



(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)



1-0032003

(51)⁷ C07J 9/00; A61P 1/16; C07J 41/00;
C07J 71/00; A61K 31/575; C07J 31/00

(13) B

(21) 1-2015-04676

(22) 14/05/2014

(86) PCT/EP2014/059896 14/05/2014

(87) WO 2014/184271 20/11/2014

(30) 61/823,169 14/05/2013 US

(45) 25/05/2022 410

(43) 27/06/2016 339A

(73) INTERCEPT PHARMACEUTICALS, INC. (US)

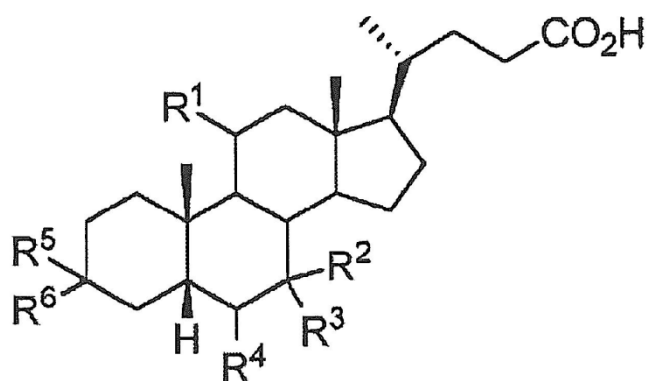
450 W. 15th Street, Suite 505 New York, NY 10011, United States of America

(72) PELLICCIARI, Roberto (IT).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT CHỦ VẬN FXR CHỌN LỌC VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập chung đến các chất chủ vận FXR (9-cis retinoic acid receptor) chọn lọc và dược phẩm chứa hợp chất này. Cụ thể, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



(I)

hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó, trong đó R¹ là nhóm hydroxy và, R², R³, R⁴, R⁵ và R⁶ là như được mô tả trong bản mô tả.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập chung đến các chất chủ vận FXR (9-cis retinoic acid receptor) chọn lọc, phương pháp điều chế các hợp chất này, và dược phẩm chứa các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

FXR là thành viên thuộc họ thụ thể nhân của các yếu tố phiên mã được hoạt hóa bởi phối tử mà bao gồm các thụ thể cho các hormon steroid, retinoit, và thyroid (D.J. Mangelsdorf, *et al*, Cell 83:841-850 (1995)). Phép phân tích Northern và phân tích tại chỗ thể hiện rằng FXR được biểu hiện nhiều nhất ở gan, ruột, thận, và thượng thận (B.M. Forman, *et al*, Cell 81 :687-693 (1995) và W. Seol, *et al*, Mol. Endocrinol. 9:72-85 (1995)). FXR liên kết với ADN dưới dạng heterodime với thụ thể axit 9-cis retinoic (9-cis retinoic acid receptor - RXR). FXR chuột được hoạt hóa bởi các farnesoid như farnesol và hormon juvenile ở nồng độ micromol/L (B.M. Forman, *et al*, Cell 81 :687-693 (1995)). Tuy nhiên, các hợp chất này không hoạt hóa được FXR của chuột và người, khiến cho bản chất của các phối tử FXR nội sinh còn nghi ngờ. Một số axit mật có trong tự nhiên (ví dụ, axit chenodeoxycholic (CDCA), axit deoxycholic (DCA), axit lithocholic (LCA), và thể liên hợp taurin và glyxin của chúng) hoạt động dưới dạng phối tử FXR và liên kết với và hoạt hóa FXR ở nồng độ sinh lý (WO 00/37077).

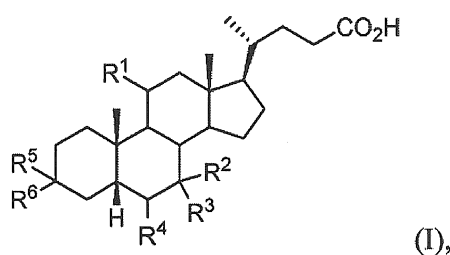
Các axit mật là chất chuyển hóa cholesterol mà được tạo ra trong gan và tiết vào tá tràng của ruột, tại đó chúng có vai trò quan trọng trong việc hòa tan và hấp thụ các lipid và vitamin trong chế độ dinh dưỡng. Hầu hết các axit mật (~95%) sau đó được hấp thu lại trong hồi tràng và đưa trở lại gan qua hệ thống tuần hoàn ruột gan. Sự chuyển hóa cholesterol thành axit mật trong gan theo cơ chế điều hòa phản hồi: các axit mật điều hòa giảm sự phiên mã của xytocrom P450 7a (CYP7a), mà mã hóa enzym xúc tác bước hạn chế tốc độ trong quá trình tổng hợp axit mật. Có giả thuyết cho rằng FXR có liên quan đến việc kìm hãm sự biểu hiện CYP7a bởi các axit mật (D.W. Russell, Cell 97:539-542 (1999)). Trong hồi tràng, các axit mật cảm ứng sự biểu hiện protein liên kết axit mật ruột (intestinal bile acid binding protein - IBABP), mà liên kết với các axit mật với ái lực cao và có thể có liên quan trong hoạt động hấp thu và di chuyển nội bào của chúng. Đã chứng tỏ được rằng các axit mật có được tác dụng của chúng lên sự biểu hiện IBABP qua trung gian hoạt hóa của FXR, mà liên kết với yếu tố đáp ứng loại IR-1 được bảo tồn trong các đoạn khởi đầu gen IBABP của người, chuột cống, và

chuột nhất. Do đó, FXR liên quan đến cả việc kích thích (IBABP) và kìm hãm (CYP7a) các gen đích có liên quan đến sự cân bằng nội môi của axit mật và cholesterol. Theo đó, cần có các chất điều biến FXR thích hợp để phát triển thuốc. Sáng chế hướng đến nhu cầu này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập chung đến các chất chủ vận FXR (9-cis retinoic acid receptor) chọn lọc, phương pháp điều chế các hợp chất này, và dược phẩm chứa các hợp chất này.

Để đạt được mục đích trên đây, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất các hợp chất và phương pháp điều chế các hợp chất này. Cụ thể, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó, trong đó R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 và R^6 là như được mô tả trong bản mô tả. Các hợp chất theo sáng chế hữu dụng để điều trị và ngăn ngừa các bệnh và tình trạng bệnh lý.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó, và chất mang hoặc tá dược được dụng.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh và tình trạng bệnh lý, bao gồm bước cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó khi cần. Theo một khía cạnh, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý là qua trung gian FXR.

Sáng chế cũng đề xuất việc sản xuất thuốc để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý (ví dụ, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR), trong đó thuốc này chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm để sử dụng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý (ví dụ, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR), trong đó chế phẩm này chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó.

Trừ khi được định nghĩa theo cách khác, tất cả thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có cùng nghĩa với nghĩa thông thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực của sáng chế. Trong bản mô tả, các dạng số ít cũng bao gồm cả số nhiều trừ khi ngữ cảnh rõ ràng chỉ định khác. Mặc dù có thể sử dụng các phương pháp và vật liệu tương tự hoặc tương đương với phương pháp và vật liệu được mô tả ở đây để thực hành hoặc kiểm tra sáng chế, các phương pháp và vật liệu thích hợp được mô tả dưới đây. Tất cả các công bố, đơn sáng chế, bằng sáng chế, và các tài liệu tham khảo khác được đề cập trong bản mô tả được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Các tài liệu tham khảo được viện dẫn trong bản mô tả không được xem là giải pháp kỹ thuật đã biết đối với sáng chế được yêu cầu bảo hộ. Trong trường hợp có mâu thuẫn, bản mô tả sáng chế, bao gồm các định nghĩa, sẽ điều chỉnh. Ngoài ra, các vật liệu, phương pháp, và ví dụ chỉ nhằm minh họa và không được dự định để giới hạn.

Các đặc điểm và ưu điểm của sáng chế sẽ rõ ràng nhờ phần mô tả chi tiết và các yêu cầu bảo hộ sau.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là đồ thị thể hiện hoạt tính của hợp chất theo sáng chế và hợp chất so sánh trong thử nghiệm hoạt hóa chéo trong các tế bào HEK293T

Fig. 2 là loạt đồ thị thể hiện sự thiếu hụt hoạt tính trên TGR5 của hợp chất theo sáng chế trong các tế bào nội tiết ruột của người biểu hiện TGR5 ở mức sinh lý (A) và trong các tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary – CHO) của người biểu hiện quá mức TGR5 (B).

Fig. 3 là loạt đồ thị thể hiện hoạt tính của hợp chất theo sáng chế và các hợp chất so sánh khác trong việc điều hòa sự biểu hiện OST α (A), OST β (B), BSEP (C), MRP2 (D), CYP7A1 (E), SHP (F), FGF-19 (G), và UGT2B4 (H).

Fig. 4 là loạt đồ thị thể hiện hoạt tính của hợp chất theo sáng chế và các hợp chất so sánh khác trong việc điều hòa PLTP có liên quan đến chuyển hóa lipid (A), SREBP-1C (B), APOCII (C), và PPAR γ (D).

Fig. 5 là đồ thị thể hiện sự điều hòa của hợp chất theo sáng chế và các hợp chất so sánh khác trên gen PEPCK.

Fig. 6 là đồ thị thể hiện giá trị đo ATP trong các tế bào HepG2, được xử lý bằng

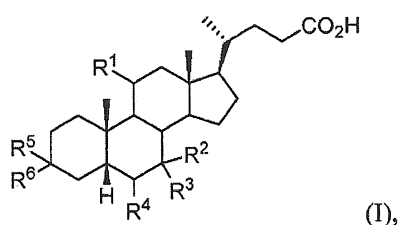
hợp chất theo sáng chế ở các nồng độ đã chỉ định trong 4 giờ.

Fig. 7 là loạt đồ thị thể hiện tác dụng lợi mật của Hợp chất 100 khi dùng trong da và trong tĩnh mạch (A), sự bài tiết Hợp chất 100 theo thời gian khi sử dụng trong da và trong tĩnh mạch (B), và nồng độ trong huyết tương của Hợp chất 100 theo thời gian (C).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I:



hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó, trong đó:

R^1 là hydroxyl;

R^2 là hydro, hydroxyl, alkyl, hoặc halogen, trong đó alkyl không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều R^a ;

R^3 là hydro, hydroxyl, alkyl, hoặc halogen, trong đó alkyl không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều R^b ;

R^4 là hydro, alkyl, alkenyl, alkynyl, hoặc halogen, trong đó alkyl không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều R^c ;

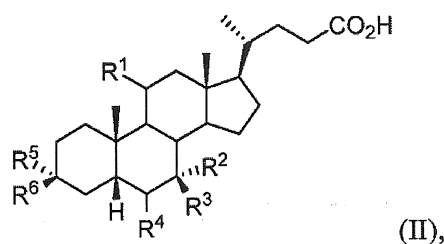
R^a , R^b , và R^c mỗi nhóm độc lập là halogen hoặc hydroxyl;

R^5 là hydroxyl, OSO_3H , OSO_3^- , OCOCH_3 , OPO_3H , OPO_3^{2-} , hoặc hydro; và

R^6 là hydroxyl, OSO_3H , OSO_3^- , OCOCH_3 , OPO_3H , OPO_3^{2-} , hoặc hydro;

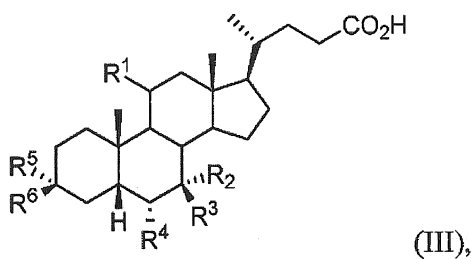
hoặc R^5 và R^6 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo ra carbonyl.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II:



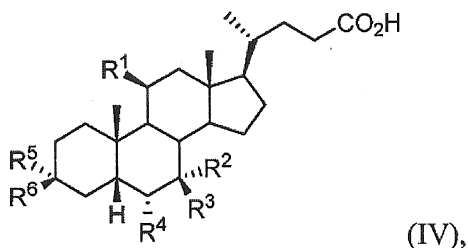
hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức III:



hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức IV:



hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này là hợp chất (ví dụ, hợp chất tự nhiên, hoặc hợp chất ở dạng không phải muối, không được solvat hóa, và không được liên hợp).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này là muối được dụng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này là thể liên hợp axit amin. Theo một khía cạnh, thể liên hợp axit amin này là thể liên hợp glyxin. Theo một khía cạnh, thể liên hợp axit amin này là thể liên hợp taurin.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, trong đó một trong số R^2 hoặc R^3 là hydroxyl hoặc halogen và nhóm còn lại R^2 hoặc R^3 là hydro hoặc alkyl không được thế. Theo một khía cạnh, một trong số R^2 hoặc R^3 là hydroxyl và nhóm còn lại R^2 hoặc R^3 là hydro.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, trong đó một trong số R^5 hoặc R^6 là hydroxyl và nhóm còn lại R^5 hoặc R^6 là hydro.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^2 là hydroxyl hoặc halogen. Theo một khía cạnh, R^2 là hydroxyl. Theo một khía cạnh khác, R^2 là halogen.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^3 là hydro hoặc alkyl không được thế. Theo một khía cạnh, R^3 là hydro.

Theo một khía cạnh khác, R^3 là metyl.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^2 là hydroxyl và R^3 là hydro.

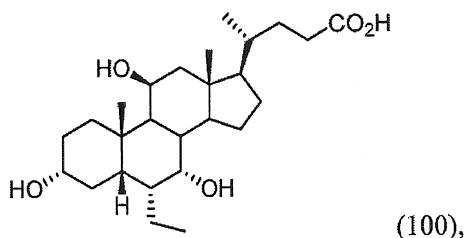
Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^5 là hydroxyl.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^6 là hydro.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R² và R⁵ mỗi nhóm là hydroxyl và R³ và R⁶ mỗi nhóm là hydro.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^4 là alkyl hoặc hydro. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó R^4 là alkyl không được thế. Theo một khía cạnh, R^4 là metyl, etyl, propyl, hoặc butyl. Theo một khía cạnh, R^4 là metyl hoặc etyl. Theo một khía cạnh, R^4 là metyl. Theo một khía cạnh, R^4 là etyl.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất:



hoặc muối, solvat được dung, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này là chất chủ vận FXR. Theo một khía cạnh, hợp chất theo sáng chế là chất chủ vận FXR có tiềm năng cao. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế hoạt hóa FXR ở nồng độ dưới 1 μM , dưới 0,8 μM , dưới 0,6 μM , dưới 0,4 μM , hoặc dưới 0,2 μM (ví dụ, như đo được bằng thử nghiệm AlphaScreen), so với 15 μM đối với CDCA. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế hoạt hóa FXR ở nồng độ dưới 0,2 μM (ví dụ, như được đo bằng thử nghiệm AlphaScreen). Ví dụ, hợp chất theo sáng chế hoạt hóa FXR với EC_{50} dưới 1 μM , dưới 0,8 μM , dưới 0,6 μM , dưới 0,4 μM , hoặc dưới 0,2 μM (ví dụ, như được đo bằng thử nghiệm AlphaScreen), so với 8,9 μM đối với CDCA. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế hoạt hóa FXR với EC_{50} dưới 0,2 μM (ví dụ, như được đo bằng thử nghiệm AlphaScreen).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc

IV, trong đó hợp chất này không hoạt động chống lại các thụ thể nhân khác. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này không hoạt hóa TGR5 (ví dụ, như được đo bằng thử nghiệm HTR-FRET TGR5, khi TGR5 được biểu hiện ở mức độ sinh lý hoặc biểu hiện quá mức).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này cảm ứng sự chết tế bào theo chương trình.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này không thể hiện tác dụng độc tế bào lên tế bào gan HepG2 của người (ví dụ, như được đo bằng thử nghiệm giải phóng LDH hoặc thử nghiệm ATP nội bào).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này không ức chế một hoặc nhiều đồng đẳng CYP450 được chọn từ CYP1A2, CYP3A4 (cơ chất xanh lá cây), CYP3A4 (cơ chất xanh nước biển), CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, và CYP2E1. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có IC_{50} lớn hơn 10 μM như đo được bằng thử nghiệm ức chế CPY450.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, II, III, hoặc IV, trong đó hợp chất này không ức chế kênh kali ERG của người.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp tổng hợp hợp chất theo sáng chế, hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kit chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế, hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó. Theo một khía cạnh, kit còn chứa thành phần được dụng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế và tá dược được dụng.

Một vấn đề kỹ thuật cần giải quyết bởi sáng chế là việc nhận dạng các hợp chất mới là chất chủ vận thụ thể farnesoid X (farnesoid X receptor - FXR) của hormon nhân, mà là mục tiêu hấp dẫn để điều trị các bệnh chuyển hóa và bệnh gan mạn tính. Đã biết rằng các axit mật tự nhiên điều biến không chỉ một số thụ thể hormon nhân, mà còn là các chất chủ vận đối với thụ thể kết hợp protein G (G protein-coupled receptor - GPCR) TGR5. Tính chọn lọc có thể là vấn đề đối với các hợp chất thuốc được định hướng để điều biến thụ thể hormon nhân. Do đó mục đích của sáng chế là cung cấp hợp chất làm chất chủ vận FXR đặc hiệu, ví dụ, hợp chất mà không thể hiện

hoạt tính chống lại các thụ thể nhân khác hoặc hợp chất mà không hoạt hóa axit mật GPCR TGR5. Những vấn đề khác về phát triển hợp chất thuốc bao gồm profin được động học không thích hợp, các vấn đề về an toàn như độc tính (ví dụ, gan) và các tương tác thuốc-thuốc không mong muốn. Theo đó, các mục đích tiếp theo của sáng chế là cung cấp các hợp chất không mắc phải các vấn đề kỹ thuật nêu trên, tức là, hợp chất mà có profin được động học thích hợp, hợp chất mà không có tác dụng độc trên các tế bào, hợp chất mà không ức chế các enzym xytocrom P450, và/hoặc hợp chất mà không ức chế hERG.

Các tài liệu sáng chế và khoa học được viện dẫn trong bản mô tả cung cấp các kiến thức sẵn có đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các bằng sáng chế được cấp, đơn, và các tài liệu tham khảo được viện dẫn trong bản mô tả được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn với cùng phạm vi như chúng được chỉ định cụ thể và riêng rẽ để kết hợp bằng cách viện dẫn. Trong trường hợp không thống nhất, bản mô tả sẽ được ưu tiên.

