



(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)



1-0030170

(51)<sup>7</sup> C07D 487/04; A61K 31/519

(13) B

(21) 1-2019-00385

(22) 12/06/2008

(62) 1-2010-00094

(86) PCT/US2008/066662 12/06/2008

(87) WO 2008/157208 24/12/2008

(30) 60/943,705 13/06/2007 US

(45) 25/11/2021 404

(43) 25/04/2019 373A

(73) INCYTE HOLDINGS CORPORATION (US)

1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, DE 19803, United States of America

(72) RODGERS, James, D. (US); LI, Hui-yin (US).

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

(54) MUỐI CỦA CHẤT ỨC CHẾ JANUS KINAZA (R)-3-(4-7H-PYROLO[2,3-D]PYRIMIDIN-4-YL)-1H-PYRAZOL-1-YL)-3-XYCLOPENTYLPROPANNITRIL Ở DẠNG TINH THỂ, DƯỢC PHẨM VÀ THUỐC CHỨA MUỐI NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến muối của (R)-3-(4-(7H-pyrololo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xycllopentylpropannitril ở dạng tinh thể, hữu hiệu trong điều hòa hoạt tính Janus kinaza và điều trị bệnh liên quan đến hoạt tính của Janus kinaza bao gồm, ví dụ, bệnh liên quan đến miễn dịch, rối loạn của da, rối loạn do tăng sinh tuỷ bào, bệnh ung thư, và các bệnh khác. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm và thuốc chứa muối này.

### Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến muối của (R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-cyclopentylpropionitril ở dạng tinh thể, hữu hiệu trong điều hòa hoạt tính Janus kinaza và điều trị bệnh liên quan đến hoạt tính của Janus kinaza bao gồm, ví dụ, bệnh liên quan đến miễn dịch, rối loạn của da, rối loạn do tăng sinh tuỷ bào, bệnh ung thư, và các bệnh khác. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm và thuốc chứa muối này.

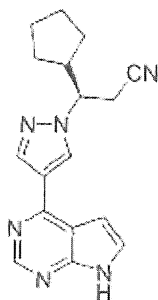
### Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Protein kinaza là nhóm các enzym mà điều hòa các quá trình sinh học quan trọng, khác nhau bao gồm sự sinh trưởng, sống sót và biệt hóa của tế bào, sự hình thành các cơ quan và sự tạo hình thái, sự tân tạo mạch, sự hồi phục và tái tạo mô, ngoài các quá trình khác. Protein kinaza phát huy các chức năng sinh lý của chúng thông qua việc xúc tác quá trình phosphoryl hóa protein (hoặc cơ chất) và nhờ đó điều hòa hoạt tính tế bào của cơ chất trong các cấu trúc sinh học khác nhau. Ngoài chức năng trong các mô/cơ quan bình thường, nhiều protein kinaza còn đóng vai trò chuyên biệt hơn nhiều trong vật chủ là người bị bệnh, bao gồm cả bệnh ung thư. Phân nhóm phụ của protein kinaza (còn được gọi là protein kinaza gây ung thư), khi bị loạn điều hòa, có thể gây ra sự hình thành và sinh trưởng của khối u, và còn góp phần vào sự duy trì và tiến triển của khối u (Blume-Jensen P et al, Nature 2001, 411 (6835):355-365). Cho đến nay, protein kinaza gây ung thư là một trong những nhóm đích protein lớn nhất và hấp dẫn nhất đối với mục đích can thiệp và phát triển được chất điều trị ung thư.

Họ Janus kinaza (Janus Kinase - JAK) đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa có phụ thuộc xytokin quá trình tăng sinh và chức năng của các tế bào liên quan đến đáp ứng miễn dịch. Hiện nay, có bốn thành phần họ JAK của động vật có vú đã biết: JAK1 (còn được biết dưới tên Janus kinaza-1), JAK2 (còn được biết dưới tên Janus kinaza-2), JAK3 (còn được biết dưới dạng Janus kinaza, bạch cầu; JAKL; L-JAK và Janus kinaza-3) và TYK2 (còn được biết đến dưới dạng protein-tyrosin kinaza 2). Các protein JAK có kích thước nằm trong khoảng từ 120 đến 140kDa và chứa bảy miền tương đồng JAK

(JAK Homology – JH) được bảo toàn; một trong số các miền này là miền kinaza có chức năng xúc tác, và một miền khác là miền giả kinaza đóng vai trò tiềm tàng trong chức năng điều hòa và/hoặc đóng vai trò làm vị trí neo đối với các STAT (Scott, Godshall et al. 2002, nêu trên).

Phương pháp phong bế quá trình truyền tín hiệu ở mức độ JAK kinaza sẽ gợi ý cho sự phát triển phương pháp điều trị bệnh ung thư ở người. Phương pháp ức chế JAK kinaza cũng được cho là có lợi để điều trị cho các đối tượng bị đối tượng bị bệnh rối loạn miễn dịch ở da như bệnh vẩy nến, và chứng nhạy cảm da. Do đó, chất ức chế Janus kinaza hoặc các kinaza có liên quan được tìm kiếm rộng rãi và nhiều công bố đã báo cáo các nhóm hợp chất hữu hiệu. Ví dụ, một số chất ức chế JAK, bao gồm (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril được mô tả dưới đây, đã được báo cáo trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 11/637,545, nộp ngày 12.12.2006.



Do đó, vẫn cần các dạng mới và cải tiến của các chất ức chế Janus kinaza đã tồn tại để phát triển các dược phẩm mới, cải tiến và hữu hiệu hơn để điều trị ung thư và các bệnh khác. Các dạng muối và phương pháp được mô tả trong tài liệu này đáp ứng trực tiếp nhu cầu này và các mục đích khác.

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

Mục đích của sáng chế là đề cập đến muối được chọn từ nhóm bao gồm:

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril phosphoric;

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril sulfuric; và

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril maleic;

trong đó muối này ở dạng tinh thể.

Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa muối ở dạng tinh thể theo sáng chế và ít nhất một chất mang được dụng.

Sáng chế cũng đề cập đến thuốc chứa muối ở dạng tinh thể được chọn từ nhóm bao gồm:

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril phosphoric,

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril sulfuric, và

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril maleic.

#### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Sáng chế đề cập đến muối ở dạng tinh thể của chất ức chế JAK (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentyl-propannitril được chọn từ muối của axit maleic, muối của axit sulfuric, và muối của axit phosphoric. Các muối này điều hòa hoạt tính của một hoặc nhiều JAK và hữu hiệu trong điều trị bệnh liên quan đến sự biểu hiện hoặc hoạt tính của JAK.

Muối theo sáng chế có một số đặc tính có lợi nhất định so với dạng bazơ tự do và các dạng muối khác. Cụ thể, các muối này có độ kết tinh cao, điều này sẽ tạo thuận lợi cho việc bào chế được phẩm và cải thiện việc xử lý, thao tác, và bảo quản chung của hoạt chất. Muối theo sáng chế còn có độ tan trong nước, tốc độ hòa tan, độ bền hóa học (với thời hạn sử dụng dài hơn), độ tương hợp với các tá dược, và khả năng tái sản xuất vượt bậc so với dạng bazơ tự do.

Theo một số phương án, muối theo sáng chế hầu như được phân tách. Thuật ngữ “hầu như được phân tách” có nghĩa là muối được phân tách ít nhất một phần hoặc hầu như được phân tách ra khỏi môi trường mà trong đó nó được tạo ra hoặc được phát hiện. Bước phân tách một phần có thể bao gồm, ví dụ, chế phẩm được làm giàu trong muối theo sáng chế. Bước phân tách hầu hết có thể bao gồm chế phẩm chứa ít nhất khoảng

50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97% hoặc ít nhất khoảng 99% trọng lượng của muối.

Muối theo sáng chế cũng đề cập đến toàn bộ các chất đồng vị của các nguyên tử có mặt trong muối. Chất đồng vị bao gồm các nguyên tử mà có số hiệu nguyên tử giống nhau nhưng số khối khác nhau. Ví dụ, các chất đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri.

Muối theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết. Thông thường, dạng muối được điều chế bằng cách kết hợp ở trong dung dịch hợp chất bazơ tự do với axit chứa anion của dạng muối mong muốn, và tiếp theo tách sản phẩm muối rắn ra khỏi dung dịch phản ứng (ví dụ, bằng cách kết tinh, kết tủa, làm bay hơi, v.v...). Các kỹ thuật tạo muối khác có thể được sử dụng.

#### Phương pháp sử dụng

Muối theo sáng chế có thể điều hòa hoạt tính của một hoặc nhiều Janus kinaza (JAK). Thuật ngữ “điều hòa” dùng để chỉ khả năng làm tăng hoặc làm giảm hoạt tính của một hoặc nhiều thành viên của họ kinaza JAK. Do đó, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong các phương pháp điều hòa JAK bằng cách cho JAK tiếp xúc với một hoặc nhiều hợp chất hoặc chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, muối theo sáng chế có thể tác động như chất ức chế một hoặc nhiều JAK. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể tác động để kích thích hoạt tính của một hoặc nhiều JAK. Theo phương án khác, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều hòa hoạt tính của JAK ở đối tượng cần điều hòa thụ thể này bằng cách sử dụng muối theo sáng chế với lượng có tác dụng điều hòa.

JAK mà muối theo sáng chế gắn kết vào và/hoặc điều hòa nó bao gồm thành viên bất kỳ thuộc họ JAK. Theo một số phương án, JAK là JAK1, JAK2, JAK3 hoặc TYK2. Theo một số phương án, JAK là JAK1 hoặc JAK2. Theo một số phương án, JAK là JAK2. Theo một số phương án, JAK là JAK3.

Muối theo sáng chế có thể có tính chọn lọc. Thuật ngữ “chọn lọc” có nghĩa là hợp chất này gắn kết với hoặc ức chế JAK lần lượt với ái lực hoặc hiệu lực lớn hơn so với ít nhất một JAK khác. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế là chất ức chế chọn lọc của JAK1 hoặc JAK2 so với JAK3 và/hoặc TYK2. Theo một số phương án, muối theo sáng chế là chất ức chế chọn lọc của JAK2 (ví dụ, so với JAK1, JAK3 và TYK2). Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, bởi vì chất ức chế JAK3 có thể dẫn đến tác dụng ức

chế miễn dịch, hợp chất mà chọn lọc đối với JAK2 so với JAK3 và nó là hữu hiệu trong phương pháp điều trị bệnh ung thư (ví dụ, bệnh đa u tủy) có thể đưa đến lợi ích khác là có ít tác dụng phụ ức chế miễn dịch hơn. Mức độ chọn lọc có thể là ít nhất khoảng 5 lần, 10 lần, ít nhất khoảng 20 lần, ít nhất khoảng 50 lần, ít nhất khoảng 100 lần, ít nhất khoảng 200 lần, ít nhất khoảng 500 lần hoặc ít nhất khoảng 1000 lần. Mức độ chọn lọc có thể được xác định theo các phương pháp thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, mức độ chọn lọc có thể được thử nghiệm ở giá trị Km của mỗi enzym. Theo một số phương án, mức độ chọn lọc của muối theo sáng chế đối với JAK2 so với JAK3 có thể được xác định bằng nồng độ ATP trong tế bào.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến JAK ở đối tượng (ví dụ, đối tượng bị bệnh) bằng cách cho đối tượng cần điều trị sử dụng muối theo sáng chế hoặc dược phẩm của nó với lượng hoặc liều hữu hiệu để điều trị bệnh. Bệnh liên quan đến JAK có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ mà liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến sự biểu hiện hoặc hoạt tính của JAK, bao gồm sự biểu hiện quá mức và/hoặc mức độ hoạt tính bất thường. Bệnh có liên quan đến JAK còn có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ mà có thể được ngăn ngừa, làm thuyên giảm, hoặc được chữa trị bằng cách điều hòa hoạt tính JAK.

Ví dụ về bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh có liên quan đến hệ miễn dịch bao gồm, ví dụ, sự đào thải mảnh ghép cơ quan (ví dụ, bệnh do đào thải mảnh ghép khác loại và bệnh vật chủ chống lại mảnh ghép).

