



(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)



1-0035093

(51)⁷ C07D 261/18; A61K 31/42; A61P 9/00 (13) B

(21) 1-2018-04024

(22) 07/03/2017

(86) PCT/US2017/021172 07/03/2017

(87) WO2017/156009 14/09/2017

(30) 62/305,393 08/03/2016 US; 62/346,336 06/06/2016 US

(45) 27/03/2023 420

(43) 26/08/2019 377A

(73) THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC (US)

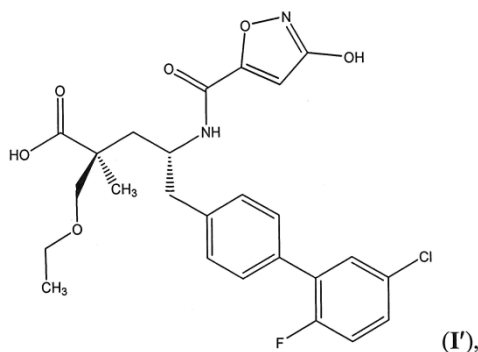
901 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 94080, United States of America

(72) HUGHES, Adam D. (GB); FLEURY, Melissa (CA); RAPTA, Miroslav (SK); THALLADI, Venkat R. (US); FASS, Gene Timothy (US); SIMEONE, Michael (US); BALDWIN, R. Michael (US); BOURDET, David L. (US).

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

(54) DẠNG TINH THỂ CỦA AXIT (2S,4R)-5-(5'-CLO-2'-FLO-[1,1'-BIPHENYL]-4-YL)-2-(ETOXYMETHYL)-4-(3-HYDROXYISOXAZOL-5-CARBOXAMIDO)-2-METHYLPENTANOIC, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ DẠNG TINH THỂ NÀY VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của hợp chất có cấu trúc:



hoặc muối dược dụng của chúng, có hoạt tính ức chế neprilysin. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa dạng tinh thể này; dạng hòa tan của nó (I); và quy trình để điều chế dạng hòa tan (I) và tinh thể (I').

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể mới có hoạt tính ức chế neprilysin. Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa hợp chất, quy trình để điều chế hợp chất, và phương pháp sử dụng hợp chất để điều trị bệnh như chứng tăng huyết áp, suy tim, và bệnh thận.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Neprilysin (endopeptidaza trung tính, EC 3.4.24.11) (NEP), là peptidaza kim loại Zn^{2+} gắn kết màng nội mô được phát hiện thấy ở nhiều cơ quan và mô, bao gồm não, thận, phổi, dải dạ dày ruột, tim, và hệ mạch ngoại biên. NEP thoái biến và làm mất hoạt tính rất nhiều peptit nội sinh, như enkephalin, bradykinin tuần hoàn, peptit angiotensin, và peptit bài natri-niệu, peptit bài natri-niệu này có một vài tác dụng bao gồm, ví dụ, giãn mạch và natri-niệu/bài niệu, cũng như ức chế sự phì đại tim và xơ hóa thất. Vì vậy, NEP đóng vai trò quan trọng trong việc làm cân bằng huyết áp nội mô và sức khỏe tim mạch.

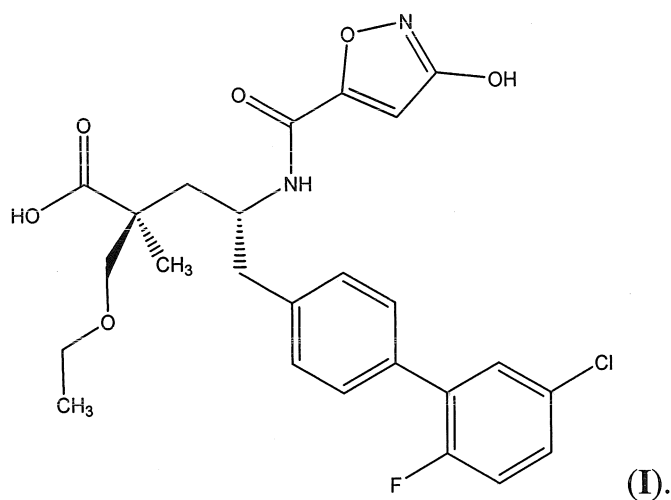
Chất ức chế NEP, như thiorphan, candoxatril, và candoxatrilat, đã được nghiên cứu dưới dạng các chất có khả năng điều trị bệnh. Hợp chất mà ức chế cả NEP và enzym chuyển hóa angiotensin-I (ACE) cũng đã được biết đến, và bao gồm omapatrilat, gempatrilat, và sampatrilat. Các hợp chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin-I cũng được gọi là các chất ức chế vaso-peptidaza đã được mô tả trong tài liệu Robl et al. (1999) *Exp. Opin. Ther. Patents* 9(12): 1665-1677.

Rất nhiều chất ức chế NEP được mô tả trong Patent Mỹ số 9 126 956 cấp cho Fleury và các đồng tác giả. Nhiều hợp chất trong số các hợp chất này có một hoặc nhiều tính chất mong muốn. Tuy nhiên, để sử dụng hiệu quả hợp chất ức chế NEP dưới dạng chất điều trị bệnh thì nó nên ở trạng thái rắn mà có thể dễ dàng điều chế và có tính ổn định vật lý và hóa học chấp nhận được. Ví dụ, nó nên tồn tại ở dạng vật lý mà ổn định nhiệt ở nhiệt độ cao một cách hợp lý, nhờ đó hỗ trợ xử lý và bảo quản

nguyên liệu, và có kích thước tinh thể nhỏ để làm tăng độ hòa tan, độ sinh khả dụng và khả năng hấp thụ, nhờ đó cho phép thu được các đặc tính phân phối thuốc mong muốn. Các tinh thể rắn thường được ưu tiên hơn dạng vô định hình, để tăng cường độ tinh khiết và tính ổn định của thành phẩm. Tuy nhiên, việc tạo thành dạng tinh thể của hợp chất hữu cơ rất khó dự đoán. Không có phương pháp chắc chắn để dự đoán, nếu có, dạng hợp chất hữu cơ nào sẽ kết tinh. Ngoài ra, không có phương pháp để dự đoán, nếu có, dạng tinh thể nào sẽ có tính chất vật lý mong muốn để sử dụng làm thuốc. Do đó, cần dạng tinh thể, ổn định mà có điểm nóng chảy cao hợp lý và kích cỡ tinh thể nhỏ.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể mới của hợp chất **I**, đã được thấy có hoạt tính ức chế enzym neprilysin (NEP). Do đó, hợp chất này được chờ đợi là hữu ích và có lợi dưới dạng chất điều trị bệnh để điều trị tình trạng bệnh như chứng tăng huyết áp, tăng huyết áp động mạch phổi, suy tim và bệnh thận. Cấu trúc của hợp chất **I** là:



Một khía cạnh theo sáng chế đề cập đến dạng axit tự do tinh thể của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic (hợp chất **I'**). Theo một phương án, hợp chất **I'** khan, không hút ẩm hoặc cả hai. Hợp chất **I'** cũng có thể được gọi là dạng tinh thể **I'**.

Khía cạnh khác theo sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa một hoặc nhiều chất mang dược dụng và hợp chất **I'**. Chế phẩm này có thể tùy ý chứa các chất điều trị bệnh khác, bao gồm nhưng không giới hạn ở, tác nhân đối kháng thụ thể AT₁, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất ức chế phosphodiesteraza (PDE), chất ức chế

renin, thuốc lợi niệu, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Hợp chất I' theo sáng chế có hoạt tính ức chế enzym NEP, và nhờ đó được chờ đợi hữu ích dưới dạng chất điều trị bệnh để điều trị bệnh nhân bị bệnh hoặc rối loạn mà được điều trị bằng cách ức chế enzym NEP hoặc bằng cách tăng mức của nền peptit của nó. Vì vậy, một khía cạnh theo sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhân bị bệnh hoặc rối loạn mà được điều trị bằng cách ức chế enzym NEP, bao gồm việc sử dụng cho bệnh nhân lượng có hiệu quả điều trị bệnh của hợp chất I'. Khía cạnh khác theo sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị chứng tăng huyết áp, tăng huyết áp động mạch phổi, suy tim, hoặc bệnh thận, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng lượng có hiệu quả điều trị bệnh của hợp chất I'. Khía cạnh khác nữa theo sáng chế đề cập đến phương pháp để ức chế enzym NEP ở đối tượng bao gồm việc sử dụng cho đối tượng, lượng ức chế enzym NEP của hợp chất I'.

Khía cạnh khác nữa theo sáng chế đề cập đến quy trình hữu ích để điều chế hợp chất I và dạng tinh thể của nó, hợp chất I'.

Khía cạnh khác nữa theo sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất I và dạng tinh thể của nó, hợp chất I', để bào chế thuốc, đặc biệt để bào chế thuốc hữu ích cho việc điều trị chứng tăng huyết áp, suy tim, hoặc bệnh thận. Khía cạnh khác theo sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất I hoặc hợp chất I' để ức chế enzym NEP ở đối tượng. Các khía cạnh và phương án khác theo sáng chế được bộc lộ trong bản mô tả này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các khía cạnh theo sáng chế được minh họa bằng cách tham chiếu đến các hình vẽ kèm theo.

FIG. 1 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X (PXRD) của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic tinh thể (I').

FIG. 2 thể hiện biểu đồ nhiệt phân tích nhiệt quét vi sai (DSC) của dạng tinh thể (I').

FIG. 3 thể hiện profin trọng lực trường nhiệt đối với dạng tinh thể (I').

FIG. 4 thể hiện đường đẳng nhiệt hấp thụ độ ẩm động (DMS) của dạng tinh thể (I').

FIG. 5 là hình ảnh kính hiển vi ánh sáng phân cực (PLM) của dạng tinh thể (I').

FIG. 6 thể hiện sự thay đổi từ đường cơ sở về huyết tương trung bình cGMP (nM) ở đối tượng khỏe mạnh không nhận liều hoặc liều duy nhất là 50 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg và 600 mg trên 24 giờ.

FIG. 7 minh họa sự thay đổi n lần về cGMP từ đường cơ sở so với liều (mg) đối với dữ liệu đã tạo ra trong một nghiên cứu liều tăng dần.

FIG. 8 là nồng độ của hợp chất I (ng/mL) với thời gian (hr) đối với dữ liệu đã tạo ra trong một nghiên cứu liều tăng dần.

FIG. 9 thể hiện % đào thải qua thận của sacubitril với hợp chất I ở đối tượng khỏe mạnh.

FIG. 10 thể hiện sự thay đổi từ đường cơ sở trong cGMP huyết tương trung bình (nM) ở ngày 14 ở đối tượng người lớn và người già khỏe mạnh không dùng liều hoặc nhận một liều 10 mg, 50 mg, 100 mg, và 200 mg trên 24 giờ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic tinh thể (I').

Hợp chất I' theo sáng chế chứa hai tâm không đối xứng và nhờ đó, hợp chất có cấu trúc này có thể tồn tại ở các dạng đồng phân lập thể. Cụ thể là, các nguyên tử cacbon có thể có cấu hình (*R,R*), (*S,S*), (*S,R*), hoặc (*R,S*) cụ thể hoặc được làm giàu ở dạng đồng phân lập thể có cấu hình này. Hợp chất I', như được thể hiện và đặt tên trong cấu hình (2*S*,4*R*). Sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực là lượng nhỏ các chất đồng phân lập thể khác có thể có mặt trong chế phẩm theo sáng chế trừ khi được chỉ định khác, miễn là tiện ích của chế phẩm nói chung không bị loại bỏ bởi sự có mặt của các chất đồng phân khác. Từng chất đồng phân lập thể có thể thu được bằng nhiều phương pháp mà đã được biết trong lĩnh vực, bao gồm phương pháp sắc ký không đối xứng sử dụng pha hoặc hỗ trợ cố định không đối xứng phù hợp, hoặc bằng cách chuyển hóa về mặt hóa học chúng thành chất đồng phân không đối quang,

tách chất đồng phân không đối quang bằng cách thông thường như sắc ký hoặc tái kết tinh, sau đó tái sinh chất đồng phân lập thể ban đầu.

Hợp chất **I'** theo sáng chế có hoạt tính ức chế neprilysin (NEP), mà là, hợp chất có thể ức chế hoạt tính xúc tác enzym. Một thước đo khả năng của hợp chất ức chế hoạt tính NEP là hằng số ức chế (pK_i). Giá trị pK_i là loga âm cơ số 10 của hằng số phân ly (K_i), thường được báo cáo ở đơn vị mol. Hợp chất theo sáng chế có pK_i ở NEP $\geq 9,0$. Các tính chất và hệ thống phụ trợ khác của hợp chất **I'** có thể được chứng minh sử dụng phân tích *in vitro* và *in vivo* đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, bao gồm, *không kể những cái khác*, được mô tả ở Patent Mỹ số 9 126 956.

Hợp chất **I'**, cũng như các hợp chất được sử dụng trong việc tổng hợp nó, cũng có thể bao gồm hợp chất được dán nhãn đồng vị, mà là, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử đã được làm giàu bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử khác với khối lượng nguyên tử phần lớn thấy trong tự nhiên. Ví dụ về chất đồng vị có thể được kết hợp vào hợp chất được mô tả ở sáng chế này, ví dụ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{36}Cl , và ^{18}F . Mỗi quan tâm cụ thể là hợp chất **I'** được làm giàu triti hoặc cacbon-14 mà có thể được sử dụng, ví dụ, trong nghiên cứu phân bố mô; hợp chất **I'** được làm giàu đoteri đặc biệt ở vị trí sự chuyển hóa dẫn đến, ví dụ, hợp chất có tính ổn định chuyển hóa lớn hơn; và hợp chất **I'** được làm giàu chất đồng vị phát positron, như ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O và ^{13}N , có thể được sử dụng, ví dụ, trong nghiên cứu địa cấu hình phát positron (PET).

Cấu trúc hóa học được đặt tên trong bản mô tả này theo quy ước IUPAC như được thực hiện ở phần mềm ChemDraw (Perkin Elmer, Inc., Cambridge, MA).

Các định nghĩa

Khi mô tả hợp chất, chế phẩm, phương pháp và quy trình theo sáng chế, các thuật ngữ sau có các nghĩa sau đây trừ khi được nêu khác đi. Ngoài ra, như được sử dụng trong bản mô tả này, dạng số ít bao gồm cả dạng số nhiều tương ứng trừ khi ngữ cảnh sử dụng chỉ khác đi một cách rõ ràng. Thuật ngữ "chứa", "bao gồm," và "có" được dự định là kể cả và có nghĩa là có thể có các thành phần bổ sung khác với các thành phần được liệt kê. Tất cả các ký tự số là số lượng các thành phần, tính chất như phân tử lượng, điều kiện phản ứng, và v.v. được sử dụng trong bản mô tả này được

hiểu là được biến đổi trong tất cả các trường hợp bằng thuật ngữ "khoảng," trừ khi được nêu khác đi. Do đó, các ký tự số nêu trong bản mô tả này là các giá trị xấp xỉ mà có thể thay đổi phụ thuộc vào tính chất mong muốn muốn có được theo sáng chế. Ít nhất, và không nhằm giới hạn sự ứng dụng của học thuyết tương đương đối với phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ, mỗi ký tự số ít nhất nên được hiểu theo các số có ý nghĩa đã được báo cáo và bằng cách áp dụng các kỹ thuật làm tròn thông thường.

Thuật ngữ "khoảng" hoặc "xấp xỉ" khi được sử dụng trong ngữ cảnh đặc tính nhiệt của Hợp chất I' được xác định là $\pm 1-3^{\circ}\text{C}$. Thuật ngữ "xấp xỉ" khi được sử dụng trong ngữ cảnh % liều Hợp chất I' được bài tiết trong nước tiểu được xác định bằng độ lớn sai số mà thường gấp khoảng hai lần độ lệch tiêu chuẩn hoặc một nửa độ rộng của khoảng tin cậy 95 phần trăm. Thuật ngữ "xấp xỉ" trong khác phần khác của bản mô tả có thể được sử dụng để chỉ độ lệch tiêu chuẩn hoặc lượng biến đổi hoặc phân tán của tập hợp các giá trị dữ liệu.

Thuật ngữ "giải phóng có kiểm soát" như được sử dụng trong bản mô tả này đồng nghĩa với giải phóng duy trì và giải phóng kéo dài và đề cập đến lượng thuốc được phân phối trong một khoảng thời gian kéo dài ở đối tượng. Thông thường, viên nén giải phóng có kiểm soát và viên nang giải phóng hoạt chất vào đối tượng trong các khoảng thời gian khoảng 8, 12, 16, và 24 giờ. Mặt khác, thuật ngữ "giải phóng ngay" dùng để chỉ hoạt chất được giải phóng trong đối tượng trong khoảng thời gian ngắn, thường là ít hơn khoảng 30 phút. Thuật ngữ "giải phóng trì hoãn" liên quan đến viên nén và viên nang giải phóng liều được phẩm sau một khoảng thời gian. Các dạng liều lượng này thường được bao tan trong ruột để ngăn chặn sự giải phóng trong dạ dày nhưng cho phép giải phóng trong dải ruột.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, cụm từ "của công thức" hoặc "có công thức" hoặc "có cấu trúc" không được dự định là giới hạn và được sử dụng theo cùng cách mà thuật ngữ "chứa" thường được sử dụng. Ví dụ, nếu một cấu trúc được thể hiện, hiểu được rằng tất cả các chất đồng phân lập thể và dạng hỗn biến được bao gồm, trừ khi được nêu khác đi.

Nhìn chung, khi mô tả chất rắn được lý, thuật ngữ "không được solvat hóa" chỉ việc "không có dung môi". Vì vậy, khi dạng tinh thể theo sáng chế được mô tả là "không được solvat hóa," có nghĩa là các hạt tinh thể chủ yếu chỉ chứa các phân tử axit

(2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic; dạng này không chứa các lượng đáng kể của phân tử dung môi chứa mạng lưới tinh thể khác hoặc nói cách khác là, dung môi không được kết hợp một cách đáng kể vào mạng lưới tinh thể. Thuật ngữ “không được solvat hóa” đồng nghĩa với thuật ngữ “không được hydrat hóa” khi nước là dung môi. Thuật ngữ “khan” có nghĩa là tinh thể chứa nước với lượng không đáng kể đến không chứa nước, đặc biệt là nước tinh thể. Lượng nước không đáng kể là giới hạn phát hiện mà nước có thể được đo. Ví dụ, việc đo hàm lượng nước bằng Karl Fischer (% trọng lượng/trọng lượng) trong bản mô tả này có thể có giới hạn định lượng (LOQ) bằng 0,20% trọng lượng/trọng lượng. Nhờ đó, lượng nước được phát hiện ra trong Hợp chất I' sẽ được báo cáo dưới dạng <LOQ hoặc <0,20% trọng lượng/trọng lượng. Hơn nữa, chất hút ẩm là chất dễ dàng hút nước từ xung quanh đó, thông qua việc hấp thụ hoặc hấp phụ. Thuật ngữ “không hút ẩm” được sử dụng để mô tả các tinh thể có xu hướng thấp hoặc không có xu hướng hấp phụ hơi ẩm vào bề mặt của nó hoặc hấp thụ nước vào mạng lưới tinh thể của nó.

Thuật ngữ “điểm nóng chảy” như được sử dụng trong bản mô tả này là nhiệt độ mà tại đó dòng nhiệt thu nhiệt tối đa được quan sát thấy bởi phép đo nhiệt lượng quét vi sai, đối với sự chuyển tiếp nhiệt tương ứng với sự thay đổi pha rắn sang lỏng.

Thuật ngữ "được dụng" dùng để chỉ nguyên liệu chấp nhận được về mặt sinh học hoặc mặt khác khi được sử dụng theo sáng chế. Ví dụ, thuật ngữ "chất mang được dụng" dùng để chỉ nguyên liệu có thể được kết hợp vào dược phẩm và được dụng cho bệnh nhân mà không gây ra các tác động sinh học không chấp nhận được hoặc tương tác theo cách không chấp nhận được với các thành phần khác của dược phẩm. Các vật liệu được dụng như vậy thường đáp ứng các tiêu chuẩn về thử nghiệm chất độc và sản xuất, và bao gồm các vật liệu được nhận biết là các thành phần không hoạt tính thích hợp được yêu cầu bởi Cục thực phẩm và Thuốc Hoa Kỳ.

Thuật ngữ "muối được dụng" là muối được điều chế từ bazơ hoặc axit chấp nhận được để dụng cho bệnh nhân, như động vật có vú (ví dụ, muối có độ an toàn ở động vật có vú chấp nhận được đối với chế độ liều lượng đã cho). Tuy nhiên, hiểu được rằng các muối theo sáng chế không được yêu cầu là muối được dụng, như các muối của hợp chất trung gian mà không được dự định là để dụng cho bệnh nhân. Muối

được dùng có thể thu được từ bazơ vô cơ hoặc hữu cơ được dùng và từ axit vô cơ hoặc hữu cơ được dùng. Ngoài ra, khi hợp chất chứa cả hai gốc bazơ, như amin, pyridin hoặc imidazol, và gốc axit như axit carboxylic hoặc tetrazol, ion lưỡng tính có thể được tạo ra và được bao gồm trong thuật ngữ "muối" như được sử dụng trong bản mô tả này. Muối thu được từ bazơ vô cơ được dùng bao gồm muối amoni, canxi, đồng, sắt (III), sắt (II), lithi, magie, mangan (III), mangan (II), kali, natri, và kẽm, và muối tương tự. Các muối thu được từ bazơ hữu cơ được dùng bao gồm các muối của amin bậc một, bậc hai và bậc ba, bao gồm amin được thế, amin vòng, amin có trong tự nhiên và dạng tương tự, như arginin, betain, cafein, cholin, *N,N'*-dibenzyletylendiamin, dietylamin, 2-dietylaminopropanol, 2-dimetylaminopropanol, etanolamin, etylendiamin, N-ethylmorpholin, N-ethylpiperidin, glucamin, glucosamin, histidin, hydrabamin, isopropylamin, lysin, methylglucamin, morpholin, piperazin, piperadin, nhựa polyamin, procain, purin, theobromin, trietylamin, trimetylamin, tripropylamin, tromethamin và dạng tương tự. Các muối thu được từ axit vô cơ được dùng bao gồm các muối của axit boric, carbonic, hydrohalic (bromhydric, clohydric, flohydric hoặc iohydric), nitric, phosphoric, sulfamic và sulfuric. Các muối thu được từ axit hữu cơ được dùng bao gồm các muối của axit hydroxyl béo (ví dụ, axit xitric, gluconic, glycolic, lactic, lactobionic, malic, và tartaric), axit monocarboxylic béo (ví dụ, axit axetic, butyric, formic, propionic và trifluoaxetic), axit amin (ví dụ, axit aspartic và glutamic), axit carboxylic thơm (ví dụ, axit benzoic, p-clobenzoic, diphenylaxetic, gentisic, hippuric, và triphenylaxetic), axit hydroxyl thơm (ví dụ, axit o-hydroxybenzoic, p-hydroxybenzoic, 1-hydroxynaphtalen-2-carboxylic và 3-hydroxynaphtalen-2-carboxylic), axit ascorbic, dicarboxylic (ví dụ, axit fumaric, maleic, oxalic và succinic), axit glucuronic, mandelic, mucic, nicotinic, orotic, pantoic, pantothenic, sulfonic (ví dụ, axit benzenesulfonic, camphosulfonic, edisyllic, etansulfonic, isethionic, metansulfonic, naphtalensulfonic, naphtalen-1,5-disulfonic, naphtalen-2,6-disulfonic và p-toluensulfonic), axit xinafoic, và axit tương tự.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu để điều trị bệnh" là lượng đủ để có tác dụng điều trị bệnh khi được dùng cho bệnh nhân cần điều trị, tức là, lượng thuốc cần để thu được tác dụng điều trị bệnh mong muốn. Ví dụ, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh để điều trị chứng tăng huyết áp là lượng hợp chất cần để, ví dụ, làm giảm, ức chế, loại bỏ, hoặc ngăn chặn các triệu chứng của chứng tăng huyết áp, hoặc điều trị nguyên nhân cơ bản

của chứng tăng huyết áp. Theo một phương án, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh là lượng thuốc cần để làm giảm huyết áp hoặc lượng thuốc cần để duy trì huyết áp bình thường. Mặt khác, thuật ngữ "lượng hữu hiệu" là lượng đủ để thu được kết quả mong muốn, mà có thể không nhất thiết phải là kết quả điều trị bệnh. Ví dụ, khi nghiên cứu hệ chứa enzym NEP, "lượng hữu hiệu" có thể là lượng cần để ức chế enzym này.

Thuật ngữ "điều trị" hoặc "sự điều trị" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là việc điều trị hoặc sự điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh (như chứng tăng huyết áp) ở bệnh nhân, như động vật có vú (đặc biệt là người) mà bao gồm một hoặc nhiều tác dụng sau đây: (a) ngăn chặn bệnh hoặc tình trạng bệnh xuất hiện, tức là, ngăn ngừa sự tái phát của bệnh hoặc tình trạng bệnh hoặc điều trị phòng ngừa cho bệnh nhân mà có khả năng mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh; (b) cải thiện bệnh hoặc tình trạng bệnh, tức là, loại bỏ hoặc khiến thuyên giảm bệnh hoặc tình trạng bệnh ở bệnh nhân; (c) ức chế bệnh hoặc tình trạng bệnh, tức là, làm chậm hoặc ngừng sự phát triển của bệnh hoặc tình trạng bệnh ở bệnh nhân; hoặc (d) làm dịu các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh ở bệnh nhân. Ví dụ, thuật ngữ "điều trị chứng tăng huyết áp" bao gồm việc ngăn chặn chứng tăng huyết áp xuất hiện, cải thiện chứng tăng huyết áp, ức chế chứng tăng huyết áp, và làm dịu các triệu chứng của chứng tăng huyết áp (ví dụ, hạ huyết áp). Thuật ngữ "đối tượng" hoặc "bệnh nhân" được dự định là bao gồm động vật có vú, như người, cần điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc đang được điều trị để ngăn ngừa bệnh hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh cụ thể, cũng như đối tượng thử nghiệm trong đó hợp chất dạng tinh thể đang được đánh giá hoặc được sử dụng trong thử nghiệm, ví dụ, mô hình động vật.

Tất cả các thuật ngữ khác được sử dụng trong bản mô tả này được dự định là có ý nghĩa thông thường của chúng như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực mà chúng liên quan đến.

Quy trình tổng hợp tổng quát

Dạng tinh thể của Hợp chất I theo sáng chế có thể được tổng hợp từ các vật liệu ban đầu có bán trên thị trường như được mô tả dưới đây và trong các Ví dụ. Sẽ hiểu được rằng khi điều kiện xử lý thông thường hoặc được ưu tiên (tức là, nhiệt độ phản ứng, nhiệt độ kết tinh, thời gian, tỷ lệ mol của các chất phản ứng, dung môi, áp suất, v.v.) được nêu ra, các điều kiện xử lý khác cũng có thể được sử dụng trừ khi có quy

định khác. Trong một số trường hợp, các phản ứng hoặc quá trình kết tinh được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng và không tiến hành đo nhiệt độ thực tế. Hiểu được rằng nhiệt độ trong phòng là nhiệt độ nằm trong khoảng thường liên quan đến nhiệt độ môi trường trong môi trường thí nghiệm, và thường nằm trong khoảng từ khoảng 15°C đến khoảng 30°C, như khoảng 20°C đến khoảng 25°C. Trong các trường hợp khác, các phản ứng hoặc quá trình kết tinh được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng và nhiệt độ này được đo một cách thực tế và được ghi lại.

Tỷ lệ mol bất kỳ được mô tả trong các phương pháp theo sáng chế có thể dễ dàng được xác định bằng các phương pháp sẵn có đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Ví dụ, các tỷ lệ mol như vậy có thể dễ dàng được xác định bởi ^1H NMR. Theo một cách khác, phép phân tích cơ bản và phương pháp HPLC có thể được sử dụng để xác định tỷ lệ mol này.

Theo một phương án, Hợp chất I có thể được điều chế bằng cách (a) liên kết benzyl (2*S*,4*R*)-4-amino-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-methylpentanoat hydroclorua với axit 3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxylic trong dung môi ở khoảng tỷ lệ mol 1:1 để thu được benzyl (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoat; và (b) giải bảo vệ benzyl (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoat để tạo ra axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic (I).

Theo một phương án, bước (a) còn bao gồm việc bổ sung chất liên kết peptit và bazơ trong khoảng tỷ lệ mol 1:3:1:1 giữa chất liên kết với bazơ với benzyl (2*S*,4*R*)-4-amino-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-methylpentanoat hydroclorua với axit 3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxylic. Các ví dụ tiêu biểu về chất liên kết peptit bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium hexaflorophosphat (HBTU), O-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium tetrafloroborat (TBTU), O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium hexaflorophosphat (HATU), O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium tetrafloroborat (TATU), O-(6-Clobenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium hexaflorophosphat (HCTU), và O-[(Etoxicarbonyl)xyanometylenamino]-N,N,N',N'-tetrametyluronium tetrafloroborat

(TOTU). Theo một phương án được ưu tiên, chất liên kết peptit là HATU, HBTU và HCTU, với HCTU được ưu tiên nhất. Ví dụ về bazơ có thể được sử dụng trong phản ứng này là DIPEA.

Theo một phương án khác, bước giải bảo vệ (b) được thực hiện với chất xúc tác paladi, ví dụ, paladi trên cacbon (5% hoặc 10% trọng lượng/trọng lượng), và khí hydro. Theo các phương án bổ sung, các bước sau có thể được thực hiện sau bước (b). Chất xúc tác paladi được loại bỏ, sau đó bổ sung chất oxy hóa như hydro peroxit. Hỗn hợp phản ứng này sau đó có thể được khuấy trong ít nhất 1 giờ hoặc tốt hơn là 2 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 20°C đến 30°C. Bước này có thể là trước bước chung cất và rửa một hoặc nhiều lần, và tùy ý làm lạnh và già hóa, trước khi phân lập Hợp chất I.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic (I'). Theo một phương án khác, dạng tinh thể này khan, không hút ẩm hoặc mang cả hai tính chất trên.

Việc điều chế dạng tinh thể I' thường được tiến hành trong chất pha loãng trơ thích hợp, các ví dụ về chúng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axeton, axetonitril, etyl axetat, methyl etyl keton, metanol, etanol, isopropanol, isobutanol, diclometan, methyl *t*-butyl ete, xyclopentyl methyl ete, hexan, và chất tương tự, và các hỗn hợp của chúng, tùy ý chứa nước. Hỗn hợp của các chất pha loãng trơ (còn được gọi là hệ dung môi) bao gồm axeton với nước, axetonitril với nước, etanol và etyl axetat, etyl axetat và hexan, và rượu bậc thấp (C₁₋₆alkyl-OH) với nước, ví dụ, metanol và nước và isopropanol và nước. Hệ dung môi đặc biệt thích hợp bao gồm etyl axetat và nước. Khi kết thúc quá trình kết tinh, hợp chất dạng tinh thể có thể được phân lập từ hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp thông thường bất kỳ như kết tủa, lọc, cô đặc, ly tâm, làm khô trong điều kiện chân không, và phương pháp tương tự.