Các định nghĩa sau sẽ được sử dụng cho các mục đích của sáng chế (trừ khi được thể hiện rõ ràng khác).

Các thuật ngữ hóa học chung được sử dụng trong toàn bộ bản mô tả có nghĩa thông thường của chúng. Ví dụ, thuật ngữ alkyl chỉ nhóm hydrocacbon no phân nhánh hoặc không phân nhánh. Thuật ngữ "n-alkyl" chỉ nhóm alkyl không phân nhánh. Thuật ngữ " C_x-C_y alkyl" chỉ nhóm alkyl có từ x đến y nguyên tử cacbon, gồm cả x và y, trong nhóm hydrocacbon phân nhánh hoặc không phân nhánh. Để minh họa, nhưng không giới hạn, thuật ngữ " C_1-C_8 alkyl" chỉ gốc hydrocacbon mạch thẳng hoặc phân nhánh có 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, hoặc 8 nguyên tử cacbon. " C_1-C_6 " chỉ gốc hydrocacbon mạch thẳng hoặc phân nhánh có 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 nguyên tử cacbon. " C_1-C_4 alkyl" chỉ gốc hydrocacbon mạch thẳng hoặc phân nhánh có 1, 2, 3, hoặc 4 nguyên tử cacbon, bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, *sec*-butyl, và *tert*-butyl. Thuật ngữ " C_1-C_4 *n*-alkyl" chỉ các gốc hydrocacbon mạch thẳng có từ 1, 2, 3, hoặc 4 nguyên tử cacbon bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl, và *n*-butyl. Thuật ngữ " C_3-C_6 xycloalkyl" chỉ xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, và xyclohexyl. Thuật ngữ " C_3-C_7 xycloalkyl" còn bao gồm xycloheptyl. Thuật ngữ " C_3-C_8 xycloalkyl" còn bao gồm xyclooctyl. Xycloalkylalkyl chỉ các gốc xycloalkyl được liên kết qua chuỗi liên kết alkyl, như ví dụ, những không chỉ giới hạn ở, xyclopropylmetyl, xyclopropyletyl,

xyclopropylpropyl, xyclopropylbutyl, xyclobutylmetyl, xyclobutyletyl, xyclobutylpropyl, xyclopentylmetyl, xyclopentyletyl, xyclopentylpropyl, xyclohexylmetyl, xyclohexyletyl, và xyclohexylpropyl. Mỗi nhóm alkyl, xycloalkyl, và xycloalkylalkyl có thể tùy ý được thế như được chỉ định trong bản mô tả.

Thuật ngữ "C₄-C₈ xycloalkenyl" chỉ các vòng xyclobutenyl, xyclopentyl, xyclohexenyl, xycloheptenyl, và xyclooctenyl có một hoặc nhiều vị trí không no, ví dụ, một hoặc nhiều liên kết đôi.

Thuật ngữ "halogen" chỉ flo, clo, brom, hoặc iot.

Thuật ngữ "hydroxyl" chỉ OH.

Cần hiểu rằng "thế" hoặc "được thế bằng" bao gồm cả nội dung ngầm định miễn sao phép thế đó là theo hóa trị được cho phép của nguyên tử được thế và phần tử thế, và phép thế tạo ra hợp chất bền, ví dụ, không đồng thời diễn ra phép biến đổi như bố trí lại, đóng vòng, loại, v.v.. Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "được thế" được dự định để bao gồm tất cả các phần tử thế được phép của các hợp chất hữu cơ trừ khi được chỉ định khác. Theo một khía cạnh rộng, các phần tử thế được phép bao gồm các phần tử thế không vòng và vòng, mạch nhánh và không phân nhánh, vòng cacbon và dị vòng, thơm và không thơm của các hợp chất hữu cơ. Các phần tử thế được phép có thể là một hoặc nhiều và giống nhau hoặc khác nhau đối với các hợp chất hữu cơ thích hợp. Theo mục đích của sáng chế, các nguyên tử khác loại như nitơ có thể có phần tử thế hydro và/hoặc phần tử thế được phép bất kỳ của các hợp chất hữu cơ được mô tả trong bản mô tả mà thỏa mãn hóa trị của nguyên tử khác loại này. Sáng chế không được dự định để bị giới hạn theo cách bất kỳ bởi phần tử thế được phép của hợp chất hữu cơ.

Thuật ngữ "được" hoặc "được dụng" khi được sử dụng trong bản mô tả làm tính từ, chỉ tính chất hầu như không độc và hầu như không có hại với người nhận.

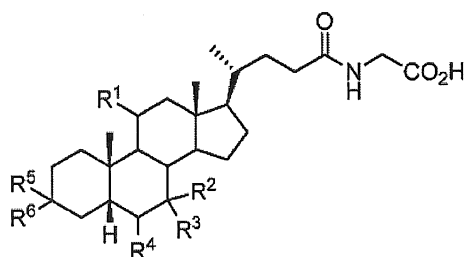
"Dược phẩm bào chế" còn có nghĩa rằng chất mang, dung môi, tá dược, và muối phải tương thích với thành phần hoạt tính của dược phẩm bào chế (ví dụ, hợp chất theo sáng chế). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cần hiểu rằng thuật ngữ "dược phẩm bào chế" và "dược phẩm" thường thay thế cho nhau được, và chúng cũng được sử dụng cho các mục đích của đơn này.

Các muối dược dụng thích hợp theo sáng chế sẽ dễ dàng được xác định bởi Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, ví dụ, muối

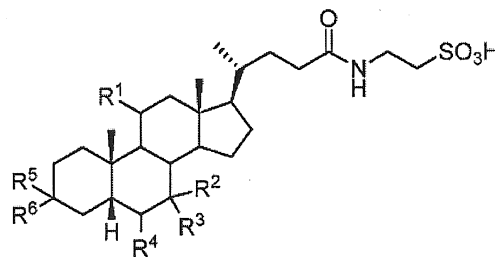
bazơ như muối kim loại kiềm hoặc kim loại kiềm thổ từ nhôm, canxi, lithi, magie, kali, natri, và kẽm hoặc các muối hữu cơ từ N,N'-dibenzyletylendiamin, cloprocain, cholin, dietanolamin, etylendiamin, meglumin (N-metylglucamin), và procain. Các muối với amin được dùng như lysin, arginin, tromethamin, trietylamin và các chất tương tự cũng có thể được sử dụng. Các muối như vậy của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường, từ hợp chất theo sáng chế bằng cách cho, ví dụ, bazơ thích hợp phản ứng với hợp chất theo sáng chế.

Khi được sử dụng trong y tế, các muối của hợp chất theo sáng chế cần phải là được dùng, nhưng các muối không được dùng có thể được sử dụng thuận tiện để điều chế bazơ tự do tương ứng hoặc muối được dùng của chúng.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "thể liên hợp axit amin" chỉ thể liên hợp của hợp chất theo sáng chế với axit amin thích hợp bất kỳ. Theo một khía cạnh, thể liên hợp axit amin thích hợp như vậy của hợp chất theo sáng chế sẽ có ưu điểm bổ sung về độ nguyên vẹn tăng trong dịch mật hoặc dịch ruột. Sáng chế bao gồm các thể liên hợp glyxin và taurin của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, thể liên hợp glyxin và taurin của hợp chất có công thức I có công thức sau:



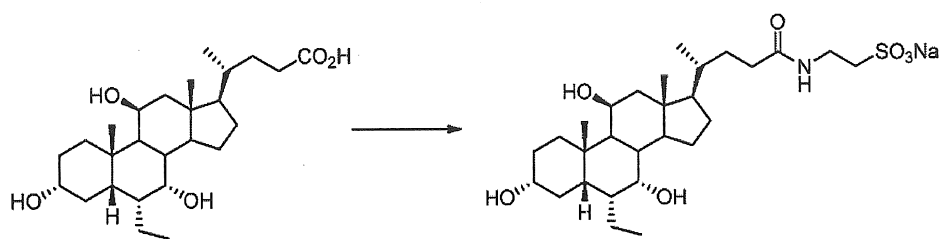
(glyxin)



(taurin)

Theo một khía cạnh, các thể liên hợp glyxin và taurin của hợp chất theo sáng chế có thể là muối được dùng của nó. Các thể liên hợp axit amin của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, axit tự do có thể được kết hợp vào axit amin glyxin hoặc taurin bằng cách sử dụng các điều kiện kết hợp peptit chuẩn.

Theo một khía cạnh, muối natri của thể liên hợp taurin của Hợp chất 100 có thể được điều chế như sau.



hợp chất 100

thể liên hợp taurin của hợp chất 100

Hợp chất 100 được xử lý bằng bazơ (ví dụ, Et_3N) và taurin trong dung môi proton phân cực (ví dụ, EtOH). Hỗn hợp thu được có thể được xử lý bằng chất phản ứng kết hợp (ví dụ, DMT-MM (4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholin clorua)). Hỗn hợp phản ứng có thể được cô đặc và hòa trong bazơ (ví dụ, dung dịch nước NaOH 3% trọng lượng/thể tích). Hỗn hợp phản ứng thu được có thể được chiết bằng dung môi hữu cơ (ví dụ, AcOEt). Pha nước có thể được cô đặc và lọc trên tấm silic oxit, đầu tiên giải hấp bằng, ví dụ, H_2O (đến độ pH trung tính) và sau đó bằng, ví dụ, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 80:20 thể tích/thể tích để tạo ra thể liên hợp taurin của Hợp chất 100. Các axit amin thích hợp bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở glyxin và taurin.

Một số hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng không được solvat hóa cũng như được solvat hóa như, ví dụ, các hydrat.

Sáng chế đề xuất phương pháp tổng hợp các hợp chất theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp chi tiết để tổng hợp nhiều hợp chất theo sáng chế khác nhau được bộc lộ theo các sơ đồ sau đây như được thể hiện trong các ví dụ.

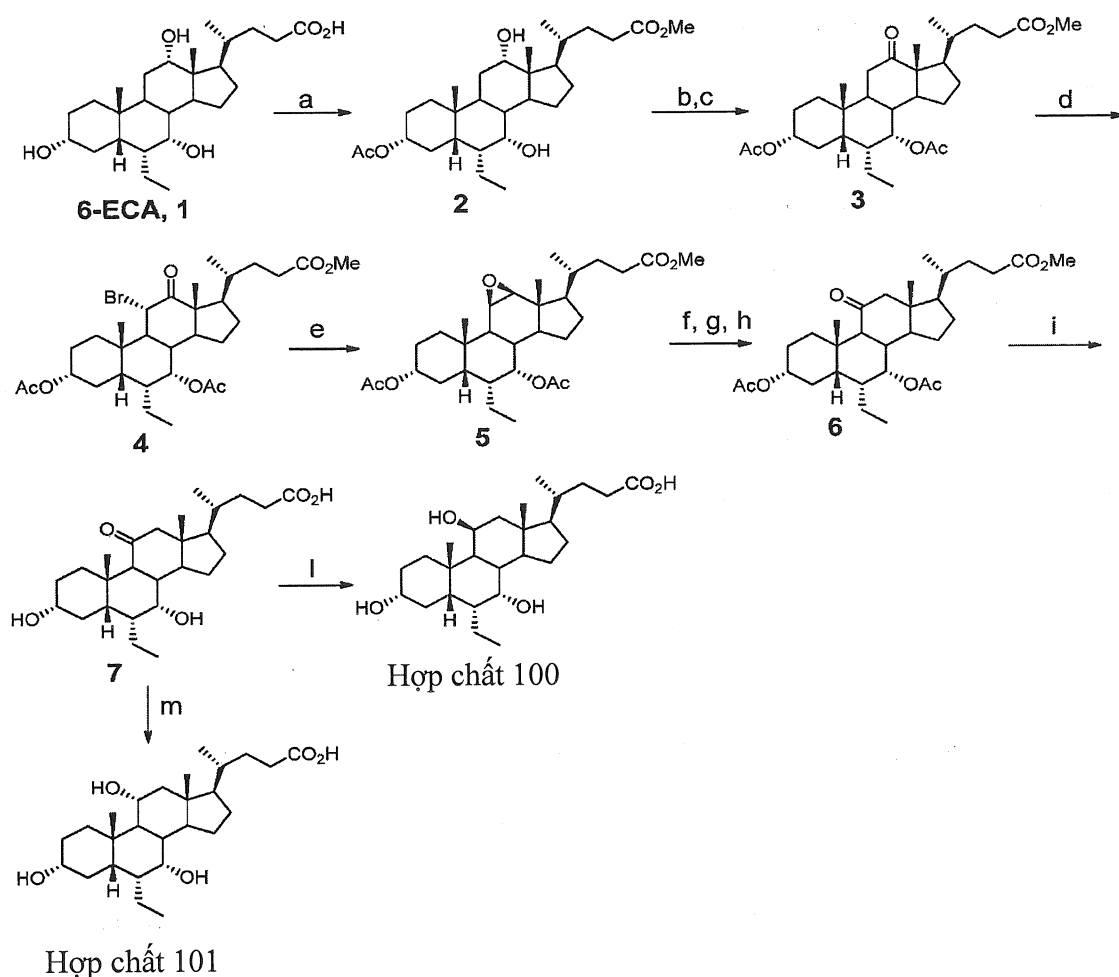
Các quy trình tổng hợp theo sáng chế có thể sử dụng rất nhiều nhóm chức khác nhau, do đó có thể sử dụng nhiều nguyên liệu ban đầu được thể khác nhau. Các quy trình thường cung cấp hợp chất cuối mong muốn ở cuối hoặc gần cuối quy trình chung, mặc dù trong các trường hợp nhất định có thể mong muốn chuyển hóa tiếp hợp chất này thành muối được dụng, este hoặc tiền dược chất của nó.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo nhiều cách khác nhau bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu có bán trên thị trường, các hợp chất đã biết trong tài liệu, hoặc từ các chất trung gian dễ dàng được điều chế, bằng cách sử dụng các phương pháp và quy trình tổng hợp chuẩn đã được các Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết đến, hoặc sẽ trở nên rõ ràng đối với các Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nhờ các hướng dẫn trong bản mô tả. Các phương pháp và quy trình tổng hợp chuẩn để điều chế các phân tử hữu cơ và biến

đổi và thao tác các nhóm chức có thể thu được từ tài liệu khoa học có liên quan hoặc từ các sách giáo khoa chuẩn trong lĩnh vực này. Mặc dù không bị giới hạn ở một hoặc một số nguồn bất kỳ, các tài liệu kinh điển như tài liệu của Smith, M. B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; và tài liệu của Greene, T.W., Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999, được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn, là các sách giáo khoa tham khảo về tổng hợp hữu cơ hữu dụng và được thừa nhận đã được Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết đến. Phần mô tả các phương pháp tổng hợp sau được dự định để minh họa, mà không giới hạn, các quy trình chung để tổng hợp các hợp chất theo sáng chế.

Tất cả các chữ viết tắt được sử dụng trong đơn này có trong "Protective Groups in Organic Synthesis" của John Wiley & Sons, Inc, hoặc tài liệu MERCK INDEX của MERCK & Co., Inc, hoặc các sách hóa học khác hoặc các danh mục hóa học của các nhà cung cấp hóa chất như Aldrich, hoặc theo cách dùng đã biết trong lĩnh vực này.

Sơ đồ 1



Các chất phản ứng và điều kiện: a) 1) MeOH, *p*-TSA, siêu âm, 3 giờ, định lượng; 2) Ac₂O, NaHCO₃, THF, hồi lưu 12 giờ, 85%; b) PCC, CH₂Cl₂, 6 giờ, 62%; c) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂, 1 giờ, 91%; d) Br₂, Benzen, 30°C qua đêm, 74%; e) NaBH₄, NaOAc, Pyr, nhiệt độ trong phòng 2 ngày, 80%; f) HI 57%, AcOH, nhiệt độ trong phòng 30 phút; g) CrO₃, AcOH, nhiệt độ trong phòng 45 phút; h) bụi Zn, NaOAc, hồi lưu 20 phút; i) NaOH 2M, MeOH, nhiệt độ trong phòng qua đêm, 65% từ hợp chất 5; l) NaBH₄, THF/H₂O 4:1, 70%; m) Na(s), *sec*-BuOH, 50°C, 70%.

Việc tổng hợp dựa trên việc sử dụng axit 6 α -etyl-cholic (6-ECA, 1) làm nguyên liệu ban đầu mà được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. 6-ECA (1) được xử lý bằng *p*-TSA trong MeOH trong điều kiện chiếu xạ siêu âm để tạo ra este metyl tương ứng, mà được bảo vệ theo cách chọn lọc ở vị trí C3 bằng cách hồi lưu với Ac₂O với sự có mặt của NaHCO₃ trong THF để tạo ra hợp chất 2. Xử lý hợp chất 2 bằng PCC trong CH₂Cl₂ ở nhiệt độ trong phòng tiếp theo là xử lý bằng Ac₂O, Bi(OTf)₃ trong CH₂Cl₂ ở nhiệt độ trong phòng tạo ra hợp chất trung gian metyl 3 α ,7 α -diacetoxi-12-oxo-5 β -cholan-24-oat (hợp chất 3; khoảng 48% từ hợp chất 2).

Xử lý hợp chất 3 bằng Br₂ trong benzen trong ví dụ, 12 giờ tạo ra hợp chất 4. Phản ứng của hợp chất 4 với NaBH₄ và NaOAc trong pyridin mới trung cất tạo ra 11 β -12 β epoxit tương ứng (hợp chất 5), với hiệu suất khoảng 59% sau khi tinh chế bằng silica gel. Phản ứng của hợp chất 5 với HI trong AcOH ở nhiệt độ trong phòng tạo ra hợp chất trung gian halohydrin, hợp chất này sau đó được oxy hóa ở vị trí C11 bằng CrO₃ trong AcOH để tạo ra hợp chất 6. Phản ứng của hợp chất 6 với bụi Zn trong AcOH sôi và thủy phân trong môi trường kiềm (NaOH/MeOH) tạo ra axit 3 α ,7 α -hydroxy-12-keto-5 β -cholan-24-oic (hợp chất 7; hiệu suất khoảng 65% từ hợp chất 5).