Ví dụ khác về các bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh tự miễn như xơ cứng rải rác, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bệnh viêm khớp tuổi thanh niên, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh luput, bệnh vẩy nến, bệnh viêm ruột, bệnh viêm ruột kết mạn loét, bệnh Crohn, chứng nhược cơ năng, bệnh thận globulin miễn dịch, rối loạn tuyến giáp tự miễn, và các bệnh tương tự khác. Theo một số phương án, bệnh tự miễn là rối loạn da bong nước tự miễn như pemphigut thông thường (pemphigus vulgaris - PV) hoặc pemphigut bong nước (bullous pemphigoid - BP).

Ví dụ khác về các bệnh liên quan đến JAK bao gồm các tình trạng do dị ứng như bệnh hen, dị ứng thực phẩm, bệnh viêm da tạng dị ứng và bệnh viêm mũi. Ví dụ khác về bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh do virus như *Epstein Barr Virus* (EBV), virus

viêm gan B, viêm gan C, HIV, HTLV 1, *Varicella-Zoster Virus* (VZV) và Virus papiloma (u nhú) của người (HPV).

Ví dụ khác về các bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến JAK bao gồm các rối loạn da như bệnh vảy nến (ví dụ, bệnh vảy nến thông thường), bệnh viêm da tạng dị ứng, phát ban da, kích ứng da, nhạy cảm da (ví dụ, bệnh viêm da tiếp xúc hoặc bệnh viêm da tiếp xúc do dị ứng). Ví dụ, một số chất bao gồm một vài dược chất, khi được sử dụng khu trú có thể gây ra tình trạng nhạy cảm của da. Theo một số phương án, việc dùng phối hợp hoặc dùng lần lượt ít nhất một chất ức chế JAK theo sáng chế cùng với các dược chất gây ra tình trạng nhạy cảm không mong muốn có thể giúp cho việc điều trị tình trạng nhạy cảm hoặc viêm da không mong muốn này. Theo một số phương án, rối loạn da được điều trị bằng cách sử dụng khu trú ít nhất một chất ức chế JAK theo sáng chế.

Theo phương án khác, bệnh liên quan đến JAK là bệnh ung thư bao gồm các bệnh được đặc trưng bởi khối u rắn (ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư thận, ung thư gan, ung thư tuyến tụy, ung thư dạ dày, ung thư vú, ung thư phổi, ung thư đầu và cổ, ung thư tuyến giáp, u nguyên bào xốp, sarcoma Kaposi, bệnh Castleman, u hắc sắc tố v.v.), các bệnh ung thư máu (ví dụ, ung thư mô bạch huyết, bệnh bạch cầu như bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp, bệnh bạch cầu tạo nên ở tuỷ xương cấp (Acute Myelogenous Leukemia - AML), hoặc bệnh đa u tủy), và bệnh ung thư da như ung thư mô bạch huyết tế bào T của da (Cutaneous T-cell Lymphoma - CTCL) và ung thư mô bạch huyết tế bào B của da. Ví dụ về bệnh ung thư mô bạch huyết tế bào T của da bao gồm hội chứng Sezary và u sùi dạng nấm.

Các bệnh liên quan đến JAK có thể còn bao gồm các bệnh được đặc trưng bởi sự biểu hiện của JAK2 thể đột biến như chất mà có ít nhất một lần đột biến ở vùng giả kinaza (ví dụ, JAK2V617F).

Các bệnh liên quan đến JAK còn có thể bao gồm các rối loạn do tăng sinh tuỷ xương (Myeloproliferative Disorder - MPD) như chứng tăng hồng cầu vô căn (polycythemia vera - PV), chứng tăng tiểu cầu thiết yếu (essential thrombocythemia - ET), tăng sản tuỷ xương kèm theo xơ hóa tuỷ xương (myeloid metaplasia with myelofibrosis - MMM), bệnh bạch cầu tạo nên ở tuỷ xương mạn tính (Chronic Myelogenous Leukemia - CML), bệnh bạch cầu đơn nhân to tuỷ xương mạn tính (Chronic Myelomonocytic Leukemia - CMML), hội chứng tăng tính ưa eosin

(Hypereosinophilic Syndrome - HES), bệnh tế bào bón toàn thân (systemic mast cell disease - SMCD), và các bệnh tương tự khác.

Các bệnh liên quan đến JAK khác còn bao gồm bệnh viêm và các bệnh do viêm. Ví dụ về bệnh viêm bao gồm các bệnh viêm mắt (ví dụ, bệnh viêm màng mắt, bệnh viêm màng mạch nhỏ, bệnh viêm củng mạc, bệnh viêm kết mạc, hoặc các bệnh có liên quan), các bệnh viêm đường hô hấp (ví dụ, đường hô hấp trên bao gồm mũi và xoang như bệnh viêm mũi hoặc bệnh viêm xoang hoặc đường hô hấp dưới bao gồm bệnh viêm phế quản, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, và các bệnh tương tự khác), bệnh cơ bị viêm như bệnh viêm cơ tim, và các bệnh viêm khác. Các bệnh viêm khác mà có thể điều trị được bằng hợp chất theo sáng chế bao gồm hội chứng đáp ứng viêm toàn thân (systemic inflammatory response syndrome - SIRS) và sốc nhiễm khuẩn.

Chất ức chế JAK được mô tả trong tài liệu này còn có thể được sử dụng để điều trị tổn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ hoặc bệnh hay tình trạng mà liên quan đến hiện tượng thiếu máu cục bộ do viêm như đột quỵ hoặc ngừng tim. Chất ức chế JAK được mô tả trong tài liệu này còn có thể được sử dụng để điều trị chứng biếng ăn, chứng suy mòn, hoặc chứng mệt mỏi như là các tình trạng bắt nguồn từ hoặc liên quan đến bệnh ung thư. Chất ức chế JAK được mô tả trong tài liệu này còn có thể được sử dụng để điều trị tình trạng tái phát hẹp (van tim), viêm cứng bì hoặc xơ hóa. Chất ức chế JAK được mô tả trong tài liệu này còn có thể được sử dụng để điều trị các tình trạng liên quan đến chứng giảm oxy không khí thở vào hoặc tăng sinh thần kinh đệm tế bào hình sao như, ví dụ bệnh vớng mạc do đái tháo đường, bệnh ung thư hoặc thoái hóa thần kinh. Ví dụ, xem tài liệu Dudley, A.C. et al. *Biochem. J.* 2005, 390 (Pt 2): 427-36 và Sriram, K. et al. *J. Biol. Chem.* 2004, 279 (19): 19936-47. Epub 2004 Mar 2.