Theo một phương án, dạng tinh thể I' có thể được điều chế bằng cách (a) tạo ra dung dịch chứa axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic (Hợp chất I) với dung môi, tùy ý chứa chất khử kim loại, ở nhiệt độ tăng lên; (b) làm lạnh dung dịch đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng -20°C đến 5°C; và (c) phân lập các chất rắn thu được để có

được dạng tinh thể I'. Theo một phương án khác, quy trình này còn bao gồm bước khuấy hoặc đảo dung dịch này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng -20°C đến 5°C.

Bước (a) thường được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng trong dung môi phân cực. Dung môi phân cực này có thể là protic hoặc aprotic và bao gồm, ví dụ, hỗn hợp của etyl axetat và nước, etyl axetat, hoặc etanol. Nhiệt độ tăng lên trong bước (a) thường nằm trong khoảng từ khoảng 60°C đến 95°C và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 70°C đến 85°C, 70°C đến 80°C, hoặc 75°C đến 85°C. Bước phân lập (c) bao gồm bước lọc, rửa bằng một hoặc nhiều dung môi, làm khô trong không khí hoặc trong chân không, hoặc kết hợp các bước này. Nếu Hợp chất I' hoặc dạng tinh thể I' được làm khô trong chân không, bước này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 70°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 30°C đến 60°C, 30°C đến 50°C, 40°C đến 60°C, hoặc 40°C đến 50°C.

Theo một phương án khác, quy trình này còn bao gồm bước khuấy hỗn hợp nêu trên ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 30°C trong ít nhất 5 phút trước khi tăng nhiệt độ đến khoảng từ 60°C đến 95°C. Theo một cách khác, bước khuấy có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 35°C trong ít nhất 1 giờ.

Theo một phương án khác nữa, hỗn hợp này còn được lắng xuống và pha không chứa nước phía trên được phân lập trước khi gia tăng nhiệt độ. Theo một cách khác, hỗn hợp này được lọc, rửa và giảm thể tích trước khi gia tăng nhiệt độ.

Theo một phương án khác nữa, nhiệt độ trong bước (b) của quy trình trên đây độc lập nằm trong khoảng từ -15°C đến -5°C hoặc theo một cách khác, độc lập nằm trong khoảng từ -5°C đến 5°C.

Tính chất kết tinh

Như đã được biết rõ trong lĩnh vực phân tích nhiễu xạ bột tia x (PXRD), các chiều cao đỉnh tương đối của mô hình PXRD phụ thuộc vào nhiều yếu tố liên quan đến việc điều chế mẫu và hình học của công cụ, trong khi các vị trí đỉnh tương đối không nhạy với các chi tiết thử nghiệm. PXRD, phân tích nhiệt quét vi sai (DSC), phân tích nhiệt trọng lượng (TGA), và đánh giá mức độ hấp thu độ ẩm động (DMS) (còn được biết đến là phân tích hấp thu-nhả hấp độ ẩm) được thực hiện như được mô tả trong bản mô tả này.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic (**I'**) và được đặc trưng bởi mô hình PXRD trong đó các vị trí đỉnh về cơ bản là theo các vị trí được thể hiện trên Fig.1.

Các đỉnh có cường độ tương đối lớn hơn 1% theo diện tích được liệt kê trong bảng dưới đây. Mô hình này thể hiện các đỉnh nhiễu xạ rõ nét nằm trong khoảng từ 5 đến 35° trong 2 θ . Các đỉnh này và các đỉnh khác trong mô hình nhiễu xạ có thể được sử dụng để nhận biết dạng này.

2 θ *	d (Å)	Diện tích	% diện tích
6,51	13,57	10871,5	100
11,17	7,92	199,4	1,8
11,62	7,61	2441,7	22,5
13,05	6,78	2380,2	21,9
15,07	5,88	3944,4	36,3
15,72	5,63	1321,5	12,2
17,12	5,18	2026,8	18,6
17,12	5,18	2026,8	18,6
18,77	4,72	979,9	9,0
19,63	4,52	585,3	5,4
20,79	4,27	1339,1	12,3
21,10	4,21	1192,2	11,0
22,38	3,97	814,6	7,5
23,28	3,82	6169,3	56,7
23,89	3,72	840,8	7,7
24,48	3,63	1053,9	9,7
25,17	3,54	281,4	2,6
25,81	3,45	1604,8	14,8
26,19	3,40	1943,7	17,9
27,05	3,29	181,9	1,7
28,11	3,17	363,1	3,3
28,76	3,10	176,1	1,6
29,21	3,06	372,8	3,4
30,29	2,95	1003,4	9,2
31,76	2,816	486,3	4,5

* các giá trị 2 θ được báo cáo dưới dạng $\pm 0,20$.

Vì vậy, theo một phương án, dạng tinh thể **I'** được đặc trưng bởi mô hình PXRD chứa các đỉnh nhiễu xạ ở giá trị 2 θ bằng 6,51 $\pm 0,20$, 11,62 $\pm 0,20$, 13,05 $\pm 0,20$, 15,07 $\pm 0,20$, và 23,28 $\pm 0,20$.

Theo một phương án khác, dạng tinh thể I' được đặc trưng bởi mô hình PXRD chứa các đỉnh nhiễu xạ ở giá trị 2θ bằng $6,51\pm 0,20$, $11,62\pm 0,20$, $13,05\pm 0,20$, $15,07\pm 0,20$, $17,12\pm 0,20$, $23,28\pm 0,20$, và $26,19\pm 0,20$.

Theo một phương án khác, dạng tinh thể I' còn được đặc trưng bởi việc có một hoặc nhiều đỉnh nhiễu xạ bổ sung ở giá trị 2θ được chọn từ $6,51\pm 0,20$, $11,62\pm 0,20$, $13,05\pm 0,20$, $15,07\pm 0,20$, $15,72\pm 0,20$, $17,12\pm 0,20$, $20,79\pm 0,20$, $21,10\pm 0,20$, $23,28\pm 0,20$, $24,48\pm 0,20$, $25,81\pm 0,20$, và $26,19\pm 0,20$; và theo một phương án khác nữa, hợp chất dạng tinh thể còn được đặc trưng bằng việc có ba hoặc nhiều đỉnh nhiễu xạ bổ sung như vậy.

Theo một phương án, dạng tinh thể I' được đặc trưng bởi biểu đồ nhiệt DSC hoặc dấu vết phân tích nhiệt quét vi sai về cơ bản là theo biểu đồ được thể hiện trên Fig.2. Dạng tinh thể I' được đặc trưng bởi dấu vết phân tích nhiệt quét vi sai được ghi lại ở tốc độ gia nhiệt là 10°C trong mỗi phút mà thể hiện tối đa trong dòng nhiệt thu nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 214°C đến khoảng 218°C . Biểu đồ nhiệt DSC hoặc dấu vết phân tích nhiệt quét vi sai minh họa sự thu nhiệt nóng chảy với đỉnh ở khoảng $216,1^{\circ}\text{C}$, bắt đầu ở $214,2^{\circ}\text{C}$, và với diện tích dưới vùng thu nhiệt tương ứng với $107,2\text{ J/g}$. Việc kết lắng hợp chất trùng khớp với sự nóng chảy và sự đóng góp $107,2\text{ J/g}$ đối với entanpi nóng chảy không được thiết lập.

Theo một phương án, dạng tinh thể I' được đặc trưng bởi profin TGA trên Fig.3. Profin này không thể hiện sự sụt khối lượng cho đến khoảng 240°C ; hợp chất dạng tinh thể kết lắng sau khi nóng chảy, như được thấy bởi sự sụt trọng lượng đáng kể diễn ra khi khởi phát ở khoảng 242°C . Không có thêm sự sụt khối lượng nào lên đến nhiệt độ kết lắng, chỉ sự thiếu các phân tử đã được hấp phụ như nước.

Theo một phương án, dạng tinh thể I' được đặc trưng bởi đường đẳng nhiệt DMS trên Fig.4. Dạng này là chất rắn không hút ẩm. Tổng cộng hơi ẩm thu được được quan sát thấp hơn $0,02\%$ trọng lượng khi được tiếp xúc với độ ẩm tương đối 5-90%. Không hiện tượng trễ đáng kể nào được thấy giữa hai chu kỳ hấp thu-nhả nháp liên tục. Chất rắn thu được sau chu kỳ hấp thu-giải hấp thể hiện mô hình PXRD giống như vật liệu ban đầu, không chỉ ra sự thay đổi về dạng sau thử nghiệm này. Các dữ liệu này chỉ ra rằng dạng tinh thể I' không chuyển hóa thành dạng được hydrat hóa khi có mặt nước. Dạng tinh thể I' vẫn không hút ẩm và nhờ đó có thể được đặc trưng dưới dạng

khan, không hút ẩm hoặc mang cả hai tính chất trên.

Dạng tinh thể **I'** có thể được đặc trưng bởi hình ảnh PLM trên Fig.5, mà thể hiện dạng này dưới dạng hạt tinh thể, khúc xạ kép, dạng đĩa.

Sử dụng

Phép ngoại suy *in vitro* sang *in vivo* của đặc tính thuốc ở đối tượng tiếp tục cải thiện (xem, ví dụ, Chiba *et al.*, AAPS J., 2009 June; 11(2): 262-276). Theo sáng chế, hoạt tính chất ức chế neprilysin người *in vitro* được đánh giá để xác định hoạt tính ức chế neprilysin của Hợp chất **I** và dạng tinh thể **I'**. Ngưỡng $pK_i \geq 9,0$ được đáp ứng. Tuy nhiên, các thử nghiệm *in vivo* bổ sung còn được thực hiện để dự đoán chính xác hơn đặc tính của Hợp chất **I** và dạng tinh thể **I'** ở đối tượng.

Đối với đặc tính *in vivo*, có một vài tính chất hữu ích trong việc đánh giá xem lượng thuốc đủ có được phân phối đến huyết tương để đạt được lợi ích điều trị bệnh cần thiết hay không, ví dụ, độ thanh thải huyết tương thấp trên tất cả các loài được thử nghiệm, độ sinh khả dụng qua đường miệng cao, khả năng thuận tiện của đáp ứng guanosin monophosphat vòng (cGMP) và độ thanh thải trong thận thấp đối với các đối tượng có chức năng thận bị tổn thương.

Đối với sáng chế, nghiên cứu dược động học qua đường miệng và trong tĩnh mạch được thực hiện ở loài chuột cống, chó và khỉ để xác định độ sinh khả dụng qua đường miệng của hợp chất **I**, tức là, dạng hòa tan của Hợp chất **I'** (thử nghiệm 1). Thử nghiệm này cũng được sử dụng để xác định tốc độ thanh thải huyết tương đối với các hợp chất này; tốc độ thanh thải thấp được tin là dự báo được khoảng thời gian bao lâu mà hợp chất được mong đợi là vẫn còn trong tuần hoàn, tức là, tính ổn định và độ lưu *in vivo* của nó mà không nhận biết từng quy trình loại bỏ có liên quan.

Nghiên cứu dược động học/dược lực học được thực hiện ở người để xác định mức độ ức chế neprilysin thu được với Hợp chất **I** (thử nghiệm 3). Trong thử nghiệm này, nồng độ guanosin monophosphat vòng (cGMP) được đo. cGMP là phân tử tác động thuận có khả năng gắn kết thụ thể lợi tiểu và vì thế nhằm làm chỉ thị sinh học hữu hiệu *in vivo* có hoạt tính peptit lợi tiểu. Nồng độ cGMP tăng lên khi động vật được dùng chất ức chế neprilysin khi so sánh với giả dược. Một phương án theo sáng chế đề cập đến phương pháp làm tăng mức độ cơ bản của peptit lợi niệu nhĩ (ANP) hoặc

cGMP ở đối tượng có chứng tăng huyết áp, suy tim, hoặc bệnh thận bao gồm việc cho đối tượng này dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Nồng độ ANP và cGMP được đo trong nước tiểu hoặc huyết tương hoặc trong cả hai ở đối tượng. Theo một phương án khác, nồng độ ANP hoặc cGMP được gia tăng ít nhất là gấp $\geq 1,1$ lần, $\geq 1,2$ lần, $\geq 1,3$ lần, $\geq 1,4$ lần, $\geq 1,5$ lần, ≥ 2 lần, ≥ 3 lần, ≥ 4 lần, hoặc ≥ 5 lần trong khoảng 24 giờ ở đối tượng khi được cho dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất 1 hoặc dạng tinh thể I'. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp làm tăng lượng guanosin monophosphat vòng trong huyết tương của người, phương pháp này bao gồm việc cho người này dùng dạng axit không chứa tinh thể. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến việc hạ huyết áp ở người, phương pháp này bao gồm việc cho người này dùng lượng hạ huyết áp của dạng axit không chứa tinh thể của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic.

Dạng tinh thể I', hòa tan thành dạng hòa tan của nó, Hợp chất I, ở đối tượng, ức chế enzym NEP, và nhờ đó được mong đợi là hữu ích đối với việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh đáp ứng với sự ức chế NEP. Vì vậy, được mong đợi là bệnh nhân mắc bệnh hoặc rối loạn được điều trị bằng cách ức chế enzym NEP hoặc bằng cách gia tăng nồng độ cơ chất peptit của nó, có thể được điều trị bằng cách sử dụng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Ví dụ, bằng cách ức chế NEP, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được chờ đợi là có thể đem lại tác dụng sinh học của peptit nội sinh được chuyển hóa bởi NEP, như peptit lợi tiểu, bombesin, bradykinin, calcitonin, endothelin, enkephalin, neurotensin, chất P và peptit ruột hoạt mạch. Vì vậy, hợp chất này được chờ đợi là có các tác động sinh lý khác, ví dụ, trên thận, hệ thần kinh trung ương, hệ sinh sản và dạ dày ruột non.

Thuốc được loại bỏ khỏi cơ thể đối tượng bằng các quy trình loại bỏ thường được phân loại là bài tiết và biến nạp sinh học. Sự bài tiết đề cập đến việc loại bỏ thuốc không bay hơi nguyên vẹn chủ yếu qua thận (cật) đến bàng quang đến nước tiểu trong khi các con đường bài tiết khác bao gồm mật (gan), mồ hôi, nước bọt, sữa (thông qua việc cho bú) hoặc các dịch thể khác. Thuốc bay hơi như rượu và khí gây mê được bài tiết thông qua phổi vào không khí thở ra. Mặt khác, sự biến nạp sinh học, hoặc sự chuyển hóa thuốc, đề cập đến thuốc được biến đổi hóa học trong cơ thể thành chất

chuyển hóa và thường là quy trình enzym hóa. Ngoại trừ là khi thuốc được biến đổi hóa học không nhờ enzym, ví dụ, thủy phân este. Enzym liên quan đến sự biến nạp sinh học của thuốc nằm chủ yếu trong gan. Các mô khác như thận, phổi, ruột non và da cũng chứa enzym chuyển hóa.

Nghiên cứu dược động học cũng có thể được sử dụng để nghiên cứu các con đường loại bỏ ở đối tượng, ví dụ, sự thanh thải trong thận thông qua sự bài tiết trong nước tiểu của thuốc được dùng theo thời gian. Sự bài tiết qua thận của Hợp chất I ở loài chuột cống, chó và khỉ cũng như người được tiến hành để đánh giá sự bài tiết qua thận dưới dạng con đường loại bỏ (thử nghiệm 2 và 4). Con đường loại bỏ này là quan trọng đối với các đối tượng có chức năng thận bị tổn thương và cần các liệu pháp mà được thanh thải một cách tối thiểu bằng sự bài tiết qua thận. Theo một phương án, sự bài tiết qua thận của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' ở đối tượng bằng khoảng $\leq 15\%$, $\leq 10\%$, $\leq 5\%$, $\leq 3\%$, $\leq 2\%$, $\leq 1\%$ hoặc $\leq 0,5\%$ liều được dùng trong 24 giờ.

Như được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây, việc xác định *in vivo* độ thanh thải huyết tương, độ sinh khả dụng qua đường miệng, và sự bài tiết qua thận trong nhiều loài động vật được thực hiện. Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có hoạt tính ức chế neprilysin người ở mức cao, độ sinh khả dụng qua đường miệng cao, độ thanh thải huyết tương thấp, khả năng cGMP tăng và sự bài tiết qua thận thấp được chờ đợi là dẫn đến việc sử dụng cụ thể trong điều trị bệnh.

Bệnh tim mạch

Bằng cách tạo ra tác dụng của peptit hoạt mạch như peptit lợi tiểu và bradykinin, Hợp chất I và dạng tinh thể I' được chờ đợi là hữu ích trong điều trị và/hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh như bệnh tim mạch. Xem, ví dụ, Roques et al. (1993) *Pharmacol. Rev.* 45:87-146 and Dempsey et al. (2009) *Amer. J. of Pathology* 174(3):782-796. Bệnh tim mạch đặc biệt được quan tâm bao gồm chứng tăng huyết áp và suy tim. Chứng tăng huyết áp bao gồm, bằng cách ví dụ và không giới hạn: chứng tăng huyết áp nguyên phát, còn được gọi là chứng tăng huyết áp bản chất hoặc chứng tăng huyết áp tự phát; chứng tăng huyết áp thứ phát; chứng tăng huyết áp đi kèm bệnh thận; chứng tăng huyết áp nghiêm trọng có hoặc không đi kèm bệnh thận; chứng tăng huyết áp phổi, bao gồm chứng tăng huyết áp động mạch phổi; và chứng tăng huyết áp kháng trị. Bệnh suy tim bao gồm, bằng cách ví dụ và không giới hạn: suy tim sung

huyết; suy tim cấp tính; suy tim mạn tính, ví dụ có phân suất tống máu thất trái giảm (còn được gọi là suy tim tâm thu) hoặc có phân suất tống máu thất trái bảo toàn (còn được gọi là suy tim tâm trương); và suy tim mất bù cấp tính và mạn tính. Vì vậy, một phương án theo sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị chứng tăng huyết áp, đặc biệt là chứng tăng huyết áp nguyên phát, chứng tăng huyết áp động mạch phổi, tăng huyết áp động mạch phổi huyết khối mạn tính (CTEPH), hoặc chứng tăng huyết áp với chứng hẹp động mạch thận bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'.

Để điều trị chứng tăng huyết áp nguyên phát, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh thường là lượng đủ để làm hạ huyết áp của bệnh nhân. Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến việc làm hạ huyết áp ở người, phương pháp này bao gồm việc cho người này dùng lượng hạ huyết áp của dạng axit không chứa tinh thể của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic. Việc này bao gồm bước điều trị cho cả chứng tăng huyết áp nhẹ đến trung bình và chứng tăng huyết áp nghiêm trọng. Khi được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được dùng kết hợp với các chất điều trị bệnh khác như chất đối kháng aldosteron, chất ức chế aldosteron synthaza, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin và chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin/neprilysin tác động kép, chất hoạt hóa và chất kích thích enzym chuyển hóa angiotensin 2 (ACE2), vắc xin angiotensin-II, chất chống tiểu đường, chất chống lipid, chất chống huyết khối, chất đối kháng thụ thể AT₁ và chất đối kháng thụ thể AT₁/chất ức chế tác động kép, chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic, chất đối kháng thụ thể β -adrenergic/chất đối kháng thụ thể α_1 tác động kép, chất chặn kênh canxi, chất lợi niệu, chất đối kháng thụ thể endothelin, chất ức chế enzym chuyển hóa endothelin, chất ức chế neprilysin, peptit lợi tiểu và các chất tương tự của chúng, chất đối kháng thụ thể thanh thải peptit lợi tiểu, chất cho nitric oxit, chất chống viêm phi steroid, chất ức chế phosphodiesteraza (cụ thể là chất ức chế PDE-V), chất chủ vận thụ thể prostaglandin, chất ức chế renin, chất kích thích và chất hoạt hóa guanylat xyclaza dễ tan, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể của sáng chế, hợp chất theo sáng chế được kết hợp với chất đối kháng thụ thể AT₁, chất chặn kênh canxi, chất lợi niệu, hoặc tổ hợp của chúng, và được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp nguyên phát. Theo phương án cụ thể khác của sáng chế, hợp chất theo sáng chế được kết hợp

với chất đối kháng thụ thể AT_1 , và được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp đi kèm bệnh thận. Khi được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp kháng trị, hợp chất này có thể được dùng kết hợp với các chất điều trị bệnh khác như chất ức chế aldosteron synthaza.

Để điều trị chứng tăng huyết áp động mạch phổi, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh thường là lượng đủ để làm hạ sự cản mạch phổi. Một mục đích điều trị khác là cải thiện khả năng vận động của bệnh nhân. Ví dụ, trong thiết lập lâm sàng, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh có thể là lượng làm cải thiện khả năng của bệnh nhân trong việc đi lại thoải mái trong khoảng 6 phút (qua quãng đường khoảng 20 đến 40 mét). Khi được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp động mạch phổi, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được dùng kết hợp với các chất điều trị bệnh khác như chất đối kháng thụ thể α -adrenergic, chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic, chất chủ vận thụ thể β_2 -adrenergic, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất chống đông máu, chất chặn kênh canxi, chất lợi niệu, chất đối kháng thụ thể endothelin, chất ức chế PDE-V, chất tương tự prostaglandin, chất ức chế tái hấp thụ serotonin có chọn lọc, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể của sáng chế, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được kết hợp với chất ức chế PDE-V hoặc chất ức chế tái hấp thụ serotonin có chọn lọc và được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp động mạch phổi.

Để điều trị chứng tăng huyết áp động mạch phổi huyết khối mạn tính, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh thường là lượng đủ để làm hạ huyết áp trong động mạch phổi bất kể hiện tượng tắc mạch phổi có hình thành trong đôi tượng hay không.

Ngoài ra, để điều trị chứng tăng huyết áp với chứng hẹp động mạch thận, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh thường là lượng đủ để làm hạ huyết áp. Đối với các đối tượng có chứng hẹp động mạch thận, các động mạch bị thu hẹp do chứng xơ vữa động mạch. Điều này là do cơ thể nhận ít máu đến thận, giải thích đây là huyết áp thấp, mà kết quả là các tín hiệu giải phóng hormon để làm tăng huyết áp. Theo thời gian việc này có thể dẫn đến bệnh suy thận.

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến phương pháp để điều trị suy tim, đặc biệt là suy tim sung huyết (bao gồm cả suy tim sung huyết tâm trương và tâm thu), bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Thông thường, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh là lượng đủ để làm hạ

huyết áp và/hoặc cải thiện chức năng thận. Trong thiết lập lâm sàng, lượng hữu hiệu để điều trị bệnh có thể là lượng đủ để cải thiện huyết động lực nhịp tim, như ví dụ làm giảm áp lực nêm, áp lực tâm nhĩ phải, áp suất làm đầy, và sức cản mạch máu. Theo một phương án, hợp chất được dùng dưới dạng liều lượng dùng trong tĩnh mạch. Khi được sử dụng để điều trị suy tim, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được dùng kết hợp với các chất điều trị bệnh khác như chất đối kháng thụ thể adenosin, chất phá vỡ thành phẩm glycat hóa bền vững, chất đối kháng aldosteron, chất đối kháng thụ thể AT₁, chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic, chất đối kháng thụ thể β -adrenergic/chất đối kháng thụ thể α_1 tác động kép, chất ức chế chymaza, digoxin, chất lợi niệu, chất ức chế enzym chuyển hóa endothelin (ECE), chất đối kháng thụ thể endothelin, peptit lợi tiểu và các chất tương tự của chúng, chất đối kháng thụ thể thanh thải peptit lợi tiểu, chất cho nitric oxit, chất tương tự prostaglandin, chất ức chế PDE-V, chất hoạt hóa và chất kích thích guanylat xyclaza dễ tan, và chất đối kháng thụ thể vasopressin. Theo một phương án cụ thể của sáng chế, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được kết hợp với chất đối kháng aldosteron, chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic, chất đối kháng thụ thể AT₁, hoặc chất lợi niệu, và được sử dụng để điều trị chứng suy tim sung huyết.

Bệnh tiêu chảy

Dưới dạng chất ức chế NEP, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được chờ đợi là ức chế sự suy biến của enkephalin nội sinh và vì vậy các hợp chất như vậy cũng có thể hữu ích cho việc điều trị bệnh tiêu chảy, bao gồm bệnh tiêu chảy truyền nhiễm và bệnh tiêu chảy bài tiết nhiều/lỏng. Xem, ví dụ, Baumer et al. (1992) *Gut* 33:753-758; Farthing (2006) *Digestive Diseases* 24:47-58; và Marçais-Collado (1987) *Eur. J. Pharmacol.* 144(2):125-132. Khi được sử dụng để điều trị bệnh tiêu chảy, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được kết hợp với một hoặc nhiều chất chống tiêu chảy bổ sung.

Bệnh thận

Nhờ có tác dụng của peptit hoạt mạch như peptit lợi tiểu và bradykinin, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được chờ đợi là tăng cường chức năng thận (xem Chen et al. (1999) *Circulation* 100:2443-2448; Lipkin et al. (1997) *Kidney Int.* 52:792-801; và Dussaule et al. (1993) *Clin. Sci.* 84:31-39) và hữu ích trong điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh thận ở đối tượng suy thận. Bệnh thận đặc biệt được quan tâm bao gồm bệnh thận

do tiểu đường, bệnh thận mạn tính, protein niệu, và đặc biệt là tổn thương thận cấp (do, ví dụ, phẫu thuật tim mạch, hóa trị, hoặc sử dụng các chất nhuộm tương phản trong chụp hình y tế) hoặc suy thận cấp (xem Sharkovska et al. (2011) *Clin. Lab.* 57:507-515 and Newaz et al. (2010) *Renal Failure* 32:384-390). Các bệnh thận đặc biệt được quan tâm khác bao gồm hội chứng hư thận, viêm cầu thận xơ hóa khu trú từng phần (FSGS) và bệnh thận đa nang (PKD).

Đối tượng suy thận có bệnh thận mạn tính (CKD) có thể được phân loại theo chỉ dẫn của Hội đồng Thận học Quốc gia Mỹ (NKF KDOQI). Mỗi khi bệnh thận mạn tính được hình thành, tức là, phá hủy thận hoặc tốc độ lọc cầu thận (GFR) <60 mL/phút/1,73 m² trong ≥ 3 tháng, giai đoạn của bệnh có thể được quy định theo sự phân loại của KDOQI CKD. Các giai đoạn này bao gồm *Giai đoạn 1* (phá hủy thận với GFR bình thường hoặc tăng): GFR ≥ 90 ; *Giai đoạn 2* (phá hủy thận với GFR giảm nhẹ): GFR 60-89; *Giai đoạn 3* (GFR giảm trung bình): GFR 30-59; *Giai đoạn 4* (GFR giảm nghiêm trọng): GFR 15-29; và *Giai đoạn 5* (suy thận): GFR <15 (hoặc thẩm tách). GFR được xác định theo đơn vị là mL/phút/1,73 m².

Một phương án bao gồm phương pháp điều trị cho đối tượng suy thận bao gồm việc sử dụng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Phương pháp này còn bao gồm việc điều trị cho đối tượng suy thận có chứng tăng huyết áp hoặc suy tim. Khi được sử dụng để điều trị bệnh thận, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được dùng kết hợp với các chất điều trị bệnh khác như chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất đối kháng thụ thể AT₁, và chất lợi niệu.

Phương án khác bao gồm phương pháp điều trị cho đối tượng suy thận có bệnh thận mạn tính có tốc độ lọc cầu thận được ước tính (eGFR) nằm trong khoảng từ 60 mL/phút/1,73 m² đến 15 mL/phút/1,73 m² bao gồm việc cho bệnh nhân này dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Phương án khác bao gồm phương pháp điều trị cho đối tượng suy thận có bệnh thận mạn tính có tốc độ lọc cầu thận được ước tính (eGFR) ≥ 90 mL/phút/1,73 m² (Giai đoạn 1) hoặc eGFR <15 mL/phút/1,73 m² (Giai đoạn 5) bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Nhằm mục đích theo sáng chế, bệnh thận nghiêm trọng có thể được phân loại là eGFR <30 mL/phút/1,73 m². Theo một phương án khác nữa, phương pháp điều trị cho đối tượng suy thận có bệnh thận

mạn tính được phân loại là Giai đoạn 1, Giai đoạn 2, Giai đoạn 3, Giai đoạn 4, Giai đoạn 5 hoặc các khoảng eGFR bao gồm một hoặc nhiều giai đoạn Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' này được bao gồm.

Điều trị ngăn ngừa

Nhờ có tác dụng của peptit lợi tiểu, Hợp chất 1 còn được chờ đợi là hữu ích trong điều trị ngăn ngừa, do tác dụng chống phì đại và chống xơ hóa của peptit lợi tiểu (xem Potter et al. (2009) *Handbook of Thử nghiệm Pharmacology* 191:341-366), ví dụ, trong ngăn ngừa sự tiến triển của bệnh suy tim sau khi nhồi máu cơ tim, ngăn ngừa chứng tái phát hẹp động mạch sau khi tạo hình mạch máu, ngăn ngừa quá trình làm đặc vách mạch máu sau phẫu thuật tim, ngăn ngừa chứng xơ vữa động mạch, và ngăn ngừa bệnh mạch máu do tiểu đường.

Bệnh thiên đầu thống

Nhờ có tác dụng của peptit lợi tiểu, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được chờ đợi là hữu ích để điều trị bệnh thiên đầu thống. Xem, ví dụ, Diestelhorst et al. (1989) *International Ophthalmology* 12:99-101. Khi được sử dụng để điều trị bệnh thiên đầu thống, Hợp chất 1 có thể được kết hợp với một hoặc nhiều chất chống thiên đầu thống bổ sung.

Giảm đau

Dưới dạng chất ức chế NEP, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được chờ đợi là ức chế sự suy biến của enkephalin nội sinh và vì vậy hợp chất như vậy cũng có thể hữu ích làm thuốc giảm đau. Xem, ví dụ, Roques et al. (1980) *Nature* 288:286-288 and Thanawala et al. (2008) *Current Drug Díchs* 9:887-894. Khi được sử dụng để điều trị cơn đau, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được kết hợp với một hoặc nhiều thuốc chống cảm thụ đau bổ sung như chất ức chế aminopeptidaza N hoặc dipeptidyl peptidaza III, chất chống viêm phi steroid, chất ức chế tái hấp thụ monoamin, thuốc giãn cơ, chất đối kháng thụ thể NMDA, chất chủ vận thụ thể opioit, chất chủ vận thụ thể 5-HT_{1D} serotonin, và thuốc chống trầm cảm ba vòng.