Hợp chất 7 được khử chọn lọc lập thể ở vị trí C11-cacbonyl bằng NaBH₄ trong hỗn hợp THF/H₂O= (4:1, thể tích/thể tích) để tạo ra axit 3 α ,7 α ,11 β -trihydroxy-6 α -etyl-5 β -cholan-24-oic (Hợp chất 100; khoảng 27% từ hợp chất 3), sau khi tinh chế bằng phương pháp sắc ký để tạo ra Hợp chất 100. Theo cách khác, hợp chất 7 được khử bằng natri trong *sec*-BuOH ở 50°C để tạo ra Hợp chất 101 (hiệu suất khoảng 70%), sau khi tinh chế.

"Solvat" chỉ dạng cộng dung môi mà chứa lượng dung môi tỷ lệ hoặc không tỷ lệ. Một số hợp chất có xu hướng giữ lại tỷ lệ mol phân tử dung môi cố định ở trạng thái tinh thể rắn, do đó tạo ra solvat. Nếu dung môi là nước thì solvat được tạo ra

là hydrat; khi dung môi là rượu, solvat được tạo ra là alcolat. Các hydrat được tạo ra bằng cách kết hợp một hoặc nhiều phân tử nước với một trong số các hợp chất trong đó nước giữ trạng thái phân tử của nó dưới dạng H_2O , sự kết hợp như vậy có thể tạo ra một hoặc nhiều hydrat.

Thuật ngữ "dung môi thích hợp" chỉ dung môi bất kỳ, hoặc hỗn hợp các dung môi, trợ với phản ứng đang diễn ra mà hòa tan đủ các chất phản ứng để tạo ra môi trường trong đó xảy ra phản ứng mong muốn.

Các hợp chất được mô tả trong bản mô tả có thể có tâm bất đối. Các hợp chất theo sáng chế chứa nguyên tử được thể không đối xứng có thể được tách ở dạng hoạt động quang học hoặc raxemic. Cách điều chế dạng hoạt động quang học đã được biết rõ trong lĩnh vực này, như bằng cách tách dạng raxemic hoặc bằng cách tổng hợp từ các nguyên liệu ban đầu hoạt động quang học. Nhiều chất đồng phân hình học của olefin, các liên kết đôi $C=N$, và tương tự cũng có thể có trong các hợp chất được mô tả trong bản mô tả, và tất cả các chất đồng phân bền như vậy thuộc phạm vi của sáng chế. Các chất đồng phân hình học xis và trans của các hợp chất theo sáng chế được mô tả và có thể tách được dưới dạng hỗn hợp các chất đồng phân hoặc dưới dạng chất đồng phân riêng rẽ. Tất cả các dạng đồng phân không đối ảnh, đồng phân không đối quang, raxemic, và đồng phân hình học của cấu trúc là được dự định, trừ khi dạng hóa học lập thể hoặc đồng phân riêng được chỉ định cụ thể. Tất cả các quy trình được sử dụng để điều chế các hợp chất theo sáng chế và hợp chất trung gian được tạo ra trong quy trình đó được xem là một phần của sáng chế. Tất cả các chất đồng phân hổ biến của các hợp chất đã được thể hiện hoặc mô tả cũng được xem là một phần của sáng chế. Hơn nữa, sáng chế cũng bao gồm các sản phẩm chuyển hóa của các hợp chất được mô tả trong bản mô tả.

Sáng chế cũng bao gồm các hợp chất được đánh dấu đồng vị, mà giống hệt với các hợp chất được đề cập trong các công thức theo sáng chế, nhưng với thực tế là một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối được phát hiện phổ biến nhất trong tự nhiên. Ví dụ về các đồng vị mà có thể được kết hợp vào hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, flo, như 3H , ^{11}C , ^{14}C , 2H , và ^{18}F .

Các hợp chất theo sáng chế và muối, solvat được dụng hoặc thể liên hợp axit amin của chúng mà chứa các đồng vị nêu trên và/hoặc các đồng vị khác của các

nguyên tử khác thuộc phạm vi của sáng chế. Các hợp chất được đánh dấu bằng đồng vị theo sáng chế, ví dụ các hợp chất được kết hợp các đồng vị có hoạt tính phóng xạ như ^3H và ^{14}C , hữu dụng trong các thử nghiệm phân phối thuốc và/hoặc mô cơ chất. Các đồng vị triti, tức là ^3H , và cacbon-14, tức là, ^{14}C , được đặc biệt ưu tiên vì chúng dễ điều chế và phát hiện. Các đồng vị ^{11}C và ^{18}F đặc biệt hữu dụng trong phương pháp chụp xạ hình cắt lớp positron (positron emission tomography- PET). PET hữu dụng để chụp ảnh não. Hơn nữa, phép thế bằng các đồng vị nặng hơn như đơteri, tức là ^2H , có thể tạo ra các ưu điểm trị liệu nhất định nhờ độ ổn định chuyển hóa cao hơn, ví dụ thời gian bán hủy *in vivo* tăng hoặc yêu cầu về liều lượng giảm và, do đó, có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. Các hợp chất được đánh dấu bằng đồng vị theo sáng chế thường có thể được điều chế bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này, như bằng cách tiến hành các quy trình được mô tả trong các Sơ đồ và/hoặc trong các Ví dụ dưới đây, bằng cách thế các chất phản ứng được đánh dấu bằng đồng vị đã có cho chất phản ứng không được đánh dấu bằng đồng vị. Theo một phương án, các hợp chất theo sáng chế, muối, hydrat, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin của chúng không được đánh dấu bằng đồng vị.

Khi có gốc biến đổi bất kỳ (ví dụ, R^x) xuất hiện trên một lần trong cấu tạo hoặc công thức bất kỳ của hợp chất, định nghĩa của nó mỗi lần xuất hiện độc lập với định nghĩa ở mọi lần xuất hiện khác. Do đó, ví dụ, nếu một nhóm thể hiện là cần được thế bằng một hoặc nhiều gốc R^x , thì R^x ở mỗi lần xuất hiện được chọn một cách độc lập từ định nghĩa về R^x . Tương tự, tổ hợp của các phân tử thế và/hoặc gốc biến đổi là được phép, nhưng chỉ nếu tổ hợp này tạo ra các hợp chất bền với hóa trị bình thường của nguyên tử đã định.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "điều trị", "việc điều trị" hoặc "phép điều trị" nghĩa là làm giảm các triệu chứng, dấu hiệu, và/hoặc tác động tiêu cực bất kỳ của tình trạng bệnh lý với mức độ đáng kể bất kỳ ở đối tượng hiện đang mắc tình trạng bệnh lý này. Theo một số phương án, việc điều trị có thể được tiến hành cho đối tượng chỉ thể hiện các dấu hiệu sớm của tình trạng bệnh lý với mục đích làm giảm nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh lý.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "ngăn ngừa", "sự ngăn ngừa" hoặc "việc ngăn ngừa" chỉ phương pháp bất kỳ để ngăn ngừa một phần hoặc hoàn toàn hoặc làm chậm sự khởi phát của một hoặc nhiều triệu chứng hoặc đặc tính của bệnh, rồi

loạn, và/hoặc tình trạng bệnh lý. Việc ngăn ngừa có thể được tiến hành cho đối tượng không thể hiện dấu hiệu của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý.

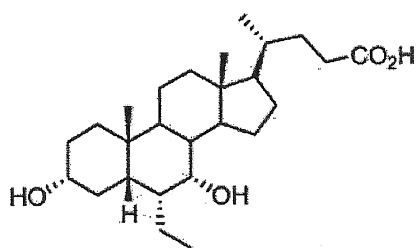
Như được sử dụng trong bản mô tả, "đối tượng" có nghĩa là người hoặc động vật (trong trường hợp động vật, phổ biến hơn là động vật có vú). Theo một khía cạnh, đối tượng là người. Đối tượng này có thể được xem là cần điều trị bằng chất chủ vận FXR.

Như được sử dụng trong bản mô tả, "không no" chỉ các hợp chất hoặc cấu trúc có ít nhất một bậc không no (ví dụ, ít nhất một liên kết đôi hoặc liên kết ba).

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "hợp chất theo sáng chế" bao gồm hợp chất có công thức bất kỳ I, II, III, hoặc IV, hoặc hợp chất bất kỳ rõ ràng được bộc lộ trong bản mô tả.

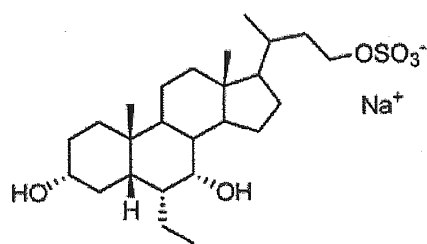
Như được sử dụng trong bản mô tả, thụ thể farnesoid X hoặc FXR chỉ tất cả các dạng thụ thể này ở động vật có vú bao gồm, ví dụ, các đồng đẳng cắt nối luân phiên và các đồng đẳng có trong tự nhiên (xem, ví dụ, Huber *et al.*, Gene 290:35-43 (2002)). Các loại FXR đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở FXR chuột cống (Số truy cập Gen Bank NM 021745), FXR chuột nhắt (Số truy cập Genbank NM 009108), và FXR người (Số truy cập Genbank NM 005123).

Như được sử dụng trong bản mô tả, Hợp chất A là



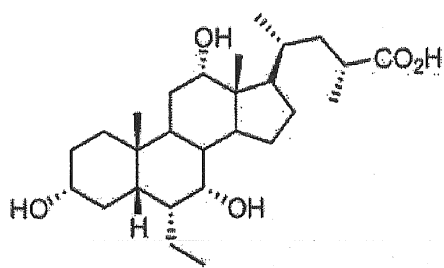
, mà còn được biết đến là axit obeticholic, INT-747, 6ECDCA, axit 6- α -etyl chenodeoxycholic, hoặc axit 6 α -etyl-3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oic.

Như được sử dụng trong bản mô tả, Hợp chất B là



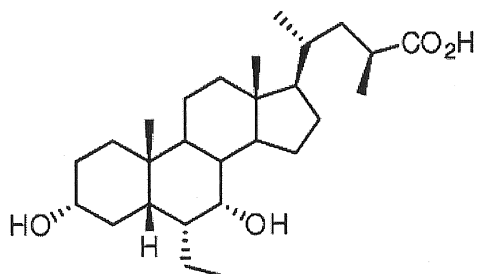
, mà còn được biết đến là INT-767 hoặc muối 6 α -etyl-3 α ,7 α ,23-trihydroxy-24-nor-5 β -cholan-23-sulfat natri.

Như được sử dụng trong bản mô tả, Hợp chất C là



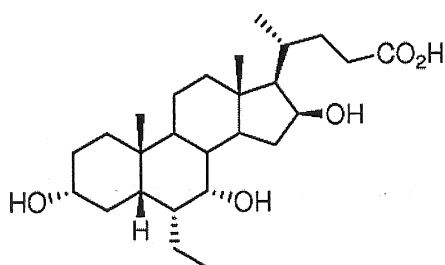
, mà còn được biết đến là INT-777 hoặc axit 6 α -etyl-23(S)-metyl-3 α ,7 α ,12 α trihydroxy-5 β -cholan-24-oic.

Như được sử dụng trong bản mô tả, Hợp chất D là

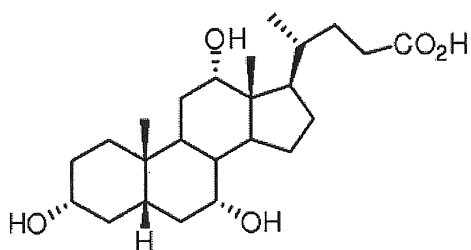


, mà còn được biết đến là axit 6 α -etyl-23(R)-metylchenodeoxycholic, và S-EMCDCA.

Như được sử dụng trong bản mô tả, Hợp chất E là

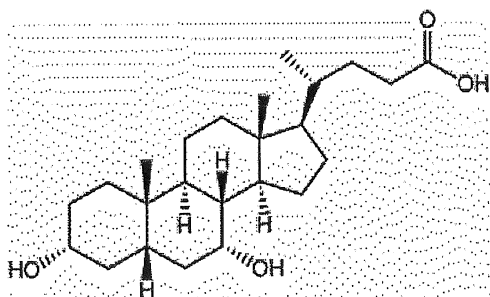


Như được sử dụng trong bản mô tả, axit cholic là



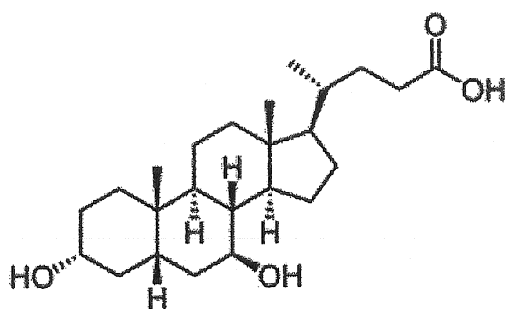
, mà còn được biết đến là CA

Như được sử dụng trong bản mô tả, axit chenodeoxycholic là



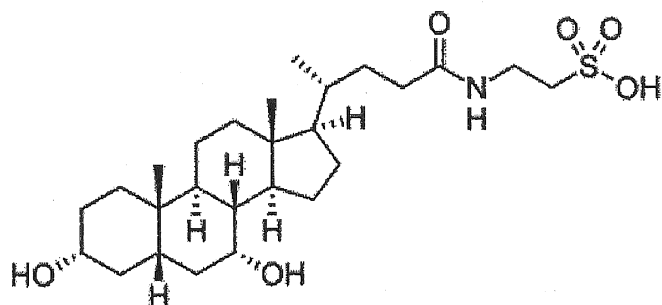
, mà còn được biết đến là CDCA.

Như được sử dụng trong bản mô tả, axit ursodeoxycholic là



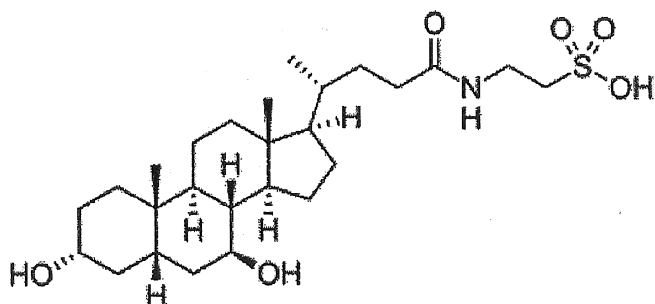
, mà còn được biết đến là UDCA.

Như được sử dụng trong bản mô tả axit taurochenodeoxycholic là



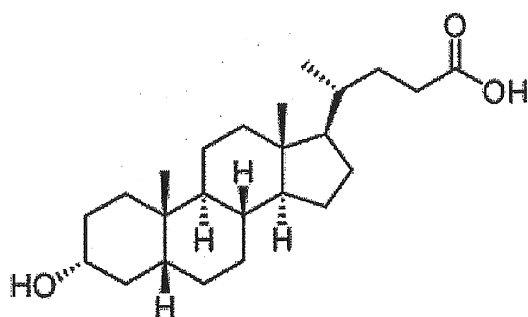
, mà còn được biết đến là TCDCA.

Như được sử dụng trong bản mô tả, axit tauroursodeoxycholic là



, mà còn được biết đến là TUDCA.

Như được sử dụng trong bản mô tả, axit lithocholic là



, mà còn được biết đến là LCA.

Các phương pháp theo sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế hữu dụng để điều trị cho các đối tượng như động vật có vú, bao gồm người. Cụ thể, các hợp chất theo sáng chế hữu dụng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý ở đối tượng bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, bệnh hoặc tình

trạng bệnh lý là qua trung gian FXR (ví dụ, FXR đóng vai trò trong sự khởi đầu hoặc tiến triển bệnh hoặc tình trạng bệnh lý). Theo một khía cạnh, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý là qua trung gian hoạt tính FXR giảm. Theo một khía cạnh, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được chọn từ bệnh tim mạch, bệnh gan mạn tính, rối loạn lipid, bệnh dạ dày ruột, bệnh thận, bệnh chuyển hóa, bệnh ung thư, và bệnh thần kinh.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh tim mạch ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh tim mạch. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh tim mạch. Theo một khía cạnh, bệnh tim mạch được chọn từ bệnh xơ vữa động mạch, bệnh xơ cứng động mạch, bệnh rối loạn mỡ máu, bệnh tăng cholesterol máu, bệnh tăng mỡ máu, bệnh tăng lipoprotein máu, và bệnh tăng triglycerit máu.

Thuật ngữ "bệnh tăng mỡ máu" chỉ sự có mặt của mức lipid cao bất thường trong máu. Bệnh tăng mỡ máu có thể có ít nhất ba dạng: (1) tăng cholesterol máu, tức là mức cholesterol tăng; (2) bệnh tăng triglycerit máu, tức là mức triglycerit tăng; và (3) bệnh tăng mỡ máu hỗn hợp, tức là hỗn hợp của bệnh tăng cholesterol máu và bệnh tăng triglycerit máu.

Thuật ngữ "bệnh rối loạn mỡ máu" chỉ mức lipoprotein bất thường trong huyết tương bao gồm cả mức lipoprotein tăng và/hoặc giảm (ví dụ, mức LDL, VLDL tăng và mức HDL giảm).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp được chọn từ giảm mức cholesterol hoặc điều chỉnh sự chuyển hóa, dị hóa cholesterol, sự hấp thu cholesterol từ chế độ ăn, và vận chuyển cholesterol ngược ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng chỉnh sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh mà ảnh hưởng đến mức cholesterol, triglycerit, hoặc axit mật ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp làm giảm mức triglycerit ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng

chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh lý có liên quan đến mức cholesterol tăng ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý có liên quan đến mức cholesterol tăng ở đối tượng. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa tình trạng bệnh lý có liên quan đến mức cholesterol tăng ở đối tượng. Theo một khía cạnh, tình trạng bệnh lý được chọn từ bệnh động mạch vành, cơn đau thắt ngực, bệnh động mạch cảnh, đột quy, bệnh xơ cứng động mạch não, và bệnh u vàng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn lipid ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị rối loạn lipid. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa rối loạn lipid.

