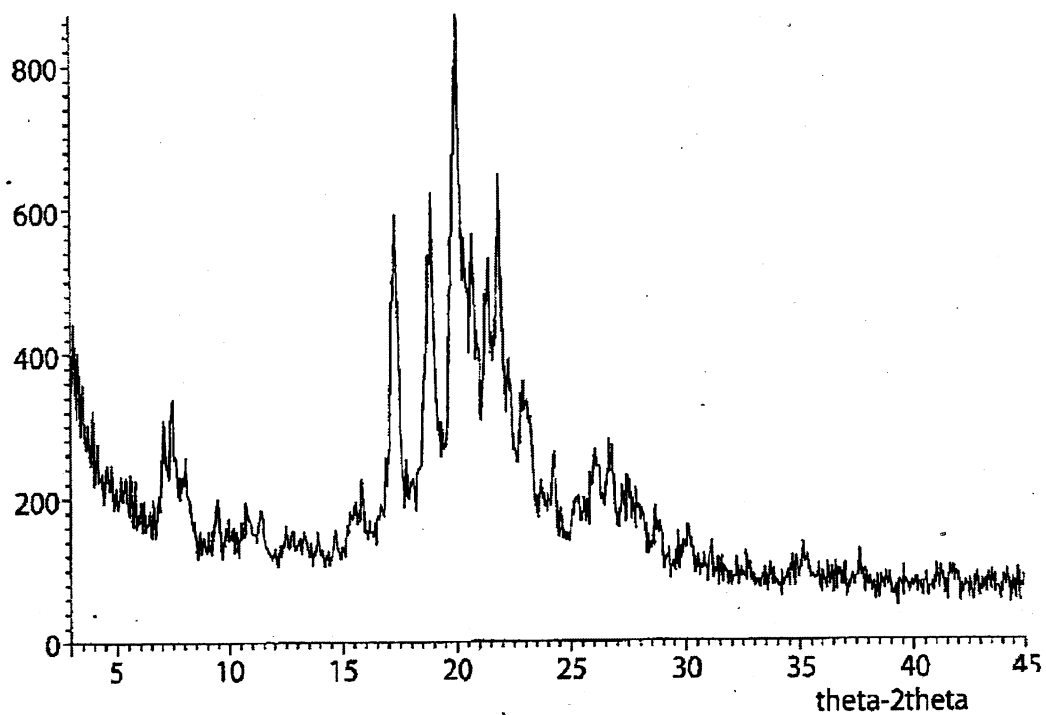


Fig. 20

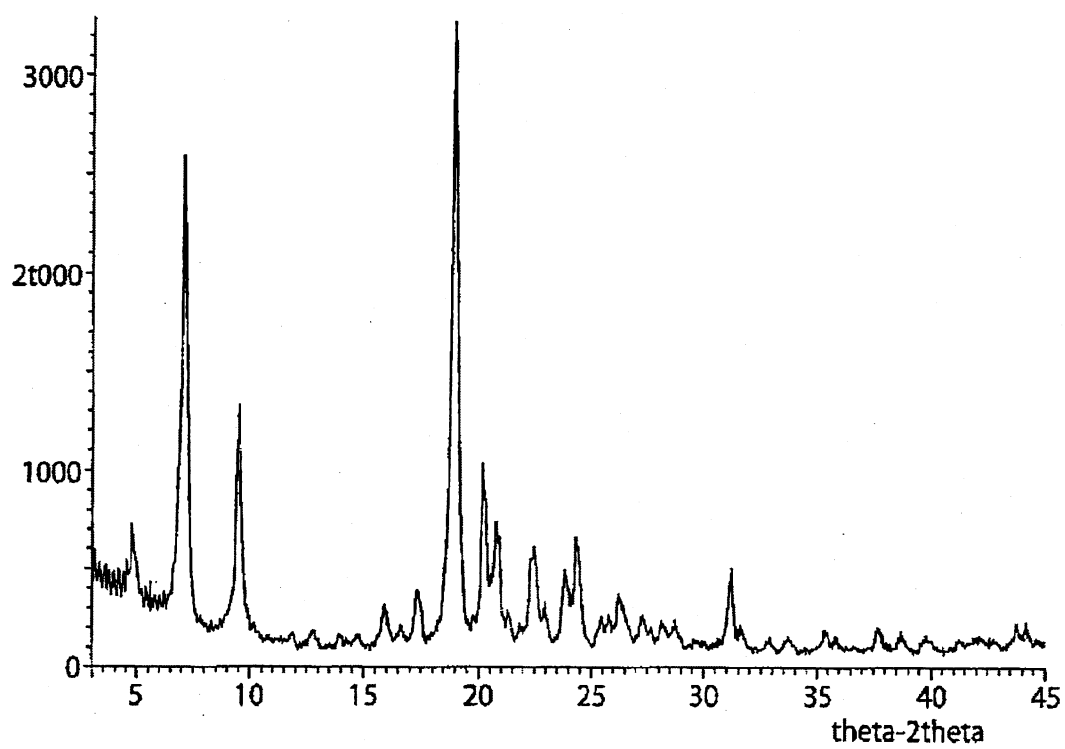