Các sử dụng khác

Do tính chất ức chế NEP của nó, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' còn được chờ đợi là hữu ích làm chất chống ho, cũng như hữu ích trong việc điều trị chứng tăng

huyết áp kịch phát kết hợp với chứng xơ gan (xem Sansoe et al. (2005) *J. Hepatol.* 43:791-798), bệnh ung thư (xem Vesely (2005) *J. Investigative Med.* 53:360-365), chứng trầm cảm (xem Noble et al. (2007) *Exp. Opin. Ther. Dicks* 11:145-159), rối loạn kinh nguyệt, sinh non, tiền sản giật, lạc nội mạc tử cung, rối loạn sinh sản (ví dụ, bệnh vô sinh ở nam và nữ, hội chứng buồng trứng đa nang, suy giảm mảnh ghép), và rối loạn tình dục ở nam và nữ, bao gồm rối loạn cương dương ở nam và rối loạn hưng phấn tình dục ở nữ. Cụ thể hơn, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được chờ đợi là hữu ích trong điều trị rối loạn tình dục ở nữ giới (xem Pryde et al. (2006) *J. Med. Chem.* 49:4409-4424), thường được xác định là sự khó khăn ở bệnh nhân là nữ hoặc không có khả năng đạt khoái cảm trong biểu hiện tình dục. Điều này bao gồm các rối loạn tình dục ở nữ giới khác nhau bao gồm, bằng cách ví dụ và không giới hạn, rối loạn giảm ham muốn tính dục, rối loạn hưng phấn tình dục, rối loạn cực khoái và rối loạn đau khi quan hệ tình dục. Khi được sử dụng để điều trị các rối loạn như vậy, đặc biệt là rối loạn tình dục ở nữ giới, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với một hoặc nhiều chất phụ sau đây: chất ức chế PDE-V, chất chủ vận dopamin, chất chủ vận và/hoặc chất đối kháng thụ thể estrogen, androgen, và estrogen. Do tính chất ức chế NEP của nó, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' còn được chờ đợi là có tính chất chống viêm, và được chờ đợi là hữu ích ở dạng nguyên trạng, đặc biệt là khi được sử dụng kết hợp với statin.

Các nghiên cứu gần đây gợi ý rằng NEP đóng vai trò trong điều hòa chức năng thần kinh ở bệnh tiểu đường thiếu insulin và bệnh béo phì do chế độ ăn. Coppey et al. (2011) *Neuropharmacology* 60:259-266. Nhờ đó, do tính chất ức chế NEP của nó, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' còn được chờ đợi là hữu ích trong việc có được sự bảo vệ tránh suy giảm thần kinh do bệnh tiểu đường hoặc bệnh béo phì do chế độ ăn gây ra.

Lượng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng trong mỗi liều hoặc tổng lượng được dùng trong mỗi ngày có thể được xác định từ trước hoặc nó có thể được xác định dựa trên từng bệnh nhân bằng cách xét đến nhiều yếu tố, bao gồm bản chất và độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý ở bệnh nhân, tình trạng bệnh lý đang được điều trị, độ tuổi, cân nặng, và sức khỏe tổng quát của bệnh nhân, sự dung nạp của bệnh nhân với hoạt chất, đường dùng, các cân nhắc dược lý như profin hoạt tính, độ hiệu nghiệm, dược động học và độ độc của hợp chất và chất phụ bất kỳ đang được dùng, và

yếu tố tương tự. Việc điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh (như chứng tăng huyết áp) có thể bắt đầu bằng liều lượng được xác định từ trước hoặc liều lượng được xác định bởi bác sĩ điều trị, và sẽ tiếp tục trong khoảng thời gian cần để ngăn ngừa, cải thiện, ức chế, hoặc làm dịu các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh. Bệnh nhân trải qua sự điều trị này thường được theo dõi trên cơ sở thường lệ để xác định hiệu quả điều trị. Ví dụ, trong điều trị chứng tăng huyết áp, các số đo huyết áp có thể được sử dụng để xác định hiệu quả điều trị. Các chỉ định tương tự đối với bệnh và tình trạng bệnh lý khác được mô tả trong bản mô tả này, đã được biết rõ và dễ dàng có sẵn đối với bác sĩ điều trị. Việc theo dõi liên tục bởi bác sĩ sẽ đảm bảo rằng lượng tối ưu của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' sẽ được dùng ở thời điểm cho trước bất kỳ, cũng như hỗ trợ việc xác định khoảng thời gian điều trị. Điều này có giá trị đặc biệt khi các chất phụ cũng được dùng, dưới dạng chọn lọc của chúng, liều lượng, và khoảng thời gian điều trị cũng có thể cần phải điều chỉnh. Theo cách này, phác đồ điều trị và lịch trình dùng liều có thể được điều chỉnh trong quá trình điều trị để lượng hoạt chất có hiệu quả mong muốn được dùng là thấp nhất và, ngoài ra, việc dùng đó chỉ được tiếp tục với điều kiện là nhất thiết phải điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh một cách thành công.

Hợp chất I cũng hữu ích làm hợp chất trung gian hữu ích cho việc điều chế dạng tinh thể của Hợp chất I, bao gồm, ví dụ, dạng tinh thể I'

Công cụ nghiên cứu

Do Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có hoạt tính ức chế enzym NEP, nó cũng hữu ích làm công cụ nghiên cứu để khám phá hoặc nghiên cứu các hệ thống sinh học hoặc các mẫu sinh học có enzym NEP, ví dụ, để nghiên cứu về bệnh khi enzym NEP hoặc cơ chất peptit của nó có vai trò. Hệ thống hoặc mẫu sinh học thích hợp bất kỳ có enzym NEP có thể được sử dụng trong các nghiên cứu này mà có thể được tiến hành *in vitro* hoặc *in vivo*. Các hệ thống hoặc mẫu sinh học tiêu biểu thích hợp cho các nghiên cứu này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tế bào, chất chiết tế bào, màng huyết tương, mẫu mô, cơ quan đã phân lập, động vật có vú (như chuột nhắt, chuột cống, chuột lang, thỏ, chó, lợn, người, và v.v.), và dạng tương tự, với động vật có vú đang đặc biệt được quan tâm. Theo một phương án cụ thể của sáng chế, hoạt tính enzym NEP ở động vật có vú được ức chế bằng cách sử dụng lượng ức chế NEP của Hợp chất

I hoặc dạng tinh thể I'.

Khi được sử dụng dưới dạng công cụ nghiên cứu, hệ thống hoặc mẫu sinh học chứa enzym NEP thường được cho tiếp xúc với lượng ức chế enzym NEP của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Sau khi hệ thống hoặc mẫu sinh học tiếp xúc với hợp chất, tác dụng ức chế enzym NEP được xác định bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường, như bằng cách đo mức độ gắn kết thụ thể trong thử nghiệm gắn kết hoặc đo các thay đổi qua trung gian phối tử trong thử nghiệm chức năng. Việc tiếp xúc bao gồm việc các tế bào hoặc mô tiếp xúc với hợp chất, việc sử dụng hợp chất cho động vật có vú, ví dụ, bằng cách dùng *i.p.*, *p.o.*, *i.v.*, *s.c.*, hoặc xông hít, và v.v.. Bước xác định này có thể bao gồm việc xác định đáp ứng (phân tích số lượng) hoặc có thể bao gồm việc tiến hành quan sát (phân tích chất lượng). Việc xác định đáp ứng bao gồm, ví dụ, xác định tác dụng của hợp chất đến hệ thống hoặc mẫu sinh học bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường, như thử nghiệm hoạt tính enzym và xác định cơ chất enzym hoặc các thay đổi qua trung gian sản phẩm trong các thử nghiệm chức năng. Các kết quả thử nghiệm này có thể được sử dụng để xác định mức hoạt tính cũng như lượng hợp chất cần để đạt được kết quả mong muốn, tức là, lượng ức chế enzym NEP. Thông thường, bước xác định bao gồm việc xác định tác dụng ức chế enzym NEP.

Ngoài ra, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được sử dụng làm công cụ nghiên cứu để đánh giá các hợp chất hóa học khác, và vì vậy cũng hữu ích trong các thử nghiệm sàng lọc để tìm ra, ví dụ, các hợp chất mới có hoạt tính ức chế NEP. Theo cách này, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được sử dụng làm tiêu chuẩn trong thử nghiệm để cho phép so sánh các kết quả thu được với hợp chất thử nghiệm và Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' để nhận biết các hợp chất thử nghiệm có hoạt tính gần bằng hoặc ưu việt hơn, nếu có. Ví dụ, dữ liệu pK_i đối với hợp chất thử nghiệm hoặc nhóm các hợp chất thử nghiệm được so sánh với dữ liệu pK_i đối với Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' để nhận biết các hợp chất thử nghiệm có tính chất mong muốn, ví dụ, hợp chất thử nghiệm có giá trị pK_i bằng hoặc tốt hơn hợp chất theo sáng chế. Khía cạnh này của sáng chế bao gồm, dưới dạng các phương án riêng rẽ, cả việc tạo ra dữ liệu so sánh (sử dụng các thử nghiệm thích hợp) và việc phân tích dữ liệu thử nghiệm để nhận biết hợp chất thử nghiệm đang quan tâm. Vì vậy, hợp chất thử nghiệm có thể được

đánh giá trong thử nghiệm sinh học, bằng phương pháp bao gồm các bước: (a) tiến hành thử nghiệm sinh học với hợp chất thử nghiệm để có được giá trị thử nghiệm thứ nhất; (b) tiến hành thử nghiệm sinh học với Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' để có được giá trị thử nghiệm thứ hai; trong đó bước (a) được tiến hành trước, sau hoặc đồng thời với bước (b); và (c) so sánh giá trị thử nghiệm thứ nhất từ bước (a) với giá trị thử nghiệm thứ hai từ bước (b). Ví dụ về thử nghiệm sinh học bao gồm thử nghiệm ức chế enzym NEP.

Khía cạnh khác nữa của sáng chế đề cập đến phương pháp nghiên cứu hệ thống hoặc mẫu sinh học chứa enzym NEP, phương pháp này bao gồm: (a) bước cho hệ thống hoặc mẫu sinh học này tiếp xúc với Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'; và (b) bước xác định tác dụng do hợp chất tạo ra đến hệ thống hoặc mẫu sinh học.

Dược phẩm và dạng phối trộn

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' thường được dùng cho bệnh nhân ở dạng dược phẩm hoặc dạng phối trộn. Các dược phẩm như vậy có thể được dùng cho bệnh nhân bằng đường dùng chấp nhận được bất kỳ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, cách thức dùng qua đường miệng, trực tràng, âm đạo, mũi, xông hít, cục bộ (bao gồm áp da), mắt, và ngoài đường tiêu hóa. Ngoài ra, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được dùng, ví dụ, qua đường miệng, trong nhiều liều mỗi ngày (ví dụ, hai, ba, hoặc bốn lần mỗi ngày), trong một liều hằng ngày đơn lẻ hoặc liều hằng tuần đơn lẻ. Sẽ hiểu được rằng dạng bất kỳ của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I', (tức là, bazơ tự do, axit tự do, muối dược dụng, solvat, v.v.) mà thích hợp cho cách dùng cụ thể có thể được sử dụng trong dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa chất mang dược dụng và Hợp chất 1. Dược phẩm này có thể chứa chất điều trị bệnh khác và/hoặc chất phối trộn nếu muốn. Khi mô tả về dược phẩm, "Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'" cũng có thể được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng "hoạt chất," để phân biệt nó với các thành phần khác của dạng phối trộn đó, như chất mang. Vì vậy, hiểu được rằng thuật ngữ "hoạt chất" bao gồm Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng như các muối dược dụng của nó.

Dược phẩm theo sáng chế thường chứa lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận ra rằng, dược phẩm có thể chứa nhiều hơn lượng hữu hiệu để điều trị bệnh, như trong dược phẩm dạng đóng khối, hoặc ít hơn lượng hữu hiệu để điều trị bệnh, tức là, từng liều đơn vị được thiết kế cho nhiều lần dùng để có được lượng hữu hiệu để điều trị bệnh. Thông thường, dược phẩm này chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 99% trọng lượng, với lượng thực tế phụ thuộc vào bản thân dạng phối trộn, đường dùng, chế độ dùng liều, và v.v.. Theo một phương án, dược phẩm thích hợp do dạng liều lượng dùng qua đường miệng, ví dụ, có thể chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 99% trọng lượng, hoặc nằm trong khoảng từ 50 đến 99% trọng lượng.

Chất mang hoặc tá dược thông thường bất kỳ có thể được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế. Việc lựa chọn chất mang hoặc tá dược cụ thể, hoặc dạng kết hợp của chất mang hoặc tá dược, sẽ phụ thuộc vào cách dùng đang được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân hoặc dạng tình trạng bệnh hoặc trạng thái bệnh cụ thể. Về mặt này, việc bào chế dược phẩm thích hợp cho cách dùng cụ thể cũng nằm trong phạm vi kiến thức của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực dược lý. Ngoài ra, chất mang hoặc tá dược được sử dụng trong dược phẩm này thường có bán trên thị trường. Bằng cách minh họa, các kỹ thuật phối trộn thông thường được mô tả trong *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); và H. C. Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Các ví dụ tiêu biểu về vật liệu mà có thể nhằm làm chất mang dược dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vật liệu sau đây: đường, như lactoza, glucoza và sucroza; tinh bột, như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; xenluloza, như xenluloza vi tinh thể, và các dẫn xuất của nó, như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; muối của axit béo, như magie stearat; bột tragacanth; mạch nha; gelatin; bột talc; các tá dược, như bơ cacao và sáp thuốc đạn; dầu, như dầu lạc, dầu hạt bông, dầu rum, dầu vừng, dầu oliu, dầu ngô và dầu đậu nành; glycol, như propylen glycol; rượu đa chức, như glyxerin, sorbitol, mannitol và polyetylen glycol; este, như etyl oleat và etyl laurat; thạch; chất đệm, như magie hydroxit và nhôm hydroxit; axit alginic; nước không chứa pyrogen; nước muối đẳng trương; dung dịch Ringer; rượu

etylic; dung dịch đệm phosphat; khí nén nổ đẩy, như cloflocarbon và hydroflocarbon; và các chất tương tích không độc khác được sử dụng trong dược phẩm.

Theo một phương án theo sáng chế, chất mang dược dụng là magie stearat. Ví dụ, dược phẩm có thể chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' và magie stearat ở tỷ lệ bằng khoảng 3:1 đến khoảng 10:1 giữa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' với magie stearat. Các tỷ lệ khác giữa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' với magie stearat bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 1:1, 5:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1 và 50:1. Theo một phương án khác, lượng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' với magie stearat có thể được biểu thị dưới dạng % trọng lượng. Ví dụ, dược phẩm có thể chứa 99% trọng lượng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' và 1% trọng lượng magie stearat. Theo một phương án khác, tỷ lệ trọng lượng giữa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' với magie stearat nằm trong khoảng từ 85:15 đến 99:1, một cách tương ứng. Theo một phương án được ưu tiên, tỷ lệ trọng lượng của Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' với magie stearat nằm trong khoảng từ 95:5 đến 99:1, tốt hơn là 99:1.

Dược phẩm thường được bào chế bằng cách trộn hoặc pha kỹ và thận trọng hoạt chất với chất mang dược dụng và một hoặc nhiều thành phần tùy ý. Hỗn hợp đã được pha đều thu được sau đó có thể được tạo hình hoặc được nạp vào viên nén, viên nang, viên tròn, hộp nhỏ, khay chứa, chất phân tán và dạng tương tự bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường.

Theo một phương án, dược phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng. Các dược phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng có thể ở dạng viên nang, viên nén, viên tròn, viên nhện, túi nhỏ, viên bao đường, bột, hạt; dung dịch hoặc hỗn dịch trong chất lỏng chứa nước hoặc không chứa nước; nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc nước trong dầu; cồn ngọt hoặc siro; và dạng tương tự; mỗi dạng chứa lượng được xác định từ trước của hoạt chất.

Khi được dự định để dùng qua đường miệng trong dạng liều lượng rắn (viên nang, viên nén, viên tròn và dạng tương tự), dược phẩm thường chứa hoạt chất và một hoặc nhiều chất mang dược dụng, như natri xitrat, dicanxi phosphat, hoặc magie stearat. Dạng liều lượng rắn cũng có thể bao gồm chất độn hoặc chất kéo dài, như tinh bột, xenluloza vi tinh thể, lactoza, sucroza, glucoza, mannitol, và/hoặc axit silixic; chất liên kết, như carboxymetylxenluloza, alginat, gelatin, polyvinyl pyrrolidon, sucroza

và/hoặc acacia; chất tạo ẩm, như glyxerol; chất phân rã, như thạch-thạch, canxi carbonat, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột sắn, axit alginic, một số silicat, và/hoặc natri carbonat; chất làm chậm hòa tan, như parafin; chất tăng cường hấp thụ, như hợp chất amoni bậc bốn; chất thấm ướt, như rượu etylic và/hoặc glyxerol monostearat; chất hấp thụ, như cao lanh và/hoặc đất sét bentonit; chất làm trơn, như bột talc, canxi stearat, magie stearat, polyetylen glycol rắn, natri lauryl sulfat, và/hoặc các hỗn hợp của chúng; chất tạo màu; và chất đệm. Nhằm mục đích theo sáng chế này, thuật ngữ “chất mang dược dụng” bao gồm tất cả các thuật ngữ như chất mang, chất độn hoặc chất kéo dài, chất liên kết, chất tạo ẩm, chất làm chậm hòa tan, chất thấm ướt, chất hấp thụ, chất làm trơn, chất tạo màu và chất đệm được mô tả trên đây.

Chất giải phóng, chất thấm ướt, chất phủ, chất làm ngọt, chất tạo hương vị và chất tạo hương thơm, chất bảo quản và chất chống oxy hóa cũng có thể có mặt trong dược phẩm. Chất phủ lấy làm ví dụ đối với viên nén, viên nang, viên tròn và dạng tương tự, bao gồm các chất được sử dụng cho bao tan trong ruột, như xenluloza axetat phthalat, polyvinyl axetat phthalat, hydroxypropyl metylxenluloza phthalat, copolyme axit metacrylic-este của axit metacrylic, xenluloza axetat trimelitat, carboxymetyl etyl xenluloza, hydroxypropyl metyl xenluloza axetat succinat, và chất tương tự. Các ví dụ về chất chống oxy hóa được dụng bao gồm: chất chống oxy hóa hòa tan trong nước, như axit ascorbic, xystein hydroclorua, natri bisulfat, natri metabisulfat natri sulfit và chất tương tự; chất chống oxy hóa hòa tan trong dầu, như ascorbyl palmitat, hydroxyanisol được butyl hóa, hydroxytoluen được butyl hóa, lexithin, propyl galat, alpha-tocopherol, và chất tương tự; và chất chelat kim loại, như axit xitric, axit etylendiamin tetraaxetic, sorbitol, axit tartaric, axit phosphoric, và chất tương tự.

Dược phẩm cũng có thể được phối trộn để có được sự giải phóng chậm hoặc được kiểm soát của hoạt chất sử dụng, bằng ví dụ, hydroxypropyl metyl xenluloza ở các tỷ lệ thay đổi hoặc các hỗn hợp polyme khác, liposom và/hoặc vi cầu. Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa chất cản quang và có thể được phối trộn sao cho chúng chỉ giải phóng hoạt chất, hoặc tốt hơn là, ở phần nhất định của dải dạ dày ruột non, tùy ý, theo cách trì hoãn. Các ví dụ về dược phẩm ngâm mà có thể được sử dụng bao gồm chất polyme và sáp. Hoạt chất cũng có thể ở dạng được vi nang hóa, tùy ý với một hoặc nhiều tá dược được mô tả trên đây.

Một phương án theo sáng chế bao gồm dạng liều dùng dùng qua đường miệng

chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' trong viên nang, viên nén, chất lỏng hoặc hỗn dịch. Phương án khác theo sáng chế đề cập đến dạng liều lượng dùng qua đường miệng khi sự giải phóng hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' ở đối tượng là giải phóng ngay lập tức, có kiểm soát hoặc được làm chậm. Nếu viên nang được sử dụng dưới dạng dạng liều lượng dùng qua đường miệng, phương án khác bao gồm viên nang gồm có gelatin, polysacarit hoặc polyme tổng hợp. Theo một phương án cụ thể, viên nang chứa hydroxypropyl methylxenluloza.

Vật liệu viên nang thích hợp theo sáng chế được chọn từ gelatin, dẫn xuất xenluloza, tinh bột, dẫn xuất tinh bột, chitosan và chất dẻo tổng hợp. Nếu gelatin được sử dụng làm vật liệu viên nang, nó có thể được sử dụng trong hỗn hợp với các chất phụ gia khác được chọn từ polyetylen glycol (PEG), glyxerol, sorbitol, polypropylen glycol, copolyme khối PEO-PPO và các rượu đa chức khác và polyete. Khi dẫn xuất xenluloza được sử dụng làm vật liệu viên nang, hydroxypropylmethylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, methylxenluloza, hydroxymethylxenluloza và hydroxyetylxenluloza là polyme được ưu tiên. Nếu chất dẻo tổng hợp được sử dụng làm vật liệu viên nang, polyetylen, polycarbonat, polyeste, polypropylen và polyetylen terephthalat là vật liệu được ưu tiên. Đặc biệt được ưu tiên là polyetylen, polycarbonat hoặc polyetylen terephthalat.

Dạng liều lượng lỏng thích hợp để dùng qua đường miệng bao gồm, bằng cách ví dụ, nhũ tương được dụng, vi nhũ tương, dung dịch, hỗn dịch, siro và cồn ngọt. Dạng liều lượng lỏng thường chứa hoạt chất và chất pha loãng trợ, như, ví dụ, nước hoặc các dung môi khác, chất hòa tan và chất nhũ hóa, như rượu etylic, rượu isopropylic, etyl carbonat, etyl axetat, rượu benzylic, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dầu (ví dụ, dầu hạt bông, lạc, ngô, mầm, oliu, thầu dầu và vừng), glyxerol, rượu tetrahydrofurylic, polyetylen glycol và este của axit béo của sorbitan, và các hỗn hợp của chúng. Hỗn dịch có thể chứa chất tạo hỗn dịch như, ví dụ, rượu isostearylic được etoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol và sorbitan este, xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, thạch-thạch và tragacanth, và các hỗn hợp của chúng.

Khi được dự định để dùng qua đường miệng, dược phẩm theo sáng chế có thể được đóng gói ở dạng đơn vị liều lượng. Thuật ngữ "dạng đơn vị liều lượng" dùng để chỉ đơn vị riêng rẽ về mặt vật lý thích hợp để định liều dùng cho bệnh nhân, tức là,

mỗi đơn vị chứa lượng được xác định từ trước của hoạt chất được tính để có được tác dụng điều trị bệnh mong muốn một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều đơn vị bổ sung. Ví dụ, dạng đơn vị liều lượng này có thể là viên nang, viên nén, viên tròn, và dạng tương tự.

Theo một phương án khác, dược phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng xông hít, và thường ở dạng khí dung hoặc bột. Dược phẩm này thường được dùng bằng cách sử dụng các thiết bị phân phối đã được biết rõ, như ống phun, bột khô, hoặc dụng cụ xông hít định liều. Thiết bị dạng ống phun tạo ra dòng không khí vận tốc cao khiến cho dược phẩm được phun dưới dạng sương mà được đưa vào đường hô hấp của bệnh nhân. Dạng phối trộn dùng ống phun lấy làm ví dụ chứa hoạt chất được hòa tan trong chất mang để tạo ra dung dịch, hoặc được micron hóa và được kết hợp với chất mang để tạo ra hỗn dịch chứa các hạt được micron hóa có kích cỡ tương ứng. Dụng cụ xông hít bột khô dùng hoạt chất dưới dạng bột chảy tự do mà được phân tán trong dòng khí thở của bệnh nhân trong khi hít vào. Dạng phối trộn bột khô lấy làm ví dụ chứa hoạt chất được pha khô với tá dược như lactoza, tinh bột, mannitol, dextroza, axit polylactic, polylactit-co-glycolit, và hỗn hợp của chúng. Dụng cụ xông hít định liều xả lượng đã được đo của hoạt chất bằng cách sử dụng khí nén nổ đẩy. Dạng phối trộn định liều lấy làm ví dụ chứa dung dịch hoặc hỗn dịch chứa hoạt chất trong chất nổ đẩy được hóa lỏng, như cloflocarbon hoặc hydrofloalkan. Các thành phần tùy ý của dạng phối trộn này bao gồm đồng dung môi, như etanol hoặc pentan, và chất hoạt động bề mặt, như sorbitan trioleat, axit oleic, lexithin, glyxerin, và natri lauryl sulfat. Dược phẩm này thường được bào chế bằng cách bổ sung hydrofloalkan đã làm lạnh hoặc nén vào vật chứa thích hợp chứa hoạt chất, etanol (nếu có) và chất hoạt động bề mặt (nếu có). Để điều chế hỗn dịch, hoạt chất này được micron hóa và sau đó được kết hợp với chất nổ đẩy. Theo một cách khác, hỗn dịch dạng phối trộn có thể được điều chế bằng cách sấy phun lớp bao chứa chất hoạt động bề mặt trên các hạt được micron hóa của hoạt chất. Dạng phối trộn này sau đó được nạp vào hộp khí dung, tạo ra một phần của thiết bị xông hít.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' và dược phẩm chứa chúng cũng có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, bằng cách tiêm dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, hoặc trong màng bụng. Để dùng như vậy, hoạt chất được cung cấp trong dung dịch, hỗn dịch, hoặc nhũ tương vô trùng. Các dung môi lấy làm ví dụ để điều chế dạng phối

trộn này bao gồm nước, nước muối, chất điện giải, rượu phân tử lượng thấp như propylen glycol và polyetylen glycol, dầu, axit amin, gelatin, đường, este của axit béo như etyl oleat, và chất tương tự. Dạng phối trộn dùng ngoài đường tiêu hóa cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất chống oxy hóa, chất hòa tan, chất ổn định, chất bảo quản, chất thẩm ướt, chất nhũ hóa, và chất phân tán. Chất hoạt động bề mặt, chất ổn định bổ sung hoặc chất điều chỉnh độ pH (axit, bazơ hoặc chất đệm) và chất chống oxy hóa đặc biệt hữu ích để mang lại tính ổn định cho dạng phối trộn này, ví dụ, tối thiểu hóa hoặc tránh sự thủy phân este và liên kết amit mà có thể có mặt trong hợp chất. Các dạng phối trộn này có thể được biến đổi vô trùng bằng cách sử dụng môi trường tiệt vô trùng, chất vô trùng, chất lọc, bức xạ, hoặc nhiệt.

Chất mang chứa nước sinh lý dụng tiêu biểu bao gồm, bằng ví dụ, nước vô trùng dùng để tiêm, USP; chất tiêm dextroza, USP (ví dụ, 2,5, 5,0, 10, 20% dextroza, bao gồm 5% chất tiêm dextroza (D5/W)); chất tiêm dextroza và natri clorua, USP (ví dụ, dextroza thay đổi từ 2,5 đến 10% và natri clorua thay đổi từ 0,12 (19 mEq natri) đến 0,9% (154 mEq natri)); chất tiêm mannitol, USP, (ví dụ, 5, 10, 15, 20 và 25% mannitol); chất tiêm Ringer, USP (ví dụ, 147 mEq natri, 4 mEq kali, 4,5 mEq canxi và 156 mEq clorua mỗi lít); chất tiêm Ringer được lactat hóa, USP (ví dụ, 2,7 mEq canxi, 4 mEq kali, 130 mEq natri, và 28 mEq lactat mỗi lít); chất tiêm natri clorua, USP (ví dụ, 0,9% natri clorua) và chất tương tự.

Khi được dùng cho bệnh nhân, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' thường được pha loãng trong khoảng 0,5mL đến khoảng 10mL chất mang chứa nước trong mỗi mg hợp chất I hoặc dạng tinh thể I', như từ khoảng 0,6 đến khoảng 8mL trong mỗi mg.

Theo một phương án cụ thể, dạng phối trộn dùng ngoài đường tiêu hóa chứa dung dịch cyclodextrin chứa nước dưới dạng chất mang được dụng. Các cyclodextrin thích hợp bao gồm phân tử vòng chứa sáu hoặc nhiều đơn vị α -D-glucopyranoza được liên kết ở vị trí 1,4 bằng liên kết như trong amylaza, β -cyclodextrin hoặc xycloheptaamyloza. Xyclodextrin lấy làm ví dụ bao gồm dẫn xuất xyclodextrin như hydroxypropyl và sulfobutyl ete xyclodextrin như hydroxypropyl- β -xyclodextrin và sulfobutyl ete β -xyclodextrin. Chất đệm lấy làm ví dụ đối với dạng phối trộn như vậy bao gồm chất đệm nền axit carboxylic như dung dịch đệm xitrat, lactat và maleat. Theo một phương án theo sáng chế, dạng liều lượng dùng trong tĩnh mạch chứa Hợp

chất I hoặc dạng tinh thể I' trong dung dịch đậm.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' hoặc được phẩm chứa chúng là bột được làm khô lạnh. Thông thường, bột được làm khô lạnh vô trùng và được đóng gói trong lọ bịt bằng van kín hoặc lọ nhỏ hoặc vật chứa tương tự.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng áp da bằng cách sử dụng hệ thống phân phối áp da đã biết và các tá dược. Ví dụ, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được trộn với chất tăng cường thẩm thấu, như propylen glycol, polyetylen glycol monolaurat, azaxycloalkan-2-on và chất tương tự, và được kết hợp vào miếng dán hoặc hệ phân phối tương tự. Các tá dược bổ sung bao gồm chất tạo gel, chất nhũ hóa và chất đệm, có thể được sử dụng trong dược phẩm dùng áp da này nếu muốn.

Chất phụ

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể hữu ích dưới dạng điều trị riêng lẻ cho bệnh hoặc có thể được kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bệnh bổ sung để thu được tác dụng điều trị bệnh mong muốn. Vì vậy, theo một phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa các dược chất khác được dùng đồng thời với Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Ví dụ, dược phẩm này có thể còn chứa một hoặc nhiều dược chất (còn được gọi là "(các) chất phụ"). Chất điều trị bệnh này đã được biết rõ trong lĩnh vực, và bao gồm chất đối kháng thụ thể adenosin, chất đối kháng thụ thể α -adrenergic, chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic, chất chủ vận thụ thể β_2 -adrenergic, chất đối kháng thụ thể β -adrenergic/chất đối kháng thụ thể α_1 tác động kép, chất phá vỡ thành phẩm glycat hóa bền vững, chất đối kháng aldosteron, chất ức chế aldosteron synthaza, chất ức chế aminopeptidaza N, androgen, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin và chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin/neprilysin tác động kép, chất hoạt hóa và chất kích thích enzym chuyển hóa angiotensin 2, vắc xin angiotensin-II, chất chống đông máu, chất chống tiểu đường, chất chống tiêu chảy, chất chống bệnh thiên đầu thống, chất chống lipid, chất chống cảm thụ đau, chất chống huyết khối, chất đối kháng thụ thể AT_1 và chất đối/chất ức chế kháng thụ thể AT_1 tác động kép và chất phong bế thụ thể angiotensin đa chức, chất đối kháng thụ thể bradykinin, chất chặn kênh canxi, chất ức chế chymaza, digoxin, chất lợi niệu, chất chủ vận dopamin, chất ức chế enzym chuyển hóa endothelin, chất đối kháng thụ thể endothelin, chất ức chế HMG-CoA reductaza,

estrogen, chất chủ vận và/hoặc chất đối kháng thụ thể estrogen, chất đối kháng thụ thể corticoid khoáng, chất ức chế tái hấp thụ monoamin, thuốc giãn cơ, peptit lợi tiểu và các chất tương tự của chúng, chất đối kháng thụ thể thanh thải peptit lợi tiểu, chất ức chế neprilysin, chất cho nitric oxit, chất chống viêm phi steroid, chất đối kháng thụ thể N-metyl D-aspartat, chất chủ vận thụ thể opioid, chất ức chế phosphodiesteraza (ví dụ, PDE5 và PDE9), chất tương tự prostaglandin, chất chủ vận thụ thể prostaglandin, chất ức chế renin, chất ức chế tái hấp thụ serotonin có chọn lọc, chất chặn kênh natri, chất kích thích và chất hoạt hóa guanylat cyclaza dễ tan, thuốc chống trầm cảm ba vòng, chất đối kháng thụ thể vasopressin, và hỗn hợp của chúng. Các ví dụ cụ thể về các chất này được nêu chi tiết trong bản mô tả này.