Rối loạn lipid là thuật ngữ chỉ các bất thường về cholesterol và triglycerit. Các bất thường về lipid có liên quan đến nguy cơ bệnh về mạch tăng, và đặc biệt là đau tim và đột quy. Các bất thường trong rối loạn lipid là kết hợp của tổ bẩm di truyền cũng như bản chất của sự hấp thu chế độ dinh dưỡng. Nhiều rối loạn lipid có liên quan đến tình trạng thừa cân. Các rối loạn lipid cũng có thể có liên quan đến các bệnh khác bao gồm bệnh tiểu đường, hội chứng chuyển hóa (đôi khi gọi là hội chứng kháng insulin), tuyến giáp hoạt động dưới mức bình thường hoặc do các dược phẩm nhất định (như các dược phẩm được sử dụng trong chế độ chống thải loại ở người có mảnh ghép).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh ảnh hưởng đến chuyển hóa lipid (tức là loạn dưỡng lipid) ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh ảnh hưởng đến chuyển hóa lipid. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh ảnh hưởng đến chuyển hóa lipid.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp giảm tích tụ lipid ở đối

tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh gan mạn tính ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh gan mạn tính. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh gan mạn tính. Theo một khía cạnh, bệnh gan mạn tính được chọn từ bệnh xơ gan mật nguyên phát (primary biliary cirrhosis - PBC), bệnh u vàng gân não (cerebrotendinous xanthomatosis - CTX), viêm xơ chai đường mật nguyên phát (primary sclerosing cholangitis - PSC), chứng ứ mật do thuốc, chứng ứ mật trong gan thai kỳ, chứng ứ mật có liên quan đến nuôi ăn ngoài đường tiêu hóa (parenteral nutrition associated cholestasis - PNAC), chứng ứ mật liên quan đến vi khuẩn sinh trưởng quá mức hoặc nhiễm trùng, viêm gan tự miễn, viêm gan virus mạn tính, bệnh gan do rượu, bệnh gan nhiễm mỡ không liên quan đến rượu (nonalcoholic fatty liver disease - NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (nonalcoholic steatohepatitis - NASH), bệnh ghép chống chủ liên quan đến ghép gan, tái tạo gan cấy ghép từ người cho sống, bệnh xơ gan bẩm sinh, sỏi ống mật chủ, bệnh u hạt ở gan, u ác tính trong hoặc ngoài gan, hội chứng Sjogren, bệnh Sarcoidosis, bệnh Wilson, bệnh Gaucher, nhiễm sắc tố sắt mô, và thiếu hụt alpha 1-antitrypsin.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa một hoặc nhiều triệu chứng ứ mật, bao gồm các biến chứng của chứng ứ mật ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị một hoặc nhiều triệu chứng ứ mật. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến ngăn ngừa một hoặc nhiều triệu chứng ứ mật.

Chứng ứ mật thường do các yếu tố trong gan (trong gan) hoặc ngoài gan (ngoài gan) gây ra và dẫn đến sự tích tụ các muối mật, bilirubin sắc tố mật, và các lipit trong dòng máu thay vì được bài tiết như bình thường. Chứng ứ mật trong gan đặc trưng bởi sự bao vây rộng các ống mật nhỏ hoặc bởi các rối loạn, như viêm gan, làm suy yếu khả năng bài tiết mật của cơ thể. Chứng ứ mật trong gan cũng có thể do bệnh gan do rượu,

bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh ung thư lan rộng (di căn) từ một phần khác của cơ thể, viêm xơ chai đường mật nguyên phát, sỏi mật, cơn đau quặn mật và viêm túi mật cấp. Chứng ứ mật cũng có thể xảy ra như một biến chứng của phẫu thuật, chấn thương nghiêm trọng, bệnh xơ nang, nhiễm trùng, hoặc nuôi ăn tĩnh mạch hoặc do thuốc. Chứng ứ mật cũng có thể xảy ra như một biến chứng của thai kỳ và thường phát triển trong tam cá nguyệt thứ hai và thứ ba.

Chứng ứ mật ngoài gan hầu hết thường do sỏi ống mật chủ (Sỏi Ống Mật), chít hẹp đường mật lành tính (làm hẹp ống chung không liên quan đến ung thư), ung thư đường mật (cacinoma ống) và cacinom tuyến tụy gây ra. Chứng ứ mật ngoài gan có thể xảy ra như một tác dụng phụ của nhiều loại thuốc.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa một hoặc nhiều triệu chứng của chứng ứ mật trong gan hoặc ngoài gan, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, teo đường mật, ứ mật thai kỳ, ứ mật sơ sinh, ứ mật do thuốc, ứ mật phát sinh từ nhiễm Viêm gan C, bệnh gan ứ mật mạn tính như bệnh xơ gan mật nguyên phát (PBC), và viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp tăng cường sự tái tạo gan ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, phương pháp này tăng cường sự tái tạo gan để ghép gan.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa chứng xơ hóa ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị chứng xơ hóa. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa chứng xơ hóa.

Theo đó, như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ chứng xơ hóa chỉ tất cả các rối loạn xơ hóa được thừa nhận, bao gồm chứng xơ hóa do các tình trạng bệnh lý hoặc bệnh, xơ hóa do thương tổn vật lý ("xơ hóa do chấn thương"), xơ hóa do tổn thương phóng xạ, và xơ hóa do phơi nhiễm với hóa liệu pháp. Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "xơ hóa cơ quan" bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở xơ hóa gan, xơ hóa thận, xơ hóa phổi, và xơ hóa ruột. "Xơ hóa do chấn thương" bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở xơ hóa sau phẫu thuật (sẹo phẫu thuật), chấn thương vật lý do tai nạn, bỏng, và sẹo phì đại.

Như được sử dụng trong bản mô tả, "xơ hóa gan" bao gồm xơ hóa gan do nguyên nhân bất kỳ, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở xơ hóa gan do virus như do virus viêm gan B hoặc C; phơi nhiễm với rượu (bệnh gan do rượu), các dược chất nhất định bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở methotrexat, một số tác nhân hóa liệu pháp, và sử dụng các hợp chất chứa arsen kéo dài hoặc vitamin A với lượng lớn, mất cân bằng oxy hóa, liệu pháp xạ trị ung thư hoặc các hóa chất công nghiệp nhất định bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở cacbon tetrachlorua và dimethylnitrosamin; và các bệnh như bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát, bệnh gan nhiễm mỡ, bệnh béo phì, bệnh viêm gan nhiễm mỡ không liên quan đến rượu, bệnh xơ nang, bệnh nhiễm sắc tố sắt mô, bệnh viêm gan tự miễn, và bệnh viêm gan nhiễm mỡ. Các liệu pháp hiện có để điều trị chứng xơ hóa gan chủ yếu được hướng đến việc loại trừ tác nhân gây bệnh, ví dụ, loại trừ sắt dư thừa (ví dụ, trong trường hợp bệnh nhiễm sắc tố sắt mô), làm giảm tải lượng virus (ví dụ, trong trường hợp bệnh viêm gan virus mạn tính), hoặc loại trừ hoặc làm giảm sự phơi nhiễm với độc tố (ví dụ, trong trường hợp bệnh gan do rượu). Các thuốc chống viêm corticosteroid và colchicin cũng được biết để sử dụng trong điều trị viêm mà có thể dẫn đến xơ gan.

Như đã biết trong lĩnh vực này, bệnh xơ gan có thể được phân loại lâm sàng thành năm giai đoạn nghiêm trọng (S0, S1, S2, S3, và S4), thường dựa trên việc kiểm tra mô học mẫu sinh thiết. S0 là không xơ hóa, trong khi đó S4 chỉ bệnh xơ gan. Trong khi có nhiều tiêu chuẩn khác nhau để phân chia giai đoạn nghiêm trọng của bệnh xơ gan, nói chung các giai đoạn sớm của xơ hóa được nhận dạng bởi các vùng tạo sẹo rời rạc, cục bộ trong một khu (khu vực) của gan, trong khi đó các giai đoạn muộn của xơ hóa được nhận dạng bởi sự xơ hóa bắc cầu (sẹo lan giữa các khu vực của gan).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh xơ hóa cơ quan ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat dược dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, bệnh xơ hóa là xơ hóa gan.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh dạ dày ruột ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat dược dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh dạ dày ruột. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh dạ dày

ruột. Theo một khía cạnh, bệnh dạ dày ruột được chọn từ bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease - IBD), hội chứng ruột bị kích thích (irritable bowel syndrome - IBS), vi khuẩn sinh trưởng quá mức, kém hấp thu, viêm đại tràng sau chiếu xạ, và viêm đại tràng vi mô. Theo một khía cạnh, bệnh viêm ruột được chọn từ bệnh Crohn và bệnh viêm loét đại tràng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh thận ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh thận. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh thận. Theo một khía cạnh, bệnh thận được chọn từ bệnh thận tiểu đường, xơ chai cầu thận khu trú từng vùng (focal segmental glomerulosclerosis - FSGS), xơ cứng mạch thận do cao huyết áp, viêm cầu thận mạn tính, bệnh cầu thận cấy ghép mạn tính, bệnh viêm kẽ thận mạn tính, và bệnh thận đa nang.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh chuyển hóa ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh thận. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh thận. Theo một khía cạnh, bệnh chuyển hóa được chọn từ chứng kháng insulin, tăng đường huyết, bệnh đái tháo đường, bệnh tiểu đường béo phì, và bệnh béo phì. Theo một khía cạnh, bệnh đái tháo đường là bệnh tiểu đường typ I. Theo một khía cạnh, bệnh đái tháo đường là bệnh tiểu đường typ II.

Bệnh đái tháo đường, thường gọi là bệnh tiểu đường, là bệnh hoặc tình trạng bệnh lý thường đặc trưng bởi các thiếu hụt chuyển hóa trong sản xuất và sử dụng glucoza dẫn đến không duy trì được lượng đường máu thích hợp trong cơ thể.

Trong trường hợp bệnh tiểu đường typ II, bệnh này đặc trưng bởi sự kháng insulin, trong đó insulin mất khả năng thể hiện tác dụng sinh học của nó trong khoảng nồng độ rộng. Sự kháng đáp ứng insulin này dẫn đến sự hoạt hóa insulin không đầy đủ trong hấp thu glucoza, oxy hóa và dự trữ trong cơ và sự kìm hãm thủy phân lipit bằng insulin không đầy đủ trong mô mỡ và sản xuất glucoza và tiết ra trong gan. Tình trạng bệnh lý này do đó là mức glucoza huyết tăng, gọi là "tăng đường huyết". Tăng đường

huyết không kiểm soát có liên quan đến tỷ lệ tử vong tăng và tử vong sớm do tăng nguy cơ mắc bệnh vi mạch và bệnh mạch máu lớn, bao gồm bệnh vớng mạc (suy giảm hoặc mất thị lực do thương tổn mạch máu trong mắt); bệnh thần kinh (thương tổn thần kinh và các vấn đề ở chân do thương tổn mạch máu ở hệ thần kinh); và bệnh thận (bệnh thận do thương tổn mạch máu ở thận), bệnh cao huyết áp, bệnh mạch não và bệnh tim mạch vành. Do đó, việc kiểm soát sự cân bằng nội môi của glucoza là cách tiếp cận vô cùng quan trọng để điều trị bệnh tiểu đường.

Sự kháng insulin đã được cho là thống nhất nhóm bệnh cao huyết áp, không dung nạp glucoza, tăng insulin huyết, tăng mức triglyxerit và giảm HDL cholesterol, và bệnh béo phì kiểu trung tâm và béo phì toàn thể. Mối liên hệ giữa sự kháng insulin với sự không dung nạp glucoza, tăng mức triglyxerit trong huyết tương và giảm nồng độ cholesterol lipoprotein tỷ trọng cao, cao huyết áp, tăng axit uric máu, các hạt lipoprotein tỷ trọng thấp nhỏ hơn dày đặc hơn, và mức tuần hoàn chất ức chế yếu tố hoạt hóa plasminogen 1 cao hơn, được gọi là "Hội chứng X". Theo đó, các phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn bất kỳ liên quan đến sự kháng insulin bao gồm nhóm các tình trạng bệnh, tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn tạo thành "Hội chứng X" được đề xuất. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa hội chứng chuyển hóa ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hội chứng chuyển hóa. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hội chứng chuyển hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh ung thư. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh ung thư. Theo một khía cạnh, bệnh ung thư là bệnh ung thư kết trực tràng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sỏi mật ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị sỏi mật. Theo một

khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa sỏi mật.

Sỏi mật là khối kết dạng tinh thể được tạo ra giữa túi mật do sự bồi đắp dần của các thành phần mật. Những viên sỏi được tạo ra trong túi mật nhưng có thể đi xa vào trong các bộ phận khác của ống mật như ống dẫn mật, ống mật chủ, ống tụy, hoặc bóng Vater. Hiếm khi, trong trường hợp viêm nghiêm trọng, sỏi mật có thể ăn mòn qua túi mật vào ruột liền kề nhiều khả năng gây ra tắc gọi là tắc ruột do sỏi mật. Sự có mặt của sỏi mật trong túi mật có thể dẫn đến viêm túi mật cấp, tình trạng viêm này đặc trưng bởi sự ứ đọng mật trong túi mật và thường là nhiễm thứ cấp vi sinh vật đường ruột, chủ yếu là *Escherichia coli* và loài *Bacteroides*. Sự có mặt của sỏi mật trong các bộ phận khác của ống mật có thể gây ra tắc ống mật, mà có thể dẫn đến các tình trạng nghiêm trọng như viêm đường mật hướng thượng hoặc viêm tụy.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh sỏi mật cholesterol ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh sỏi mật cholesterol. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh sỏi mật cholesterol.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh thần kinh ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó khi cần. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh thần kinh. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa bệnh thần kinh. Theo một khía cạnh, bệnh thần kinh là đột quy.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp được mô tả trong bản mô tả và hơn thế nữa trong đó, hợp chất được sử dụng theo đường được chọn từ đường uống, ngoài đường tiêu hóa, trong bắp, trong mũi, dưới lưỡi, trong khí quản, đường hít, đường mắt, đường âm đạo, đường trực tràng, và trong não thất. Theo một khía cạnh, đường dùng là đường uống.

Theo một khía cạnh, hợp chất được sử dụng trong một hoặc nhiều phương pháp được mô tả trong bản mô tả là chất chủ vận FXR. Theo một khía cạnh, hợp chất này là chất chủ vận FXR chọn lọc. Theo một khía cạnh, hợp chất này không hoạt hóa TGR5. Theo một khía cạnh, hợp chất này không hoạt hóa các thụ thể nhân khác có liên quan

đến các con đường chuyển hóa (ví dụ, như được xác định bằng thử nghiệm AlphaScreen). Theo một khía cạnh, các thụ thể nhân khác có liên quan đến các con đường chuyển hóa được chọn từ LXR β , PXR, CAR, PPAR α , PPAR δ , RAR α , VDR, TR, PR, RXR, GR, và ER. Theo một khía cạnh, hợp chất này cảm ứng sự chết tế bào theo chương trình.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều hòa mức biểu hiện một hoặc nhiều gen có liên quan đến cân bằng nội môi của axit mật.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều hòa giảm mức biểu hiện một hoặc nhiều gen được chọn từ CYP7 α 1 và SREBP-1C trong tế bào bằng cách đưa hợp chất theo sáng chế vào tế bào. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều hòa tăng mức biểu hiện một hoặc nhiều gen được chọn từ OST α , OST β , BSEP, SHP, UGT2B4, MRP2, FGF-19, PPAR γ , PLTP, APOCII, và PEPCK trong tế bào bằng cách đưa hợp chất theo sáng chế vào tế bào.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sản xuất thuốc để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý (ví dụ, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR), trong đó thuốc chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến việc sản xuất thuốc để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ trong số các bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được mô tả trên đây, trong đó thuốc này chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm để sử dụng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý (ví dụ, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR), trong đó chế phẩm này chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến chế phẩm để sử dụng trong phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ trong số các bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được mô tả trên đây, trong đó chế phẩm này chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối, solvat được dụng, hoặc thể liên hợp axit amin của nó.

Các dạng bào chế

Phương pháp theo sáng chế bao gồm bước cho sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế. Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "lượng hữu hiệu" chỉ lượng hợp chất theo sáng chế đủ để đạt được hiệu quả đã đặt ra.

Theo đó, lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế được sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR sẽ là lượng đủ để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR.

Tương tự, lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh gan ứ mật hoặc tăng dòng mật sẽ là lượng đủ để làm tăng dòng mật đến ruột.

Lượng hợp chất theo sáng chế cần để đạt được tác dụng sinh học mong muốn sẽ phụ thuộc vào một số yếu tố như việc sử dụng được dự định, cách sử dụng, và người sử dụng, và sẽ cơ bản là do sự suy xét của bác sĩ hoặc bác sĩ thú y đang điều trị. Nói chung, liều hằng ngày thông thường để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR, chẳng hạn, có thể được dự đoán là nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến khoảng 100 mg/kg. Liều này có thể được dùng dưới dạng liều đơn hoặc dưới dạng một số liều đơn vị riêng rẽ hoặc dưới dạng truyền liên tục. Liều lượng tương tự có thể được áp dụng để điều trị các bệnh, tình trạng bệnh lý khác và các liệu pháp bao gồm ngăn ngừa và điều trị các bệnh gan ứ mật.

Do đó, theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế làm thành phần hoạt tính cùng với, và/hoặc trong hỗn hợp với ít nhất một chất mang hoặc chất pha loãng được dụng. Các dược phẩm này có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh hoặc tình trạng bệnh lý nêu trên.

Chất mang phải được dụng và phải tương thích với, tức là không có tác dụng có hại lên, các thành phần khác trong dược phẩm. Chất mang có thể là rắn hoặc lỏng và tốt hơn nếu được bào chế dưới dạng bào chế liều đơn vị, ví dụ, viên nén có thể chứa từ 0,05 đến 95% trọng lượng thành phần hoạt tính. Nếu muốn, các thành phần có hoạt tính sinh lý khác cũng có thể được kết hợp trong các dược phẩm theo sáng chế.