Chất ức chế JAK được mô tả trong tài liệu này còn có thể được sử dụng để điều trị bệnh gút và chứng tăng kích thích của tuyến tiền liệt do, ví dụ, chứng phì đại tiền liệt tuyến lành tính hoặc chứng tăng sản tuyến tiền liệt lành tính.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “tiếp xúc” dùng để chỉ việc cùng đưa các nhóm đã được chỉ ra vào trong hệ *in vitro* hoặc hệ *in vivo*. Ví dụ, cho JAK “tiếp xúc” với muối theo sáng chế bao gồm việc sử dụng muối theo sáng chế cho đối tượng hoặc đối tượng bị bệnh, như người, có JAK, cũng như, ví dụ, đưa muối theo sáng chế vào mẫu chứa chế phẩm tế bào hoặc chế phẩm đã được tinh chế chứa JAK.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “đối tượng” hoặc “đối tượng bị bệnh” được dùng thay cho nhau, để chỉ động vật bất kỳ, bao gồm các động vật có vú, tốt hơn là chuột nhắt, chuột cống, các loài gặm nhấm khác, thỏ, chó, mèo, lợn, gia súc, cừu, ngựa, hoặc động vật linh trưởng, và được ưu tiên nhất là người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “lượng hữu hiệu để điều trị bệnh” dùng để chỉ lượng muối hoặc dược chất có hiệu quả mà gây ra đáp ứng sinh học hoặc có tác dụng chữa bệnh mà được nhà nghiên cứu, bác sĩ thú y, bác sĩ chuyên khoa hoặc bác sĩ lâm sàng khác phát hiện trong mô, hệ, động vật, đối tượng hoặc người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” chỉ một hoặc nhiều tác dụng trong số (1) ngăn ngừa bệnh; ví dụ, ngăn ngừa bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng mà có khả năng mắc bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn nhưng chưa từng trải qua hay biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh; (2) ức chế bệnh, ví dụ, ức chế bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng mà đã mắc phải hoặc biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn; và (3) làm thuyên giảm bệnh; ví dụ, làm thuyên giảm bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng mà đã mắc phải hoặc biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn (tức là, làm đảo ngược bệnh lý và/hoặc triệu chứng) như làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh.

#### Phương pháp điều trị kết hợp

Một hoặc nhiều dược chất bổ sung như, ví dụ, dược chất hóa trị liệu, dược chất chống viêm, steroid, chất ức chế miễn dịch, cũng như các chất ức chế Bcr-Abl, Flt-3, RAF và FAK kinaza như các chất được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2006/056399, hoặc các dược chất khác có thể được sử dụng kết hợp với muối theo sáng chế để điều trị các bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến JAK. Một hoặc nhiều dược chất bổ sung có thể được sử dụng cho đối tượng bị bệnh đồng thời hoặc lần lượt.

Ví dụ về dược chất hóa trị liệu bao gồm chất ức chế proteosom (ví dụ, bortezomib), thalidomit, revlimit, và dược chất làm phá huỷ ADN như melphalan, doxorubixin, xyclophosphamit, vincristin, etoposit, carmustin, và các chất tương tự khác.

Ví dụ về steroid bao gồm corticosteroid như dexametason hoặc prednison.

Ví dụ về chất ức chế Bcr-Abl bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, bao gồm các hợp chất và dẫn xuất được mô tả trong patent Mỹ số 5,521,184, WO04/005281, EP2005/009967, EP2005/010408, và đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 60/578,491.

Các chất ức chế Flt-3 thích hợp làm ví dụ bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, như được mô tả trong WO03/037347, WO03/099771, và WO04/046120.

Ví dụ về chất ức chế RAF thích hợp bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, như được mô tả trong WO00/09495 và WO05/028444.

Ví dụ về chất ức chế FAK thích hợp bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, như được mô tả trong WO04/080980, WO04/056786, WO03/024967, WO01/064655, WO00/053595, và WO01/014402.

Theo một số phương án, muối ở dạng tinh thể theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các chất ức chế kinaza khác như imatinib, đặc biệt là để điều trị cho các đối tượng bị bệnh kháng imatinib hoặc các kinaza khác.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều dạng muối theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với dược chất hóa trị liệu trong phương pháp điều trị bệnh ung thư, như bệnh đa u tủy, và có thể cải thiện đáp ứng điều trị so với đáp ứng với chỉ riêng dược chất hóa trị liệu, mà không làm tăng thêm tác dụng độc của nó. Ví dụ về dược chất bổ sung được dùng để điều trị bệnh đa u tủy, ví dụ, có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, melphalan, melphalan kết hợp với prednison [MP], doxorubicin, dexametason, và Velcade (bortezomib). Các dược chất bổ sung khác được dùng để điều trị bệnh đa u tủy bao gồm các chất ức chế Bcr-Abl, Flt-3, RAF và FAK kinaza. Tác dụng cộng hợp hoặc đồng vận là kết quả mong muốn của việc kết hợp chất ức chế JAK theo sáng chế với dược chất bổ sung. Hơn nữa, việc kháng các tế bào của bệnh đa u tủy với các dược chất như dexametason có thể được làm đảo ngược sau khi điều trị bằng chất ức chế JAK theo sáng chế. Các dược chất này có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế ở dạng thuốc duy nhất hoặc liều liên tục, hoặc các dược chất có thể được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt dưới dạng thuốc riêng biệt.

Theo một số phương án, corticosteroid như dexametason được dùng cho đối tượng bị bệnh kết hợp với ít nhất một chất ức chế JAK trong đó dexametason được dùng không liên tục trái với liên tục.

Theo một số phương án khác, việc kết hợp một hoặc nhiều chất ức chế JAK theo sáng chế với dược chất điều trị khác có thể được sử dụng cho đối tượng bị bệnh trước, ngay trong khi, và/hoặc sau khi cấy ghép tủy xương hoặc cấy ghép tế bào thân.