Fig. 21

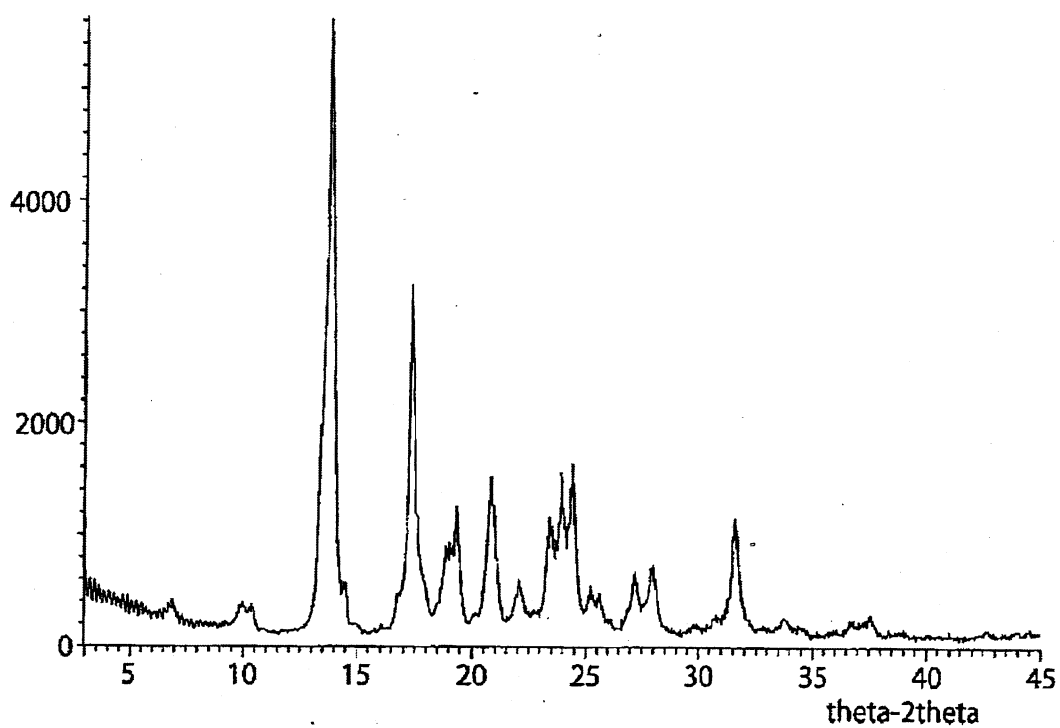


Fig. 22

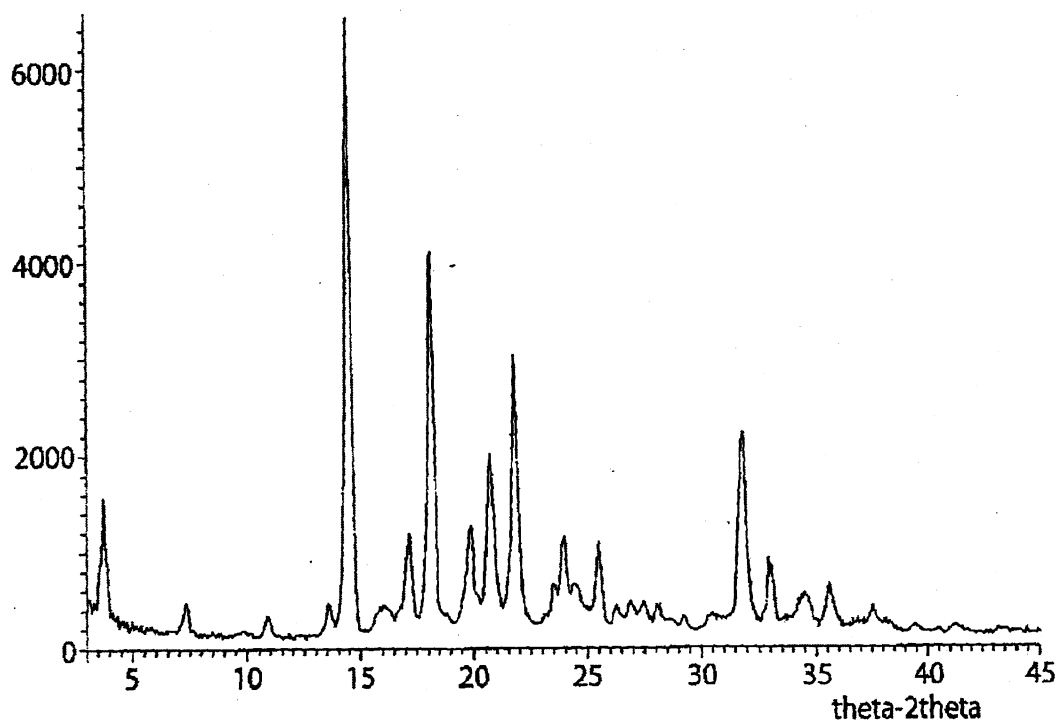