Các dạng bào chế có thể có bao gồm các dạng thích hợp để sử dụng qua đường uống, dưới lưỡi, trong má, ngoài đường tiêu hóa (ví dụ dưới da, trong bắp, hoặc trong tĩnh mạch), đường trực tràng, dùng khu trú bao gồm qua da, trong mũi và đường hít. Phương tiện sử dụng thích hợp nhất đối với bệnh nhân cụ thể sẽ tùy thuộc vào bản chất và mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được điều trị hoặc bản chất của liệu pháp được sử dụng và vào bản chất của hoạt chất, nhưng nếu có thể, việc sử dụng qua đường uống được ưu tiên để ngăn ngừa và điều trị các bệnh và tình trạng

bệnh lý qua trung gian FXR. Các dạng bào chế thích hợp để sử dụng đường uống có thể được cung cấp dưới dạng đơn vị riêng rẽ, như viên nén, viên nang, viên nhộng, viên ngậm dẹt, mỗi đơn vị chứa lượng hoạt chất định trước; dưới dạng bột hoặc hạt mịn; dưới dạng dung dịch hoặc hỗn dịch trong nước hoặc các chất lỏng không phải nước; hoặc dưới dạng nhũ dịch dầu trong nước hoặc nước trong dầu.

Các dạng bào chế thích hợp để dùng dưới lưỡi hoặc trong má bao gồm viên ngậm dẹt chứa hoạt chất và, thường là thành phần nền tạo hương vị, như đường và acaxia hoặc tragacan và viên ngậm chứa hoạt chất trong thành phần nền trơ, như gelatin và glyxerin hoặc sacaroza acaxia.

Các dạng bào chế thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa thường chứa các dung dịch nước vô trùng chứa nồng độ hoạt chất định trước; dung dịch này tốt hơn là đẳng trương với máu của người sử dụng được dự định.

Các dạng bào chế khác thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm các dạng bào chế chứa các đồng dung môi thích hợp về mặt sinh lý và/hoặc tác nhân tạo phức như các chất hoạt động bề mặt và xyclodextrin. Các nhũ dịch dầu trong nước cũng là các dạng bào chế thích hợp để sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Mặc dù các dung dịch như vậy tốt hơn nếu được dùng trong tĩnh mạch, chúng cũng có thể được sử dụng tiêm dưới da hoặc trong bắp.

Các dạng bào chế thích hợp để dùng đường trực tràng tốt hơn nếu được cung cấp dưới dạng thuốc đạn liều đơn vị chứa thành phần hoạt tính trong một hoặc nhiều chất mang rắn tạo thành nền của thuốc đạn, ví dụ, bơ ca cao.

Các dạng bào chế thích hợp để dùng khu trú hoặc trong mũi bao gồm thuốc mỡ, kem, thuốc nước, hồ, gel, sương mù, sol khí và dầu. Các chất mang thích hợp cho các dạng bào chế như vậy bao gồm thạch dầu mỏ, lanolin, polyetyleneglycol, rượu, và hỗn hợp của chúng.

Các dạng bào chế theo sáng chế có thể được bào chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ, thường bằng cách trộn đều và kỹ hoạt chất với các chất lỏng hoặc chất mang rắn được nghiền mịn hoặc cả hai, theo tỷ lệ yêu cầu và sau đó, nếu cần, tạo hình hỗn hợp thu được thành hình dạng mong muốn.

Ví dụ, viên nén có thể được điều chế bằng cách nén hỗn hợp liên quan chứa bột hoặc hạt mịn thành phần hoạt tính và một hoặc nhiều thành phần tùy ý, như chất kết dính, chất làm trơn, chất pha loãng trơ, hoặc chất phân tán hoạt động bề mặt, hoặc

bằng cách đổ khuôn hỗn hợp liên quan chứa thành phần hoạt tính được nghiền bột và chất pha loãng lỏng tro.

Các dạng bào chế thích hợp để dùng bằng cách hít bao gồm hạt bụi hoặc sương mù mà có thể được tạo ra bằng nhiều loại sol khí có áp suất định mức, máy khí dung, hoặc máy thổi thuốc.

Để sử dụng đường phổi qua miệng, cỡ hạt bột hoặc giọt thường nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 μm , tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 5 μm , để đảm bảo phân phối vào cây phế quản. Để sử dụng đường mũi, cỡ hạt nằm trong khoảng từ 10 đến 500 μm được ưu tiên để đảm bảo sự lưu lại trong khoang mũi.

Các dụng cụ hít liều định mức là các dụng cụ phân tán sol khí có áp, thường chứa hỗn dịch hoặc dung dịch thành phần hoạt tính trong chất đẩy được hóa lỏng. Trong khi sử dụng, các dụng cụ này đẩy dạng bào chế qua van được chế tạo thích hợp để phân phối thể tích được định mức, thường nằm trong khoảng từ 10 đến 150 μl , để tạo ra dòng phun các hạt mịn chứa thành phần hoạt tính. Các chất đẩy thích hợp bao gồm các hợp chất cloflocacbon nhất định, ví dụ, diclodi-flometan, tricloflometan, diclotetraflometan và hỗn hợp của chúng. Dạng bào chế có thể chứa thêm một hoặc nhiều đồng dung môi, ví dụ, các chất hoạt động bề mặt etanol, như axit oleic hoặc sorbitan trioleat, các chất chống oxy hóa và các chất tạo hương vị thích hợp.

Máy khí dung là các dụng cụ có bán trên thị trường mà chuyển hóa dung dịch hoặc hỗn dịch chứa thành phần hoạt tính thành sương mù sol khí bằng cách tăng tốc khí nén thường là không khí hoặc oxy, qua đầu phun venturi hẹp, hoặc bằng cách khuấy trộn bằng siêu âm. Các dạng bào chế thích hợp để sử dụng trong máy khí dung bao gồm thành phần hoạt tính trong chất mang lỏng và bao gồm không quá 40% trọng lượng/trọng lượng của dạng bào chế, tốt hơn là không quá 20% trọng lượng/trọng lượng. Chất mang thường là nước hoặc dung dịch rượu trong nước loãng, tốt hơn là được làm đẳng trương với các dịch thể bằng cách bổ sung, ví dụ, natri clorua. Các chất phụ gia tùy ý bao gồm chất bảo quản nếu dạng bào chế không được bào chế vô trùng, ví dụ, metyl hydroxy-benzoat, các chất chống oxy hóa, các chất tạo hương vị, các dầu bay hơi, các chất đệm và các chất hoạt động bề mặt.

Các dạng bào chế thích hợp để sử dụng bằng cách thổi thuốc bao gồm bột nghiền mịn mà có thể được phân phối bằng máy thổi thuốc hoặc đưa vào khoang mũi bằng cách hít. Trong máy thổi thuốc, bột được chứa trong các nang hoặc ống, thường được

tạo ra bằng gelatin hoặc chất dẻo, mà được đục thủng hoặc mở tại chỗ và bột được phân phối bằng không khí được hút qua dụng cụ khi hít hoặc bằng bơm được vận hành thủ công. Bột được sử dụng trong máy thổi thuốc chỉ bao gồm thành phần hoạt tính hoặc hỗn hợp bột chứa thành phần hoạt tính, chất pha loãng bột thích hợp, như lactoza, và chất hoạt động bề mặt tùy ý. Thành phần hoạt tính thường chiếm từ 0,1 đến 100 trọng lượng/trọng lượng của dạng bào chế.

Ngoài các thành phần được đề cập cụ thể trên đây, các dạng bào chế theo sáng chế có thể bao gồm các chất khác đã được các Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật được biết đến, có tính đến loại dạng bào chế được quan tâm. Ví dụ, các dạng bào chế thích hợp để sử dụng đường uống có thể bao gồm các tác nhân tạo hương vị và các dạng bào chế thích hợp để sử dụng trong mũi có thể bao gồm các chất thơm.

Các ví dụ sau là để minh họa và không được hiểu theo cách bất kỳ là giới hạn phạm vi của sáng chế.

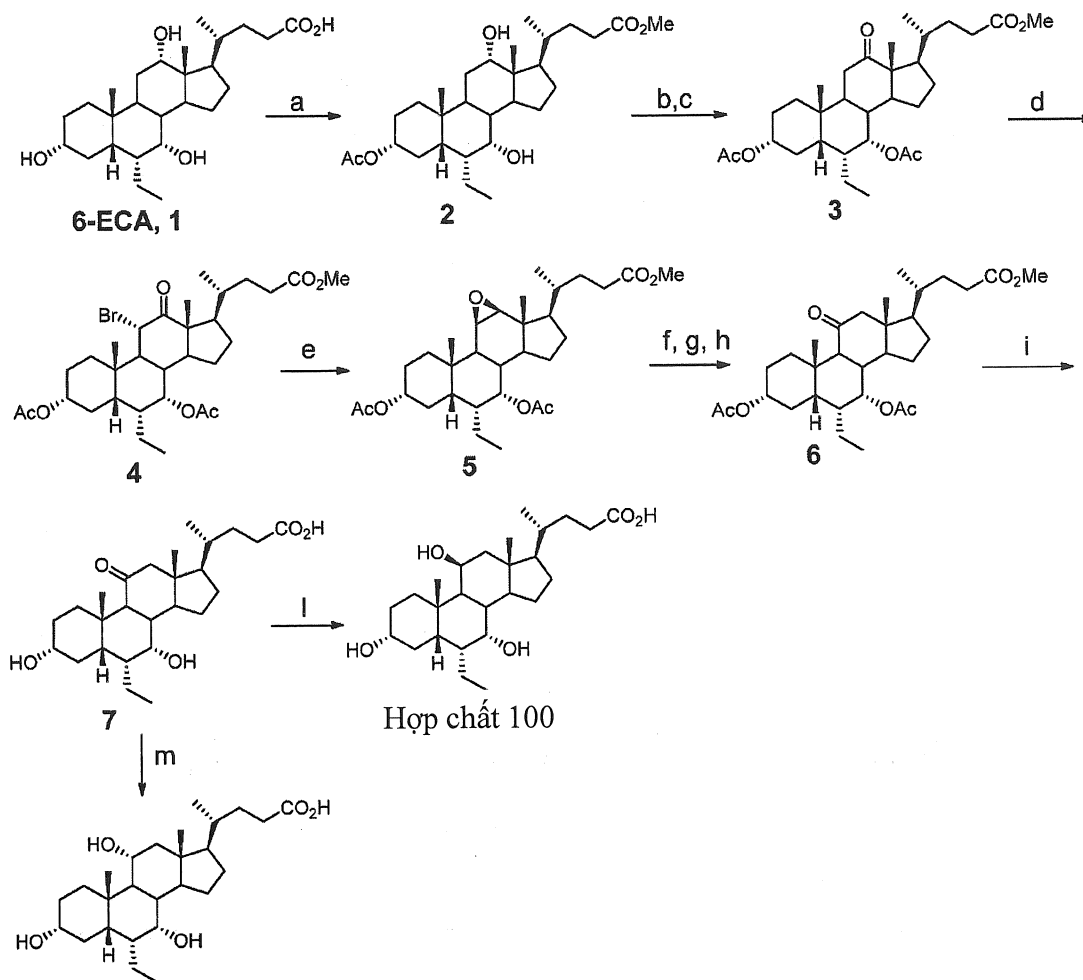
Ví dụ thực hiện sáng chế

Nói chung, tiềm năng làm thuốc của hợp chất theo sáng chế có thể được kiểm tra bằng cách sử dụng nhiều thử nghiệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, để xác nhận tính hợp lệ *in vitro* đối với FXR: hoạt tính và tính chọn lọc của nó có thể được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm AlphaScreen (thử nghiệm hóa sinh); sự biểu hiện gen có thể được đánh giá bằng cách sử dụng kỹ thuật RT-PCR (gen đích FXR); và độc tính (ví dụ, HepG2) có thể được đánh giá bằng cách sử dụng hàm lượng ATP, mức giải phóng LDH, và sự hoạt hóa Caspaza-3. Để xác nhận tính hợp lệ *in vitro* đối với TGR5: hoạt tính và tính chọn lọc của nó có thể được đánh giá bằng cách sử dụng HTR-FRET (thử nghiệm dựa trên tế bào); sự biểu hiện gen có thể được đánh giá bằng cách sử dụng kỹ thuật RT-PCR (gen đích TGR5 (tức là cFOS)); và độc tính (ví dụ, HepG2) có thể được đánh giá bằng cách sử dụng hàm lượng ATP, mức giải phóng LDH, và sự hoạt hóa Caspaza-3. Các đặc tính ADME (hấp thu, phân phối, chuyển hóa, và bài tiết) / đặc tính dược động học và hiệu lực *in vivo* của hợp chất theo sáng chế cũng có thể được nghiên cứu bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Ví dụ 1: Tổng hợp các hợp chất 100 và 101

Các hợp chất 100 và 101 được tổng hợp theo sơ đồ dưới đây.

Sơ đồ 1



Hợp chất 101

Chất phản ứng và điều kiện: a) 1) MeOH, *p*-TSA, siêu âm, 3 giờ, định lượng; 2) Ac₂O, NaHCO₃, THF, hồi lưu 12 giờ, 85%; b) PCC, CH₂Cl₂, 6 giờ, 62%; c) Ac₂O, Bi(OTf)₃, CH₂Cl₂, 1 giờ, 91%; d) Br₂, Benzen, 30°C qua đêm, 74%; e) NaBH₄, NaOAc, Pyr, nhiệt độ trong phòng 2 ngày, 80%; f) HI 57%, AcOH, nhiệt độ trong phòng 30 phút; g) CrO₃, AcOH, nhiệt độ trong phòng 45 phút; h) bụi Zn, NaOAc, hồi lưu 20 phút; i) NaOH 2M, MeOH, nhiệt độ trong phòng qua đêm, 65% từ hợp chất 5; l) 1) NaBH₄, THF/H₂O 4:1, 70%; m) Na(s), *sec*-BuOH, 50°C, 70%.

Việc tổng hợp dựa trên việc sử dụng axit 6 α -etyl-cholic (6-ECA, 1) làm nguyên liệu ban đầu mà được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. 6-ECA (1) được xử lý bằng *p*-TSA trong MeOH trong điều kiện chiếu xạ siêu âm để tạo ra este metyl tương ứng, mà được bảo vệ theo cách chọn lọc ở vị trí C3 bằng cách hồi lưu Ac₂O với sự có mặt của NaHCO₃ trong THF để tạo ra hợp chất 2. Xử lý hợp chất 2 bằng PCC trong CH₂Cl₂ ở nhiệt độ trong phòng tiếp theo xử lý bằng Ac₂O, Bi(OTf)₃ trong CH₂Cl₂ ở nhiệt độ trong phòng tạo ra hợp chất trung gian metyl 3 α ,7 α -

diacetoxo-12-oxo-5 β -cholan-24-oat (hợp chất 3; khoảng 48% từ hợp chất 2).

Xử lý hợp chất 3 bằng Br₂ trong benzen trong ví dụ, 12 giờ để tạo ra hợp chất 4. Phản ứng của hợp chất 4 với NaBH₄ và NaOAc trong pyridin mới cất tạo ra hợp chất 11 β -12 β epoxit tương ứng (hợp chất 5), với hiệu suất khoảng 59% sau khi tinh chế bằng silica gel. Phản ứng của hợp chất 5 với HI trong AcOH ở nhiệt độ trong phòng tạo ra hợp chất trung gian halohydrin mà sau đó được oxy hóa ở vị trí C11 bằng CrO₃ trong AcOH để tạo ra hợp chất 6. Phản ứng của hợp chất 6 với bụi Zn trong AcOH sôi và thủy phân trong môi trường kiềm (NaOH/MeOH) tạo ra axit 3 α ,7 α -hydroxy-12-keto-5 β -cholan-24-oic (hợp chất 7; hiệu suất khoảng 65% từ hợp chất 5).

Hợp chất 7 được khử chọn lọc lập thể ở vị trí C11-cacbonyl bằng cách sử dụng NaBH₄ trong hỗn hợp THF/H₂O= (4:1, thể tích/thể tích) để tạo ra axit 3 α ,7 α ,11 β -trihydroxy-6 α -etyl-5 β -cholan-24-oic (Hợp chất 100; khoảng 27% từ hợp chất 3), sau khi tinh chế bằng sắc ký để tạo ra Hợp chất 100. Theo cách khác, hợp chất 7 được khử bằng natri trong *sec*-BuOH ở 50°C để tạo ra Hợp chất 101 (hiệu suất khoảng 70%), sau khi tinh chế.

Ví dụ 2: Hợp chất 100 là chất chủ vận FXR đặc hiệu tiềm năng

Trong nhân, các thụ thể nhân (nuclear receptor - NR) liên kết phối tử điều biến sự khởi đầu phiên mã bằng cách trực tiếp tương tác với bộ máy phiên mã cơ sở hoặc bằng cách tiếp xúc với các yếu tố bắc cầu gọi là yếu tố đồng hoạt hóa (Onate SA, *et al*, *Science* 1995; 270: 1354-1357; Wang JC, *et al*, *J Biol Chem* 1998; 273:30847-30850; Zhu Y, *et al*, *Gene Expr* 1996; 6: 185-195). Tương tác phụ thuộc phối tử của các NR với các yếu tố đồng hoạt hóa của chúng xảy ra giữa chức năng hoạt hóa (activation function 2 - AF-2), nằm trong vùng liên kết phối tử (ligand-binding domain - LBD) của thụ thể và các hộp thụ thể nhân (nuclear receptor box - NR box) nằm trên các yếu tố đồng hoạt hóa (Nolte RT, *et al*, *Nature* 1998; 395: 137-143). Một số dòng bằng chứng đã chứng tỏ rằng trình tự peptit LXXLL có trong hộp NR là motif dấu hiệu mà tạo điều kiện thuận lợi cho tương tác của các protein khác nhau với vùng AF-2 (Heery DM, *et al*, *Nature* 1997; 387:733-736; Torchia J, *et al*, *Nature* 1997; 387:677-684).

Thử nghiệm AlphaScreen được sử dụng với mục đích nhận dạng các chất điều biến mới bằng cách tận dụng tương tác hai phân tử phổ biến giữa FXR và motif LXXLL có trong hộp NR của yếu tố đồng hoạt hóa thụ thể steroid (steroid receptor coactivator 1 - SRC-1).