Một phương án cụ thể bao gồm dược phẩm chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' hoặc dạng tinh thể của chúng và chất đối kháng thụ thể AT₁, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất ức chế phosphodiesteraza (PDE), chất ức chế renin, chất lợi niệu, hoặc hỗn hợp của chúng, và tùy ý một hoặc nhiều chất mang dược dụng.

Do đó, theo một khía cạnh khác nữa của sáng chế, dược phẩm chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I', hoạt chất thứ hai, và chất mang dược dụng. Hoạt chất thứ ba, thứ tư v.v. cũng có thể được bao gồm trong dược phẩm. Trong liệu pháp kết hợp, lượng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng, cũng như lượng chất phụ, có thể thấp hơn lượng thường được dùng trong liệu pháp đơn.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được trộn theo phương pháp vật lý với hoạt chất thứ hai để tạo ra dược phẩm chứa cả hai chất này; hoặc mỗi chất có thể có mặt trong dược phẩm riêng rẽ và tách biệt được dùng cho bệnh nhân đồng thời hoặc ở nhiều thời điểm riêng rẽ. Ví dụ, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được kết hợp với hoạt chất thứ hai bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường để tạo ra tổ hợp của các hoạt chất chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' và hoạt chất thứ hai. Ngoài ra, hoạt chất có thể được kết hợp với chất mang dược dụng để tạo ra dược phẩm chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I', hoạt chất thứ hai và chất mang dược dụng. Theo phương án này, các thành phần của dược phẩm thường được trộn hoặc được pha để tạo ra hỗn hợp vật lý. Hỗn hợp vật lý này sau đó được dùng với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh bằng cách sử dụng đường bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này.

Theo một cách khác, hoạt chất có thể vẫn riêng rẽ và tách biệt trước khi dùng

cho bệnh nhân. Theo phương án này, các chất không được trộn theo phương pháp vật lý cùng với nhau trước khi dùng nhưng được dùng đồng thời hoặc ở nhiều thời điểm riêng rẽ dưới dạng chế phẩm riêng rẽ. Chế phẩm này có thể được đóng gói riêng rẽ hoặc có thể được đóng gói cùng nhau trong bộ kit. Khi được dùng ở các thời điểm riêng rẽ, chất phụ thường được dùng dưới 24 giờ sau khi dùng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I', nằm trong khoảng bất kỳ từ đồng thời với việc dùng hợp chất theo sáng chế đến khoảng 24 giờ sau khi dùng liều đó. Đây còn được gọi là dùng tuần tự. Vì vậy, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' có thể được dùng qua đường miệng một cách đồng thời hoặc tuần tự với hoạt chất khác bằng cách sử dụng hai viên nén, với một viên nén cho mỗi hoạt chất, khi tuần tự có thể nghĩa là được dùng ngay sau khi dùng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' hoặc ở một số thời điểm được xác định từ trước sau đó (ví dụ, một giờ sau đó hoặc ba giờ sau đó). Cũng được bao gồm là chất phụ có thể được dùng trên 24 giờ sau khi dùng Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'. Theo một cách khác, hỗn hợp này có thể được dùng bằng các đường dùng khác nhau, tức là, một chất dùng qua đường miệng và chất còn lại dùng bằng cách xông hít.

Theo một phương án, bộ kit chứa dạng liều lượng thứ nhất chứa Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' và ít nhất một dạng liều lượng bổ sung chứa một hoặc nhiều chất phụ nêu trong bản mô tả này, với các lượng đủ để tiến hành phương pháp theo sáng chế. Dạng liều lượng thứ nhất và dạng liều lượng thứ hai (hoặc thứ ba, v.v.) cùng chứa lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của hoạt chất để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh ở bệnh nhân.

(Các) chất phụ, khi được bao gồm, có mặt với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh sao cho chúng thường được dùng với lượng tạo ra tác dụng đem lại hiệu quả điều trị bệnh khi được dùng đồng thời với Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' theo sáng chế. Chất phụ có thể ở dạng muối được dụng, solvat, chất đồng phân lập thể tinh khiết quang học, và v.v.. Chất phụ cũng có thể ở dạng tiền dược chất, ví dụ, hợp chất có nhóm axit carboxylic đã được este hóa. Vì vậy, chất phụ được liệt kê trong bản mô tả này được dự định là bao gồm tất cả các dạng như vậy, và có thể mua được trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng quy trình và chất phản ứng thông thường.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể adenosin, các ví dụ về chúng bao gồm naxifylin, rolofilylin,

SLV-320, theophylin, và tonapofylin.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể α -adrenergic, các ví dụ về chúng bao gồm doxazosin, prazosin, tamsulosin, và terazosin.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic ("chất phong bế β_1 "), các ví dụ về chúng bao gồm axebutolol, alprenolol, amosulalol, arotinolol, atenolol, befunolol, betaxolol, bevantolol, bisoprolol, bopindolol, buxindolol, bucumolol, bufetolol, bufuralol, bunitrolol, bupranolol, bubridin, butofilolol, carazolol, carteolol, carvedilol, xeliprolol, xetamolol, cloranolol, dilevalol, epanolol, esmolol, indenolol, labetolol, levobunolol, mepindolol, metipranolol, metoprolol như metoprolol succinat và metoprolol tartrat, moprolol, nadolol, nadoxolol, nebivalol, nipradilol, oxprenolol, penbutolol, perbutolol, pindolol, practolol, pronethalol, propranolol, sotalol, sufinalol, talindol, tertatolol, tilisolol, timolol, toliprolol, xibenolol, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, chất đối kháng β_1 được chọn từ atenolol, bisoprolol, metoprolol, propranolol, sotalol, và hỗn hợp của chúng. Thông thường, chất phong bế β_1 được dùng với lượng đủ để có được từ khoảng 2 đến 900 mg trong mỗi liều.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể β_2 -adrenergic, các ví dụ về chúng bao gồm albuterol, bitolterol, fenoterol, formoterol, indacaterol, isoetharin, levalbuterol, metaproterenol, pirbuterol, salbutamol, salmefamol, salmeterol, terbutalin, vilanterol, và chất tương tự. Thông thường, chất chủ vận thụ thể β_2 -adrenergic được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 0,05 đến 500 μ g trong mỗi liều.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất phá vỡ thành phẩm glycat hóa bền vững (AGE), các ví dụ về chúng bao gồm alagebrium (hoặc ALT-711) và TRC4149.

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng aldosteron, các ví dụ về chúng bao gồm eplerenon, spironolacton, và hỗn hợp của chúng. Thông thường, chất đối kháng aldosteron được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 5 đến 300mg mỗi ngày.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế aminopeptidaza N hoặc dipeptidyl peptidaza III, các ví dụ về chúng bao gồm bestatin và PC18 (2-amino-4-metylsulfonyl butan thiol, methionin thiol).

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng kết hợp với chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin (ACE), các ví dụ về chúng bao gồm acxupril, alaxepiril, benazepril, benazeprilat, captopril, xeranapril, xilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, fosinoprilat, imidapril, lisinopril, moexipril, monopril, moveltipril, pentopril, perindopril, quinapril, quinaprilat, ramipril, ramiprilat, saralasin axetat, spirapril, temocapril, trandolapril, zofenopril, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, chất ức chế ACE được chọn từ: benazepril, captopril, enalapril, lisinopril, ramipril, và hỗn hợp của chúng. Thông thường, chất ức chế ACE được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 1 đến 150 mg mỗi ngày.

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin/neprilysin (ACE/NEP) tác động kép, các ví dụ về chúng bao gồm: AVE-0848 (axit (4*S*,7*S*,12*bR*)-7-[3-metyl-2(*S*)-sulfanylbutyramido]-6-oxo-1,2,3,4,6,7,8,12*b*-octahydropyrido[2,1-*a*][2]-benzazepin-4-carboxylic); AVE-7688 (ilepatril) và hợp chất gốc của nó; BMS-182657 (axit 2-[2-oxo-3(*S*)-[3-phenyl-2(*S*)-sulfanylpropionamido]-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-1-benzazepin-1-yl]axetic); CGS-35601 (N-[1-[4-metyl-2(*S*)-sulfanylpentanamido]xyclopentyl-carbonyl]-L-tryptophan); fasidotril; fasidotrilat; enalaprilat; ER-32935 (axit (3*R*,6*S*,9*aR*)-6-[3(*S*)-metyl-2(*S*)-sulfanylpentanamido]-5-oxoperhydrothiazolo[3,2-*a*]azepin-3-carboxylic); gempatrilat; MDL-101264 (axit (4*S*,7*S*,12*bR*)-7-[2(*S*)-(2-morpholinoaxetylthio)-3-phenylpropionamido]-6-oxo-1,2,3,4,6,7,8,12*b*-octahydropyrido[2,1-*a*][2]benzazepin-4-carboxylic); MDL-101287 (axit [4*S*-[4*α*,7*α*(*R**),12*bβ*]]-7-[2-(carboxymetyl)-3-phenylpropionamido]-6-oxo-1,2,3,4,6,7,8,12*b*-octahydropyrido[2,1-*a*][2]benzazepin-4-carboxylic); omapatrilat; RB-105 (N-[2(*S*)-(mercaptometyl)-3(*R*)-phenylbutyl]-L-alanin); sampatrilat; SA-898 ((2*R*,4*R*)-N-[2-(2-hydroxyphenyl)-3-(3-mercaptopropionyl)thiazolidin-4-ylcarbonyl]-L-phenylalanin); Sch-50690 (N-[1(*S*)-carboxy-2-[N2-(metansulfonyl)-L-lysylamino]etyl]-L-valyl-L-tyrosin); và hỗn hợp của chúng, cũng có thể được bao gồm. Theo một phương án cụ thể, chất ức chế ACE/NEP được chọn từ: AVE-7688, enalaprilat, fasidotril, fasidotrilat, omapatrilat, sampatrilat, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất hoạt hóa hoặc chất kích thích enzym chuyển hóa angiotensin 2 (ACE2).

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với vắc xin angiotensin-II, các ví dụ về chúng bao gồm ATR12181 và CYT006-AngQb.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chống đông máu, các ví dụ về chúng bao gồm: coumarin như warfarin; heparin; và chất ức chế thrombin trực tiếp như argatroban, bivalirudin, dabigatran, và lepirudin.

Theo một phương án khác nữa, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chống tiêu đường, các ví dụ về chúng bao gồm thuốc tiêm cũng như thuốc hữu hiệu khi dùng qua đường miệng, và hỗn hợp của chúng. Các ví dụ về thuốc tiêm bao gồm insulin và các dẫn xuất insulin. Các ví dụ về thuốc hữu hiệu khi dùng qua đường miệng bao gồm: biguanit như metformin; chất đối kháng glucagon; chất ức chế α -glucosidaza như acarboza và miglitol; chất ức chế dipeptidyl peptidaza IV (chất ức chế DPP-IV) như alogliptin, denagliptin, linagliptin, saxagliptin, sitagliptin, và vildagliptin; meglitinit như repaglinid; oxadiazolidindion; sulfonylure như clorpropamid, glimepirit, glipizit, glyburit, và tolazamid; thiazolidindion như pioglitazon và rosiglitazon; và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với điều trị chống tiêu chảy. Các lựa chọn điều trị tiêu biểu bao gồm dung dịch thủy phân lại dùng qua đường miệng (ORS), loperamid, diphenoxylat, và bismuth subsalixylat.

Theo một phương án khác nữa, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chống bệnh thiên đầu thống, các ví dụ về chúng bao gồm: chất chủ vận α -adrenergic như brimonidin; chất đối kháng thụ thể β_1 -adrenergic; chất phong bế β_1 cục bộ như betaxolol, levobunolol, và timolol; chất ức chế carbonic anhydrase như acetazolamid, brinzolamid, hoặc dorzolamid; chất chủ vận tác động kiểu cholin như xevimelin và DMXB-anabasein; hợp chất epinephrin; chất co đồng tử như pilocarpin; và chất tương tự prostaglandin.

Theo một phương án khác nữa, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chống lipid, các ví dụ về chúng bao gồm: chất ức chế protein chuyển hóa

cholesteryl este (CETP) như anaxetrapib, dalxetrapib, và torcetrapib; statin như atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, pravastatin, rosuvastatin và simvastatin; và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chống huyết khối, các ví dụ về chúng bao gồm: aspirin; chất chống tiểu cầu như clopidogrel, prasugrel, và ticlopidin; heparin, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể AT₁, còn được biết đến là chất phong bế thụ thể angiotensin II typ 1 (ARBs). Các ARB tiêu biểu bao gồm abitesartan, azilsartan (ví dụ, azilsartan medoxomil), benzylosartan, candesartan, candesartan xilexetil, elisartan, embusartan, enoltasartan, eprosartan, EXP3174, fonsartan, forasartan, glyxylosartan, irbesartan, isoteolin, losartan, medoxomil, milfasartan, olmesartan (ví dụ, olmesartan medoxomil), opomisartan, prazosartan, ripisartan, saprisartan, saralasin, sarmesin, TAK-591, tasosartan, telmisartan, valsartan, zolasartan, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, ARB được chọn từ azilsartan medoxomil, candesartan xilexetil, eprosartan, irbesartan, losartan, olmesartan medoxomil, saprisartan, tasosartan, telmisartan, valsartan, và hỗn hợp của chúng. Các muối và/hoặc tiền dược chất lấy làm ví dụ bao gồm candesartan xilexetil, eprosartan mesylat, muối losartan kali, và olmesartan medoxomil. Thông thường, ARB được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 4 đến 600mg trong mỗi liều, với liều lượng hằng ngày lấy làm ví dụ nằm trong khoảng từ 20 đến 320mg mỗi ngày.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng kết hợp với chất tác động kép, như chất đối kháng thụ thể AT₁/chất ức chế (ARB/NEP), các ví dụ về chúng bao gồm các hợp chất được mô tả trong Patent Mỹ số 7,879,896 và 8,013,005, cả hai đều của Allegretti et al., như hợp chất, axit 4'-{2-etoxy-4-etyl-5-[(S)-2-mercapto-4-methylpentanoylamino)-metyl]imidazol-1-ylmetyl}-3'-flobiphenyl-2-carboxylic.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng kết hợp với chất phong bế thụ thể angiotensin đa chức như được mô tả trong Kurtz & Klein (2009) *Hypertension Research* 32:826-834.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể bradykinin, ví dụ, icatibant (HOE-140). Được mong đợi là việc

điều trị kết hợp này có thể có ưu điểm ngăn ngừa phù mạch hoặc các hậu quả không mong muốn khác của nồng độ bradykinin gia tăng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chặn kênh canxi, các ví dụ về chúng bao gồm amlodipin, anipamil, aranipin, barnidipin, benxyclan, benidipin, bepridil, clentiazem, xilnidipin, xinnarizin, diltiazem, efonidipin, elgodipin, etafenon, felodipin, fendilin, flunarizin, galopamil, isradipin, laxidipin, lercanidipin, lidoflazin, lomerizin, manidipin, mibefradil, nicardipin, nifedipin, niguldipin, niludipin, nilvadipin, nimodipin, nisoldipin, nitrendipin, nivaldipin, perhexilin, prenylamin, ryosidin, semotiadil, terodilin, tiapamil, verapamil, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, chất chặn kênh canxi được chọn từ amlodipin, bepridil, diltiazem, felodipin, isradipin, lacidipin, nicardipin, nifedipin, niguldipin, niludipin, nimodipin, nisoldipin, ryosidin, verapamil, và hỗn hợp của chúng. Thông thường, chất chặn kênh canxi được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 2 đến 500mg trong mỗi liều.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế chymaza, như TPC-806 và 2-(5-formylamino-6-oxo-2-phenyl-1,6-dihydropyrimidin-1-yl)-N-[[3,4-dioxo-1-phenyl-7-(2-pyridyloxy))-2-heptyl]axetamit (NK3201).

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất lợi niệu, các ví dụ về chúng bao gồm: chất ức chế carbonic anhydrase như axetazolamit và diclorphenamit; chất lợi niệu dạng vòng, bao gồm dẫn xuất sulfonamit như axetazolamit, ambusit, azosemit, bumetanit, butazolamit, cloraminophenamit, clofenamit, clopamit, clorexolon, disulfamit, ethoxzolamit, furosemit, mefrusit, methazolamit, piretanit, torsemit, tripamit, và xipamit, cũng như chất lợi niệu không phải sulfonamit như axit ethacrynic và hợp chất axit phenoxyaxetic khác như axit tienilic, indacrinon và quincabat; chất lợi niệu osmotik như mannitol; chất lợi niệu ít kali, bao gồm chất đối kháng aldosteron như spironolacton, và chất ức chế kênh Na^+ như amiloridte và triamteren; thiazit và chất lợi niệu như thiazit như althiazit, bendroflumethiazit, benzyhydrochlorothiazit, benzthiazit, buthiazit, clorthalidon, clothiazit, xyclopenthiazit, xyclothiazit, epithiazit, ethiazit, fenquizon, flumethiazit, hydrochlorothiazit, hydroflumethiazit, indapamit, metylclothiazit, meticran, metolazon,

paraflutizit, polythiazit, quinethazon, teclothiazit, và triclomethiazit; và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, chất lợi niệu được chọn từ amilorit, bumetanit, clothiazit, clorthalidon, dichlorphenamit, axit ethacrynic, furosemit, hydroclothiazit, hydroflumethiazit, indapamit, metylclothiazit, metolazon, torsemit, triamteren, và hỗn hợp của chúng. Chất lợi niệu được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 5 đến 50mg mỗi ngày, cụ thể hơn là từ 6 đến 25mg mỗi ngày, với liều lượng thông thường là 6,25mg, 12,5mg hoặc 25mg mỗi ngày.

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng kết hợp với chất ức chế enzym chuyển hóa endothelin (ECE), các ví dụ về chúng bao gồm phosphoramidon, CGS 26303, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án cụ thể, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể endothelin, các ví dụ về chúng bao gồm: chất đối kháng thụ thể endothelin có chọn lọc mà tác động đến thụ thể endothelin A, như avosentan, ambrisentan, atrasentan, BQ-123, clazosentan, darusentan, sitaxentan, và zibotentan; và chất đối kháng thụ thể endothelin kép mà tác động đến cả thụ thể endothelin A và B, như bosentan, macitentan, và tezosentan.

Theo một phương án khác nữa, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế HMG-CoA reductaza, còn được biết đến là statin. Các statin tiêu biểu bao gồm atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin và simvastatin.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế tái hấp thụ monoamin, các ví dụ về chúng bao gồm chất ức chế tái hấp thụ norepinephrin như atomoxetin, bupropion và hydroxybupropion chuyển hóa bupropion, maprotilin, reboxetin, và viloxazin; chất ức chế tái hấp thụ serotonin có chọn lọc (SSRI) như xitalopram và desmetylxitalopram chuyển hóa xitalopram, dapoxetine, esxitalopram (ví dụ, esxitalopram oxalat), fluoxetine và norfluoxetine chuyển hóa fluoxetine desmetyl, fluvoxamin (ví dụ, fluvoxamin maleat), paroxetine, sertraline và demetylsertraline chuyển hóa sertraline; chất ức chế tái hấp thụ serotonin-norepinephrin kép (SNRI) như bixifadin, duloxetine, milnaxipran, nefazodon, và venlafaxin; và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp

với thuốc giãn cơ, các ví dụ về chúng bao gồm: carisoprodol, clorzoxazon, xyclobenzaprin, diflunisal, metaxalon, metocarbamol, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với peptit lợi tiểu hoặc chất tương tự, các ví dụ về chúng bao gồm: carperitit, CD-NP (Nile therapeutics), CU-NP, nesiritit, PL-3994 (Palatin Technologies, Inc.), ularitit, xenderitit, và các hợp chất được mô tả trong Ogawa et al (2004) *J.Biol.Chem.* 279:28625-31. Các hợp chất này còn được gọi là chất chủ vận thụ thể-A của peptit lợi tiểu (NPR-A). Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể thành thải peptit lợi tiểu (NPR-C) như SC-46542, cANF (4-23), và AP-811 (Veale (2000) *Bioorg Med Chem Lett* 10:1949-52). Ví dụ, AP-811 đã thể hiện tính hiệp đồng khi được kết hợp với chất ức chế NEP, thiorphan (Wegner (1995) *Clin.Exper.Hypert.* 17:861-876).

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế neprilysin (NEP), các ví dụ về chúng bao gồm: AHU-377; candoxatril; candoxatrilat; dexecadotril ((+)-N-[2(R)-(axetylthiometyl)-3-phenylpropionyl]glyxin benzyl este); CGS-24128 (axit 3-[3-(biphenyl-4-yl)-2-(phosphonometylamino)propionamido]propionic); CGS-24592 (axit (S)-3-[3-(biphenyl-4-yl)-2-(phosphonometylamino)propionamido]propionic); CGS-25155 (N-[9(R)-(axetylthiometyl)-10-oxo-1-azaxyclodecan-2(S)-ylcarbonyl]-4(R)-hydroxy-L-prolin benzyl este); dẫn xuất axit 3-(l-carbamoylxyclohexyl)propionic được mô tả trong WO 2006/027680 của Hepworth et al. (Pfizer Inc.); JMV-390-1 (2(R)-benzyl-3-(N-hydroxycarbamoyl)propionyl-L-isoleuxyl-L-leuxin); ecadotril; phosphoramidon; retrothiorphan; RU-42827 (2-(mercaptometyl)-N-(4-pyridinyl)benzenpropionamit); RU-44004 (N-(4-morpholinyl)-3-phenyl-2-(sulfanylmetyl)propionamit); SCH-32615 ((S)-N-[N-(1-carboxy-2-phenyletyl)-L-phenylalanyl]-β-alanin) và tiền dược chất của nó SCH-34826 ((S)-N-[N-[1-[(2,2-dimetyl-1,3-dioxolan-4-yl)metoxy]carbonyl]-2-phenyletyl]-L-phenylalanyl]-β-alanin); sialorphin; SCH-42495 (N-[2(S)-(axetylsulfanylmetyl)-3-(2-metylphenyl)propionyl]-L-methionin etyl este); spinorphin; SQ-28132 (N-[2-(mercaptometyl)-1-oxo-3-phenylpropyl]leuxin); SQ-28603 (N-[2-(mercaptometyl)-1-oxo-3-phenylpropyl]-β-alanin); SQ-29072 (axit 7-[[2-(mercaptometyl)-1-oxo-3-phenylpropyl]amino]heptanoic); thiorphan và tiền dược chất raxecadotril của nó; UK-69578 (axit cis-4-[[[1-[2-carboxy-3-(2-

metoxyetoxy)propyl]xyclopentyl]carbonyl]amino] cyclohexancarboxylic); UK-447,841 (axit 2-{1-[3-(4-clophenyl)propylcarbamoyle]-xyclopentylmetyl}-4-metoxibutyric); UK-505,749 (axit (*R*)-2-metyl-3-{1-[3-(2-metylbenzothiazol-6-yl)propylcarbamoyle]xyclopentyl}propionic); axit 5-biphenyl-4-yl-4-(3-carboxypropionylamino)-2-metylpentanoic và etyl este của axit 5-biphenyl-4-yl-4-(3-carboxypropionylamino)-2-metylpentanoic (WO 2007/056546); daglutril [axit (3*S*,2'*R*)-3-{1-[2'-(etoxycarbonyl)-4'-phenylbutyl]-xyclopentan-1-carbonylamino}-2,3,4,5-tetrahydro-2-oxo-1*H*-1-benzazepin-1-axetic] được mô tả trong WO 2007/106708 của Khder et al. (Novartis AG); và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, chất ức chế NEP được chọn từ AHU-377, candoxatril, candoxatrilat, CGS-24128, phosphoramidon, SCH-32615, SCH-34826, SQ-28603, thiorphan, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, chất ức chế NEP là hợp chất như daglutril hoặc CGS-26303 (axit [N-[2-(biphenyl-4-yl)-1(*S*)-(1*H*-tetrazol-5-yl)etyl]amino]metylphosphonic), có hoạt tính là chất ức chế của cả enzym chuyển hóa endothelin (ECE) và NEP. Hợp chất ECE/NEP tác động kép khác cũng có thể được sử dụng. Chất ức chế NEP được dùng với lượng đủ để có từ khoảng 20 đến 800mg mỗi ngày, với liều lượng hằng ngày điển hình nằm trong khoảng từ 50 đến 700mg mỗi ngày, phổ biến hơn là 100 đến 600 hoặc 100 đến 300mg mỗi ngày.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất cho nitric oxit, các ví dụ về chúng bao gồm: nicorandil; nitrat hữu cơ như pentaerythritol tetranitrat; và sydnonimin như linsidomin và molsidomin.

Theo một phương án khác nữa, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chống viêm phi steroid (NSAID), các ví dụ về chúng bao gồm: axemetaxin, axit axetyl salixylic, alclofenac, alminoprofen, amfenac, amipriloza, aloxiprin, anirolac, apazon, azapropazon, benorilat, benoxaprofen, bezpiperylon, broperamol, axit bucloxic, carprofen, clidanac, diclofenac, diflunisal, diftalon, enolicam, etodolac, etoricoxib, fenbufen, fenclofenac, axit fencloxic, fenoprofen, fentiazac, feprazon, axit flufenamic, flufenisal, fluprofen, flurbiprofen, furofenac, ibufenac, ibuprofen, indometaxin, indoprofen, isoxepac, isoxicam, ketoprofen, ketorolac, lofemizol, lornoxicam, meclofenamat, axit meclofenamic, axit mefenamic, meloxicam, mesalamin, mioprofen, mofebutazon, nabumeton, naproxen, axit niflumic, oxaprozin, oxpinac, oxyphenbutazon, phenylbutazon, piroxicam, pirprofen,

pranoprofen, salsalat, sudoxicam, sulfasalazin, sulindac, suprofen, tenoxicam, tiopinac, axit tiaprofenic, tioxaprofen, axit tolfenamic, tolmetin, triflumidat, zidometaxin, zomepirac, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án cụ thể, NSAID được chọn từ etodolac, flurbiprofen, ibuprofen, indometaxin, ketoprofen, ketorolac, meloxicam, naproxen, oxaprozin, piroxicam, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể N-metyl d-aspartat (NMDA), các ví dụ về chúng bao gồm amantadin, dextromethorphan, dextropropoxyphen, ketamin, ketobemidon, memantin, metadon, và v.v..

Theo phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể opioit (còn được gọi là thuốc giảm đau opioit). Chất chủ vận thụ thể opioit tiêu biểu bao gồm: buprenorphin, butorphanol, codein, dihydrocodein, fentanyl, hydrocodon, hydromorphon, levalorphan, levorphanol, meperidin, metadon, morphin, nalbuphin, nalmefen, nalorphin, naloxon, naltrexon, nalorphin, oxycodon, oxymorphon, pentazoxin, propoxyphen, tramadol, và hỗn hợp của chúng. Theo các phương án nhất định, chất chủ vận thụ thể opioit được chọn từ codein, dihydrocodein, hydrocodon, hydromorphon, morphin, oxycodon, oxymorphon, tramadol, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án cụ thể, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế phosphodiesteraza (PDE), đặc biệt là chất ức chế PDE-V. Chất ức chế PDE-V tiêu biểu bao gồm avanafil, lodenafil, mirodenafil, sildenafil (Revatio®), tadalafil (Adcirca®), vardenafil (Levitra®), và udenafil.

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất tương tự prostaglandin (còn được gọi là prostanoit hoặc chất tương tự prostacyclin). Chất tương tự prostaglandin tiêu biểu bao gồm beraprost natri, bimatoprost, epoprostenol, iloprost, latanoprost, tafluprost, travoprost, và treprostinil, với bimatoprost, latanoprost, và tafluprost đang đặc biệt được quan tâm.

Theo một phương án khác nữa, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể prostaglandin, các ví dụ về chúng bao gồm bimatoprost, latanoprost, travoprost, và v.v..

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' cũng có thể được dùng kết hợp với chất ức chế renin, các ví dụ về chúng bao gồm aliskiren, enalkiren, remikiren, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất ức chế tái hấp thụ serotonin có chọn lọc (SSRI), các ví dụ về chúng bao gồm: xitalopram và desmethyl-xitalopram chuyển hóa xitalopram, dapoxetine, esxitalopram (ví dụ, esxitalopram oxalat), fluoxetine và norfluoxetine chuyển hóa fluoxetine desmethyl, fluvoxamin (ví dụ, fluvoxamin maleat), paroxetine, sertraline và demethylsertraline chuyển hóa sertraline, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể 5-HT_{1D} serotonin, các ví dụ về chúng bao gồm, triptan như almotriptan, avatriptan, eletriptan, frovatriptan, naratriptan, rizatriptan, sumatriptan, và zolmitriptan.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất chặn kênh natri, các ví dụ về chúng bao gồm carbamazepine, fosphenytoin, lamotrigine, lidocaine, mexiletine, oxcarbazepine, phenytoin, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất kích thích hoặc chất hoạt hóa guanylate cyclase dễ tan, các ví dụ về chúng bao gồm ataxiguate, rioxiguate, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với thuốc chống trầm cảm ba vòng (TCA), các ví dụ về chúng bao gồm amitriptyline, amitriptyline oxit, butriptyline, clomipramine, demexiptiline, desipramine, dibenzepine, dimetacrine, dosulepine, doxepine, imipramine, imipramine oxit, lofepramine, melitracen, metapramine, nitroxazepine, nortriptyline, noxiptiline, pipofezine, propizepine, protriptyline, quinupramine, và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể vasopressin, các ví dụ về chúng bao gồm conivaptan và tolvaptan.