Fig. 23

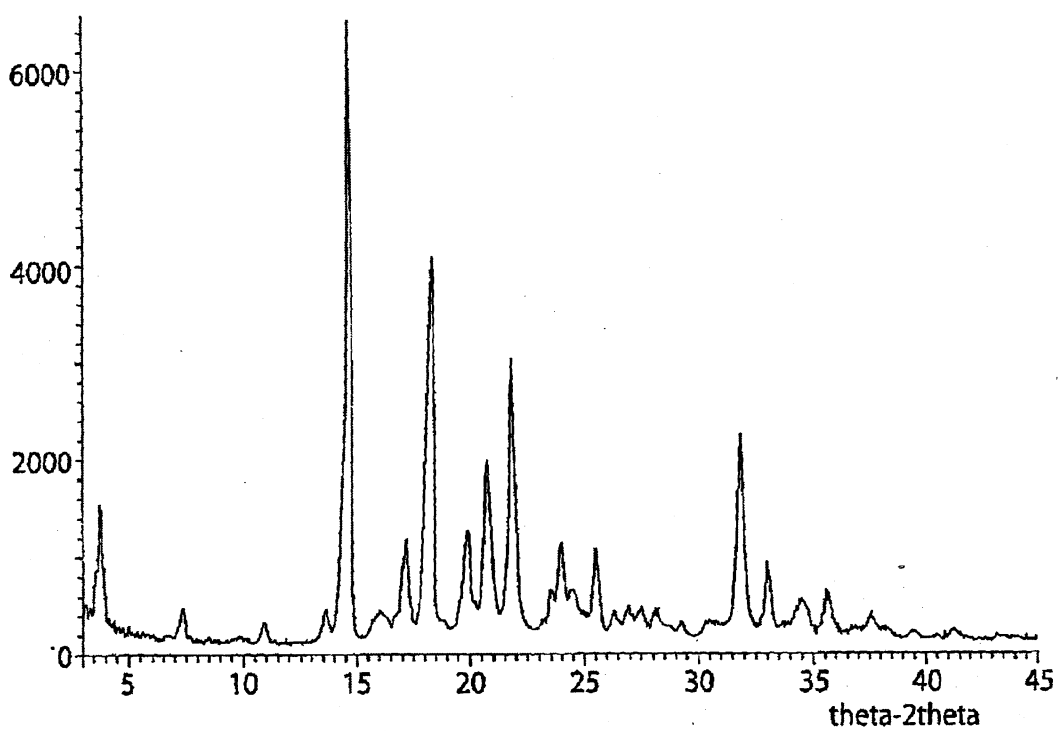


Fig. 24