FXR-LBD-GST người được ủ với các nồng độ phối tử được chỉ định tăng với sự có mặt của peptit LXXLL SRC-1 được biotin hóa. Tín hiệu AlphaScreen tăng khi phức thụ thể-yếu tố đồng hoạt hóa được tạo ra. Các giá trị EC_{50} là $8,9 \mu M$ đối với axit chenodeoxycholic (CDCA; làm đối chứng dương), $0,16 \mu M$ đối với Hợp chất A, và $0,16 \mu M$ đối với Hợp chất 100. Các kết quả này là giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (S.D.) của các mẫu bộ ba từ thử nghiệm đại diện trong số ba thử nghiệm được thực hiện. Thử nghiệm AlphaScreen là thử nghiệm rất mạnh và có khả năng lặp lại, như được thể hiện bằng hệ số Z' bằng 0,84 (Zhang JH, *et al.*, *J Biomol Screen* 1999; 4:67-73). Do đó, Hợp chất 100 là chất chủ vận FXR có tiềm năng cao.

Hơn nữa, dữ liệu trong bảng dưới đây thể hiện rằng Hợp chất 100 chọn lọc đối với FXR người và không có hoạt tính đối với TGR5 của người.

Bảng 1

Hợp chất	Thử nghiệm AlphaScreen FXR của người	Thử nghiệm HTR-FRET (cAMP) TGR5 của người (tế bào NCI-H716)	Thử nghiệm HTR-FRET (cAMP) Biểu hiện quá mức TGR5 của người
	Đối chứng CDCA = $15 \pm 3 \mu M$	Đối chứng LCA = $7 \pm 3 \mu M$	Đối chứng LCA = $0,9 \pm 0,1 \mu M$
Hợp chất 100	$0,180 \pm 0,02$	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính
Hợp chất 101	3 ± 2	41,5	
Hợp chất A	$0,2 \pm 0,018$	15 ± 5	
Hợp chất B	0,03	0,63	
Hợp chất C	175	0,9	

Ngoài ra, bằng cách sử dụng thử nghiệm AlphaScreen, đã chứng tỏ được rằng Hợp chất 100 hoạt hóa đặc hiệu FXR và không hoạt hóa 13 thụ thể nhân khác có liên quan đến các con đường chuyển hóa.

Bảng 2

Hợp chất	Hoạt hóa FXR	Hoạt hóa LXR β	Hoạt hóa PXR	Hoạt hóa CAR	Hoạt hóa PPAR α	Hoạt hóa PPAR δ	Hoạt hóa PPAR γ
(Chuẩn đối chứng)	(CDCA = 10-20 μ M)	(T0901317 = 0,08 μ M)	(SR-12183 = 0,062 μ M)	(CITCO = 0,005 μ M)	(GW7647 = 0,003 μ M)	(GW0742 = 0,004 μ M)	(GW1929 = 0,012 μ M)
	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
Hợp chất A	0,16	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính
Hợp chất B	0,03	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	44*	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính
Hợp chất 100	0,16	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính

Hợp chất	Hoạt hóa RAR α	Hoạt hóa VDR	Hoạt hóa TR	Hoạt hóa PR	Hoạt hóa RXR	Hoạt hóa GR	Hoạt hóa ER
(Chuẩn đối chứng)	(ATRA = 0,001 μ M)	(Di-HydroxyVitD3 = 0,005 μ M)	(T3 = 0,0001 μ M)	(Corticosteron = 0,050 μ M)	(9cisRA = 0,004 μ M)	(Budenosid = 0,0002 μ M)	(Estradiol = 0,001 μ M)
	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
Hợp chất A	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính
Hợp chất B	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính
Hợp chất 100	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính	Không có hoạt tính

*: chất chủ vận ngược.

Các giá trị đối với hợp chất B thu được từ tài liệu của Rizzo G., và các đồng tác giả, *Mol. Pharm.*, 2010; 78: 617-630.

Việc hoạt hóa FXR bằng Hợp chất 100 cũng được thử nghiệm trong các thử nghiệm hoạt hóa chéo dựa trên tế bào bằng cách sử dụng dòng tế bào HEK293T được chuyển nhiễm tạm thời bằng thể khảm Gal4-FXR-LBD và hệ (UAS)5-Luc (Fig. 1). Việc hoạt hóa FXR bằng Hợp chất 100 là so sánh được với FXR được cảm ứng bằng hợp chất A cho thấy rằng các hợp chất này là các chất chủ vận FXR tiềm năng trong các thử nghiệm dựa trên tế bào. Fig. 1 là đồ thị thể hiện hoạt tính của Hợp chất 100 so với Hợp chất A trong thử nghiệm hoạt hóa chéo trong các tế bào HEK293T. NT là các tế bào được chuyển nhiễm vector FXR mà không phối nhiễm với hợp chất A hoặc Hợp chất 100. Các giá trị được biểu thị bằng μM .

Các axit mật (Bile acid - BA) điều biến không chỉ một số thụ thể hormon nhân, mà còn là chất chủ vận đối với thụ thể kết hợp protein G (G protein-coupled receptor - GPCR) TGR5 (Makishima M, *et al*, *Science* 1999; 284: 1362-1365; Parks DJ, *et al*, *Science* 1999; 284: 1365-1368; Maruyama T, *et al*, *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 298:714-719; Kawamata Y, *et al*, *J Biol Chem* 2003; 278:9435-9440). Việc tạo tín hiệu qua FXR và TGR5 điều biến một số con đường chuyển hóa, điều hòa không chỉ sự tổng hợp BA và sự tuần hoàn ruột gan, mà cả sự cân bằng nội môi của triglycerit, cholesterol, glucoza, và năng lượng. Để đánh giá khả năng hoạt hóa TGR5 của hợp chất theo sáng chế, Hợp chất 100 và các hợp chất so sánh khác được sàng lọc về mức tăng cAMP nội bào dưới dạng số đo về sự hoạt hóa TGR5. Các tế bào nội tiết ruột của người NCI-H716 chủ yếu biểu hiện TGR5 được phối nhiễm với các nồng độ Hợp chất 100 tăng dần, và các mức cAMP nội bào được xác định bằng thử nghiệm TR-FRET. Axit lithocholic (LCA) được dùng làm đối chứng dương.

Như được thể hiện trên Fig. 2A, Hợp chất 100 không cảm ứng hoạt tính TGR5 trong các tế bào biểu hiện thụ thể này theo cách sinh lý vì không quan sát thấy thay đổi về mức cAMP nội bào. Để đánh giá tiếp xem Hợp chất 100 có thể liên kết với TGR5 hay không, dòng tế bào biểu hiện quá mức TGR5 được phối nhiễm với các nồng độ Hợp chất 100 khác nhau. Kết quả được minh họa trên Fig. 2B cho thấy rằng ngay cả với sự biểu hiện quá mức thụ thể TGR5, Hợp chất 100 không có tác dụng liên quan. Fig. 2A là đồ thị thể hiện hoạt tính trên TGR5 của Hợp chất 100 (không có hoạt tính) và LCA trong các tế bào nội tiết ruột của người biểu hiện TGR5 ở mức sinh lý. Kết quả được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (S. D.) của các mẫu bộ ba từ thử nghiệm đại diện trong số ba thử nghiệm được thực hiện. Fig. 2B là đồ thị thể

hiện hoạt tính trên TGR5 của Hợp chất 100 (không có hoạt tính) và LCA trong tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary - CHO) của người biểu hiện quá mức TGR5.

Ví dụ 3: Gen đích FXR được điều biến bằng Hợp chất 100

Để đánh giá khả năng điều biến các gen đích FXR của Hợp chất 100, các thử nghiệm RT-PCR định lượng được thực hiện. Các tế bào HepG2 được chọn làm dòng tế bào liên quan để xác định xem hợp chất theo sáng chế có thể điều hòa mạng lưới di truyền FXR nội sinh hay không. Khả năng cảm ứng các gen đích FXR của hợp chất theo sáng chế được đánh giá bằng cách phân lập ARN tổng số từ các tế bào được xử lý qua đêm bằng 1 μ M các hợp chất A, B, và 100. Hợp chất A được chứng minh là chất chủ vận chọn lọc FXR tiềm năng và hợp chất B được chứng minh là chất chủ vận kép FXR/TGR5 tiềm năng. Profin hoạt hóa gen của Hợp chất 100 trong các tế bào HepG2 được so sánh với profin của các hợp chất A và B. (Pellicciari, R, *et al.*, J Med Chem. 2002; Aug 15; 45: 3569-72; Rizzo, G, *et al.*, Mol. Pharm., 2010; 78: 617-630).

FXR điều hòa sự biểu hiện một số gen đích có liên quan trong sự cân bằng nội môi BA. Tóm lại, FXR đóng vai trò trung tâm trong một số con đường chuyển hóa, bao gồm tức là, chuyển hóa lipid, chuyển hóa axit mật, và chuyển hóa carbohydrat. Đối với việc xác định profin biểu hiện gen, các gen mã hóa các protein có liên quan đến chuyển hóa lipid bao gồm, ví dụ, APOCII, APOE, APOAI, SREBP-1C, VLDL-R, PLTP, và LPL; các gen mã hóa các protein liên quan đến chuyển hóa axit mật bao gồm, ví dụ, OST α/β , BSEP, MRP2, SHP, CYP7A1, FGF19, SULT2A1, và UGT2B4; và các gen mã hóa các protein liên quan đến chuyển hóa carbohydrat bao gồm, ví dụ, PGCl α , PEPCK, và GLUT2.

Như được thể hiện trên các Fig. 3A-3H, sự hoạt hóa FXR của Hợp chất 100 gián tiếp kìm hãm sự biểu hiện các enzym sinh tổng hợp BA CYP7A1 bằng cách tăng mức thụ thể nhân SHP trong gan và ruột và tăng mức FGF19 (Goodwin, B, *et al.*, Mol. Cell 2000; 6: 517-526). FXR được hoạt hóa bởi Hợp chất 100 cũng điều hòa tích cực sự biểu hiện gen mã hóa các protein liên quan đến sự vận chuyển BA, bao gồm, BSEP, và OST α và OST β . Các BA mới được tổng hợp được liên hợp với taurin hoặc glyxin và sau đó được tiết ra một cách tích cực trong túi mật, FXR điều hòa cả hai quá trình then chốt này. Các BA được liên hợp monoanion và dianion sau đó được tiết ra một cách tích cực trong túi mật bởi lần lượt BSEP và protein liên quan đến nhiều thuốc 2

(multidrug related protein 2 - MRP2). Các chất vận chuyển này thuộc họ chất vận chuyển ABC và đều được cảm ứng bởi FXR ở mức phiên mã. Sự điều hòa các chất vận chuyển ABC này là rất quan trọng để tránh sự tích tụ BA trong gan và do đó tổn thương gan (Schinkel AH, *et al.*, Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012; Sep 13).

Fig. 3 là loạt đồ thị thể hiện hoạt tính của Hợp chất 100 và các hợp chất so sánh khác trong việc điều hòa sự biểu hiện OST α (A), OST β (B), BSEP (C), MRP2 (D), CYP7A1 (E), SHP (F), FGF-19 (G), và UGT2B4 (H). Lưu ý trong các Fig. 3A-3H, trục y thể hiện số lần thay đổi về mức biểu hiện so với các tế bào không được xử lý. Dữ liệu được chuẩn hóa so với B2M. Các vạch sai số thể hiện sai số chuẩn của mẫu bộ ba.

Sự hoạt hóa FXR góp phần vào sự vận chuyển cholesterol ngược, quá trình mà dẫn đến sự phân phối cholesterol từ các mô ngoại vi vào gan để loại bỏ mật và do đó bài tiết phân (Lambert, G, *et al.*, *J Biol Chem* 2003; 278, 2563-70). Trong hoạt động chuyển hóa này, FXR điều hòa sự biểu hiện protein dịch chuyển phospholipit (phospholipids transfer protein - PLTP), chịu trách nhiệm di chuyển các phospholipit và cholesterol từ LDL đến HDL, các lipoprotein gan, như ApoE, ApoC-I, ApoC-IV, và các thụ thể thu gom rác (scavenger receptor B1 - SRB1), mà có liên quan đến sự hấp thu HDL ở gan.

FXR điều khiển sự chuyển hóa triglycerit (TG) bằng cách điều hòa sự tổng hợp mới lipit mới ở gan và sự thanh thải triglycerit. Khi hoạt hóa bằng Hợp chất 100, FXR điều hòa giảm mức biểu hiện SREBP-1c, yếu tố phiên mã mà đóng vai trò then chốt trong việc kích thích sự tổng hợp axit béo và tổng hợp lipit (các Fig. 4A-4D) (Landrier, JF, *et al.*, *J Clin Invest* 2004; 113, 1408-18). Ngoài việc giảm sự tổng hợp mới lipit, sự hoạt hóa FXR cũng điều biến sự thanh thải TG. Tác dụng làm giảm TG bổ sung này của FXR được giải thích ở mức độ phân tử bằng sự cảm ứng các gen chủ đạo, như Apo-C-II LPL và thụ thể VLDL (Kast, HR, *et al.*, *Mol Endocrinol* 2001; 15, 1720-8).

Fig. 4 là loạt đồ thị thể hiện hoạt tính của Hợp chất 100 và các hợp chất so sánh khác trong điều hòa PLTP có liên quan đến sự chuyển hóa lipit (A), SREBP-1C (B), APOCII (C), và PPAR γ (D). Lưu ý trong các Fig. 4A-4D, trục y biểu thị số lần thay đổi về mức biểu hiện so với các tế bào không được xử lý. Dữ liệu được chuẩn hóa so

với B2M. Các vạch sai số thể hiện sai số chuẩn của các mẫu bộ ba.

FXR cũng có vai trò trong chuyển hóa carbohydrat. (Ma K, *et al.*, *J Clin Invest.* 2006; 116: 1102-9). Sự điều hòa gen PEPCK được nghiên cứu (Fig. 5) bằng cách sử dụng Hợp chất 100. Fig. 5 là đồ thị thể hiện sự điều hòa gen PEPCK của Hợp chất 100 và các hợp chất so sánh khác. Trục y biểu thị số lần thay đổi về mức biểu hiện so với các tế bào không được xử lý. Dữ liệu được chuẩn hóa so với B2M. Các vạch sai số thể hiện sai số chuẩn của các mẫu bộ ba.

Các nghiên cứu chung về sự biểu hiện gen thể hiện rằng Hợp chất 100 điều biến cùng các gen đích FXR như hợp chất A hoặc hợp chất B (cũng xem Bảng 3).

Bảng 3

Gen	Hợp chất A (1 μ M)	Hợp chất B (1 μ M)	Hợp chất 100 (1 μ M)
OST α	tăng	tăng	tăng
OST β	tăng	tăng	tăng
BSEP	tăng	tăng	tăng
SHP	tăng	tăng	tăng
CYP7 α 1	giảm	giảm	giảm
UGT2B4	tăng	tăng	tăng
MRP2	tăng	tăng	tăng
FGF-19	tăng	tăng	tăng
PPAR γ	tăng	tăng	tăng
PLTP	tăng	tăng	tăng
APOCII	tăng	tăng	tăng
PEPCK	tăng	tăng	tăng
SREBP-1C	giảm	giảm	giảm

Ví dụ 4: Hợp chất 100 không thể hiện tác dụng độc trên các tế bào HepG2.

Để đánh giá độc tính *in vitro* của Hợp chất 100, hai phương pháp thử nghiệm khác nhau được sử dụng. Các thử nghiệm đánh giá khả năng sống của tế bào bằng cách xác định mức ATP và độc tính bằng cách xác định mức giải phóng LDH. Nucleotit Adenosin Triphosphat (ATP) là nguồn năng lượng ở mức phân tử cơ bản, vì

nó là phân tử đa chức năng mà được sử dụng trong mọi tế bào làm coenzym và là bộ phận tích hợp của ADN ti thể (Kangas L, *et al.*, *Medical Biology*, 1984; 62, 338-343; Crouch SPM, *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 1993; 160, 81 - 88; Petty RD, *et al.*, *J. Biolumin. Chemilumin.* 1995; 10, 29 - 34). ATP đã được gọi là "đơn vị tiền tệ phân tử" khi nó tiến hành dịch chuyển năng lượng nội bào. Điều này để đảm bảo vai trò quan trọng của ATP trong chuyển hóa và sự giảm hàm lượng ATP là bước đầu cho thấy sự thương tổn tế bào (Storer RD, *et al.*, *Mutation Research*, 1996; 368, 59 - 101; Cree IA, Andreotti PE., *Toxicology in Vitro*, 1997; 11, 553 - 556).

Khả năng sống của tế bào được xác định dưới dạng số đo ATP nội bào liên quan đến thời gian phơi nhiễm và nồng độ các hợp chất thử nghiệm (Sussman, NL.; *Promega Cell Notes*, Issue 3. 2002).

Fig. 6 là đồ thị thể các hiện phép đo ATP trong tế bào HepG2, được xử lý bằng nồng độ các hợp chất được chỉ định trong 4 giờ. Đã chứng tỏ được rằng tất cả các tế bào với sự có mặt của Hợp chất 100 với nồng độ khác nhau đều sống được như khi tế bào chỉ được xử lý bằng chất dẫn, tức là, tất cả các tế bào được xử lý bằng Hợp chất 100 vẫn sống được (100%). LCA, một axit mật độc đã được biết rõ, được dùng làm chất so sánh và Tamoxifen được dùng làm đối chứng dương trong các thử nghiệm.

Một phương pháp khác để xác định khả năng sống của tế bào là phát hiện sự nguyên vẹn của màng mà định ra xoang tế bào. Việc xác định sự rò rỉ các thành phần ra khỏi tế bào chất, trong các màng tế bào bị thương tổn, cho thấy sự mất tính nguyên vẹn của màng, và sự giải phóng LDH là phương pháp được sử dụng để xác định độc tính chung trong tế bào. Các tế bào HepG2 được xử lý bằng Hợp chất 100, các lần pha loãng hàng loạt được thực hiện, các dịch pha loãng LCA được bổ sung vào các tế bào được trải đĩa làm đối chứng thử nghiệm cùng với các đĩa không có tế bào không và có tế bào không được xử lý. Thử nghiệm được tiến hành theo bộ ba đối với mỗi nồng độ hợp chất thử nghiệm.

Kết quả thể hiện rằng Hợp chất 100 không cảm ứng tác dụng độc bất kỳ trên các tế bào HepG2. Axit lithocolic làm tăng mức giải phóng LDH ở nồng độ 70 μM trong khi đối chứng Tamoxifen thể hiện tác dụng độc tế bào ở nồng độ khoảng 25 μM (xem Bảng 4).