Hỗn hợp các chất điều trị bệnh phụ cũng có thể hữu ích trong liệu pháp kết hợp khác nữa với hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được kết

hợp với chất lợi niệu và ARB, hoặc chất chặn kênh canxi và ARB, hoặc chất lợi niệu và chất ức chế ACE, hoặc chất chặn kênh canxi và statin. Các ví dụ cụ thể bao gồm, hỗn hợp của chất ức chế ACE enalapril (ở dạng muối maleat) và chất lợi niệu hydrochlorothiazit, được bán dưới nhãn hiệu Vaseretic®, hoặc hỗn hợp của chất chặn kênh canxi amlodipin (ở dạng muối besylat) và ARB olmesartan (ở dạng tiền dược chất medoxomil), hoặc hỗn hợp của chất chặn kênh canxi và statin, tất cả cũng có thể được sử dụng với Hợp chất I. Các chất điều trị bệnh khác như chất chủ vận thụ thể α_2 -adrenergic và chất đối kháng thụ thể vasopressin cũng có thể hữu ích trong liệu pháp kết hợp. Ví dụ về chất chủ vận thụ thể α_2 -adrenergic bao gồm clonidin, dexmedetomidin, và guanfaxin.

Các dạng phối trộn sau minh họa được phẩm tiêu biểu theo sáng chế.

Viên nang gelatin cứng lấy làm ví dụ để dùng qua đường miệng

Hợp chất theo sáng chế (50g), 440g lactoza đã được sấy phun và 10g magie stearat được pha kỹ lưỡng. Chế phẩm thu được sau đó được nạp vào viên nang gelatin cứng (500mg chế phẩm trong mỗi viên nang). Theo một cách khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (20mg) được pha kỹ lưỡng với tinh bột (89mg), xenluloza vi tinh thể (89mg) và magie stearat (2mg). Hỗn hợp này sau đó được chuyển qua sàng U.S mắt lưới số 45 và được nạp vào viên nang gelatin cứng (200mg chế phẩm trong mỗi viên nang).

Theo một cách khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (30g), chất phụ (20g), 440g lactoza đã được sấy phun và 10g magie stearat được pha kỹ lưỡng, và được xử lý như được mô tả trên đây.

Chế phẩm viên nang gelatin lấy làm ví dụ để dùng qua đường miệng

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (100mg) được pha kỹ lưỡng với polyoxyetylen sorbitan monooleat (50mg) và tinh bột dạng bột (250mg). Hỗn hợp này sau đó được nạp vào viên nang gelatin (400mg chế phẩm trong mỗi viên nang). Theo một cách khác, Hợp chất 1 (70mg) và chất phụ (30mg) được pha kỹ lưỡng với polyoxyetylen sorbitan monooleat (50mg) và tinh bột dạng bột (250mg), và hỗn hợp thu được được nạp vào viên nang gelatin (400mg chế phẩm trong mỗi viên nang).

Theo một cách khác, Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (40mg) được pha kỹ

lượng với xenluloza vi tinh thể (Avicel PH 103; 259,2mg) và magie stearat (0,8mg). Hỗn hợp này sau đó được nạp vào viên nang gelatin (cỡ #1, màu trắng, mờ đục) (300mg chế phẩm trong mỗi viên nang).

Viên nang hydroxypropyl metylxenluloza (HPMC) làm ví dụ cho việc sử dụng qua đường miệng

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (50 mg hoặc 100 mg) được nạp trực tiếp vào viên nang HPMC.

Chế phẩm viên nén làm ví dụ cho việc sử dụng qua đường miệng

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (10 mg), tinh bột (45 mg) và xenluloza vi tinh thể (35 mg) được đi qua sàng lưới Mỹ số 20 và được trộn hoàn toàn. Hạt đã tạo ra được làm khô ở 50-60°C và được đi qua sàng lưới Mỹ số 16. Dung dịch polyvinylpyrrolidon (4 mg dưới dạng dung dịch 10% trong nước vô trùng) được trộn với natri carboxymetyl tinh bột (4,5 mg), magie stearat (0,5 mg), và talc (1 mg), và hỗn hợp này sau đó được đi qua sàng lưới Mỹ số 16. Natri carboxymetyl tinh bột, magie stearat và talc sau đó được bổ sung vào hạt. Sau khi trộn, hỗn hợp được nén trên máy nén viên để cho viên nén cân 100 mg.

Lần lượt, hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (250 mg) được trộn hoàn toàn với xenluloza vi tinh thể (400 mg), silic dioxit khối (10 mg), và axit stearic (5 mg). Hỗn hợp sau đó được nén để tạo thành viên nén (665 mg chế phẩm với mỗi viên nén).

Lần lượt, hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (400 mg) được trộn hoàn toàn với tinh bột ngô (50 mg), croscarmelloza natri (25 mg), lactoza (120 mg), và magie stearat (5 mg). Hỗn hợp sau đó được nén để tạo thành viên nén một khía (600 mg chế phẩm với mỗi viên nén).

Lần lượt, hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (100 mg) được trộn hoàn toàn với tinh bột ngô (100 mg) với dung dịch chứa nước của gelatin (20 mg). Hỗn hợp được làm khô và được nghiền thành bột mịn. Xenluloza vi tinh thể (50 mg) và magie stearat (5 mg) sau đó được trộn lẫn với chế phẩm gelatin, được tạo hạt và hỗn hợp thu được được nén để tạo thành viên nén (100 mg hợp chất theo sáng chế với mỗi viên nén).

Chế phẩm huyền phù làm ví dụ cho việc sử dụng qua đường miệng

Các thành phần sau đây được trộn để tạo thành huyền phù chứa 100 mg hợp

chất I hoặc dạng tinh thể I' với mỗi 10 mL huyền phù:

Thành phần	Lượng
Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I'	1,0 g
Axit fumaric	0,5 g
Natri clorua	2,0 g
Metyl paraben	0,15 g
Propyl paraben	0,05 g
Đường đã tạo hạt	25,5 g
Sorbitol (70% dung dịch)	12,85 g
Veegum® K (magie nhôm silicat)	1,0 g
Hương liệu	0,035 mL
Chất tạo màu	0,5 mg
Nước cất	q.s. đến 100 mL

Chế phẩm dạng lỏng làm ví dụ cho việc sử dụng qua đường miệng

Chế phẩm dạng lỏng phù hợp là chế phẩm với chất đệm gốc axit carboxylic như dung dịch đệm xitrat, lactat và maleat. Ví dụ, hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (có thể được trộn sơ bộ với DMSO) được trộn với chất đệm amoni xitrat 100 mM và độ pH được điều chỉnh đến độ pH 5, hoặc được trộn với dung dịch axit xitric 100 mM và độ pH được điều chỉnh đến độ pH 2. Dung dịch này cũng có thể bao gồm tá dược hòa tan như xyclodextrin, ví dụ dung dịch có thể bao gồm hydroxypropyl- β -cyclodextrin 10% khối lượng.

Các chế phẩm phù hợp khác bao gồm dung dịch NaHCO_3 5%, có hoặc không có xyclodextrin.

Chế phẩm IV dùng ngoài đường tiêu hóa làm ví dụ cho việc sử dụng bằng cách tiêm

Hợp chất I hoặc dạng tinh thể I' (0,2 g) được trộn với dung dịch đệm natri axetat 0,4 M (2,0 mL). Độ pH của dung dịch thu được được điều chỉnh đến độ pH 4 sử dụng axit clohydric chứa nước 0,5 N hoặc natri hydroxit chứa nước 0,5 N, nếu cần, và

sau đó nước đủ để tiêm được bổ sung để tạo ra tổng thể tích 20 mL. Hỗn hợp sau đó được lọc qua thiết bị lọc vô trùng (0,22 micron) để tạo ra dung dịch vô trùng phù hợp cho việc sử dụng bằng cách tiêm.

Chế phẩm sau đây minh họa được phẩm đại diện theo sáng chế.

Ví dụ chế phẩm A

Dung dịch đông lạnh phù hợp để điều chế dung dịch tiêm được điều chế như sau:

Thành phần	Lượng
Hợp chất có hoạt tính I hoặc I'	10 đến 1000 mg
Tá dược (ví dụ, dextroza)	0 đến 50 g
Nước để tiêm dung dịch	10 đến 100 mL

Quy trình đại diện: Tá dược, nếu cần, được hòa tan trong khoảng 80% nước để tiêm và hợp chất có hoạt tính I hoặc I' được bổ sung và hòa tan. Độ pH được điều chỉnh với natri hydroxit 1 M đến 3 đến 4,5 và thể tích sau đó được điều chỉnh đến 95% của thể tích cuối với nước để tiêm. Độ pH được kiểm tra và điều chỉnh, nếu cần, và thể tích được điều chỉnh đến thể tích cuối với nước để tiêm. Chế phẩm sau đó được lọc vô trùng qua thiết bị lọc 0,22 micron và được đặt vào lọ nhỏ vô trùng trong điều kiện vô trùng. Lọ nhỏ này được đậy, được dán nhãn và được bảo quản đông lạnh.

Ví dụ chế phẩm B

Bột hoặc tinh thể rắn được đông khô nhanh phù hợp để điều chế dung dịch tiêm được điều chế như sau:

Thành phần	Lượng
Hợp chất có hoạt tính I hoặc I'	10 đến 1000 mg
Tá dược (ví dụ, mannitol và/hoặc sucroza)	0 đến 50 g
Chất đệm (ví dụ, xitrat)	0 đến 500 mg

Nước để tiêm

10 đến 100 mL

Quy trình đại diện: Tá dược và/hoặc chất đệm, nếu cần, được hòa tan trong khoảng 60% nước để tiêm. Hợp chất có hoạt tính I hoặc I' được bổ sung và hòa tan và độ pH được điều chỉnh với natri hydroxit 1 M đến 3 đến 4,5 và thể tích được điều chỉnh đến 95% của thể tích cuối với nước để tiêm. Độ pH được kiểm tra và điều chỉnh, nếu cần, và thể tích được điều chỉnh đến thể tích cuối với nước để tiêm. Chế phẩm sau đó được lọc vô trùng qua thiết bị lọc 0,22 micron và được đặt vào lọ nhỏ vô trùng trong điều kiện vô trùng. Chế phẩm sau đó được làm khô lạnh sử dụng chu kỳ đông khô nhanh thích hợp. Lọ nhỏ được đậy (tùy ý trong chân không một phần hoặc nitơ khô), được dán nhãn và bảo quản trong thiết bị làm lạnh.

Ví dụ chế phẩm C

Dung dịch tiêm để sử dụng trong tĩnh mạch cho bệnh nhân được điều chế từ ví dụ chế phẩm B ở trên như sau:

Quy trình đại diện: Bột đông khô nhanh của ví dụ chế phẩm B (ví dụ, chứa từ 10 đến 1000 mg hợp chất có hoạt tính I hoặc I') được hoàn nguyên với 20 mL nước vô trùng và dung dịch thu được còn được pha loãng bằng 80 mL nước muối vô trùng trong túi truyền 100 mL. Dung dịch pha loãng sau đó được sử dụng cho bệnh nhân trong tĩnh mạch trên 30 đến 120 phút.

Chế phẩm làm ví dụ cho việc sử dụng bằng cách hít

Hợp chất I hoặc I' (0,2 mg) được tán vụn và sau đó được trộn với lactoza (25 mg). Hỗn hợp đã trộn sau đó được nạp vào ống hít gelatin. Lượng của ống được sử dụng sử dụng thiết bị hít bột khô, ví dụ.

Lần lượt, hợp chất I hoặc I' đã tán vụn (10 g) được phân tán trong dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan lexithin (0,2 g) trong nước khử khoáng (200 mL). Huyền phù thu được được sấy phun và sau đó được tán vụn để tạo thành chế phẩm tán vụn chứa hạt có đường kính trung bình nhỏ hơn khoảng 1,5 μm . Chế phẩm tán vụn sau đó được nạp vào ống hít định liều chứa 1,1,1,2-tetrafloetan được tạo áp ở lượng đủ để tạo ra khoảng 10 μg đến khoảng 500 μg hợp chất theo sáng chế với mỗi liều khi được sử dụng bằng thiết bị hít.

Lần lượt, hợp chất **I** hoặc **I'** (25 mg) được hòa tan trong nước muối đẳng trương (độ pH 5) đệm xitrat (125 mL). Hỗn hợp được khuấy và nghiền bằng sóng âm cho đến khi hợp chất được hòa tan. Độ pH của dung dịch được kiểm tra và điều chỉnh, nếu cần, đến độ pH 5 bằng cách bổ sung từ từ NaOH 1 N chứa nước. Dung dịch được sử dụng sử dụng thiết bị khí dung mà cung cấp từ khoảng 10 µg đến khoảng 500 µg hợp chất **I** hoặc **I'** với mỗi liều.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sơ đồ phản ứng /chế phẩm và ví dụ sau đây được đề xuất để minh họa phương án cụ thể theo sáng chế. Các phương án cụ thể này, tuy nhiên, không dự định giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ trừ khi được chỉ ra cụ thể.

Từ viết tắt sau đây có nghĩa sau đây trừ khi được chỉ ra khác và các từ viết tắt khác bất kỳ được sử dụng trong bản mô tả này và không định nghĩa có nghĩa tiêu chuẩn, thường được chấp nhận của chúng:

ACN	=	axetonitril
CPME	=	xyclopentyl metyl ete
d	=	ngày
DCC	=	<i>N,N'</i> -dixyclohexylcarbodiimit
DCM	=	diclometan hoặc metylen clorua
DIPE	=	diisopropyl ete
DIPEA	=	<i>N,N</i> -diisopropyletylamin
DMF	=	<i>N,N</i> -dimetylformamit
EDTA	=	axit etylendiamintetraaxetic
EtOH	=	etanol
EtOAc	=	etyl axetat
g	=	gam
h	=	giờ
H ₂	=	khí hydro

H ₂ O ₂	=	hydro peroxit
HCTU	=	2-(6-clo-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat(V)
HATU	=	<i>N,N,N',N'</i> -tetrametyl-O-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat
HCl	=	hydro clorua
NaBH ₄	=	natri borohydrit
NaCl	=	natri clorua
NaHCO ₃	=	natri bicacbonat
Na ₂ CO ₃	=	natri cacbonat
NaHMDS	=	natri bis(trimetylsilyl)amit hoặc natri hexametyldisilazit
NaOH	=	natri hydroxit
Na ₂ SO ₄	=	natri sulfat
NH ₄ Cl	=	amoni clorua
NMM	=	n-metylmorpholin
MeI	=	metyl iodua
MeOH	=	metanol
min	=	phút
MgSO ₄	=	magie sulfat
Pd(PPh ₃) ₄	=	tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0)
Pd/C	=	paladi trên than hoạt tính, nạp 10%
PE	=	ete dầu mỏ
SiO ₂	=	silic dioxit hoặc silic oxit
TFA	=	axit trifloaxetic
THF	=	tetrahydrofuran

Trừ khi được quy định nghĩa khác, tất cả các nguyên liệu, như chất phản ứng,

nguyên liệu ban đầu và dung môi, được mua từ nhà cung cấp thương mại (như Sigma-Aldrich, Fluka Riedel-de Haën, và tương tự) và được sử dụng không tinh chế thêm.

Phản ứng được thực hiện trong khí nitơ, trừ khi được quy định nghĩa khác. Quy trình của phản ứng được kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký lỏng hiệu suất cao phân tích (anal. HPLC), và khối phổ, chi tiết của nó được đưa ra ở các ví dụ cụ thể. Điều kiện HPLC phân tích đại diện như sau:

A. Điều kiện HPLC phân tích – Phương pháp A

Thiết bị	Agilent 1260 HPLC
Cột	Advance Material Phương pháp HALO®; 150 x 4,60 mm; 2,7 micron
Nhiệt độ cột	30°C
Tốc độ dòng	1,0 mL/min
Thể tích kim	5 µL
Chế phẩm mẫu	Hòa tan trong ACN:nước 1:1
Pha di động	A = Nước:ACN:TFA (98:2:0,1) B = Nước:ACN:TFA (30:70:0,1)
Bước sóng máy dò	254 nm
Gradient	tổng 22 min Thời gian (min)/% B: 0/30, 15/100, 18/100, 20/30, 22/30

B. Điều kiện HPLC phân tích – Phương pháp B

Thiết bị	Agilent 1260 HPLC
Cột	Agilent Zorbax-Bonus RP-C18; 150 x 4,6 mm; 3,5 micron
Nhiệt độ cột	40°C
Tốc độ dòng	1,5 mL/min

Thể tích kim	5 μ L
Chế phẩm mẫu	Hòa tan trong 1:1 ACN: HCl 1 M
Pha di động	A = Nước:TFA (99.95:0,05) B = ACN:TFA (99.95:0,05)
Bước sóng máy dò	254 nm và 214 nm
Gradient	tổng 26 min Thời gian (min)/% B: 0/5, 18/90, 22/90, 22,5/90, 26/5

Phản ứng được làm việc như được mô tả cụ thể ở mỗi chế phẩm ví dụ; thông thường hỗn hợp phản ứng được tinh chế bằng phương pháp chiết và các phương pháp tinh chế khác như kết tinh phụ thuộc vào nhiệt độ, và dung môi, và kết tủa. Ngoài ra, hỗn hợp phản ứng thường được tinh chế bằng HPLC điều chế, thường sử dụng các gói cột Microsorb C18 và Microsorb BDS và dung môi rửa giải hấp thông thường. Quy trình phản ứng thường được đo bằng khối phổ sắc ký lỏng (LCMS). Sự biểu thị đặc điểm của các chất đồng phân được thực hiện bằng phổ hiệu ứng hạt nhân Overhauser (NOE). Sự biểu thị đặc điểm của sản phẩm phản ứng thường được thực hiện bằng phép đo phổ khối và ^1H -NMR. Đối với thuốc đo NMR, mẫu được hòa tan trong dung môi được deuteri hóa (CD_3OD , CDCl_3 , hoặc $\text{DMSO}-d_6$), và phổ ^1H -NMR thu được với thiết bị Varian Gemini 2000 (400 MHz) trong điều kiện quan sát tiêu chuẩn. Việc xác định khối phổ của hợp chất thường được tiến hành sử dụng phương pháp ion hóa tia điện (ESMS) với thiết bị Applied Biohệ thống (Foster City, CA) kiểu API 150 EX hoặc thiết bị Agilent (Palo Alto, CA) kiểu 1200 LC/MSD.

Kỹ thuật đo

Nhiều xạ bột tia X

Việc phân tích nhiễu xạ bột tia X được thực hiện sử dụng nhiễu xạ kế tia X Bruker D8-Advance. Nguồn tia X là bức xạ Cu-K α với điện áp đầu ra 40 kV và dòng điện 40 mA. Thiết bị được hoạt động trong hình học Bragg-Brentano và được sử dụng Goebel Mirrors để thu được chùm tia X song song. Bất kỳ sự phân kỳ nào trong chùm tia được giới hạn bởi khe phân kỳ theo chiều dọc $0,2^\circ$ tại nguồn và khe Soller ($2,5^\circ$) ở nguồn và máy dò. Để đo, lượng nhỏ bột (5-25 mg) được ép nhẹ lên bộ phận giữ mẫu

silic không nền để tạo thành bề mặt nhẵn và được tiếp xúc với tia X. Mẫu được quét trong chế độ ghép đôi θ - 2θ từ 2° đến 35° ở 2θ với cỡ bước $0,02^\circ$ và tốc độ quét $0,3$ giây trên mỗi bước. Thu thập dữ liệu được kiểm soát bằng phần mềm Bruker DiffraSuite và được phân tích bằng phần mềm Jade (phiên bản 7,5.1). Thiết bị được hiệu chuẩn với tiêu chuẩn corundum, trong $\pm 0,02^\circ$ góc 2θ .

Cần lưu ý rằng hình học Bragg-Brentano được sử dụng trong thu thập dữ liệu để bị định hướng ưu tiên. Trong các điều kiện này có thể là cường độ tương đối của đỉnh nhiễu xạ có thể không đại diện cho cường độ tương đối thật mà sẽ thu được từ việc phân bố lý tưởng hóa hạt hình cầu hoặc từ mẫu nhiễu xạ mô phỏng từ một dữ liệu tinh thể. Cũng có thể là một số đỉnh không được nhìn thấy trong một số mẫu nhiễu xạ do hướng được ưu tiên mở rộng.

Phân tích nhiệt quét vi sai

Phép đo DSC được thực hiện sử dụng modun thiết bị TA kiểu Q-100 với bộ điều khiển phân tích nhiệt. Dữ liệu được thu gom và phân tích sử dụng phần mềm phân tích thông dụng thiết bị TA. Mẫu được cân chính xác vào đĩa cân phủ nhôm. Sau 5 phút giai đoạn cân bằng đẳng nhiệt ở 5°C , mẫu được gia nhiệt sử dụng dốc gia nhiệt thẳng $10^\circ\text{C}/\text{min}$ từ 0°C đến 250°C .

Phân tích nhiệt trọng lượng

Phép đo trọng lượng nhiệt được thực hiện sử dụng modun thiết bị TA kiểu Q-500 được trang bị khả năng phân giải cao. Dữ liệu được thu gom sử dụng bộ điều khiển phân tích nhiệt thiết bị TA và được phân tích sử dụng phần mềm phân tích thông dụng thiết bị TA. Mẫu đã cân được đặt lên chảo platin và quét với tốc độ gia nhiệt $10^\circ\text{C}/\text{min}$ từ nhiệt độ xung quanh đến 300°C . Buồng cân bằng và lò được thổi dòng nitơ trong khi sử dụng.

Kính hiển vi ánh sáng phân cực

Đối với nghiên cứu kính hiển vi ánh sáng phân cực (PLM), mẫu được quan sát trong kính hiển vi quang học (Olympus BX51) với thiết bị lọc ánh sáng phân cực ngang. Hình ảnh được thu gom bằng camera PaxCam được điều khiển bằng phần mềm tạo ảnh PaxIt (phiên bản 6,4). Mẫu được chuẩn bị trên bản kính với dầu khoáng nhẹ làm môi trường ngâm. Tùy theo cỡ hạt, vật kính 4x, 10x hoặc 20x được sử dụng để phóng đại.

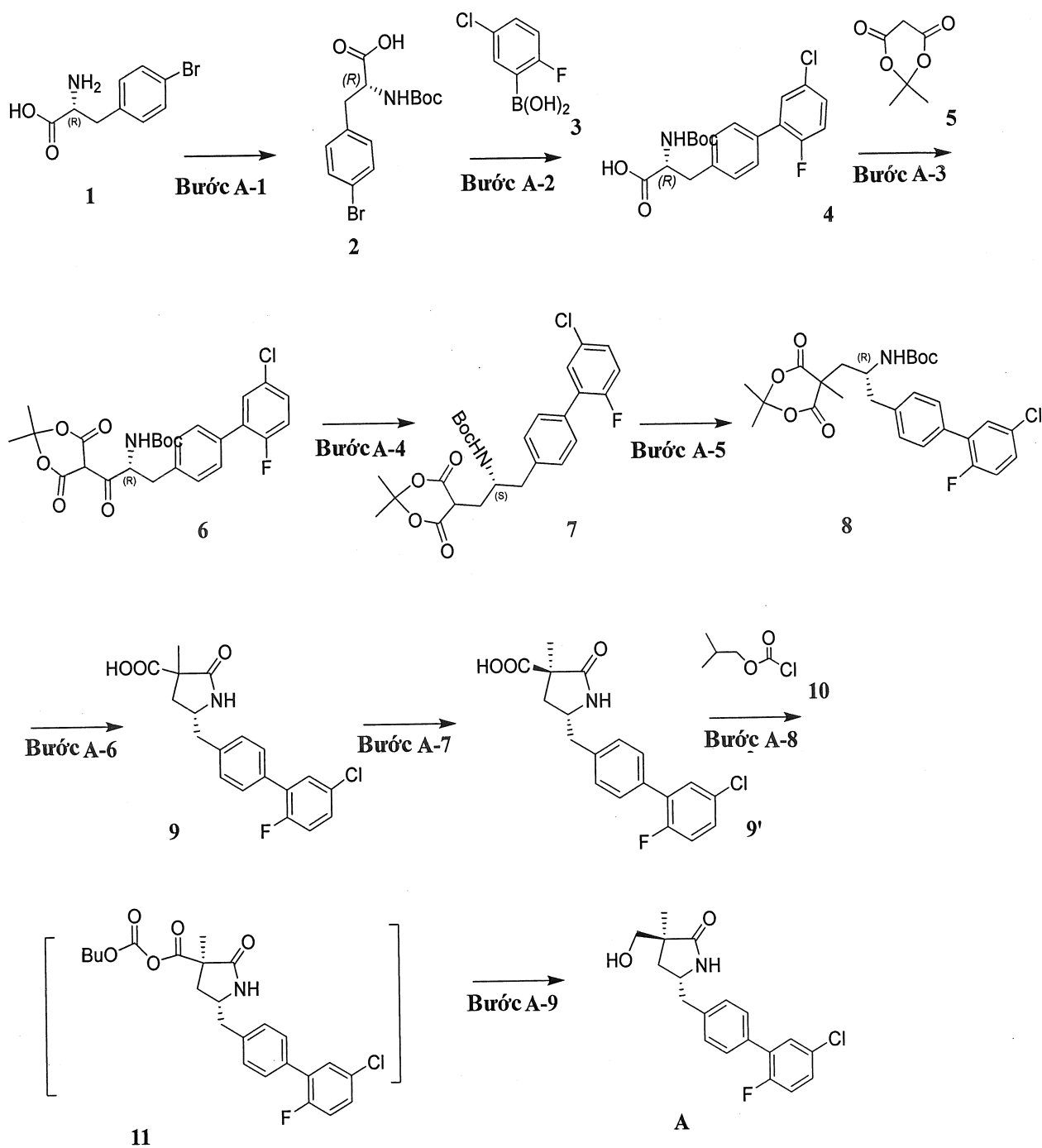
Đánh giá sự hấp độ ẩm linh hoạt

Phép đo DMS được thực hiện sử dụng cân vi lượng khí quyển VTI, hệ thống SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Mẫu đã cân được sử dụng và độ ẩm là giá trị có thể thấp nhất (gần với độ ẩm tương đối 0%) ở lúc ban đầu quá trình phân tích. Phân tích DMS bao gồm tốc độ quét 5% độ ẩm/bước tương đối trên phạm vi độ ẩm đầy 5-90%. Việc chạy DMS được thực hiện đẳng nhiệt ở 25°C.

Sơ đồ phản ứng tổng hợp

(3*S*, 5*R*)-5-[[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]metyl]-3-(hydroxymetyl)-3-metylpyrolidin-2-on (A) được dùng theo sáng chế này có thể được điều chế từ nguyên liệu và chất phản ứng ban đầu sử dụng quy trình được mô tả ở ví dụ 1 và như được thể hiện ở sơ đồ A:

Sơ đồ A



Bước phản ứng chung theo sơ đồ A như sau. Nhóm amin của hợp chất 1 được bảo vệ trước hết bằng cách hòa tan 1 trong dung môi với bazơ chứa nước trong khí trơ ở nhiệt độ thấp tiếp theo là bổ sung chất bảo vệ amin trong dung môi ở nhiệt độ phòng trước khi tách. Một mol tương đương khoảng 1:2:1 của 1 với bazơ với chất bảo vệ amin có thể được sử dụng. Dung môi mà có thể được sử dụng cho phản ứng của 1 với chất bảo vệ amin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dung môi aprotic phân cực, như axetonitril. Bazơ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bazơ mạnh bao gồm LiOH,

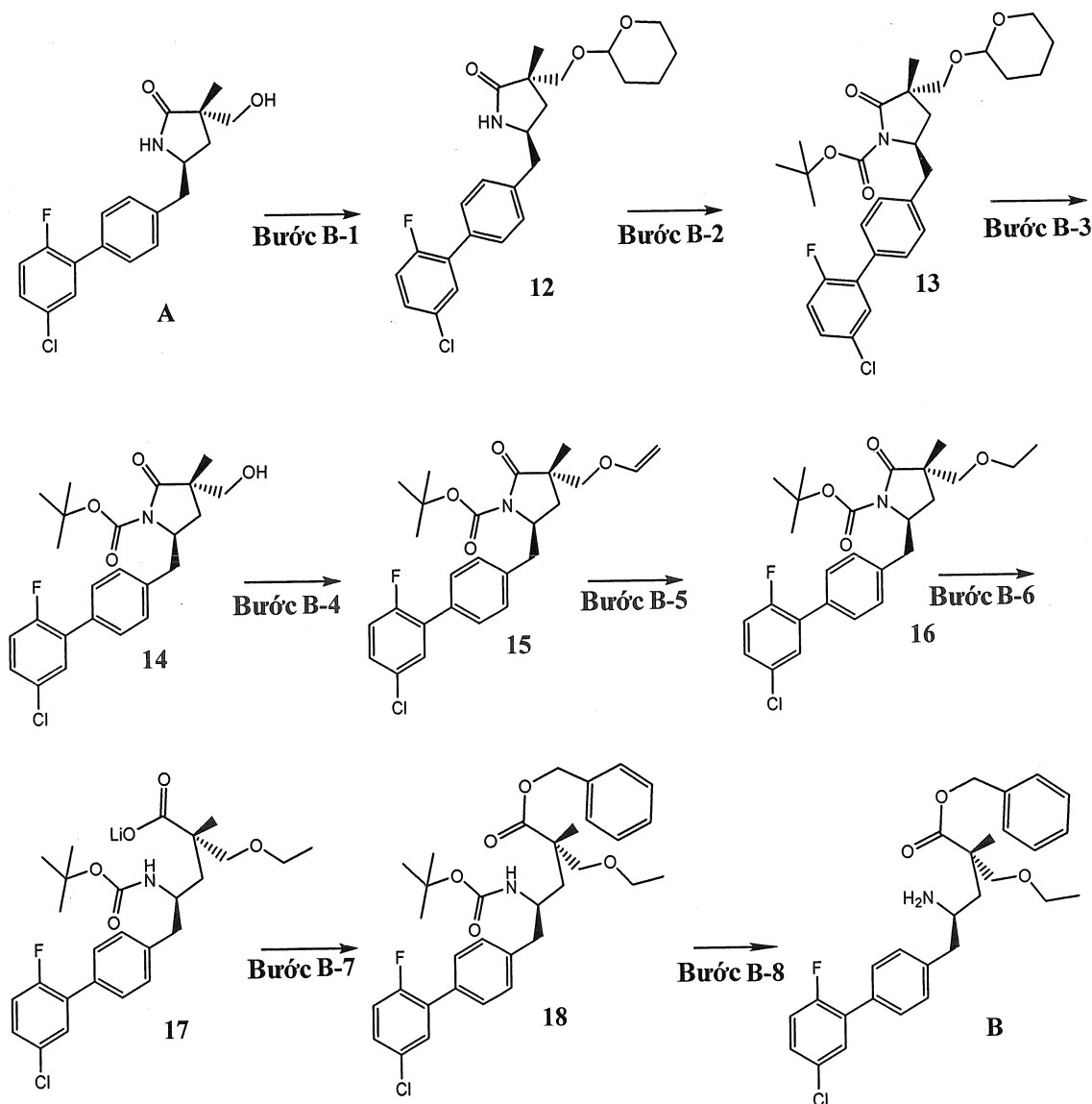
NaOH, và KOH. Nhiệt độ thấp thường tại hoặc dưới -10°C .