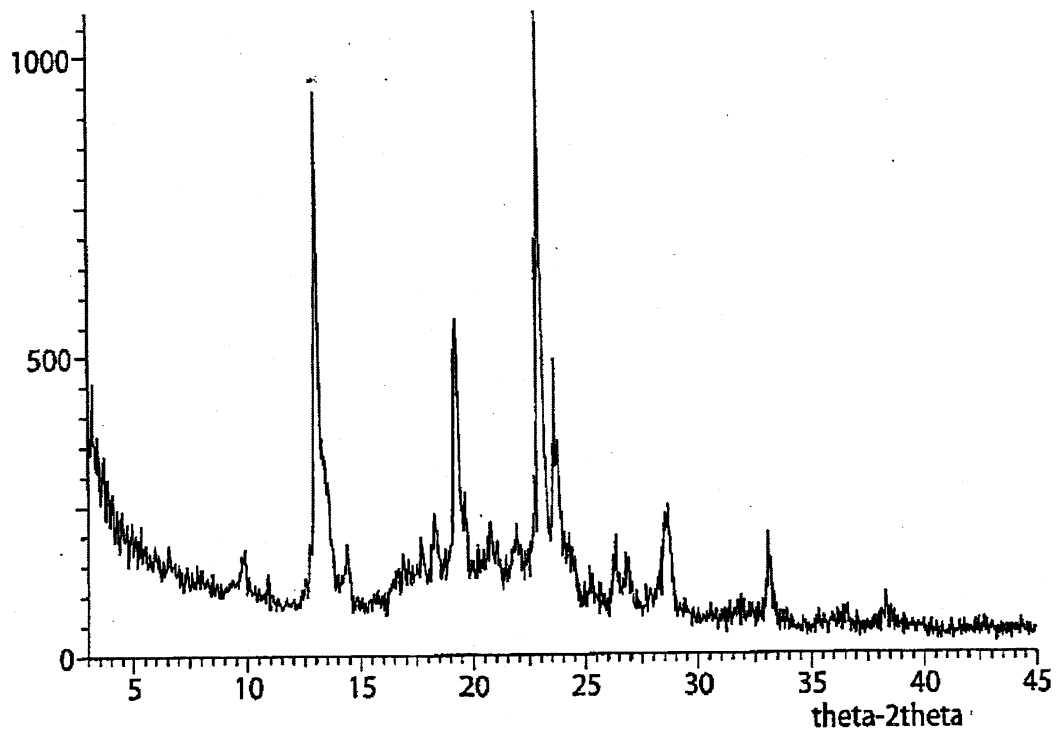


Fig. 25

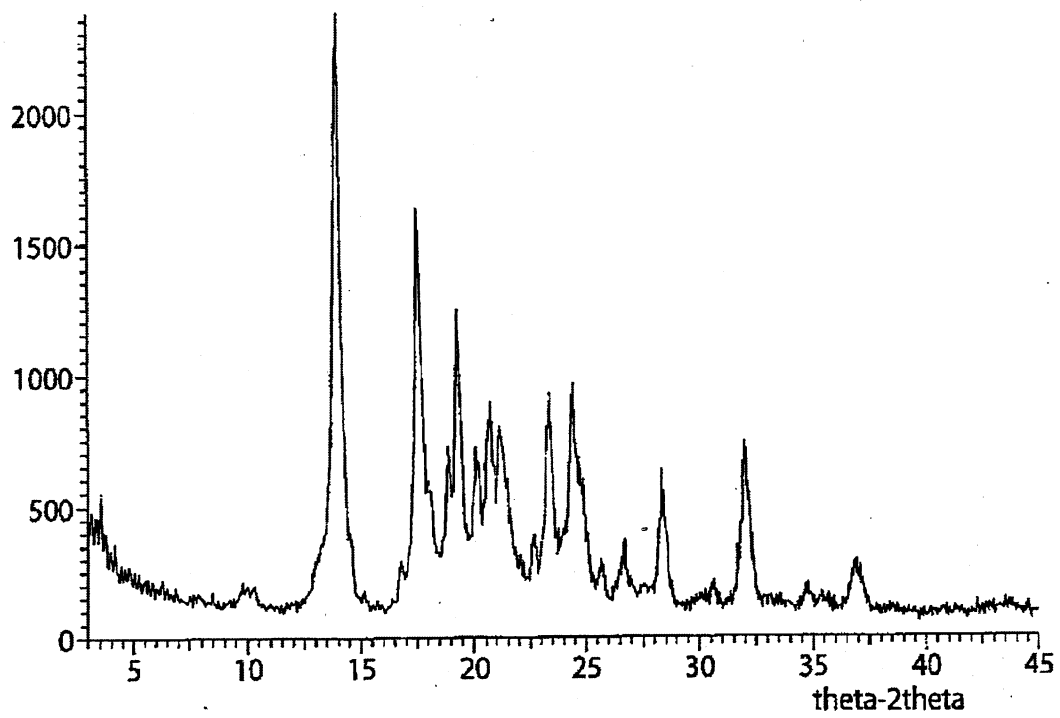


Fig. 26