Bảng 4

Hợp chất	Độ nguyên vẹn của màng EC ₅₀ (μM) (số đo LDH)
Tamoxifen	35±10
LCA	75±5
Hợp chất A	190±30
Hợp chất B*	670
Hợp chất 100	Không có độc tính (100% tế bào sống)
Hợp chất 101	Không có độc tính (100% tế bào sống)

* Rizzo *et al.*, Mol. Pharm. 2010

Ví dụ 5: Hợp chất 100 không ức chế các enzym xytocrom P450.

Để đánh giá khả năng của Hợp chất 100 đối với các tương tác thuốc-thuốc, sáu đồng đẳng chính của CYP450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4) được nghiên cứu. (Obach, RS, *et al.*, *J Pharmacol Exp Ther*, 2006; 316(1): p. 336-48).

Để xác định tương tác giữa Hợp chất 100 và các enzym xytocrom P450, Hợp chất 100 được phân tích về khả năng ức chế (hoặc không ức chế) sự sản sinh tín hiệu huỳnh quang của nó, bằng cách sử dụng các protein CYP450 tái tổ hợp (các baculosom; Invitrogen), các cơ chất và các chất ức chế (Bidstrup, TB, *et al.*, *Br J Clin Pharmacol*, 2003; 56(3): p. 305-14). Chất ức chế chọn lọc đối với mỗi đồng đẳng CYP450 được thử nghiệm trong cùng đĩa làm đối chứng dương (Bảng 5).

Bảng 5

CPY450	Hợp chất A IC ₅₀ (μM)	Hợp chất B IC ₅₀ (μM)	Hợp chất 100 IC ₅₀ (μM)
CYP1A2 Đối chứng: furaflillin = 0,5μM	> 10	> 10	> 10
CYP3A4 (cơ chất màu xanh lá cây) Đối chứng: ketoconazol = 0,044μM	> 10	> 10	> 10
CYP3A4 (cơ chất màu xanh nước)	> 10	> 10	> 10

biển) Đối chứng: ketoconazol = 0,04 μ M			
CYP2C9 Đối chứng: sulfaphenazol = 0,4 μ M	> 10	> 10	> 10
CYP2C19 Đối chứng: Miconazol = 0,06 μ M	> 10	> 10	> 10
CYP2D6 Đối chứng: quinidin = 0,01 μ M	> 10	> 10	> 10
CYP2E1 Đối chứng: DCC = 0,4 μ M	> 10	> 10	> 10

$IC_{50} > 10 \mu M$ nghĩa là hợp chất không ức chế CYP450. Kết quả thu được chứng tỏ rằng Hợp chất 100, giống như các hợp chất A và B, không ức chế các enzym Xytocrom P450 được kiểm tra, thể hiện rằng Hợp chất 100 không thể bị ảnh hưởng bởi các tác dụng của tương tác thuốc-thuốc. (Rizzo, G, *et al.*, *Mol Pharm*, 2010; 78: 617-630).

Ví dụ 6: Hợp chất 100 không ức chế kênh kali ERG của người

Để xác định chức năng kênh ion, thử nghiệm Phân cực Huỳnh quang hERG Predictor™ được sử dụng vì nó cung cấp phương pháp hiệu quả để ban đầu xác định xu hướng phong bế kênh hERG của các hợp chất thử nghiệm (Dorn, A, *et al. J Biomol Screen*, 2005; 10(4): 339-47). Thử nghiệm này dựa trên giả định rằng hoạt tính của kênh kali hERG góp phần vào điện thế màng nghỉ trong các tế bào được chuyển nhiễm lâu dài, và do đó sự phong bế các kênh hERG sẽ dẫn đến sự khử cực màng tế bào. Thử nghiệm được thiết kế để nhận dạng các chất phong bế kênh hERG tiềm năng bằng cách tạo ra các dữ liệu mà tương ứng một cách chính xác với các nghiên cứu điện sinh lý kẹp màng (patch-clamp). Kết quả từ thử nghiệm Predictor cho thấy sự tương quan cao với kết quả thu được từ các kỹ thuật kẹp màng (Bảng 6) (Dorn, A, *et al. J Biomol*

Screen, 2005; 10(4): 339-47).

Bảng 6

Hợp chất	Kẹp-màng*	Phôi tử phóng xạ*	FP
	IC ₅₀ (nM)		
Astemizol	1,2	1	1,3
Dofetilid	12	40	6,9
Terfenadin	16	30	23
E-4031	48	20	34
Bepridil	550	170	210
Thioridazin	1250	510	708
Fluoxetin	990	2230	4310
Amitripylin	10000	f2440	11200

Bảng 6 thể hiện sự so sánh các giá trị IC₅₀ được tạo ra từ thử nghiệm Phân cực Huỳnh quang hERG Predictor™ với các giá trị IC₅₀ được báo cáo từ các thử nghiệm kẹp màng và thay thế phôi tử phóng xạ.

Các chế phẩm màng từ tế bào trứng chuột đồng Trung Quốc được chuyển nhiễm ổn định kênh kali hERG được dùng để đánh giá tác dụng ức chế tiềm tàng của Hợp chất 100 trên kênh này bằng thử nghiệm phân cực huỳnh quang Predictor. Sự giảm phân cực màng do ức chế kênh kali hERG có liên quan trực tiếp đến sự giảm phân cực huỳnh quang (fluorescence polarization - FP). Kết quả thể hiện rằng giống như các hợp chất A và B, Hợp chất 100 không phong bế hoặc ức chế kênh kali hERG.

Thử nghiệm được tiến hành theo bộ ba bằng cách sử dụng đáp ứng liều 16 điểm của hợp chất thử nghiệm và các đối chứng dương E-4031 và Tamoxifen. Thu được IC₅₀ bằng 15 nM ($\Delta mP = 163$) đối với E-4031 và 1,4 μM ($\Delta mP = 183$) đối với Tamoxifen. Cửa sổ của thử nghiệm lớn hơn 100 mP (millipolarization) được xem là tốt. Giá trị Z' là 0,78 cho thấy thử nghiệm tuyệt vời. Các đường cong hồi quy không tuyến tính thu được bằng phép phân tích GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.), để tính toán các giá trị IC₅₀.

Tóm lại, việc phát tín hiệu thông qua FXR điều biến nhiều con đường chuyển hóa khác nhau, vì vậy các chất điều biến FXR chọn lọc là đối tượng hấp dẫn để điều trị một loạt các bệnh mạn tính ảnh hưởng đến gan, thận, cũng như các bệnh chuyển hóa.

Kết quả trong các ví dụ được mô tả trong bản mô tả xác định đặc tính của Hợp chất 100, là chất chủ vận FXR tiềm năng và đặc hiệu.

Đáng chú ý là, mặc dù nó hoạt hóa FXR một cách tiềm năng, Hợp chất 100 không thể hiện hoạt tính chống lại các thụ thể nhân khác và không có hoạt tính đối với axit mật GPCR TGR5. Ngoài tính chọn lọc thụ thể nhân cao, Hợp chất 100 có profin được lý thích hợp để làm thuốc. Hợp chất 100 không thể hiện tác dụng độc tế bào trên các tế bào gan người HepG2, điều này cho thấy nó không có độc tính trên gan, và không ức chế enzym CYP450 bất kỳ được thử nghiệm, cho thấy rằng Hợp chất 100 không có nguy cơ tương tác thuốc-thuốc đáng kể. Hơn nữa, Hợp chất 100 không ức chế kênh kali ERG của người.

Tính chọn lọc và tiềm năng kết hợp của Hợp chất 100 cùng với các đặc tính giống thuốc có lợi của nó, đặc biệt là profin an toàn tuyệt vời, làm cho Hợp chất 100 trở thành đối tượng hấp dẫn để điều trị và ngăn ngừa bệnh.

Ví dụ 7: Các tính chất hóa lý của Hợp chất 100

Các tính chất hóa lý của Hợp chất 100 như độ hòa tan trong nước, nồng độ mixen tới hạn, sức căng bề mặt và LogP_A được xác định bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Các tính chất của Hợp chất 100 được so sánh với các chất tương tự tự nhiên và tổng hợp (Bảng 7).

Bảng 7

Axit mật	W _S ^(a) (μM)	CMC ^(b) (mM)	ST _{CMC} ^(c) (Dyn/cm)	LogP _A ^(d)
Hợp chất 100	143-150	15,8	47,8	0,8
CA	273	9-11	49,0	1,1
CDCA	32	3,2	45,5	2,2
UDCA	7-7,5	6-10	50,5	2,2
TCDCA	hs	3,0	-	0,9
TUDCA	hs	2,2	-	1,1
Hợp chất A	9	2,9	43,2-48,8	2,5
Hợp chất B	hs	1,3	43,3-47,9	2,0
Hợp chất C	99	2	50,1	1,4
Hợp chất D	15	-	-	2,9
Hợp chất E	120	5,9	52,4	1,6

^a Ws: độ tan trong nước liên quan đến BA dưới dạng được proton hóa và do đó không được đánh giá đối với Hợp chất B, TCDCA và TUDCA mà có độ tan cao (hs);

^b CMC: Nồng độ Mixen tới hạn (Critical Micellar Concentration) được xác định trong dung dịch nước NaCl 0,15 M;

^c ST_{cmc}: Sức căng bề mặt (Surface Tension) ở CMC trong dung dịch nước NaCl 0,15 M;

^d LogP_A⁻: Hệ số phân chia 1-octanol-nước của các axit mật được nghiên cứu dưới dạng ion hóa;

Ví dụ 8: Dược động học và chuyển hóa ở chuột cống rò mật sau khi sử dụng qua da và trong tĩnh mạch: *in-vivo*

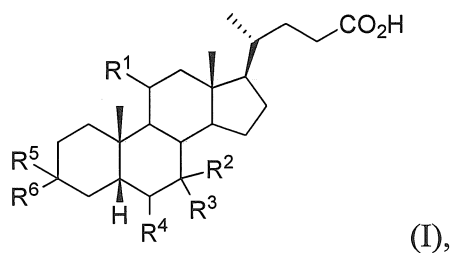
Các mô hình *in-vivo*, chuột cống, được cho sử dụng liều đơn Hợp chất 100 ở 1 µmol/phút/Kg.1 giờ (xem các Fig. 7A, 7B, và 7C). Fig. 7A là đồ thị thể hiện tác dụng lợi mật của Hợp chất 100 khi sử dụng trong da và trong tĩnh mạch. Fig. 7B là đồ thị thể hiện sự bài tiết Hợp chất 100 theo thời gian khi sử dụng trong da và trong tĩnh mạch. Fig. 7C là đồ thị thể hiện nồng độ trong huyết tương của Hợp chất 100 theo thời gian.

Các phương án tương đương

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận thấy rằng, hoặc có thể xác định bằng cách sử dụng không quá thử nghiệm thông thường, có nhiều phương án tương đương với các phương án và phương pháp cụ thể được mô tả trong bản mô tả này. Các phương án tương đương như vậy được dự định là nằm trong phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dựng của nó, trong đó:

R^1 là hydroxyl;

R^2 là hydro, hydroxyl, alkyl, hoặc halogen, trong đó alkyl này không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều R^a ;

R^3 là hydro, hydroxyl, alkyl, hoặc halogen, trong đó alkyl này không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều R^b ;

R^4 là alkyl, alkenyl, alkynyl, hoặc halogen, trong đó alkyl này không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều R^c ;

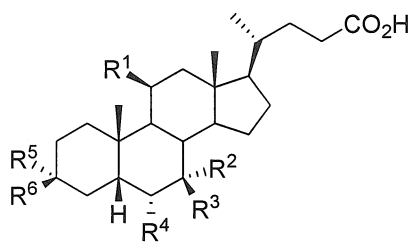
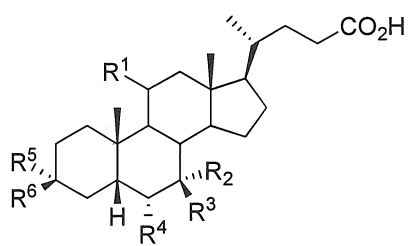
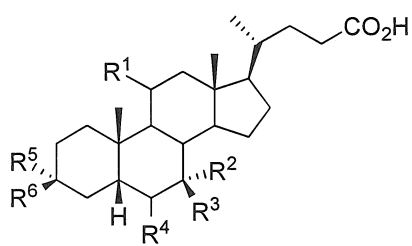
mỗi R^a , R^b , và R^c độc lập là halogen hoặc hydroxyl;

R^5 là hydroxyl, OSO_3H , OSO_3^- , OCOCH_3 , OPO_3H_2 , OPO_3^{2-} , hoặc hydro; và

R^6 là hydroxyl, OSO_3H , OSO_3^- , OCOCH_3 , OPO_3H_2 , OPO_3^{2-} , hoặc hydro;

hoặc R^5 và R^6 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành carbonyl.

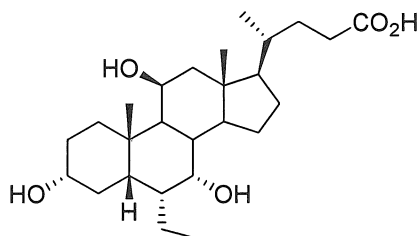
2. Hợp chất theo điểm 1, có công thức:



hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dựng của hợp chất bất kỳ trong số

các hợp chất này.

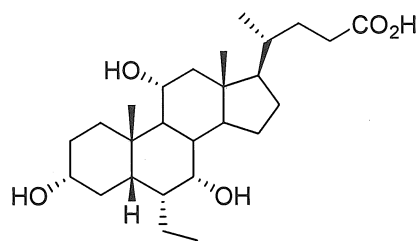
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó một trong số R^2 hoặc R^3 là hydroxyl hoặc halogen và nhóm R^2 hoặc R^3 còn lại là hydro hoặc alkyl không được thế.
4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó một trong số R^2 hoặc R^3 là hydroxyl và nhóm R^2 hoặc R^3 còn lại là hydro.
5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó một trong số R^5 hoặc R^6 là hydroxyl và nhóm R^5 hoặc R^6 còn lại là hydro.
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^2 là hydroxyl hoặc halogen.
7. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R^3 là hydro hoặc alkyl không được thế.
8. Hợp chất theo điểm 7, trong đó R^3 là metyl.
9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R^2 là hydroxyl và R^3 là hydro.
10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó R^5 là hydroxyl.
11. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó R^6 là hydro.
12. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 và từ 9 đến 11, trong đó mỗi R^2 và R^5 là hydroxyl và mỗi R^3 và R^6 là hydro.
13. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó R^4 là alkyl.
14. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, trong đó R^4 là alkyl không được thế.
15. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, trong đó R^4 là etyl.
16. Hợp chất theo điểm 1 có công thức sau:



hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dùng của nó.

17. Hợp chất theo điểm 1 có công thức sau:

32003



hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó.

18. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 17 hoặc muối, solvat, hoặc thể liên hợp axit amin được dụng của nó và tá dược được dụng.

Fig. 1

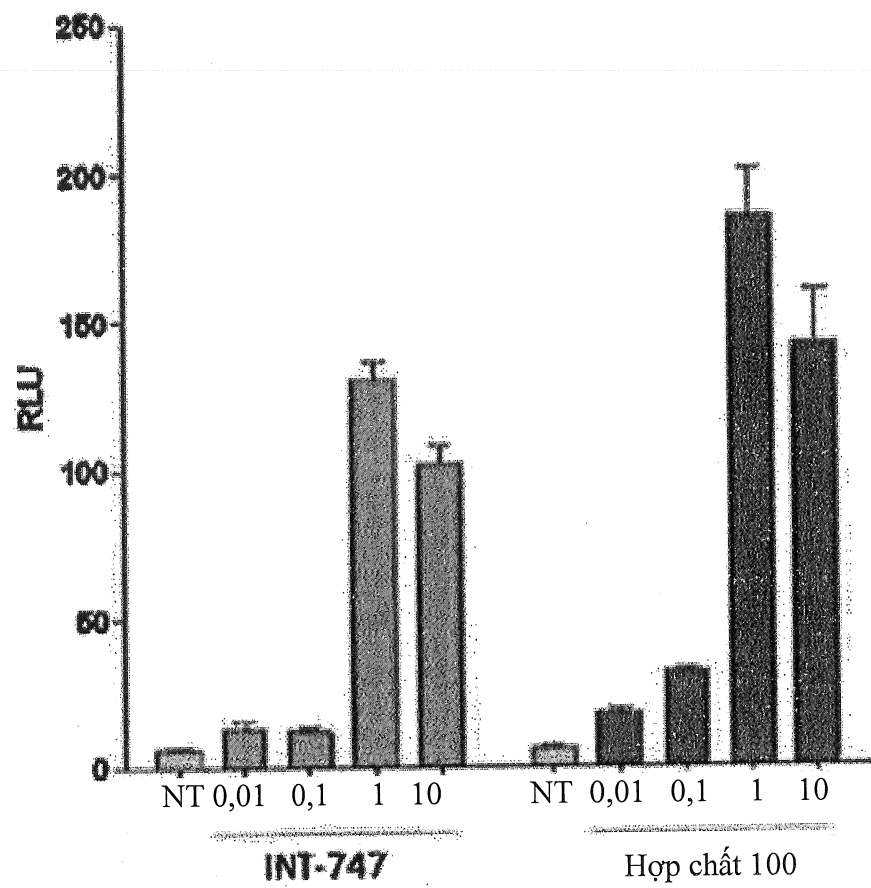
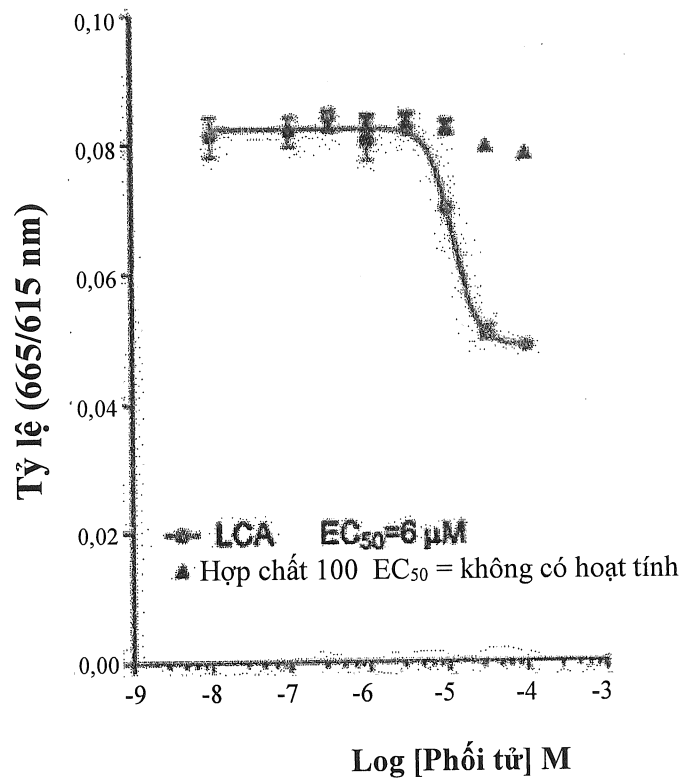