#### Dược phẩm và thuốc

Khi được sử dụng làm dược phẩm, các muối theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng dược phẩm. Các dược phẩm này có thể được bào chế theo cách đã biết trong lĩnh vực dược phẩm, và có thể được sử dụng theo nhiều đường khác nhau, tùy thuộc vào việc điều trị là cục bộ hay toàn thân được mong muốn và vào khu vực được điều trị. Việc dùng thuốc có thể là khu trú (bao gồm qua biểu bì, qua biểu bì, qua mắt và vào màng nhầy bao gồm cả phân phối qua mũi, trong âm đạo và qua trực tràng), dùng qua đường phổi (ví dụ, bằng cách hít hoặc truyền bột hoặc khí dung, bao gồm bằng máy hít khí dung, trong khí quản hoặc trong mũi), qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Việc dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm tiêm trong tĩnh mạch, trong động mạch, dưới da, trong bụng, trong cơ hoặc tiêm hoặc truyền; hoặc trong sọ, ví dụ việc sử dụng trong vỏ hoặc trong não thất. Việc dùng ngoài đường tiêu hóa có thể ở dạng một liều lớn duy nhất, hoặc có thể, ví dụ bằng cách bơm truyền liên tục. Dược phẩm và sản phẩm để sử dụng khu trú có thể bao gồm miếng dán qua da, thuốc mỡ, thuốc xức, kem, gel, thuốc nhỏ giọt, thuốc đạn, phun mù, thuốc lỏng và bột. Chất mang dược dụng thông thường, cốt dạng nước, bột hoặc dầu, chất làm đặc và các chất tương tự có thể là cần thiết hoặc được mong muốn. Bao cao su được phủ, găng tay và các dạng bào chế tương tự cũng có thể được sử dụng.

Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế như nêu trên làm hoạt chất kết hợp với một hoặc nhiều chất mang (tá dược) dược dụng. Trong việc bào chế dược phẩm theo sáng chế, hoạt chất thường được trộn với tá dược, được pha loãng bằng tá dược hoặc được bao gói cùng với chất mang này ở dạng, ví dụ, viên nang, dạng túi, giấy hoặc đồ chứa khác. Khi tá dược đóng vai trò làm chất pha loãng, nó có thể là chất rắn, bán rắn hoặc chất lỏng, chất này đóng vai trò làm chất dẫn, chất mang hoặc môi trường cho hoạt chất. Do đó, dược phẩm này có thể ở dạng viên nén, viên

tròn, bột, viên thuốc hình thoi, túi, viên con nhộng, cốm ngọt, hỗn dịch, nhũ tương, dung dịch, xiro, khí dung (dưới dạng chất rắn hoặc trong môi trường lỏng), thuốc mỡ chứa, ví dụ, hoạt chất với lượng tối đa là 10% trọng lượng, viên nang gelatin mềm và cứng, viên đạn, dung dịch vô trùng để tiêm, và bột được bao gói vô trùng.

Trong việc bào chế dược phẩm, hoạt chất có thể được nghiền để tạo ra cỡ hạt thích hợp trước khi kết hợp với thành phần khác. Nếu hoạt chất hầu như không hòa tan, nó có thể được nghiền đến cỡ hạt nhỏ hơn 200 mesh. Nếu hoạt chất hầu như tan trong nước, cỡ hạt có thể được điều chỉnh bằng cách nghiền để tạo ra sự phân bố hầu như đồng nhất trong dược phẩm, ví dụ khoảng 40 mesh.

Hợp chất theo sáng chế có thể được nghiền bằng cách sử dụng các quy trình nghiền đã biết như nghiền ẩm để tạo ra cỡ hạt thích hợp cho việc bào chế viên nén và cho các loại chế phẩm khác. Chế phẩm được phân chia mịn (hạt nano) của hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế theo các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ xem công bố đơn quốc tế số WO2002/000196.

Một số ví dụ về tá dược thích hợp bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, tinh bột, gôm acacia, canxi phosphat, alginat, tragacan, gelatin, canxi silicat, xenuloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, xenluloza, nước, xiro, và metyl xenluloza. Sản phẩm này còn có thể bao gồm: tá dược trơn như talc, magie stearat, và dầu khoáng; chất làm ẩm; chất nhũ hóa và chất gây thấm ổn định; chất bảo quản như metyl-benzoat và propylhydroxy-benzoat; chất tạo ngọt; và chất điều vị. Chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế sao cho tạo ra việc giải phóng hoạt chất nhanh, kéo dài hoặc từ từ sau khi dùng cho đối tượng bị bệnh bằng cách sử dụng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Dược phẩm có thể được bào chế dưới thuốc đơn vị, mỗi liều chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 1000mg (1g), thường gặp hơn là nằm trong khoảng từ 100 đến 500mg. Thuật ngữ “thuốc đơn vị” dùng để chỉ đơn vị riêng rẽ về mặt vật lý thích hợp làm liều đơn nhất cho đối tượng là người và các động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa lượng hoạt chất đã được định trước được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn, kết hợp với tá dược được dụng thích hợp.

Hoạt chất có thể là hữu hiệu trong khoảng liều rộng và thường được dùng với lượng hữu hiệu về mặt dược tính. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng, lượng hợp chất chính

xác được dùng sẽ thường được xác định bởi bác sĩ, theo các trường hợp tương ứng, bao gồm tình trạng bệnh cần được điều trị, đường dùng thuốc được chọn, hợp chất thực tế được dùng, tuổi, thể trọng và đáp ứng của mỗi đối tượng bị bệnh, mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng của đối tượng bị bệnh và các yếu tố tương tự khác.