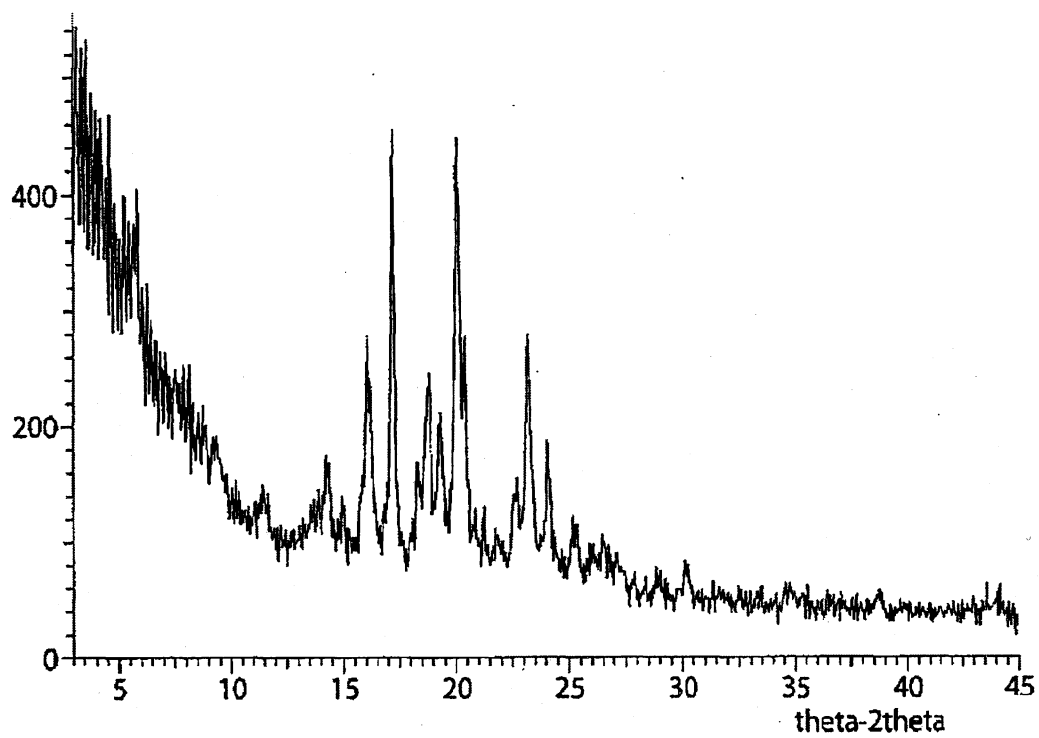


Fig. 27

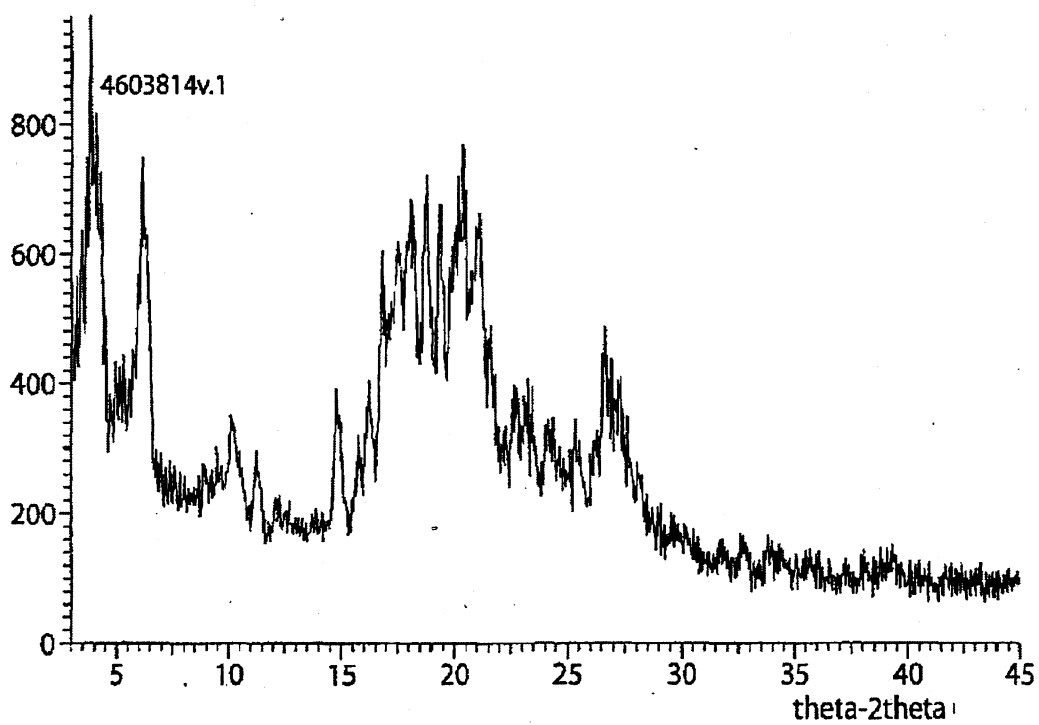


Fig. 28