Hợp chất **2** tiếp theo được ghép với **3** trong dung môi có bổ sung hợp chất lưỡng tính, ví dụ, NaHCO_3 trong nước, và xúc tác như $\text{Pd(PPh}_3)_4$ trong khí trơ. Việc này dẫn đến dẫn xuất **4** sau đó được phản ứng với **5** trong dung môi aprotic với xúc tác ưa nhân trong khí trơ. Chất liên kết peptit còn được sử dụng để tạo thành hợp chất **6**. Hợp chất **6** sau đó được đặt trong dung môi có axit yếu trong khí trơ và chất khử được bổ sung ở nhiệt độ thấp (ở hoặc dưới -5°C). Hỗn hợp này được cho phép khuấy trong một vài giờ trước khi bị dập bằng nước muối. Hợp chất **7** sau đó được tách bằng phương pháp chiết với dung dịch của bazơ yếu và được làm khô bằng sấy chất trước khi cô đặc trong chân không.

Hợp chất **7** tiếp theo được metyl hóa trong dung môi aprotic với bazơ yếu sử dụng chất metyl hóa như MeI. Chất rắn đã tạo thành được tách và còn được hòa tan trong dung môi trước khi được làm khô bằng chất sấy và được cô đặc trong chân không để có hợp chất **8**. Hợp chất **8** còn được cho phản ứng với axit trong dung môi ete để có hợp chất **9**, sau đó được cô đặc và rửa bằng dung môi bổ sung để có hợp chất **9'**. Hợp chất **9'** sau đó được đặt trong khí trơ trong dung môi aprotic phân cực và được cho phản ứng với **10** ở nhiệt độ thấp ($< -5^{\circ}\text{C}$) để tạo chất trung gian **11**. Hợp chất **A** được tạo thành bằng cách cho phản ứng **11** với bazơ hữu cơ tiếp theo là cho phản ứng với **10** ở nhiệt độ thấp và khử bằng chất khử.

(2*S*,4*R*)-benzyl 4-amino-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-methylpentanoat (**B**) được dùng theo sáng chế này có thể được điều chế từ nguyên liệu ban đầu đã tạo trước đây (**A**) và chất phản ứng sử dụng quy trình được mô tả ở ví dụ 2 và như được thể hiện ở sơ đồ B:

Sơ đồ B



Bước phản ứng chung theo sơ đồ B như sau. Hợp chất A trước hết được cho phản ứng với 3,4-dihydro-2H-pyran trong dung môi chứa axit trước khi trung hòa và tách. Hỗn hợp thô thu được được đặt trong dung môi ete và được khuấy ở nhiệt độ thấp để tạo thành huyền phù đặc. Huyền phù đặc còn được rửa, được làm khô và được cô đặc với dầu nhớt 12 trước khi bảo vệ nitơ vòng với di-*tert*-butyl dicacbonat để tạo thành 13 trong điều kiện tiêu chuẩn. Nhóm ete ở 13 còn được phân tách bằng axit mạnh để tạo thành nhóm rượu như được thể hiện ở 14. Hợp chất 14 sau đó được cho phản ứng với etyl vinyl ete bằng cách bổ sung phối tử hữu cơ dị vòng, ví dụ, 1,10-phenanthrolin, trong khí trơ, tiếp theo là bổ sung xúc tác kim loại, ví dụ, xúc tác paladi. Nhóm alken trong sản phẩm tinh chế 15 được khử sử dụng, ví dụ, H₂ và Pd/C 10%, để có 16. Việc mở vòng của pyrrolidon (xà phòng hóa) ở 16 được hoàn thành với

bazơ chứa nước trước khi tinh chế và tách để có hợp chất **17**. Nhóm carboxylat ở **17** còn được bảo vệ, ví dụ, bằng benzyl bromua, trong điều kiện tiêu chuẩn để tạo thành **18**. Việc này được thực hiện trước khi giải bảo vệ nhóm amin của **18** để tạo thành hợp chất **B**.

Như được thảo luận ở trên, điều kiện phản ứng làm ví dụ cho các sơ đồ A và B được mô tả dưới đây ở các ví dụ 1 và 2, tương ứng.

Ví dụ 1

Tổng hợp (3*S*,5*R*)-5-[[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]metyl]-3-(hydroxymetyl)-3-metylpyrrolidin-2-on (**A**)

Bước A-1:

Dung dịch axit (2*R*)-2-amino-3-(4-bromphenyl)propanoic (**1**) (3300 g, 13,52 mol) trong axetonitril (46,2 L) được đặt trong thiết bị phản ứng 250 L mà được thổi và được duy trì khí nitơ trơ. Dung dịch NaOH (1081 g, 27,02 mol) trong nước (46,2 L) được bổ sung theo một vài mẻ ở -10°C. Tiếp theo là bổ sung dung dịch di-*tert*-butyl dicacbonat (2948 g, 13,51 mol) trong ACN (6,6 L). Dung dịch thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng và còn được cô đặc trong chân không. Dung dịch thu được này được pha loãng bằng 45 L nước/đá và giá trị độ pH của dung dịch được điều chỉnh đến pH 2 bằng HCl 1N. Dung dịch thu được sau đó được chiết bằng 3x50 L DCM và lớp hữu cơ được kết hợp. Hỗn hợp thu được được rửa bằng 1x50 L nước muối và được làm khô qua MgSO₄ khan và được cô đặc trong chân không. Việc này thu được 3720 g (80%) axit (2*R*)-3-(4-bromphenyl)-2-[[*(tert*-butoxy)cacbonyl]amino]propanoic (**2**) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Bước A-2:

Dung dịch axit (2*R*)-3-(4-bromphenyl)-2-[[*(tert*-butoxy)cacbonyl]amino]propanoic (**2**) (530 g, 1,54 mol) trong dioxan (9,54 L), axit (5-clo-2-flophenyl) boronic (**3**) (348 g, 2,00 mol), dung dịch Na₂CO₃ (228 g, 2,15 mol) trong nước (1,06 L), và Pd(PPh₃)₄ (8,89 g, 7,69 mmol) được đặt vào bình đáy tròn 4 cỡ 20 L mà được thổi và được duy trì bằng khí nitơ trơ. Dung dịch thu được được gia nhiệt để hồi lưu trong 2,5 h ở bể dầu và sau đó được làm mát xuống nhiệt độ phòng bằng bể nước/đá. Dung dịch thu được được pha loãng bằng 15 L EtOAc và rửa bằng

1x5 L HCl 1N và 4x5 L nước muối. Chiết xuất hữu cơ kết hợp được làm khô qua MgSO_4 khan và được cô đặc trong chân không. Phần dư được rửa bằng 2x1 L PE. Việc này thu được 510 g (84%) axit (2*R*)-2-[[(*tert*-butoxy)cacbonyl]amino]-3-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]propanoic (4) dưới dạng dầu màu nâu.

Bước A-3:

Dung dịch axit (2*R*)-2-[[(*tert*-butoxy)cacbonyl]amino]-3-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]propanoic (4) (510 g, 1,29 mol) trong DCM (5000 mL), 2,2-dimetyl-1,3-dioxan-4,6-dion (5) (205 g, 1,42 mol), và 4-dimetylaminopyridin (237 g, 1,94 mol) được đặt vào bình đáy tròn 4 cổ 10 L được thổi và được duy trì bằng khí nitơ trơ. Tiếp theo là bổ sung dung dịch DCC (294 g, 1,43 mol) trong DCM (600 mL) từng giọt có khuấy ở -10°C. Dung dịch thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng và chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc. Phần lọc được rửa bằng HCl 1 N (2 L) và nước muối (3 L). Chiết xuất hữu cơ kết hợp được làm khô qua MgSO_4 khan và chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc. Phần lọc, *tert*-butyl N-[(2*R*)-3-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]-1-(2,2-dimetyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yl)-1-oxopropan-2-yl]carbammat (6), được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước A-4:

Dung dịch *tert*-butyl N-[(2*R*)-3-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]-1-(2,2-dimetyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yl)-1-oxopropan-2-yl]carbammat (6) trong DCM (7 L) và AcOH (600 mL) được đặt vào bình đáy tròn 4 cổ 20 L được thổi và được duy trì bằng khí nitơ trơ. Tiếp theo là bổ sung NaBH_4 (88,8 g, 2,35 mol) theo một vài mẻ ở -5°C. Dung dịch thu được được khuấy trong 3 h ở -5°C trong bể đá/muối và sau đó được đập bằng cách bổ sung 1 L nước muối theo cách từng giọt. Dung dịch thu được được pha loãng bằng 2 L nước muối và rửa bằng 2x2 L nước và 1x1 L Na_2CO_3 và 1x2 L nước muối. Chiết xuất hữu cơ kết hợp được làm khô qua MgSO_4 khan và được cô đặc trong chân không. Việc này thu được 520 g (79%) *tert*-butyl N-[(2*S*)-1-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]-3-(2,2-dimetyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yl)propan-2-yl]carbammat (7) dưới dạng dầu màu vàng.

Bước A-5:

Dung dịch *tert*-butyl N-[(2*S*)-1-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]-3-(2,2-dimetyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yl)propan-2-yl]carbammat (7) (520 g, 1,03 mol) trong

axeton/DMF (1:1) (5,2 L), Na_2CO_3 (163 g, 1,54 mol), và MeI (219 g, 1,54 mol) được đặt vào bình đáy tròn 4 cổ 10 L được thổi và được duy trì bằng khí nitơ trơ. Dung dịch thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng và sau đó được pha loãng bằng 15 L nước. Sau khi khuấy trong 1 h chất rắn được thu gom bằng cách lọc. Phần dư được hòa tan trong 5 L DCM. Chiết xuất hữu cơ kết hợp được làm khô qua MgSO_4 khan và được cô đặc trong chân không. Việc này thu được 520 g (97%) tert-butyl N-[(2R)-1-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]-3-(2,2,5-trimetyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yl)propan-2-yl]carbammat (**8**) dưới dạng chất rắn màu vàng.

Các bước A-6 và A-7:

Dung dịch tert-butyl N-[(2R)-1-[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]-3-(2,2,5-trimetyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yl)propan-2-yl]carbammat (**8**) (520 g, 1,00 mol, 1,00 equiv) trong CPME (2,6 L) được đặt vào bình đáy tròn 4 cổ 10 L được thổi và được duy trì bằng khí nitơ trơ. Tiếp theo là bổ sung HCl/CPME (4N) (2,6 L) ở -5°C . Dung dịch thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp thu được được cô đặc đến một nửa thể tích trong chân không. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, và còn rửa bằng EtOAc/DIPE (1:2). Việc này thu được 220 g (61%) axit (3R,5R)-5-[[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]metyl]-3-metyl-2-oxopyrolidin-3-carboxylic (**9'**) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

Các bước A-8 và A-9:

Dung dịch axit (3R,5R)-5-[[4-(5-clo-2-flophenyl)phenyl]metyl]-3-metyl-2-oxopyrolidin-3-carboxylic (**9'**) (218 g, 602,55 mmol) trong THF (4 L), NMM (170 g, 1,68 mol) được đặt vào bình đáy tròn 4 cổ 10 L được thổi và được duy trì bằng khí nitơ trơ. Tiếp theo là bổ sung 2-metylpropyl cloformat (164,4 g, 1,20 mol) từng giọt có khuấy ở -5°C . Dung dịch thu được được khuấy trong 20 min nữa ở -5°C ở bể đá/muối. Dung dịch NaBH_4 (91,5 g, 2,42 mol) trong nước (400 mL) còn được bổ sung từng giọt có khuấy ở -5°C và được khuấy trong 1 h nữa ở nhiệt độ phòng. Phản ứng sau đó được dập bằng cách bổ sung từng giọt 2,6 L của HCl 1N. Hỗn hợp thu được được khuấy trong 1 h nữa và sau đó được cô đặc trong chân không để loại bỏ THF. Hỗn hợp dư sau đó được khuấy trong 1 h khác, và sau đó chất rắn được thu gom bằng cách lọc. Chất rắn được rửa bằng nước, được hòa tan trong THF, được làm khô qua Na_2SO_4 khan và được cô đặc trong chân không. Việc này thu được 170 g (81%) (3S,5R)-5-[[4-

(5-clo-2-flophenyl]phenyl]metyl]-3-(hydroxymetyl)-3-metylpyrolidin-2-on (A) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 2

Tổng hợp (2*S*,4*R*)-benzyl 4-amino-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpentanoat (B)

Bước B-1:

Trong bình đáy tròn có vỏ bọc 5000 mL, (3*S*,5*R*)-5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-(hydroxymetyl)-3-metylpyrolidin-2-on (A) (121,0 g, 348 mmol) và DCM (2420 mL) được bổ sung để tạo dung dịch đồng nhất rõ ràng mà sau đó được làm mát xuống 0°C bằng khuấy. 3,4-dihydro-2H-pyran (71,0 mL, 783 mmol) và axit 4-metylbenzensulfonic (20,97 g, 122 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 18,5°C qua đêm để đạt được độ chuyển hóa >98%. Hỗn hợp phản ứng sau đó được dập bằng 2420 mL NaHCO₃ bão hòa, các pha từ từ được tách biệt, lớp hữu cơ được làm khô qua natri sulfat, được lọc và dung môi được loại bỏ. Hỗn hợp thô sau đó được đặt trong DIPE (1815 mL) có khuấy ở 21°C qua 1 h sau đó được làm mát & được khuấy ở 0-5°C qua 5 h để có huyền phù đặc màu trắng. Huyền phù đặc được lọc và được rửa bằng 1X thể tích DIPE lạnh (0°C) và được lọc. Chất rắn thu được được làm khô qua đêm để có 113,8 g; độ tinh khiết HPLC 99,1%. Phần lọc còn được làm khô để có dầu đặc cân 24 g. DIPE (96 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở 0-5°C để có (3*S*,5*R*)-5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-metyl-3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)metyl)pyrolidin-2-on (12).

Bước B-2:

Trong bình đáy tròn có vỏ bọc 5000 mL, (3*S*,5*R*)-5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-metyl-3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)metyl)pyrolidin-2-on (12) (113,8 g, 263 mmol) và THF (1707 mL) được bổ sung có khuấy để tạo dung dịch đồng nhất rõ ràng mà được thổi bằng nitơ và được làm mát xuống -10°C. NaHMDS 1M trong THF (290 mL, 290 mmol) được bổ sung từng giọt ở nhiệt độ dưới 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút. Di-*tert*-butyl dicacbonat (69,0 g, 316 mmol) được hòa tan bằng cách bổ sung từng giọt theo 3 lần thể tích của nó trong THF (207 mL) ở nhiệt độ dưới 10°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C qua đêm và được dập bằng dung dịch amoni clorua 20% (2731 mL). EtOAc (1821 mL) được bổ

sung và các pha được tách biệt thành lớp chứa nước (pH 9) và lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (2731 mL) và các pha lại được tách biệt thành pha chứa nước (pH 7) và lớp hữu cơ, trong đó lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ trước khi lọc. Dung môi được loại bỏ có đầu đặc. Sau khi còn sấy qua đêm, chất rắn chứa bột của (3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-metyl-2-oxo-3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)metyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**13**) được tạo ra (146,5 g, 275 mmol, hiệu suất 105%, độ tinh khiết 98,76%).

Bước B-3:

(3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-metyl-2-oxo-3-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)metyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**13**) (146,5 g, 275 mmol) và MeOH (1465 mL) được bổ sung vào bình đáy tròn 3000 mL. Axit 4-metylbenzensulfonic, H₂O (3,93 g, 20,65 mmol) được bổ sung thêm và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 16 h để đạt được độ chuyển hóa >97%. EtOAc (2930 mL) được bổ sung vào phản ứng hoàn toàn và tiếp theo là chưng cất, với nhiệt độ bề dưới 30°C, để đạt được chất khử của tổng thể tích đến khoảng 293 mL. EtOAc (2930 mL) lại được bổ sung vào dung dịch được cô đặc và được chưng cất xuống đến khoảng 293 mL. Chất rửa cuối được hoàn thiện bằng cách bổ sung EtOAc (2930 mL) và được chưng cất đến thể tích cuối bằng 1465 mL để loại bỏ hoàn toàn metanol dư bất kỳ. Axit còn lại được dập bằng cách rửa thể tích cuối ở trên (1465 mL) với EtOAc chứa NaHCO₃ 10% (1465 mL) có khuấy liên tục 30 min ở nhiệt độ ≤ 21°C. Các lớp được cho phép tách biệt bằng cách tắt khuấy (lớp chứa nước độ pH ~7). Lớp hữu cơ được rửa bằng 1465 mL nước muối và được cho phép tách biệt (lớp chứa nước độ pH = 7). Lớp etyl axetat sau đó được sấy chân không đến ~146,5 mL trước khi 1465 mL hexan được bổ sung từ từ đến điểm đục. Dung dịch được cho phép để yên trong 1 h tiếp theo là bổ sung 1465 mL hexan. Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở 0°C và chất rắn được lọc và rửa bằng 293 mL hexan. Chất rắn còn lại được làm khô qua đêm trong chân không cao để có 98,4 g (3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-(hydroxymetyl)-3-metyl-2-oxopyrrolidin-1-carboxylat (**14**); hiệu suất 80%; độ tinh khiết HPLC 99,3%.

Bước B-4:

(3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-

(hydroxymetyl)-3-metyl-2-oxopyrolidin-1-carboxylat (**14**) (118,2g, 264 mmol) và DCM (591 mL) được bổ sung vào bình đáy tròn 100 mL để tạo thành dung dịch không màu. Etyl vinyl ete (761 mL, 7916 mmol) và 1,10-phenanthrolin (4,76 g, 26,4 mmol) được bổ sung vào bình và được thổi bằng N₂, tiếp theo là bổ sung Pd(II)axetat (8,89 g, 39,6 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 h để đạt được độ chuyển hóa ~81%. Dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi nhờ roto để cho sản phẩm thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột. Cột được biến đổi sơ bộ bằng hexan 100% và sản phẩm thô (30 g/run) được hòa tan trong DCM và được nạp vào 300 g cột được bao gói silicagel. Gradient đẳng dòng với etyl axetat/hexan 40% được sử dụng để rửa giải hợp chất, có 91,25 g (3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-metyl-2-oxo-3-((vinylloxy)metyl)pyrolidin-1-carboxylat (**15**) được tinh chế.

Bước B-5:

(3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-metyl-2-oxo-3-((vinylloxy)metyl)pyrolidin-1-carboxylat (**15**) (185 g, 390 mmol) được hòa tan trong THF (1900 mL) và axit axetic (11,17 mL) được bổ sung tiếp theo là thổi N₂ qua 10 min. Hỗn hợp sau đó được tạo bọt bằng H₂ và Pd/C 10% (hoặc 18,5 g) được bổ sung. Thổi (khí) H₂ từ từ liên tục qua đêm ở 22°C cho đến khi phản ứng đạt được hoàn toàn như được đo bằng HPLC. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit để có dung dịch đồng nhất. Phần lọc sau đó được bơm đến khô trong chân không cao để cho 185 gam (3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-(etoxymetyl)-3-metyl-2-oxopyrolidin-1-carboxylat (**16**); HPLC 89%; hiệu suất 99%.

Bước B-6:

(3*S*,5*R*)-*tert*-butyl 5-((5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)metyl)-3-(etoxymetyl)-3-metyl-2-oxopyrolidin-1-carboxylat (**16**) (185 g, 389 mmol) và ~1205 mL THF được bổ sung trong bình đáy tròn 3000 mL để tạo dung dịch không màu. Khoảng 1205 mL LiOH 1M trong H₂O được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở RT qua đêm để hoàn thành xà phòng hóa. Khoảng 1205 mL EtOAc được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng qua đêm (độ pH=13) và sau đó được rửa bằng khoảng 1205 mL NH₄Cl chứa nước bão hòa. Pha được tách biệt thành pha chứa nước (độ pH=8) và pha hữu cơ với sản phẩm còn lại ở lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ sau đó được rửa bằng nước muối, lớp lại được

tách biệt và lớp hữu cơ được làm khô trên Na_2SO_4 trước khi được lọc và được sấy chân không để có liti (2*S*,4*R*)-4-((*tert*-butoxycacbonyl)amino)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpenanoat (**17**) (213 g, 426 mmol, hiệu suất 94,6 %).

Bước B-7:

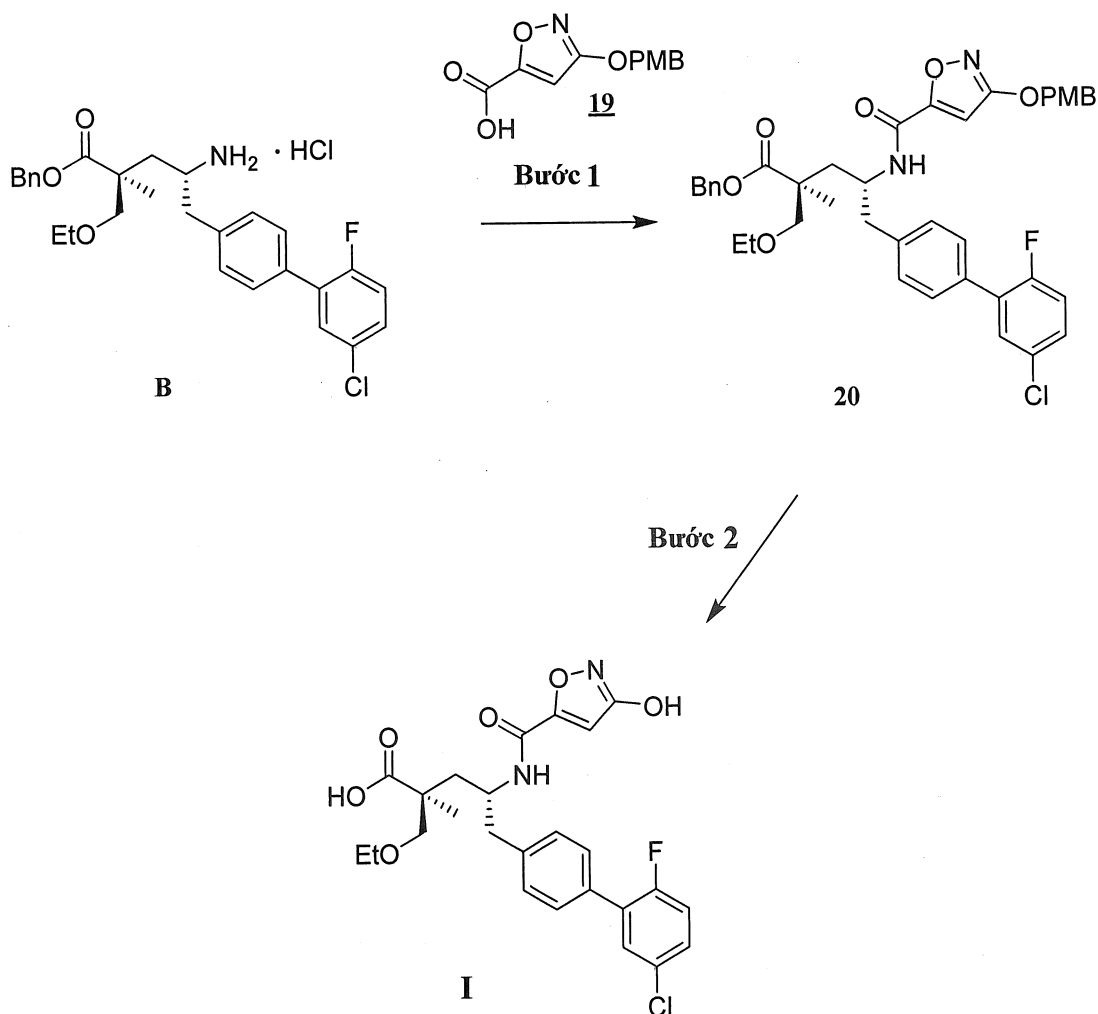
Liti (2*S*,4*R*)-4-((*tert*-butoxycacbonyl)amino)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpenanoat (**17**) (194,0 g, 393 mmol) và ~650 mL DMF được cho vào bình đáy tròn 2 L để tạo dung dịch không màu. K_2CO_3 (81 g, 589 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 15 min ở nhiệt độ phòng. Benzyl bromua (56,1 mL, 471 mmol) sau đó được bổ sung ở một phần và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở khoảng 22°C qua đêm. Việc chuyển hóa hoàn toàn được hoàn thành sau 20 h như được đo bằng LCMS hoặc TLC. Khoảng 3900 mL NH_4Cl và khoảng 650 mL EtOAc được bổ sung và được khuấy qua 15 min, và pha được tách biệt. Lớp hữu cơ được rửa bằng ~3900 mL nước muối, lớp lại được tách biệt, và lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat tiếp theo là loại bỏ dung môi. Sản phẩm thô được tinh chế trên SiO_2 EtOAc/hexan 0-25% và phần đã tinh chế được kết hợp có (2*S*,4*R*)-benzyl 4-((*tert*-butoxycacbonyl)amino)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpenanoat (**18**) (190 g, 322 mmol, hiệu suất 82%). MS m/z $\{M+H\}^+$ calc'd đối với $\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{ClFNO}_5$, 584,118; thấy 584,12.

Bước B-8:

(2*S*,4*R*)-benzyl 4-((*tert*-butoxycacbonyl)amino)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpenanoat (**18**) được nạp vào bình đáy tròn 3L được bổ sung (190,0 g, 325 mmol). HCl 3M trong CPME (1084 mL, 3253 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua 50 h để có huyền phù đặc ở độ chuyển hóa >99%. Khoảng 1084 mL CPME tươi được bổ sung và huyền phù đặc thu được được khuấy qua 3 h trước khi lọc. Chất rắn được rửa bằng ~250 mL CPME lạnh (0°C). Chất rắn được làm khô trong khí N_2 để có chất rắn màu trắng là (2*S*,4*R*)-benzyl 4-amino-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpenanoat (**B**), HCl (150 g, 288 mmol, hiệu suất 89%, độ tinh khiết 99,5%). MS m/z $\{M+H\}^+$ calc'd đối với $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{ClFNO}_3$, 484,00; thấy 520,46 (muối HCl).

Ví dụ 3:

Axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic (Hợp chất **I**)



Bước 1:

Benzyl (2*S*,4*R*)-4-amino-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-2-metylpentanoat hydroclorua (**B**) (2,95 kg, 5668 mmol) được ghép với axit 3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxylic (**19**) (1,48 kg, 5939 mmol) sử dụng HCTU (2,71 kg, 6551 mmol) và DIPEA (0,28 kg, 2180 mmol) trong THF (26,64 kg). Hỗn hợp được làm mát xuống <10°C. DIPEA (2,24 kg, 17,332 mmol) sau đó được bổ sung vào hỗn hợp ở nhiệt độ dưới 10°C và hỗn hợp được điều chỉnh đến nhiệt độ 20°C ± 10°C và được khuấy trong ít nhất 1 h cho đến khi hoàn thành. EtOAc (26,55 kg) được bổ sung tiếp theo vào hỗn hợp, tiếp theo là bổ sung nước USP (29,5 kg) ở nhiệt độ dưới 30°C. Hỗn hợp sau đó khuấy mạnh trong ít nhất 30 min ở nhiệt độ 20°C ± 10°C và được cho phép lắng trong ít nhất 30 min. Lớp chứa nước thấp hơn được tách vào

vật chứa. Dung dịch NaHCO_3 5% khối lượng/khối lượng (30,4 kg) được bổ sung vào hỗn hợp ở nhiệt độ dưới 30°C , còn khuấy mạnh trong ít nhất 30 min ở nhiệt độ $20^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$, và được lắng trong ít nhất 30 min. Lớp chứa nước thấp hơn được tách vào vật chứa. Bước NaHCO_3 được lặp lại hai lần nữa và hỗn hợp sau đó được lấy mẫu với hàm lượng 6-clo-1-hydroxybenzotriazol. Dung dịch NaCl 10% khối lượng/thể tích (31,6 kg) được bổ sung vào hỗn hợp ở nhiệt độ dưới 30°C , khuấy mạnh trong ít nhất 30 min ở nhiệt độ $20^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$, và sau đó được lắng trong ít nhất 30 min. Lớp chứa nước thấp hơn được tách vào vật chứa. Lớp còn lại được chưng cất đến khoảng 9L trong khi duy trì nhiệt độ bề dưới 30°C . EtOAc (39,8 kg) sau đó được bổ sung vào hỗn hợp và chưng cất chân không được sử dụng để giảm thể tích của hỗn hợp xuống khoảng 9 L trong khi duy trì nhiệt độ bề dưới 30°C . EtOAc (10,3 kg) lại được bổ sung vào hỗn hợp và hỗn hợp được khuấy trong ít nhất 10 min. Hỗn hợp trong bình phản ứng đầu tiên sau đó được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến bình phản ứng thứ hai. EtOAc (5,6 kg) được sử dụng để rửa bình phản ứng thứ nhất và được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến bình phản ứng thứ hai. Sản phẩm, benzyl (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoat (**20**) (4,05kg; 5663 mmol), trong hai bình phản ứng được trộn trong ít nhất 10 min và được hút khô vào vật chứa Nalgene vô trùng và được bảo quản nằm trong khoảng $0-10^\circ\text{C}$ cho đến khi xử lý thêm.