Đề bào chế được phẩm rắn như viên nén, hoạt chất chính sẽ được trộn với tá dược được dùng để tạo ra chế phẩm tiền sản phẩm dạng rắn chứa một hỗn hợp đồng nhất của hợp chất theo sáng chế. Khi đề cập đến các chế phẩm tiền sản phẩm này dưới dạng đồng nhất, thì hoạt chất thường được phân tán đồng đều trong toàn bộ chế phẩm sao cho chế phẩm này có thể được phân chia dễ dàng thành các thuốc đơn vị hữu hiệu bằng nhau như viên nén, viên tròn và viên nang. Chế phẩm tiền sản phẩm dạng rắn này tiếp đó được phân chia thành các thuốc đơn vị theo loại được mô tả ở trên chứa, ví dụ, hoạt chất theo sáng chế với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1000mg.

Viên nén hoặc viên tròn theo sáng chế có thể được bao hoặc được bào chế theo cách khác để tạo ra thuốc có ưu điểm là tác dụng kéo dài. Ví dụ, viên nén hoặc viên tròn có thể chứa thành phần liều bên trong và thành phần liều bên ngoài, thành phần liều bên ngoài là ở dạng vỏ bọc thành phần bên trong. Hai thành phần có thể được phân tách biệt bằng lớp tan trong ruột, lớp này đóng vai trò chống lại sự phân rã trong dạ dày và cho phép thành phần bên trong đi qua nguyên vẹn vào tá tràng hoặc được làm chậm sự giải phóng. Một loạt chất có thể được sử dụng làm lớp hoặc lớp bao tan trong ruột này, các chất này bao gồm một số axit polyme và hỗn hợp của các axit polyme với các chất như xenlac, rượu xetylic và xenluloza axetat.

Các dạng lỏng trong đó hợp chất và chế phẩm theo sáng chế có thể được đưa vào để dùng qua đường miệng hoặc bằng cách tiêm bằng cách dung dịch trong nước, xiro được tạo hương vị thích hợp, hỗn dịch trong nước hoặc trong dầu, và nhũ tương được tạo hương vị với các dầu ăn được như dầu hạt bông, dầu vừng, dầu dừa hoặc dầu lạc, cũng như cồn ngọt và các chất dẫn được tính tương tự.

Chế phẩm để hít hoặc để truyền bao gồm dung dịch và hỗn dịch trong các dung môi nước hoặc hữu cơ được dùng, hoặc hỗn hợp của chúng, và bột. Chế phẩm lỏng hoặc rắn có thể chứa các tá dược được dùng thích hợp như được mô tả trong tài liệu nêu trên. Theo một số phương án, chế phẩm được dùng qua đường miệng hoặc đường hô hấp qua mũi để cho tác dụng khu trú hoặc toàn thân. Chế phẩm có thể được tạo khí dung bằng

cách sử dụng khí trơ. Dung dịch được tạo khí dung có thể được hít trực tiếp từ cơ cấu tạo khí dung hoặc cơ cấu tạo khí dung có thể được gắn liền với gạc mặt nạ che mặt, hoặc máy hít thở áp suất dương không liên tục. Chế phẩm dung dịch, hỗn dịch hoặc bột có thể được dùng qua đường miệng hoặc đường mũi từ các cơ cấu mà giải phóng chế phẩm theo cách thích hợp.

Lượng muối hoặc chế phẩm được dùng cho đối tượng bị bệnh sẽ thay đổi tùy thuộc vào chế phẩm gì đang được dùng, mục đích dùng thuốc, là điều trị dự phòng hay điều trị, tình trạng của đối tượng bị bệnh, cách thức dùng thuốc, và các yếu tố tương tự khác. Trong ứng dụng điều trị, chế phẩm có thể được dùng cho đối tượng bị bệnh đã mắc phải bệnh với lượng đủ để chữa trị hoặc ít nhất là làm ngừng một phần các triệu chứng của bệnh và các biến chứng của nó. Liều hữu hiệu sẽ tùy thuộc vào tình trạng bệnh đang được điều trị cũng như theo sự xem xét của bác sĩ đang điều trị tùy thuộc vào các yếu tố như mức độ nghiêm trọng của bệnh, tuổi, thể trọng và tình trạng chung của đối tượng bị bệnh, và các yếu tố tương tự khác.

Chế phẩm được dùng cho đối tượng bị bệnh có thể ở dạng dược phẩm như được mô tả trên đây. Các chế phẩm này có thể được vô trùng bằng các kỹ thuật vô trùng thông thường, hoặc có thể được lọc vô trùng. Dung dịch nước có thể được đóng gói để sử dụng dưới dạng đó, hoặc được làm đông khô, chế phẩm được làm đông khô được kết hợp với chất mang nước vô trùng trước khi sử dụng. Độ pH của chế phẩm chứa hợp chất này thường nằm trong khoảng từ 3 đến 11, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 9 và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Cần hiểu rằng, việc sử dụng các tá dược, chất mang, hoặc chất làm ổn định nhất định sẽ dẫn đến sự hình thành muối được dùng.

Liều điều trị của muối theo sáng chế có thể thay đổi theo, ví dụ, việc sử dụng cụ thể mà việc điều trị được tiến hành, cách thức dùng hợp chất, sức khỏe và tình trạng bệnh của đối tượng bị bệnh, và sự xem xét của bác sĩ kê đơn. Tỷ lệ hoặc nồng độ muối theo sáng chế trong dược phẩm có thể thay đổi tùy thuộc vào một số yếu tố bao gồm mức liều, các đặc tính hóa học (ví dụ, tính kỵ nước), và đường dùng thuốc. Ví dụ, muối theo sáng chế có thể được tạo ra trong dung dịch đệm sinh lý dạng nước chứa hợp chất với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10% trọng lượng/thể tích để sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Một số khoảng liều thông thường là từ 1µg/kg đến 1g/kg thể trọng mỗi ngày. Trong một số trường hợp, khoảng liều này là nằm trong khoảng từ 0,01mg/kg đến 100mg/kg thể

trọng mỗi ngày. Mức liều này có thể tùy thuộc vào các biến số như loại và mức độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe tổng thể của đối tượng bị bệnh cụ thể, hiệu quả sinh học tương đối của hợp chất được chọn, dạng tá dược, và đường dùng thuốc của nó. Mức liều hữu hiệu có thể được ngoại suy từ đường cong đáp ứng-liều thu được từ hệ thử nghiệm trên mẫu *in vitro* hoặc mẫu động vật.