Fig. 2

A



B

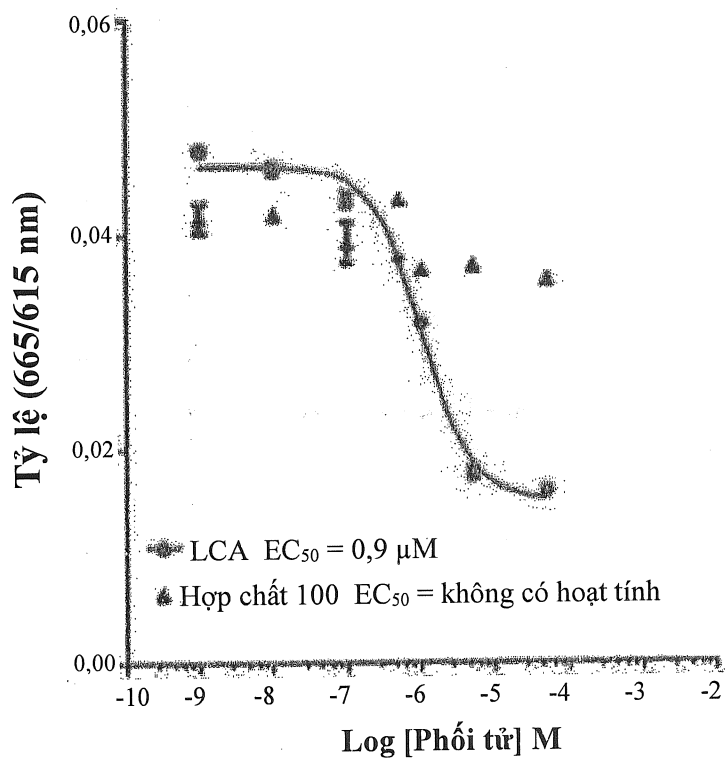


Fig. 3

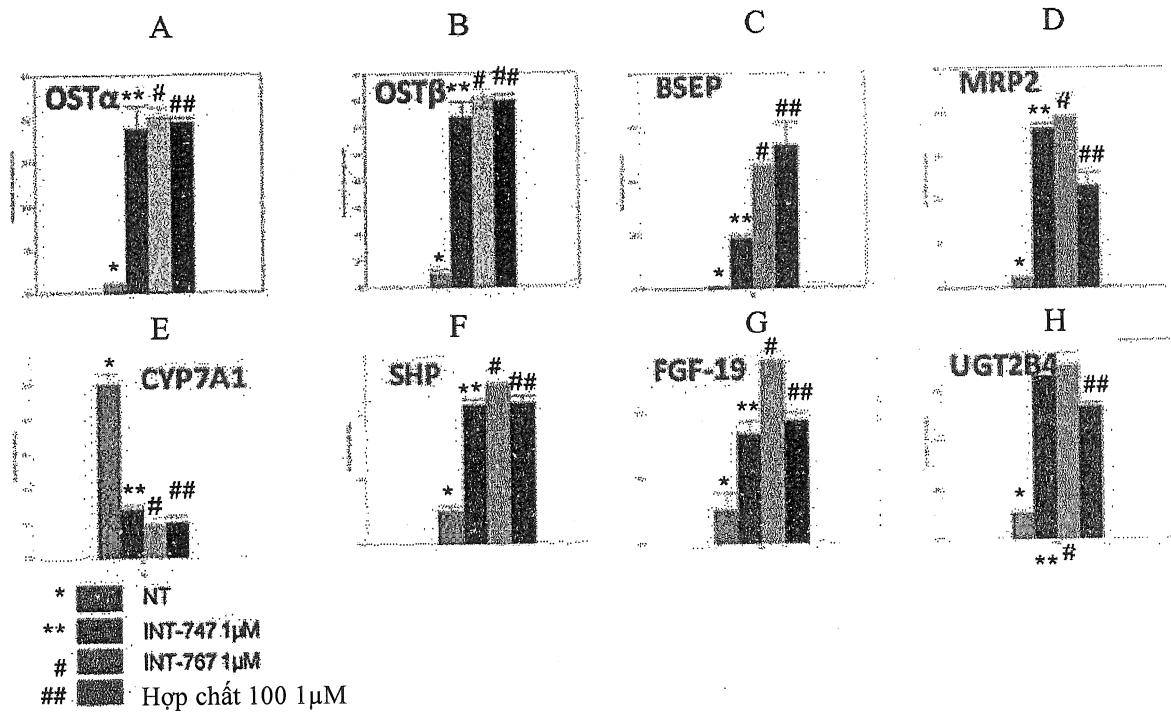


Fig. 4

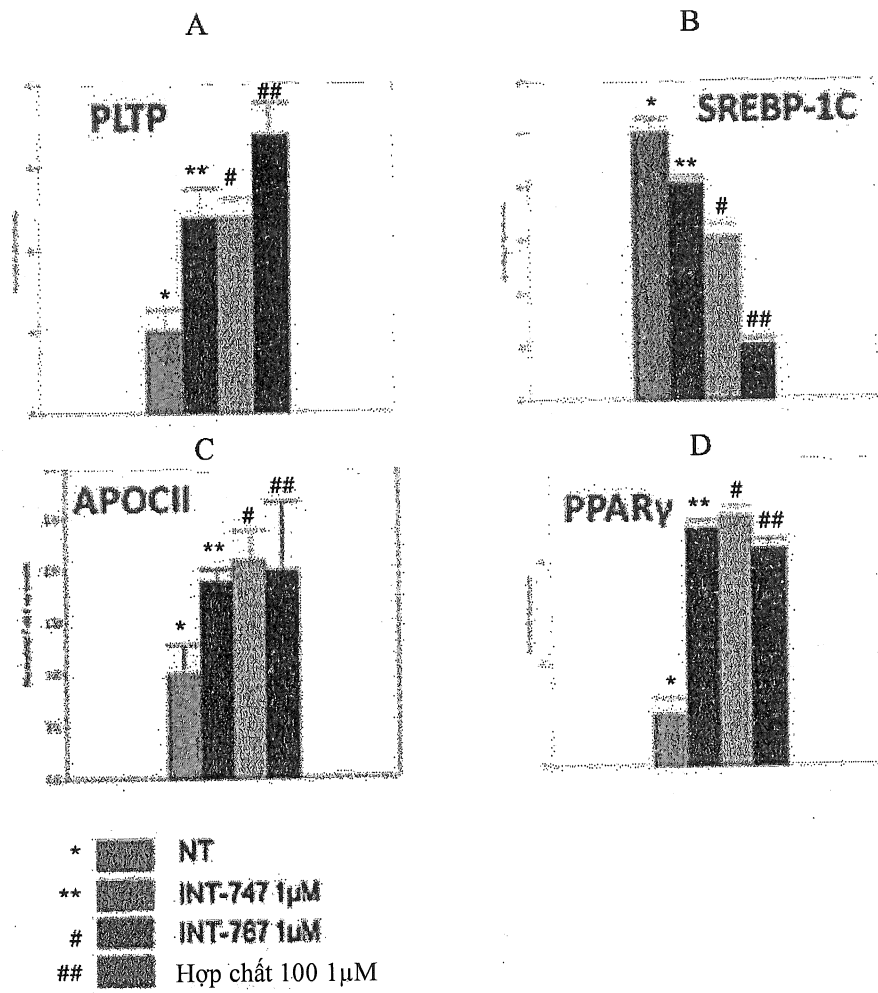


Fig. 5

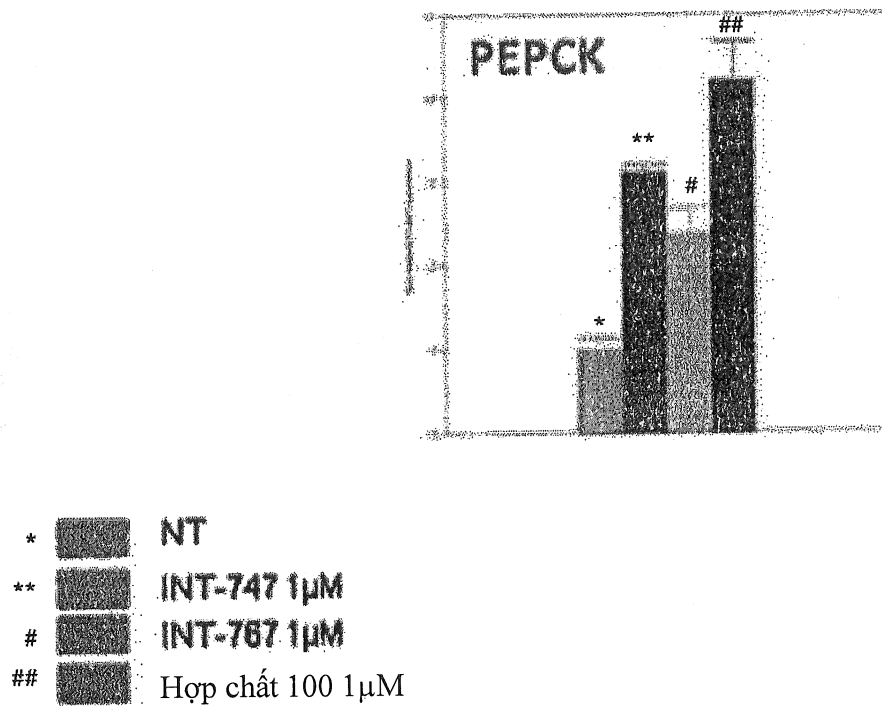


Fig. 6

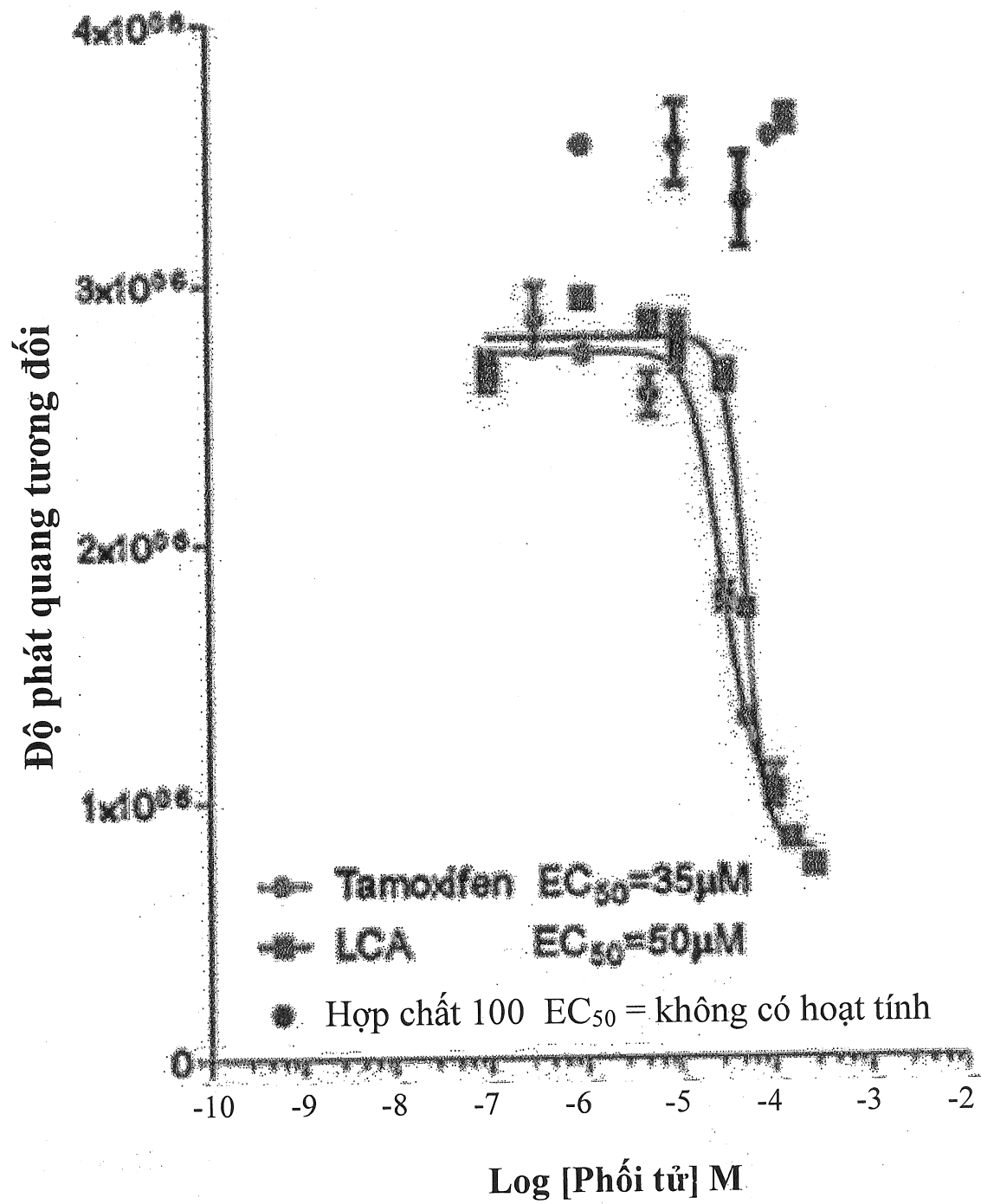
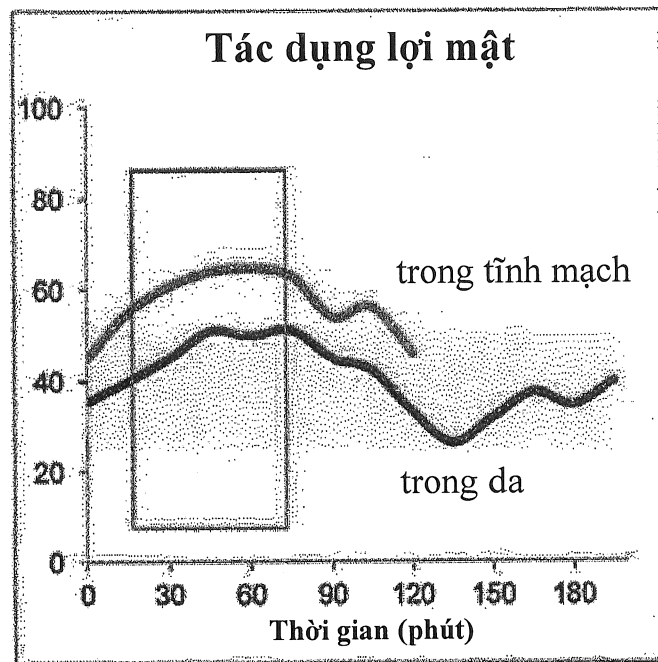
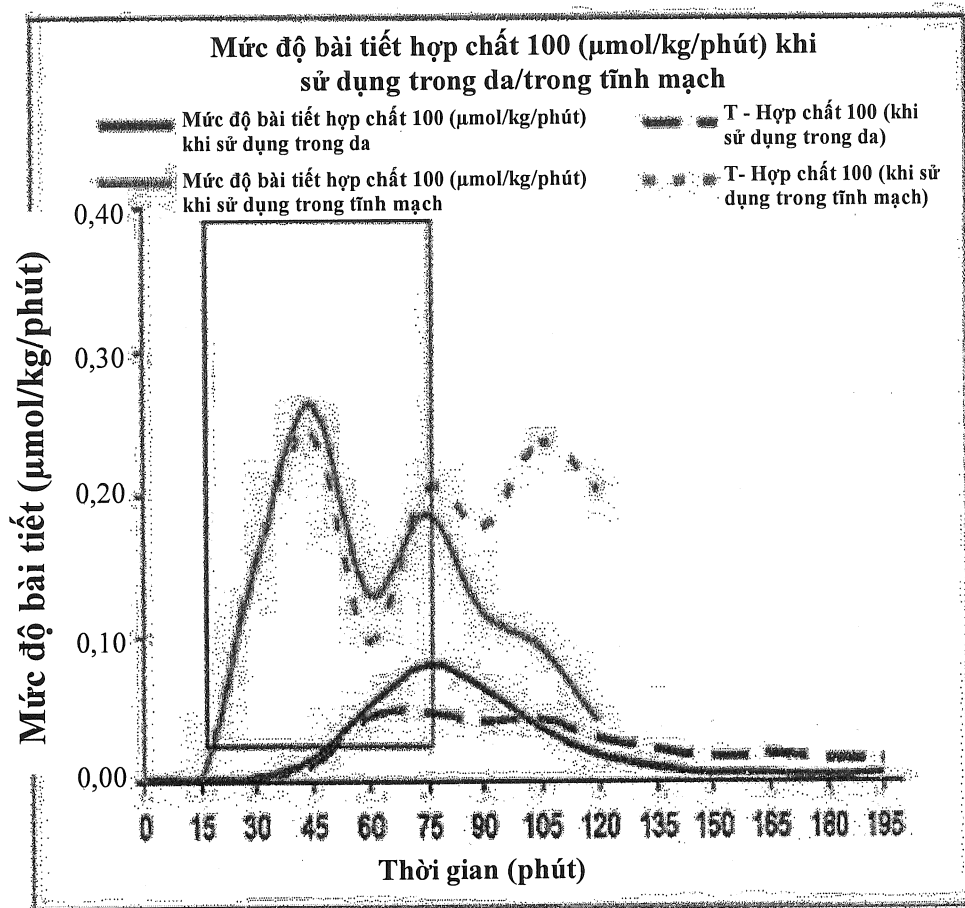


Fig. 7

A



B



C