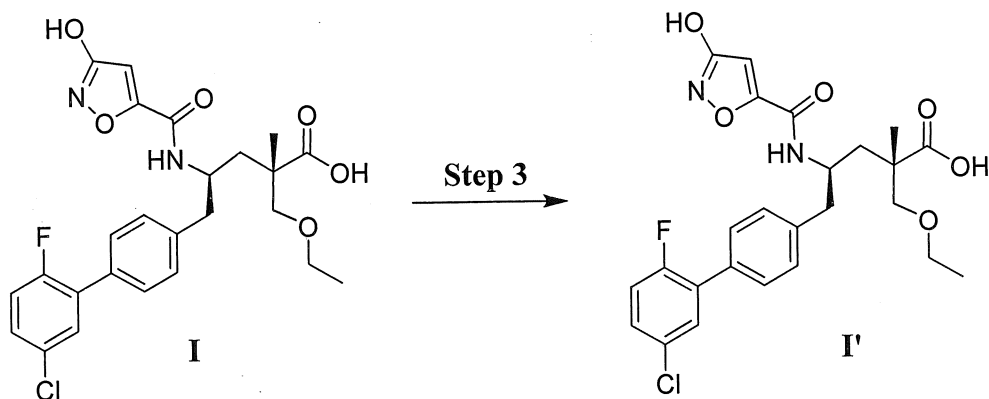
Bước 2:

Pd/C , 10% khối lượng/khối lượng (0,42 kg), được nạp vào một bình phản ứng cùng với benzyl (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-((4-metoxymetyl)oxy)isoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoat (**20**) (4,05 kg; 5663 mmol). Etanol biến tính (27,5 kg) sau đó được bổ sung vào một bình phản ứng và thành phần được trộn ở $20-30^\circ\text{C}$ trong ít nhất 5 min. Thiết bị lọc chứa NaOH được sử dụng để xử lý khí HCl sinh ra trong bước này. HCl 6M (3,1 kg) được bổ sung vào phản ứng trong khi duy trì nhiệt độ $< 30^\circ\text{C}$ và được trộn trong ít nhất 5 min. Hỗn hợp được khử khí bằng cách sử dụng chân không và cung cấp đồng thời nitơ. Nhiệt độ của hỗn hợp sau đó được điều chỉnh đến $20-30^\circ\text{C}$ và bình phản ứng được tháo. H_2 (độ tinh khiết siêu cao 5,0) được tạo bọt qua hỗn hợp cho đến khi phản ứng hoàn toàn. Việc cung cấp hydro được tắt, hỗn hợp được thổi bằng nitơ và được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến bình phản ứng thứ hai. Etanol biến tính (6,5 kg) được nạp vào bình phản

ứng thứ nhất dưới dạng chất rửa và được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến bình phản ứng thứ hai. Hỗn hợp trong bình phản ứng thứ hai sau đó được chưng cất sử dụng chân không đến khoảng 41 L trong khi duy trì nhiệt độ dưới 30°C. Nhiệt độ được điều chỉnh đến 20-30°C và dung dịch H₂O₂ 30% khối lượng/khối lượng (0,36 kg) được bổ sung vào hỗn hợp trong bình phản ứng thứ hai trong khi duy trì nhiệt độ < 25°C. Hỗn hợp được khuấy trong ít nhất 16 h ở 20-30°C cho đến khi phản ứng hoàn thành. Hỗn hợp trong bình phản ứng thứ hai được chưng cất sử dụng chân không đến khoảng 12 L trong khi duy trì nhiệt độ dưới 30°C. ACN (40,1 kg) sau đó được bổ sung vào hỗn hợp này và hỗn hợp được chưng cất sử dụng chân không đến khoảng 12 L trong khi duy trì nhiệt độ dưới 30°C (bước này được lặp lại). Tiếp theo, ACN (3,2 kg) lại được bổ sung vào hỗn hợp trong bình phản ứng thứ hai và được gia nhiệt đến 40-50°C trong ít nhất 1 h. Hỗn hợp được làm mát xuống 15-25°C qua ít nhất 1,5 h và được duy trì ở nhiệt độ đó trong ít nhất 2 h nữa trước khi được lọc bằng máy ly tâm. ACN (13,0 kg) sau đó được bổ sung vào bình phản ứng thứ nhất và được sử dụng để rửa chất rắn được ly tâm. Chất rắn đã ly tâm sau đó được làm khô trong chân không ở 20-30°C trong ít nhất 16 h để có axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic (4,218 mmol; 2,13 kg; hiệu suất 74,5%; độ tinh khiết 97,5%).

Ví dụ 4:

Chế phẩm của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-metylpentanoic tinh thể (hợp chất I')



Bước 3:

Hợp chất I (2,0 kg; 3961 mmol), EtOAc (36,0 kg) và nước USP (20 kg) được bổ sung vào bình phản ứng A và hỗn hợp thu được được khuấy trong ít nhất 30 min ở $20 \pm 10^\circ\text{C}$. Mẽ sau đó được lắng trong ít nhất 30 min nữa. Lớp chứa nước thấp hơn được tách biệt và được bảo quản trong vật chứa trong khi pha không chứa nước còn lại được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến bình phản ứng B. EtOAc (3,6 kg) được bổ sung vào bình phản ứng A để rửa và được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến hỗn hợp trong bình phản ứng B. Hỗn hợp trong bình phản ứng B sau đó được chưng cất chân không đến thể tích đã giảm (6L). Lượng EtOAc bổ sung (25,2 kg) được bổ sung vào bình phản ứng A và được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến hỗn hợp trong bình phản ứng B. Hỗn hợp trong bình phản ứng B sau đó được gia nhiệt đến nhiệt độ $75 \pm 5^\circ\text{C}$ và khuấy mạnh trong ít nhất 5 min cho đến khi chất rắn được hòa tan. Hỗn hợp này sau đó được làm mát xuống $-10 \pm 5^\circ\text{C}$ qua ít nhất 6 h và khuấy mạnh thêm trong ít nhất 12 h ở $-10 \pm 5^\circ\text{C}$ trước khi lọc vào thiết bị lọc C. Lượng EtOAc bổ sung (5,4 kg) được nạp vào bình phản ứng A, còn được truyền qua thiết bị lọc tức thời đến bình phản ứng B, và được làm mát xuống $-10 \pm 10^\circ\text{C}$. Dung môi này sau đó được sử dụng để rửa phần lọc trên thiết bị lọc C. Phần lọc và rửa sau đó được thu gom trong vật chứa. Phần lọc hoặc bánh ướt được làm khô trong chân không ở $40^\circ\text{C} \pm 10^\circ\text{C}$ trong ít nhất 16 h và sau đó được lấy mẫu cho độ tinh khiết. Hợp chất I' tinh khiết $\geq 98,0\%$ như được đo bằng HPLC và EtOAc có mặt ở $\leq 2,5\%$ khối lượng/khối lượng như được đo bằng sắc ký khí. Hiệu suất của hợp chất I' sau khi kết tinh là (1,05 kg; 2079 mmol; hiệu suất 52,5%; độ tinh khiết 98,5%).

Ví dụ 5:

Chế phẩm thay thế của axit (2S,4R)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic tinh thể (hợp chất I')

Hợp chất I (4,9 kg; 9705 mmol), SiliaMetS® Thiol (1,62 kg) và EtOH (200 bản in, 54,9 kg) được bổ sung vào bình phản ứng A và hỗn hợp thu được được khuấy trong ít nhất 1 h ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 25°C đến 35°C . Hỗn hợp sau đó được lọc qua xelit và rửa bằng EtOH (200 bản in, 7,8 kg) và được truyền đến bình phản ứng B sử dụng thiết bị lọc nổi tiếp 0,22 μm và được rửa bằng EtOH (200 bản in,

7,8 kg). Hỗn hợp trong bình B còn được chưng cất chân không đến khoảng 10% thể tích ban đầu của nó ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 40°C đến 60°C. Bình chứa hỗn hợp còn lại được điều chỉnh đến > 50°C trước khi bổ sung nước được tinh chế USP (0,22 µm) đã lọc (49 kg). Hỗn hợp tiếp theo được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 75°C đến 85°C có khuấy cho đến khi hoàn toàn hòa tan sản phẩm. Hỗn hợp được làm mát xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng -5°C đến 5°C qua ít nhất 4 h và được khuấy trong ít nhất 16 h nữa ở cùng nhiệt độ. Hỗn hợp thu được sau đó được lọc và rửa bằng hỗn hợp EtOH được làm mát sơ bộ (200 bản in, 9,8 kg) và nước USP (12,3 kg). Nhiệt độ của hỗn hợp dung môi đã làm mát sơ bộ được điều chỉnh đến nằm trong khoảng từ khoảng 0°C đến 10°C. Phần lọc còn lại được làm khô trong chân không ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 40°C đến 60°C trong ít nhất 16 h và sau đó được lấy mẫu cho dung môi và độ tinh khiết bằng HPLC. Hiệu suất của hợp chất I' sau khi kết tinh là 90% (4,6 kg; 9110 mmol; độ tinh khiết ≥ 97,0%).

Ví dụ 6:

Nghiên cứu độ ổn định của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-Clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic tinh thể (I')

Một thách thức trong việc phát triển thuốc đề cập đến việc khám phá dạng tinh thể, ổn định của thuốc có điểm nóng chảy cao hợp lý. Một thách thức của sáng chế là tinh thể nhỏ của axit tự do của hợp chất I rất khó thu được tính chất vật lý thuận tiện nêu trên. Một khi đạt được, tinh thể nhỏ tan chảy quanh 216°C và nghiên cứu độ ổn định tăng tốc của hợp chất I' được tiến hành ở nhiệt độ và % độ ẩm tương đối (RH) được báo cáo dưới đây.

Thời gian (tháng)	25°C, RH 60%			40°C, RH ^a 75%		
	Phân tích ^b	Tổng tạp chất/chất thải (% diện tích)	Hàm lượng nước (% khối lượng/khối lượng)	Phân tích ^b	Tổng tạp chất/chất thải (% diện tích)	Hàm lượng nước (% khối lượng/khối lượng)

0	98,6	0,87	< LOQ (LOQ= 0,2%)	98,6	0,87	< LOQ (LOQ= 0,2%)
1	nt ^b	nt	nt	98,5	0,86	nt
3	98,5	0,86	nt	98,6	0,87	< LOQ (LOQ= 0,22%)
6	99,2	0,87	< LOQ (LOQ= 0,19%)	99,0	0,87	< LOQ (LOQ= 0,19%)
9	99,0	0,87	nt	nt	nt	nt
12	99,2	0,87	< LOQ (LOQ= 0,19%)	nt	nt	nt
18	99,1	0,87	nt	nt	nt	nt

RH = độ ẩm tương đối; nt = không được thử nghiệm; LOQ = giới hạn định lượng

^aĐiều kiện bảo quản tăng nhanh hơn, được đo trong 6 tháng và thường được chấp nhận tương đương với 2 năm tại 25°C, độ ẩm tương đối 60%.

^bPhân tích = (khối lượng chất/tổng khối lượng)*100 = % (khối lượng/khối lượng).

Các dữ liệu này chứng minh rằng hợp chất I' vẫn ổn định trong ít nhất 18 tháng ở 25°C, RH 60% và trong ít nhất 2 năm được đo bằng điều kiện tăng nhanh hơn là 40°C, RH 75%. Các dữ liệu này cũng thể hiện rằng không thể định lượng được lượng nước được phát hiện tại 12 tháng, do đó chỉ ra rằng tinh thể vẫn không hút ẩm qua khoảng thời gian này. Ngoài ra, các dữ liệu này chỉ ra rằng không nhiều hơn 1% tổng impurities/degradants are detected over 18-tháng (25 °C, 60% RH) or 2-năm (điều kiện tăng nhanh hơn of 40 °C, 75% RH).

Phân tích

Phân tích 1: Nghiên cứu được động học IV/PO ở chuột, chó và khỉ

Mỗi nghiên cứu PK chuột, chó hoặc khỉ bắt đầu với chế phẩm của hợp chất thử nghiệm. Khối lượng thích hợp của mỗi hợp chất thử nghiệm được bổ sung vào thể tích của chất dẫn thuốc (ví dụ natri bicacbonat 5%, dextroza 5% trong H₂O) sao cho nồng độ cuối của mỗi hợp chất thích hợp được định lượng. Mặc dù huyền phù đồng nhất chấp nhận được cho liều dùng qua đường miệng, dung dịch định lượng trong tĩnh mạch được lọc vô trùng (0,2 µm) trước khi định lượng để đảm bảo không có hạt được sử dụng.

Trong nghiên cứu ở chuột, chuột Sprague-Dawley đực được lắp ống thông trước (3 con mỗi nhóm) thu được từ Harlan Laboratories hoặc Charles Rivers Laboratories. Chuột nhận liều dùng qua đường miệng được đưa vào dạ dày sử dụng kim tiêm và ống rửa hoặc liều trong tĩnh mạch (qua tĩnh mạch đuôi bên) của dung dịch định lượng. Liều cuối là 0,5 mg/kg. Mẫu máu liên tiếp được thu hoạch qua ống thông được cấy vào tĩnh mạch ở 3 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, và 24 h sau khi dùng liều. Việc lấy mẫu được thực hiện bằng tay hoặc sử dụng thiết bị lấy mẫu máu tự động. Mẫu được thu gom vào ống microtainer chứa EDTA như thuốc chống đông máu và được xử lý với huyết tương bằng cách ly tâm lạnh.

Trong nghiên cứu ở chó, chó béc giê đực đã quen thí nghiệm (3 con mỗi nhóm) nuôi tại Agilux Laboratories (Worcester, MA) và cân nằm trong khoảng từ 9 đến 14 kg nhận liều dùng qua đường miệng hoặc trong tĩnh mạch. Liều dùng qua đường miệng được đưa vào dạ dày sử dụng kim tiêm và ống rửa tiếp theo là nước tuôn ra khoảng 10 mL. Liều dùng qua đường miệng được sử dụng ở thể tích 2 mL/kg. Liều trong tĩnh mạch được sử dụng qua ống thông qua da được đặt trong tĩnh mạch hiển tiếp theo là nước muối tuôn ra khoảng 3 mL. Liều trong tĩnh mạch được sử dụng ở thể tích 0,5 mL/kg. Liều cuối cho IV hoặc PO là 0,1 mg/kg. Mẫu máu liên tiếp được thu hoạch qua tĩnh mạch trực tiếp tại 3 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, và 24 h sau khi dùng liều. Tất cả các mẫu được thu gom bằng tay vào ống microtainer chứa EDTA như thuốc chống đông máu và được xử lý với huyết tương bằng cách ly tâm lạnh.

Nghiên cứu PK khỉ được thực hiện với khối lượng thích hợp của hợp chất I trong thể tích chất dẫn thuốc (ví dụ, natri bicacbonat 5%, dextroza 5% trong H₂O, độ pH 7,4, để dùng qua đường miệng và IV và được lọc qua kim tiêm PDVF 0,22 µM cho IV) sao cho nồng độ cuối được định lượng tại 1,0 mg/mL cho cả IV và PO.

Khỉ cynomolgus đực (3 con mỗi nhóm) nuôi tại Xenometrics (Stilwell, KS) nhận liều IV hoặc PO của hợp chất I ở 1 hoặc 2 mg/kg. Liều trong tĩnh mạch của hợp chất I được sử dụng qua ống thông trong lòng tĩnh mạch tiếp theo là nước muối tuôn ra khoảng 3 mL. Liều trong tĩnh mạch được sử dụng ở thể tích 1 mL/kg. Liều dùng qua đường miệng được đưa vào dạ dày sử dụng kim tiêm và ống rửa tiếp theo là nước tuôn ra khoảng 10 mL. Liều dùng qua đường miệng được sử dụng ở thể tích 2 mL/kg. Mẫu máu được thu gom từ mỗi con vật ở mỗi thời điểm (định liều trước, 0,083 h, 0,25 h, 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, và 24 h) qua đầu, xương đùi, hoặc tĩnh mạch hiển qua 48 giờ. Tất cả các mẫu được thu gom vào ống K₂EDTA và được đặt trên đá. Mẫu được xử lý với huyết tương bằng cách ly tâm (3200 rpm, 10 phút, 5°C), và axit hóa với nồng độ cuối của axit axetic 2%. Mẫu huyết tương được truyền vào ống 96 giếng và được bảo quản đông lạnh (-70°C) trước khi phân tích sinh học.

Nồng độ huyết tương của hợp chất I được xác định bởi LC/MS/MS. Mẫu nghiên cứu huyết tương được xoay và đặt trong đĩa 96 giếng. Mẫu được chiết với 200 μ L axetonitril với tiêu chuẩn nội bộ. Chất chiết được ly tâm trong 10 phút ở 2809 RPM và 50 μ L dịch nổi bề mặt được trộn với 200 μ L axit formic 0,2% trong nước. Mẫu (10-15 μ L) được tiêm vào cột ThermoFisher HyPURITY™ (C18 50x2,1mm) với tốc độ dòng 0,35 mL/min. Pha di động A bao gồm nước:axetonitril:axit formic (95:5:0,1, v:v:v) và pha di động B bao gồm metanol:axetonitril:axit formic (50:50:0,1, v:v:v) (chó). Pha di động A bao gồm axit formic 0,2% trong nước và pha di động B bao gồm axit formic 0,2% trong axetonitril (chuột và khỉ). Thông số được động học của hợp chất I được xác định bởi phân tích không phải là ngắn (kiểu 201 và kiểu 200 để sử dụng IV và PO, tương ứng) sử dụng Phoenix WinNonlin Phiên bản 6.3 (Certara, Sunnyvale, CA) và sử dụng từng profil thời gian nồng độ huyết tương từ 3 con với mỗi nhóm điều trị.

Sự tiêu trừ huyết tương được xác định từ tay trong tĩnh mạch của nghiên cứu, và đại diện tốc độ mà ở đó huyết tương được xóa thuốc. Nó bằng liều chia cho khu vực trong đường cong nồng độ huyết tương -thời gian. Ngoài tiêu trừ huyết tương, nó cũng rất cần thiết cho thuốc được sử dụng qua đường miệng để đạt mức hiệu quả theo hệ thống sau phân phối qua đường miệng. Độ sinh khả dụng qua đường miệng là phép đo tiếp xúc huyết tương sau sử dụng qua đường miệng tương ứng với việc tiếp xúc sau sử dụng trong tĩnh mạch.

Dữ liệu dược động học

Nghiên cứu	Nhóm	AUC _{cuối} ^a ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$) trung bình	CL _{cuối} ^b (L/hr/kg) trung bình	Độ sinh khả dụng dùng qua đường miệng (%) ^c trung bình
Chuột (0,5 mg/kg)	IV	0,39	1,22	-
	PO	0,13	3,01	33% $\pm$ 10,3%
Chó (0,1 mg/kg)	IV	0,21	-	-
	PO	0,0349	2,83	16,5% $\pm$ 4,2%
Khỉ (IV:1 mg/kg PO: 2 mg/kg)	IV	2,29	0,38	-
	PO	1,91	1,31	41,8% $\pm$ 22,7%

^a AUC_{cuối} là khu vực trong đường cong nồng độ huyết tương so với thời gian từ thời gian 0 đến thời gian sau khi định lượng tại đó nồng độ định lượng cuối cùng được quan sát, ước tính bằng phương pháp hình thang thẳng

^b CL_{cuối} là liều được chia bởi AUC_{cuối}

^c Độ sinh khả dụng dùng qua đường miệng được tính như AUC_{cuối} sau sử dụng qua đường miệng, được chia bởi AUC_{cuối} sau sử dụng trong tĩnh mạch, bình thường hóa cho bất kỳ sự khác biệt trong liều được sử dụng, biểu hiện dưới dạng phần trăm

Dữ liệu ở chuột này thể hiện rằng hợp chất I có độ sinh khả dụng dùng qua đường miệng khoảng 33% ở liều 0,5 mg/kg. Tại liều cao hơn (30-1000 mg/kg), độ sinh khả dụng trung bình nằm trong khoảng từ 49 đến 79% ở chuột (dữ liệu không được thể hiện). Hợp chất I cũng được sử dụng với azilsartan trong mẫu chuột (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ở chó thể hiện rằng hợp chất I có độ sinh khả dụng dùng

qua đường miệng bị giới hạn khoảng 17%. Tại liều cao hơn (100-300 mg/kg), độ sinh khả dụng trung bình nằm trong khoảng từ 7 đến 13% (dữ liệu không được thể hiện). Dữ liệu ở khỉ thể hiện rằng hợp chất I có độ sinh khả dụng dùng qua đường miệng khoảng 42%. Tại liều cao hơn (30 và 100 mg/kg), độ sinh khả dụng trung bình cho ba chế phẩm khác nằm trong khoảng từ 55 đến 83% (dữ liệu không được thể hiện).

Phân tích 2: Bài tiết thận của hợp chất I ở mẫu chuột, chó và khỉ

Yếu tố quan trọng để bảo đảm định lượng thuốc dài hạn thích hợp và nồng độ thuốc trạng thái ổn định chính xác ở bệnh nhân là khoảng cách an toàn thuốc. Nói chung, khoảng cách an toàn thuốc giảm dẫn đến nồng độ thuốc cao hơn và tác dụng thuốc lớn hơn. Để hiểu khoảng cách an toàn cho thận của hợp chất I, phần trăm liều đã sử dụng được thu hồi trong nước tiểu sau một liều IV được đánh giá trong ba loài động vật. Ba nghiên cứu tách biệt ở chuột Sprague Dawley đực, chó săn thỏ đực và khỉ cynomolgus đực, tương ứng, được tiến hành và quy trình và kết quả thử nghiệm được mô tả ở dưới.

Chuột Sprague Dawley đực (N=6, hai nhóm 3), có khối lượng cơ thể từ 297 đến 316 g và từ 294 đến 311 g, nhận liều IV của hợp chất I ở 0,5 mg/kg (nhóm I) và 3,0 mg/kg (nhóm II) là một phần của caxet định lượng. Hợp chất I được hòa tan trong 5% NaHCO₃ trong D5W (5% dextroza trong nước, độ pH 7,8) ở nồng độ 0,25 mg/mL có tổng nồng độ cuối 1,0 mg/mL để chuyển liều trong tĩnh mạch 0,5 mg/kg. Ngoài ra, hợp chất I được hòa tan trong 5% NaHCO₃ trong D5W (5% dextroza trong nước, độ pH 7,4) ở nồng độ 1,5 mg/mL để chuyển liều trong tĩnh mạch 3 mg/kg. Cả hai chế phẩm được lọc vô trùng trước khi sử dụng trong tĩnh mạch. Chuột tiếp xúc với thức ăn theo lịch cho ăn thông thường của chúng trước và sau khi sử dụng hợp chất I. Để đoàn hệ nhận 0,5 mg/kg hợp chất I, nước tiểu được thu gom trên đá khô. Sau giai đoạn gom nước tiểu 24 giờ, mẫu nước tiểu được làm tan giá, thể tích được ghi lại và mẫu được trộn trước khi loại bỏ một phần (~700 µL) để phân tích sinh học. Để đoàn hệ nhận 3,0 mg/kg hợp chất I, nước tiểu được thu gom như trên nhưng axit axetic băng được bổ sung vào mẫu nước tiểu được thu gom để có nồng độ cuối axit axetic 2%. Tất cả các mẫu được bảo quản đông lạnh (-70°C) trước khi phân tích sinh học.

Nồng độ nước tiểu chuột của hợp chất I được xác định bằng LC/MS/MS. Mẫu nước tiểu được làm tan giá và pha loãng 5 lần trong huyết tương chuột K₂EDTA. 50

μL phần của nước tiểu đã pha loãng được truyền vào tấm 96 lỗ và được chiết bằng 200 μL axetonitril chứa chất nội chuẩn. Tấm 96 lỗ được ly tâm trong 10 phút ở 2809 RPM và dịch nổi bề mặt được pha loãng năm lần bằng 0,2% axit formic trong nước được truyền vào tấm 96 lỗ mới. Dịch nổi bề mặt được pha loãng trong 0,2% axit formic trong nước. Mẫu (10 đến 15 μL) được tiêm vào cột Thermo Hypurity (C18 50x2,1 mm) với tốc độ dòng 0,30 hoặc 0,35 mL/min. Pha di động A gồm 0,2% axit formic trong nước và pha di động B gồm 0,2% axit formic trong axetonitril. Phạm vi phân tích hợp chất I nằm trong khoảng từ 0,0125 đến 25 $\mu\text{g/mL}$ (0,5 mg/kg đoàn hệ) và từ 0,0058 đến 25 $\mu\text{g/mL}$ (3,0 mg/kg đoàn hệ).

Chó săn thỏ đực không thuần (N=6, hai nhóm 3), có khối lượng cơ thể 9,00-11,1 kg và 10,6-13,4 kg, nhận liều IV của hợp chất I ở 0,1 mg/kg (nhóm I) và 1,0 mg/kg (nhóm II) là một phần của caxet định lượng. Hợp chất I được hòa tan trong PEG-200:etanol:nước (40:10:50) ở nồng độ 0,2 mg/mL để định lượng ở 0,1 mg/kg hoặc ở nồng độ 2 mg/mL để định lượng trong tĩnh mạch ở 1 mg/kg và được lọc vô trùng trước khi sử dụng. Chó tiếp xúc với thức ăn trên lịch cho ăn thông thường của chúng trước và sau khi sử dụng hợp chất I. Mẫu nước tiểu được thu gom trên đá ướt hoặc túi lạnh vào vật chứa cân trước đã được chuẩn bị sẵn axit axetic băng. Mẫu được cân lại và axit axetic băng bổ sung được bổ sung nếu cần vào nồng độ cuối 2%. Mẫu được đông lạnh và được bảo quản (-80°C) trước khi phân tích sinh học.

Nồng độ nước tiểu chó của hợp chất I được xác định bằng LC/MS/MS. Mẫu nghiên cứu nước tiểu (được pha loãng trong huyết tương chó săn thỏ K_2EDTA , Biochemed, Winchester, VA) được làm tan giá và xoay và 10 hoặc 20 μL được đặt trong tấm 96 lỗ. Mẫu được chiết bằng thể tích axetonitril lớn hơn 6 lần (60 hoặc 120 μL) với chất nội chuẩn chrysin hoặc glyburit. Chất chiết được ly tâm trong 5 phút ở 3000 RPM và ~70% dịch nổi bề mặt (50 hoặc 100 μL) được truyền vào tấm 96 lỗ mới và được kết hợp với thể tích nước tương tự. Mẫu được tiêm vào cột Mac Mod Ace C18 (2,1x50 mm, 3 μm) hoặc Waters Acquity UPLC BEH C18 (50 x 2,1mm, 1,7 μm) với tốc độ dòng 0,8 hoặc 0,9 mL/min. Pha di động A gồm 95:5:0,1 (v:v:v) nước:axetonitril:axit formic và pha di động B gồm 50:50:0,1 (v:v:v) metanol:axetonitril:axit formic. Phạm vi phân tích hợp chất I trong nước tiểu nằm trong khoảng từ 0,0002 đến 1,00 $\mu\text{g/mL}$.

Khỉ cynomolgus đực không thuần (N=3), có khối lượng cơ thể 2,87-3,61 kg, nhận liều IV của hợp chất I ở 1 mg/kg. Hợp chất I được hòa tan trong 5% NaHCO₃ trong D5W (độ pH 7,4) và được lọc qua thiết bị lọc kim tiêm polyvinyl diflorua (PVDF) 0,22 µM (Millipore Millex-GV, SLGV033RB) trước khi sử dụng. Chế phẩm được điều chế ngày trước khi định lượng và được bảo quản ở -70°C qua đêm và được làm tan giá trước khi định lượng. Liều trong tĩnh mạch của hợp chất I được sử dụng qua ống thông tiểu trong tĩnh mạch đầu tiếp theo xối nước muối khoảng 3 mL. Liều trong tĩnh mạch được sử dụng ở thể tích 1 mL/kg. Mẫu nước tiểu được thu gom trên đá ướt hoặc túi lạnh vào ống chứa axit axetic băng để làm ổn định liên hợp glucuronit tiềm năng bất kỳ. Tổng thể tích mẫu nước tiểu được ước tính trọng lực và thu được mẫu và đông lạnh (-70°C) trước khi phân tích sinh học.

Nồng độ nước tiểu khỉ của hợp chất I được xác định bằng LC/MS/MS. Mẫu nước tiểu được làm tan giá và pha loãng 5 lần trong huyết tương khỉ K₂EDTA (Bioreclamation, Westbury, NY). Mẫu bị xoay và 50 µL được truyền vào tấm 96 lỗ. Mẫu sau đó được chiết bằng 200 µL axetonitril với chất nội chuẩn. Chất chiết được ly tâm trong 10 phút ở 2809 RPM và 50 µL dịch nổi bề mặt được bổ sung vào 200 µL 0,2% axit formic trong nước. Mẫu (10-15 µL) được tiêm vào cột ThermoFisher HyPURITY™ (C18 50x2,1mm) với tốc độ dòng 0,35 mL/min. Pha di động A gồm 0,2% axit formic trong nước và pha di động B gồm 0,2% axit formic trong axetonitril. Phạm vi phân tích hợp chất I nằm trong khoảng từ 0,00125 đến 5 µg/mL.

Lượng trung bình nước tiểu bài tiết qua giai đoạn gom 24 h và khoảng % liều đã sử dụng bài tiết trong nước tiểu được báo cáo trong bảng dưới đây.

Loài	Lượng sử dụng IV (mg/kg)	Bài tiết qua nước tiểu (khoảng % liều được sử dụng thải ra trong nước tiểu) Trung bình ^a (±SD ^b)
Chuột	0,5	< 0,03 (NA)
Chuột	3,0	< 0,02 (NA)
Chó	0,1	< 0,02 (NA)
Chó	1,0	< 0,001 (NA)

Khí	1,0	0,670 (0,593)
-----	-----	---------------

^aTrung bình của ba lần xác định

^bĐộ lệch tiêu chuẩn

Việc bài tiết thận của hợp chất I ở chuột ít hơn 0,02% hoặc ít hơn 0,03% của liều đã sử dụng, ở chó ít hơn 0,02% hoặc ít hơn 0,001% của liều đã sử dụng và ở khỉ khoảng 0,670% $\pm$ 0,593% của liều đã sử dụng. Các dữ liệu này chỉ ra rằng hợp chất I có bài tiết thận thấp trong ba loài được thử nghiệm.

Phân tích 3: Nghiên cứu liều duy nhất tăng dần pha 1

Thử nghiệm lâm sàng liều duy nhất tăng dần (SAD) pha 1 của hợp chất I' (dạng I), mà chuyển đổi thành hoặc hòa tan để tạo ra dạng hòa tan của nó hợp chất I trong cơ thể, được tiến hành để đánh giá việc ức chế neprilysin để điều trị phạm vi bệnh tim mạch và thận, bao gồm, ví dụ, bệnh thận mạn tính, bệnh thận do đái tháo đường, suy tim cấp tính và mạn tính, suy tim với phân suất tổng máu giảm, suy tim với phân suất tổng máu ổn định, rối loạn chức năng thất trái không triệu chứng sau nhồi máu cơ tim (LVD không triệu chứng sau MI), suy tim bán cấp tính và chịu và chứng tăng huyết áp tâm thu đã tách. Độ an toàn và khả năng dung nạp, dược động học (hỗ trợ để định lượng QD/BID và bài tiết không qua thận), dược liệu học (thử nghiệm cho chất đánh dấu sinh học tiếp hợp đích cGMP và ANP), hiệu quả thực phẩm, và độ sinh khả dụng dùng qua đường miệng tuyệt đối và đào thải qua thận sử dụng tác nhân tạo vi vết trong tĩnh mạch ¹⁴C, *không kể những cái khác*, được thử nghiệm.

Nghiên cứu pha 1 là nghiên cứu liều tăng dần duy nhất được kiểm soát giả được ngẫu nhiên, mù kép ở đối tượng nam và nữ khỏe mạnh ngẫu nhiên theo tỷ lệ 4:1. Nghiên cứu gồm 56 đối tượng khỏe mạnh qua nhiều tuần cho phần liều tăng dần, bao gồm đoàn hệ (n = 10/đoàn hệ 8 có hoạt tính và 2 giả dược) được sử dụng liều tăng dần duy nhất 50 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg và 600 mg. Đoàn hệ thứ sáu (n=6) được sử dụng tác nhân tạo vi vết i.v. và liều dùng qua đường miệng 10 μ g và 100 mg, tương ứng. Dữ liệu thử nghiệm lâm sàng SAD chứng minh một phần mà hợp chất I được cho phép tốt sau liều duy nhất lên đến 600 mg.

Phân tích 3.1: Hoạt tính NEP ở người (cGMP)

Một mục đích của nghiên cứu này là để xác định cơ cấu/khoảng thời gian hoạt

động của hợp chất I sau khi định lượng ở người. Để làm việc này, mức cGMP, chất đánh dấu sinh học của tiếp hợp đích neprilysin, được đo sau khi định lượng với hợp chất I' để tạo ra dẫn chứng hiệu quả sinh học của hợp chất I. Ví dụ, nâng mức cGMP huyết tương 24 h sau khi định lượng chỉ ra khoảng thời gian kéo dài hiệu quả được lý, tương tự với giá trị khoảng cách an toàn huyết tương để chứng minh sự bền vững được động học.