Dược phẩm theo sáng chế còn có thể chứa một hoặc nhiều dược chất bổ sung như dược chất cho hóa trị liệu, steroid, hợp chất chống viêm, hoặc chất ức chế miễn dịch, ví dụ về chất này được nêu trên đây.

#### Hợp chất được đánh dấu và phương pháp thử nghiệm

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến muối được đánh dấu theo sáng chế (được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ, được đánh dấu huỳnh quang, v.v.), chúng được sử dụng không chỉ trong kỹ thuật hình ảnh mà còn trong các thử nghiệm, cả *in vitro* và *in vivo*, để định vị và định lượng JAK trong các mẫu mô, kể cả người, và để xác định phối tử JAK bằng cách gắn kết ức chế của hợp chất được đánh dấu. Do đó, sáng chế cũng đề cập đến cả thử nghiệm JAK mà chứa các hợp chất được đánh dấu này.

Sáng chế cũng đề cập đến muối được đánh dấu bằng đồng vị theo sáng chế. Hợp chất “đồng vị” hoặc “được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ” là muối theo sáng chế, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế hoặc được thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường thấy trong tự nhiên (tức là thường gặp trong tự nhiên). Các nuclit phóng xạ thích hợp mà có thể được đưa vào hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở,  $^2\text{H}$  (còn được viết dưới dạng D thay cho đơteri),  $^3\text{H}$  (còn được viết dưới dạng T thay cho triti),  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{77}\text{Br}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$  và  $^{131}\text{I}$ . Các nuclit phóng xạ mà được đưa vào hợp chất được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ theo sáng chế sẽ tùy thuộc vào ứng dụng cụ thể của hợp chất được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ này. Ví dụ, trong các thử nghiệm cạnh tranh và đánh dấu metaloproteaza *in vitro*, các hợp chất mà kết hợp với  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{82}\text{Br}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  hoặc thường là hữu hiệu nhất. Đối với các ứng dụng hình ảnh phóng xạ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{76}\text{Br}$  hoặc  $^{77}\text{Br}$  thường là hữu hiệu nhất.

Cần phải hiểu rằng, hợp chất “được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ” hoặc hợp chất “được đánh dấu” là muối mà được đưa vào ít nhất một nuclit phóng xạ. Theo một số phương án, nuclit phóng xạ được chọn từ nhóm bao gồm  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  và  $^{82}\text{Br}$ .

Sáng chế có thể còn bao gồm phương pháp tổng hợp để đưa các chất đồng vị phóng xạ vào hợp chất theo sáng chế. Phương pháp tổng hợp để đưa các chất đồng vị phóng xạ vào hợp chất hữu cơ là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng nhận biết được phương pháp có khả năng áp dụng cho các hợp chất theo sáng chế.

Muối được đánh dấu theo sáng chế có thể được sử dụng trong thử nghiệm sàng lọc để xác định/đánh giá hợp chất. Ví dụ, hợp chất mới được tổng hợp hoặc mới được xác định (tức là hợp chất thử nghiệm) mà được đánh dấu có thể được đánh giá về khả năng của nó gắn kết với JAK bằng cách theo dõi sự biến đổi nồng độ của nó khi được cho tiếp xúc với JAK, thông qua việc để lại dấu vết của việc đánh dấu. Ví dụ, hợp chất thử nghiệm (được đánh dấu) có thể được đánh giá về khả năng của nó làm giảm gắn kết của một hợp chất khác mà đã biết là gắn kết với JAK (tức là hợp chất chuẩn). Do đó, khả năng của hợp chất thử nghiệm cạnh tranh với hợp chất chuẩn để gắn kết với JAK tương quan trực tiếp với ái lực gắn kết của nó. Ngược lại, trong một số thử nghiệm sàng lọc khác, hợp chất chuẩn được đánh dấu và hợp chất thử nghiệm không được đánh dấu. Do đó, nồng độ của hợp chất chuẩn được đánh dấu được theo dõi để đánh giá sự cạnh tranh giữa hợp chất chuẩn và hợp chất thử nghiệm, và ái lực gắn kết tương đối của hợp chất thử nghiệm sẽ được xác định.

#### Kit

Sáng chế cũng đề cập đến kit được dụng hữu hiệu, ví dụ, trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc rối loạn liên quan đến JAK, như bệnh ung thư, bệnh viêm, hoặc rối loạn của da, kit này bao gồm một hoặc nhiều đồ chứa đựng dược phẩm chứa muối theo sáng chế với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh. Kit này có thể còn chứa một hoặc nhiều thành phần thông thường cho kit được dụng khác nhau, nếu muốn, ví dụ, đồ chứa có một hoặc nhiều chất mang dược dụng, đồ chứa bổ sung khác, v.v.. là đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Hướng dẫn, dưới dạng tờ in rời được lồng vào bên trong hoặc dưới dạng nhãn, chỉ rõ lượng của các thành phần cần dùng, hướng dẫn sử dụng, và/hoặc hướng dẫn trộn các thành phần, cũng có thể được bao gồm trong kit.

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng phần Ví dụ thực hiện sáng chế cụ thể sau đây. Các ví dụ sau đây chỉ nhằm cho mục đích minh họa sáng chế, mà không giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ biết rõ nhiều thông số không tới hạn mà có thể được thay đổi hoặc biến đổi để thu được kết quả gần giống nhau.

#### Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Điều chế muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril maleic

(R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril (153,7mg, 0,5mmol) và axit maleic (61,7mg) được thêm vào vào ống thử nghiệm, rồi thêm tiếp rượu isopropylic (IPA) (4ml). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến trong suốt, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và tiếp đó khuấy trong 2,5 giờ nữa. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc và bã lọc được rửa bằng 0,8ml IPA lạnh. Bã lọc được làm khô trong chân không đến khối lượng không đổi để thu được sản phẩm muối cuối cùng (173mg).

Muối của axit maleic được thể hiện là muối 1:1 bằng phép đo  $^1\text{H}$  NMR và độ kết tinh được xác định bằng phép đo nhiễu xạ bột tia X (X-ray powder diffraction - XRPD). Phương pháp đo nhiệt lượng quét vi phân (Differential scanning calorimetry - DSC) sẽ cho đỉnh nóng chảy rõ rệt ở khoảng  $175,96^\circ\text{C}$  (khởi đầu ở  $175,67^\circ\text{C}$ ). Sản phẩm chỉ thể hiện sự hao hụt khối lượng nhẹ tối đa đến  $150^\circ\text{C}$  bằng phép phân tích nhiệt trọng (thermogravimetric analysis - TGA).

Ví dụ 2: Điều chế muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril phosphoric

(R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril (153,5mg) và axit phosphoric (56,6mg) được thêm vào ống thử nghiệm, rồi thêm tiếp rượu isopropylic (IPA) (5,75ml). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến trong suốt, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và tiếp đó khuấy trong 2 giờ nữa. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc và bã lọc được rửa bằng 0,6ml IPA lạnh. Bã lọc được làm khô trong chân không đến khối lượng không đổi để thu được sản phẩm muối cuối cùng (171,7mg).

Muối của axit phosphoric được thể hiện là muối 1:1 bằng phép đo  $^1\text{H}$  NMR và độ kết tinh được xác định bằng phép đo nhiễu xạ bột tia X (XRPD). Phương pháp đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) sẽ cho đỉnh nóng chảy rõ rệt ở khoảng  $198,66^\circ\text{C}$ . Sản phẩm chỉ thể hiện sự hao hụt khối lượng nhẹ tối đa đến  $200^\circ\text{C}$  bằng TGA.

Ví dụ 3: Điều chế muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-cyclopentylpropionitril sulfuric

(R)-3-(4-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-cyclopentyl-propionitril (153,0mg) và axit sulfuric (56,1mg) được thêm vào ống thử nghiệm, rồi thêm tiếp axetonitril (7,0ml). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến trong suốt, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và tiếp đó khuấy trong 2 giờ nữa. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc và bã lọc được rửa bằng 0,8ml axetonitril lạnh. Bã lọc được làm khô trong chân không đến khối lượng không đổi để thu được sản phẩm muối cuối cùng (180mg).

Muối của axit sulfuric được thể hiện là muối 1:1 bằng phép đo  $^1\text{H}$  NMR và độ kết tinh được xác định bằng phép đo nhiễu xạ bột tia X (XRPD). Phương pháp đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) sẽ cho đỉnh nóng chảy rõ rệt ở khoảng  $186,78^\circ\text{C}$ . Sản phẩm chỉ thể hiện sự hao hụt khối lượng nhẹ tối đa đến  $175^\circ\text{C}$  bằng TGA.

Ví dụ A

Thử nghiệm kinaza JAK *in vitro*

Hoạt tính ức chế của hợp chất thử nghiệm lên đích JAK có thể được thử nghiệm theo thử nghiệm *in vitro* sau đây được mô tả trong tài liệu Park et al, Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Miền xúc tác của JAK1 (a.a. 837-1142), Jak2 (a.a. 828-1132) và Jak3 (a.a. 781-1124) của người với nhãn His đầu tận cùng N được biểu hiện bằng cách sử dụng baculovirus trong các tế bào côn trùng và được tinh chế. Hoạt tính xúc tác của JAK1, JAK2 hoặc JAK3 được thử nghiệm bằng cách xác định mức độ phosphoryl hóa của peptit được biotin hóa. Peptit được phosphoryl hóa được phát hiện bằng huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất (homogenous time resolved fluorescence - HTRF). Trị số  $\text{IC}_{50}$  của hợp chất được xác định cho mỗi kinaza trong các phản ứng mà chứa enzym, ATP và peptit 500nM trong dung dịch đệm Tris 50mM (độ pH = 7,8) chứa NaCl 100mM, DTT 5mM và BSA 0,1mg/ml (0,01%). Nồng độ ATP trong phản ứng là 90 $\mu\text{M}$  đối với Jak1, 30 $\mu\text{M}$  đối với Jak2 và 3 $\mu\text{M}$  đối với Jak3. Các phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và tiếp đó được làm ngừng bằng 20 $\mu\text{l}$  EDTA

45mM, SA-APC 300nM, Eu-Py20 6nM trong dung dịch đệm thử nghiệm (Perkin Elmer, Boston, MA). Việc gắn kết với kháng thể được đánh dấu bằng Europi xảy ra trong 40 phút và tín hiệu HTRF được đo trên thiết bị đọc đĩa Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). Cả muối của axit phosphoric theo sáng chế lẫn hợp chất bazơ tự do tương ứng đều được thấy là có trị số  $IC_{50}$  nhỏ hơn 50nM đối với mỗi JAK1, JAK2 và JAK3.

Các biến đổi khác nhau của sáng chế, ngoài những cái đã được mô tả trong tài liệu này, sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa vào phần bản mô tả nêu trên. Những biến đổi này cũng thuộc phạm vi của Yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mỗi tài liệu được trích dẫn trong bản mô tả này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Muối được chọn từ nhóm bao gồm:

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril phosphoric;

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril sulfuric; và

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril maleic;

trong đó muối này ở dạng tinh thể.

2. Muối ở dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó muối này là muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril phosphoric.

3. Muối ở dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó muối này là muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril sulfuric.

4. Muối ở dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó muối này là muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril maleic.

5. Muối ở dạng tinh thể theo điểm 2, trong đó muối ở dạng tinh thể này là muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril:phosphoric theo tỷ lệ 1:1.

6. Muối ở dạng tinh thể theo điểm 3, trong đó muối ở dạng tinh thể này là muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril:sulfuric theo tỷ lệ 1:1.

7. Muối ở dạng tinh thể theo điểm 4, trong đó muối ở dạng tinh thể này là muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril:maleic theo tỷ lệ 1:1.

8. Dược phẩm chứa muối ở dạng tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 và chất mang dược dụng.

9. Thuốc chứa muối ở dạng tinh thể được chọn từ nhóm bao gồm:

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-xyclopentylpropannitril phosphoric,

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-cyclopentylpropanitril sulfuric, và

muối của axit (R)-3-(4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl)-3-cyclopentylpropanitril maleic.

10. Thuốc chứa được phẩm theo điểm 8.

11. Thuốc theo điểm 9 hoặc 10, trong đó thuốc này là viên nén.