Fig. 6 minh họa sự thay đổi ở cGMP huyết tương trung bình (nM) từ đường cơ sở ở liều được thử nghiệm với thời gian. Dữ liệu này chứng minh rằng hợp chất I đề xuất việc tăng kéo dài ở cGMP huyết tương trung bình qua 24 giờ sau liều duy nhất, với mức độ tối đa cGMP có trong khoảng 8 h đến 24 h, với 8-12 h của số là mức cGMP cao nhất. Ngoài ra, đáp ứng liều cGMP huyết tương chứng minh hiệu quả gần tối đa ở đầu thấp hơn của phạm vi liều, tức là, ở mức liều ≥ 100 mg (xem Fig. 7).

Phân tích 3.2 Profin PK, độ sinh khả dụng qua đường miệng và bài tiết qua thận của hợp chất I' ở người

Profin được động học của hợp chất I có tỷ lệ theo liều (xem Fig. 8) và hợp chất I được thể hiện có độ sinh khả dụng qua đường miệng cao (khoảng 80%). Dữ liệu từ thử nghiệm lâm sàng SAD cũng đề nghị mức đào thải qua thận thấp, tức là, nhỏ hơn 1% tổng liều đã sử dụng hợp chất I' được đào thải qua thận như được xác nhận bằng phương pháp kiểm tra tác nhân tạo vi vết trong tĩnh mạch.

Đáng quan tâm là, profin PK (ví dụ $C_{\max}$ của hợp chất I) và profin PD (ví dụ $cGMP_{\max}$) chứng minh giá trị đỉnh trong cửa sổ thời gian khác nhau. Dữ liệu từ thử nghiệm lâm sàng SAD đề nghị việc tăng liên quan đến liều ở mức cGMP huyết tương và nâng cGMP kéo dài qua 24h ở cả huyết tương và nước tiểu, hỗ trợ việc sử dụng hợp chất I hoặc hợp chất I' để định lượng một lần mỗi ngày.

Phân tích 3.3: Biệt hóa từ điều trị tiêu chuẩn

Gần đây, sacubitril được sử dụng kết hợp với valsartan được chỉ ra giảm nguy cơ tử vong do tim mạch và điều trị tại bệnh viện vì suy tim ở bệnh nhân bị suy tim mạn tính và phân suất tống máu giảm. Sự so sánh sacubitril (chất ức chế neprilysin) và hợp chất I chứng minh biệt hóa chính ở đào thải qua thận và tiếp hợp đích 24 giờ. Ví dụ, sacubitril được đào thải nhiều qua thận (60% đào thải qua thận) trong khi hợp chất

I thì không ($< 1\%$ đào thải qua thận) (xem Fig. 9). Điều này có thể quan trọng để điều trị bệnh nhân người mà được thỏa hiệp qua thận bị hoặc không bị bệnh tim. Ngoài ra, mức độ cGMP (tức là, tiếp hợp đích) không được gia tăng ở 24 h sau liều sacubitril, trong khi mức độ cGMP sau khi định lượng với hợp chất I'. Việc này cho phép định lượng hợp chất I hoặc hợp chất I' một lần mỗi ngày tiềm năng, không đúng cho sacubitril kết hợp với valsartan, là chế độ định lượng hai lần mỗi ngày.

Phân tích 4: Nghiên cứu đa liều tăng dần pha 1

Thử nghiệm lâm sàng đa liều tăng dần pha 1 (MAD) của hợp chất I' (dạng I) được tiến hành để còn đánh giá độ an toàn, khả năng dung nạp, dược động học của hợp chất I và chất trao đổi của nó, dược liệu học của hợp chất I, hiệu quả thực phẩm, độ sinh khả dụng qua đường miệng tuyệt đối và đào thải qua thận của đa liều dùng qua đường miệng tăng dần của hợp chất I' ở đối tượng người trưởng thành khỏe mạnh và lớn tuổi. Như được thảo luận dưới đây, dữ liệu được báo cáo xác nhận kết quả chặn lại từ thử nghiệm lâm sàng SAD.

Nghiên cứu pha 1 là nghiên cứu đa liều tăng dần được kiểm soát giả dược ngẫu nhiên mù kép, ở đối tượng nam và nữ khỏe mạnh ngẫu nhiên theo tỷ lệ 4:1. Nghiên cứu đăng ký 50 đối tượng người trưởng thành khỏe mạnh (19-55 tuổi) và lớn tuổi (65-80 tuổi) qua nhiều tuần cho phần liều tăng dần, bao gồm đoàn hệ ($n = 10$ /đoàn hệ 8 có hoạt tính và 2 giả dược) được sử dụng (1) liều tăng dần 50 mg, 100 mg, và 200 mg, (2) liều 10 mg được nghiên cứu song song với 200 mg PK/PK, và (3) liều 100 mg cho một đoàn hệ lớn tuổi. Dữ liệu thử nghiệm lâm sàng MAD chứng minh một phần là hợp chất I thường được cho phép tốt sau nhiều liều dùng qua đường miệng lên đến 14 ngày. Ngoài ra, việc đào thải qua thận hợp chất I có thể bỏ qua sau nhiều định lượng, ví dụ, $< 1\%$ quan sát được ở ngày 1 và ngày 14 cho tất cả các đối tượng.

Phân tích 4.1: Hoạt tính NEP ở người (cGMP) và biệt hóa từ điều trị tiêu chuẩn

Một phần nghiên cứu lâm sàng MAD để xác định cơ cấu/khoảng thời gian hoạt động của hợp chất I sau khi định lượng ở người. Để làm điều này, mức cGMP, chất đánh dấu sinh học của tiếp hợp đích neprilysin, được đo sau khi định lượng với hợp chất I' để tạo ra dẫn chứng của hiệu quả sinh học của hợp chất I. Ví dụ, việc nâng mức cGMP huyết tương 24 h sau khi định lượng chỉ ra khoảng thời gian kéo dài hiệu quả dược lý, tương tự với giá trị khoảng cách an toàn huyết tương để chứng minh sự bền

vững được động học.

Fig. 10 minh họa sự thay đổi ở cGMP huyết tương trung bình (nM) từ đường cơ sở ở liều được thử nghiệm với thời gian. Dữ liệu này chứng minh rằng hợp chất I đề xuất sự tăng kéo dài về cGMP huyết tương trung bình qua 24 h. Kết quả quan trọng được thể hiện trên Fig. 10. Dữ liệu này minh họa rằng ở ngày 14 của nghiên cứu lâm sàng, tiếp hợp đích của tất cả các liều ở hôm (0 h) cũng như tất cả các liều được đo lên đến 24 h cho liều một lần mỗi ngày của hợp chất I'. Việc này ngược với điều trị tiêu chuẩn mà ở đó ít đến không đích tiếp hợp ở hôm và 24 h với chế độ định lượng hai lần mỗi ngày (xem trang 411 của Gu *et al.*, J. Clin. Pharmacol., 2010, Vol. 50, Issue 4, pp. 401-414).

Trong khi sáng chế được mô tả có tham chiếu đến khía cạnh hoặc phương án cụ thể của chúng, sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực là các thay đổi có thể được thực hiện hoặc tương đương có thể được thể không xa rời khỏi tinh thần và phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, trong phạm vi được phép bởi các đạo luật và quy định sáng chế hiện hành, tất cả các công bố, bằng sáng chế và đơn xin cấp bằng sáng chế được trích dẫn trong bản mô tả này được kết hợp theo đây bằng cách tham chiếu toàn bộ đến cùng một mức độ như thể mỗi tài liệu được kết hợp riêng bằng cách tham khảo trong bản mô tả này.

Yêu cầu bảo hộ

1. Dạng tinh thể axit tự do của axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic (I'), trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi mẫu nhiễu xạ bột tia X bao gồm đỉnh nhiễu xạ tại giá trị 2 θ là 6,51 $\pm$ 0,20, 11,62 $\pm$ 0,20, 13,05 $\pm$ 0,20, 15,07 $\pm$ 0,20, và 23,28 $\pm$ 0,20.
2. Dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi mẫu nhiễu xạ bột tia X bao gồm đỉnh nhiễu xạ tại giá trị 2 θ là 6,51 $\pm$ 0,20, 11,62 $\pm$ 0,20, 13,05 $\pm$ 0,20, 15,07 $\pm$ 0,20, 17,12 $\pm$ 0,20, 23,28 $\pm$ 0,20, và 26,19 $\pm$ 0,20.
3. Dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X còn bao gồm một hoặc nhiều đỉnh nhiễu xạ bổ sung tại giá trị 2 θ được chọn từ 15,72 $\pm$ 0,20, 17,12 $\pm$ 0,20, 20,79 $\pm$ 0,20, 21,10 $\pm$ 0,20, 24,48 $\pm$ 0,20, 25,81 $\pm$ 0,20, và 26,19 $\pm$ 0,20.
4. Dạng tinh thể theo điểm 1, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi vết phân tích nhiệt quét vi sai ghi ở tốc độ gia nhiệt 10°C trên mỗi phút mà thể hiện dòng thu nhiệt tối đa ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 214°C đến khoảng 218°C.
5. Dược phẩm chứa dạng tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 và chất mang dược dụng.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó chất mang dược dụng là magie stearat.
7. Dược phẩm chứa dạng tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 và chất đối kháng thụ thể AT₁, chất ức chế phosphodiesteraza, chất ức chế renin, chất ức chế guanylat xyclaza hòa tan, chất đối kháng thụ thể corticoit khoáng, thuốc lợi niệu, hoặc tổ hợp của chúng.
8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó dược phẩm này còn chứa chất mang dược dụng.
9. Dược phẩm dạng liều dùng qua đường miệng chứa dạng tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 trong viên nang, viên nén, hoặc dung dịch huyền phù.
10. Dược phẩm dạng liều dùng qua đường miệng theo điểm 9, trong đó sự giải phóng dạng tinh thể ở đối tượng là giải phóng tức thì, có kiểm soát hoặc kéo dài.
11. Dược phẩm dạng liều dùng qua đường miệng theo điểm 9, trong đó nguyên liệu bao nang là gelatin, polysaccarit, chitosan hoặc polyme tổng hợp.
12. Dược phẩm dạng liều dùng qua đường miệng theo điểm 9, trong đó bao nang này

là bao nang cứng mà chứa gelatin, polysaccarit, hoặc polyme tổng hợp.

13. Dược phẩm dạng liều dùng qua đường miệng theo điểm 9, trong đó bao nang này chứa hydroxypropyl methylxenluloza.

14. Quy trình để điều chế dạng tinh thể theo điểm 1, quy trình này bao gồm:

(a) tạo thành dung dịch chứa axit (2*S*,4*R*)-5-(5'-clo-2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)-2-(etoxymetyl)-4-(3-hydroxyisoxazol-5-carboxamido)-2-methylpentanoic và dung môi, tùy ý với chất khử kim loại, ở nhiệt độ cao;

(b) làm lạnh dung dịch xuống nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng -20°C đến 5°C; và

(c) tách chất rắn tạo thành để thu được dạng tinh thể.

15. Quy trình theo điểm 14,

(a) trong đó dung môi ở bước (a) là dung môi phân cực, ví dụ hỗn hợp của etyl axetat và nước, etyl axetat, hoặc etanol; hoặc

(b) trong đó nhiệt độ ở bước (a) nằm trong khoảng từ khoảng 60°C đến 95°C, ví dụ nằm trong khoảng từ khoảng 70°C đến 85°C; hoặc

(c) trong đó việc tách chất rắn ở bước (c) bao gồm lọc, rửa bằng một hoặc nhiều dung môi, làm khô trong không khí hoặc chân không, hoặc kết hợp các bước này, ví dụ trong đó dung môi là etyl axetat và nước, etyl axetat hoặc etanol và/hoặc ví dụ trong đó việc làm khô trong chân không được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 70°C.

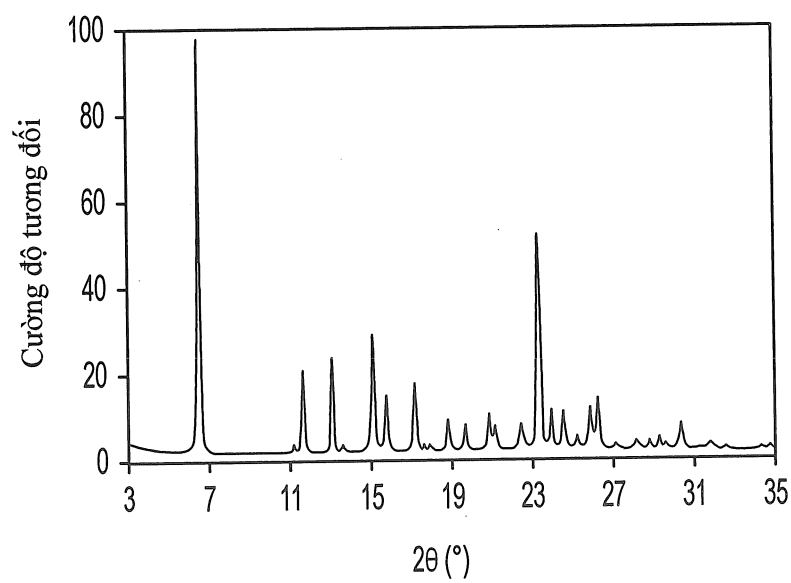


FIG. 1

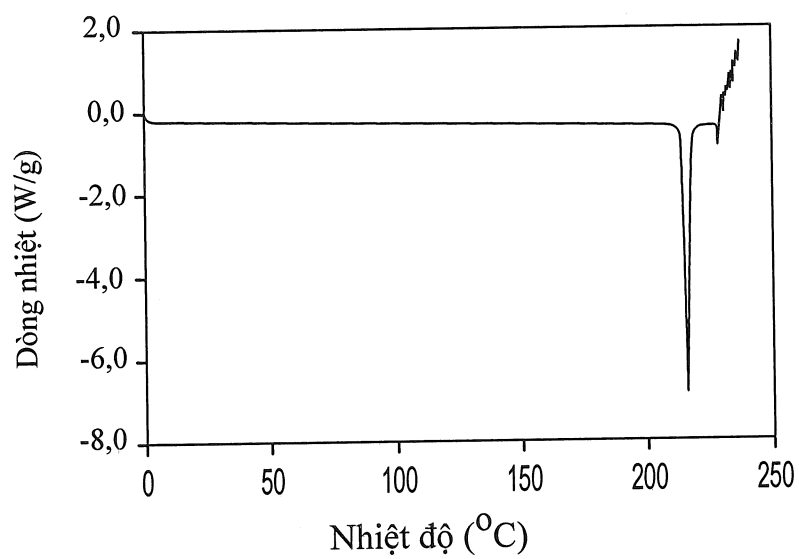


FIG. 2

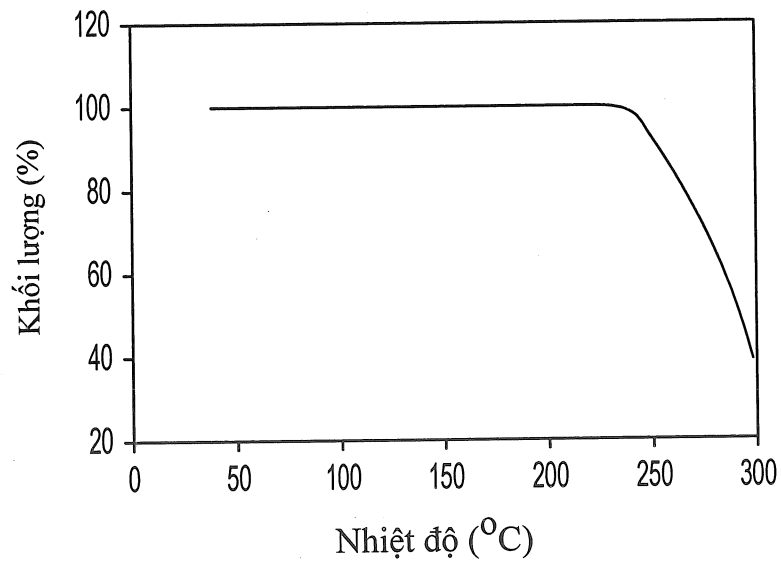


FIG. 3

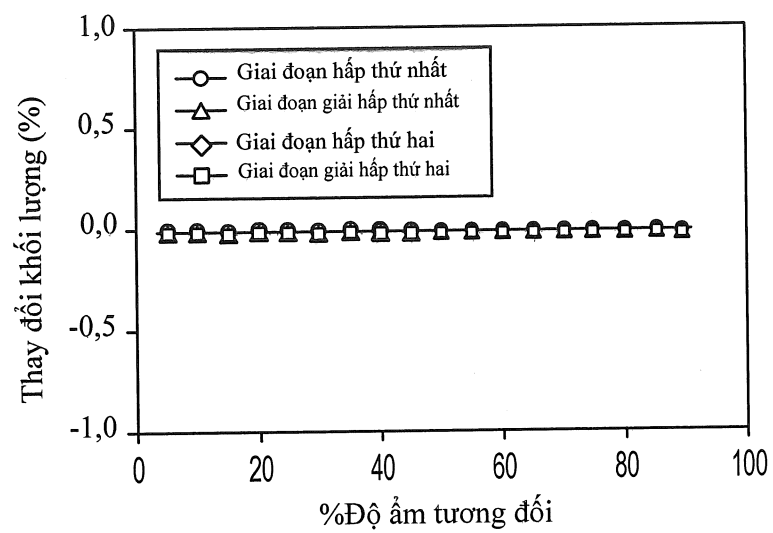


FIG. 4

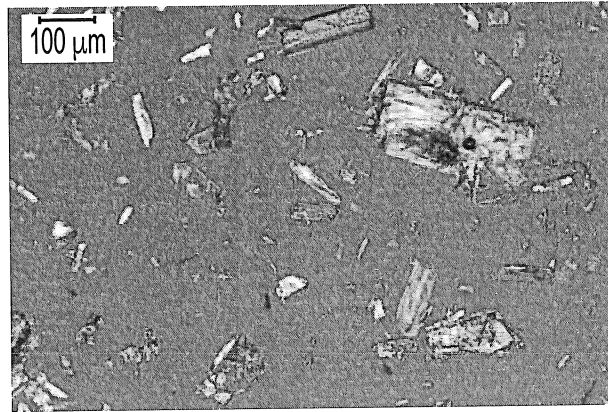


FIG. 5

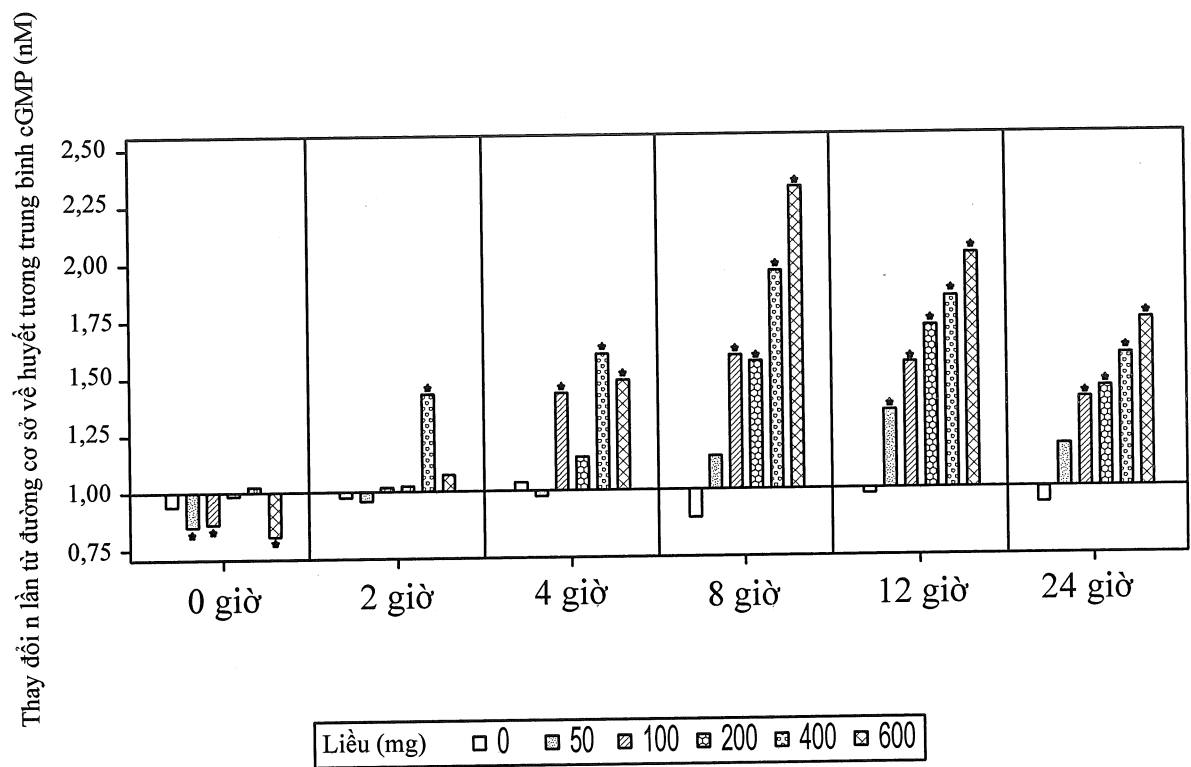


FIG. 6

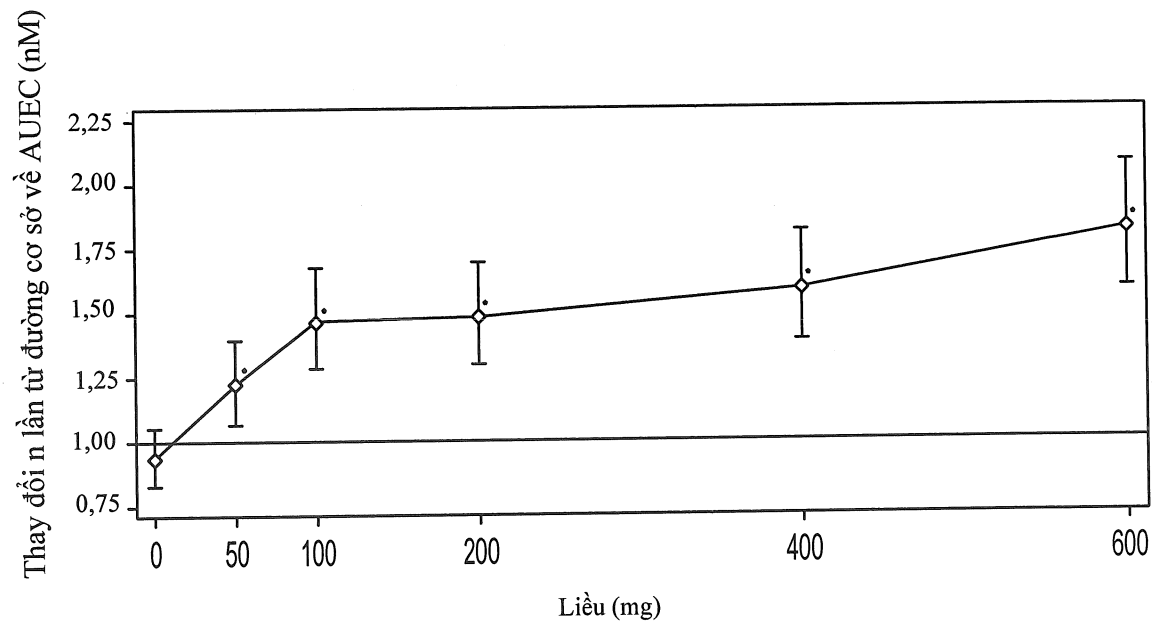


FIG. 7

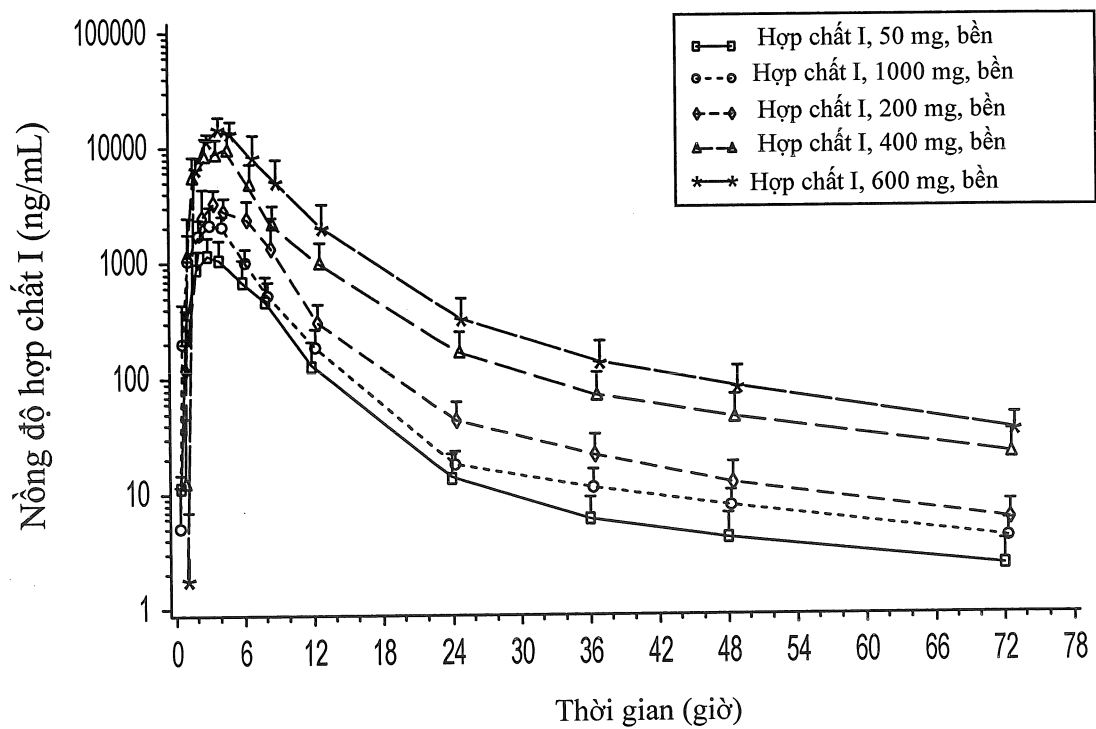


FIG. 8

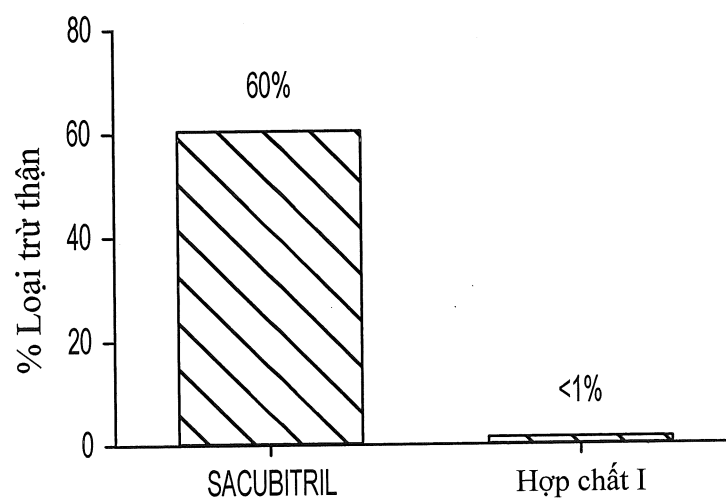


FIG. 9

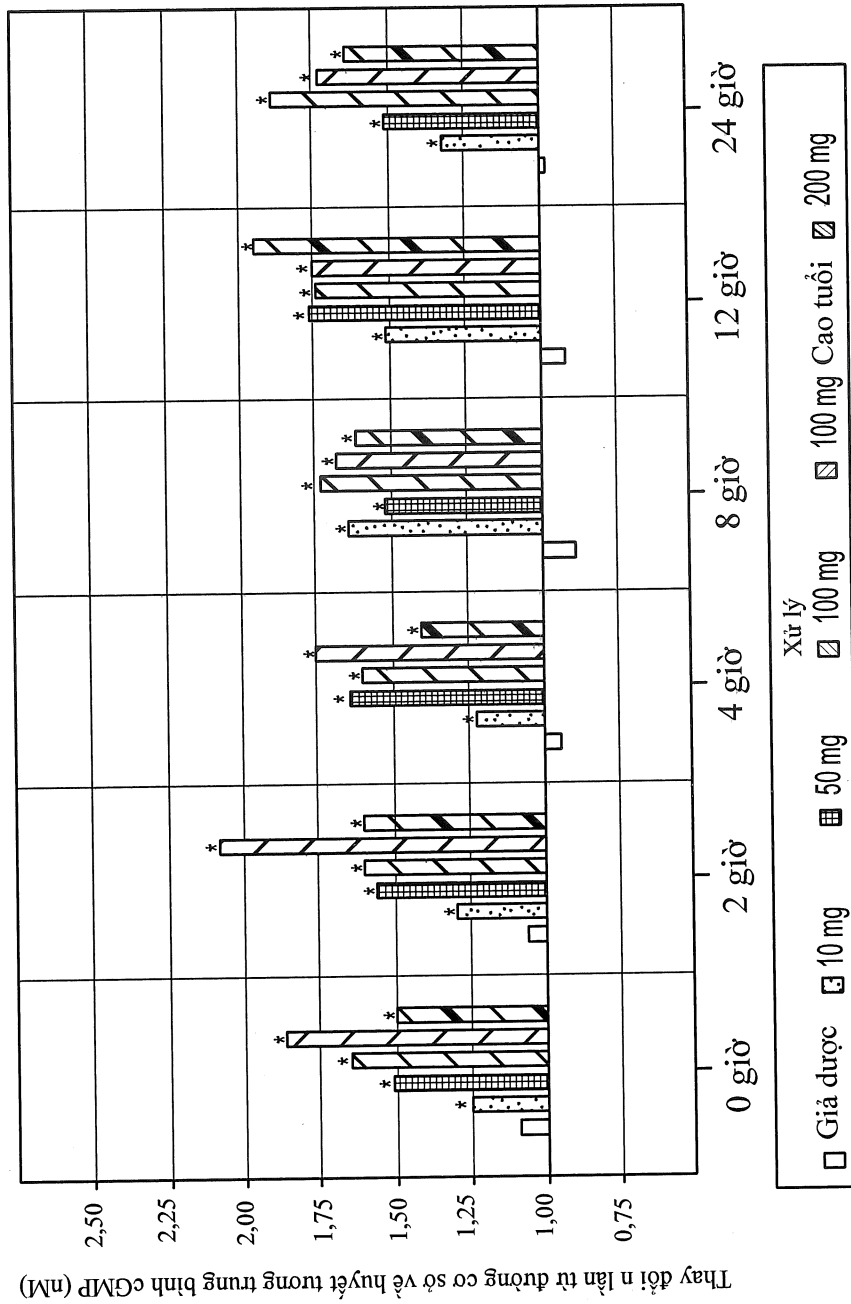


FIG. 10