



(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)



1-0040169

(51)^{2019.01} C07D 405/14; A61K 31/506; A61P
35/00

(13) B

-
- (21) 1-2019-06383 (22) 20/04/2018
(86) PCT/IB2018/052745 20/04/2018 (87) WO2018/193410 25/10/2018
(30) 1706327.2 20/04/2017 GB
(45) 25/06/2024 435 (43) 25/05/2020 386
(73) OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)
2-9, Kanda Tsukasa-machi, Chiyoda-ku, Tokyo 1018535, Japan
(72) READER, Michael (GB); WILSHER, Nicola Elizabeth (GB); SAUNDERS, Mark
Henry (GB); BAGULEY, Paul Anthony (GB); LINDLEY, Colin Thomas (GB);
MELLING, Robert Craig (GB); ADAMCZYK, Bozena Ewa (PL); SCARATI, Mirka
(IT).
(74) Công ty TNHH Quốc tế D & N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)
-

- (54) CHẤT DẪN XUẤT 6-PYRIMIDIN-ISOINDOL LÀM CHẤT ỨC CHẾ ERK1/2,
CÁC TINH THỂ CỦA CHÚNG, QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT NÀY VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-
1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-
hydroxyetyl]propanamit, và cụ thể là đề cập đến các dạng vật lý mới của hợp chất này, quy
trình điều chế hợp chất và các chất trung gian tổng hợp để sử dụng trong quy trình này, và
các dạng chế phẩm mới chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, và cụ thể là đề cập đến các dạng vật lý mới của hợp chất này, quy trình điều chế hợp chất này và các chất trung gian tổng hợp để sử dụng trong quy trình này, và các dạng chế phẩm mới chứa hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Quá trình truyền tín hiệu MAPK và vai trò của ERK1/2

Các kinaza được điều hòa bởi tín hiệu ngoại bào (ERK1/2) là các protein serin/threonin kinaza được biểu hiện ở khắp mọi nơi mà chứa thành phần then chốt trong con đường truyền tín hiệu protein kinaza được hoạt hóa bởi tác nhân phân bào (mitogen-activated protein kinase - MAPK). Con đường MAPK là con đường truyền tín hiệu tế bào được bảo tồn trong quá trình tiến hóa, con đường này điều hòa nhiều quá trình tế bào khác nhau bao gồm sự tiến triển chu trình tế bào, sự di cư tế bào, sự sống sót của tế bào, sự biệt hóa, sự trao đổi chất, sự tăng sinh và sao chép. Con đường truyền tín hiệu ERK/MAPK đáp ứng sự kích thích ngoại bào của các tyrosin kinaza thụ thể (receptor tyrosine kinases – RTK) bề mặt của tế bào. Khi hoạt hóa các RTK, các RAS GTPaza (K-RAS, N-RAS và H-RAS) được chuyển đổi từ trạng thái liên kết với GDP không hoạt động sang trạng thái liên kết với GTP hoạt động. Các RAS được hoạt hóa phosphoryl hóa và nhờ đó hoạt hóa RAF (A-RAF, B-RAF và C-RAF), hợp chất này sau đó phosphoryl hóa và hoạt hóa MEK kinaza đặc hiệu kép (MEK1/2). Tiếp đó, MEK được hoạt hóa phosphoryl hóa và hoạt hóa ERK1/2. Khi hoạt hóa, ERK1/2 hoạt hóa nhiều cơ chất ở nhân và tế bào chất. Hiện có hơn 200 cơ chất ERK1/2 được biết đến, bao gồm các yếu tố phiên mã, các kinaza, các phosphataza và protein bộ xương tế bào (Roskoski, Pharmacol. Res. 2012; 66: 105-143).

Một số isozym của ERK đã được nhận diện (ERK1, ERK2, ERK3/4, ERK5, ERK7) nhưng hai isozym được nghiên cứu rộng rãi nhất là ERK1 và ERK2: xem tài liệu:

R. Roberts, *J. Exp. Pharm.*, *The extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway: a potential therapeutic target in hypertension*, 2012; 4, 77-83, và Cargnello và đồng tác giả, *Microbiol. & Mol. Biol. Rev.*, *Activation and Function of the MAPKs and Their Substrates, the MAPK-Activated Protein Kinases* 2011, 50-83.

Sự điều hòa tăng quá trình truyền tín hiệu ERK1/2 ở bệnh ung thư

Hoạt tính ERK1/2 thường được điều hòa tăng trong bệnh ung thư, do các đột biến hoạt hóa nằm trong các hợp phần ngược dòng của con đường MAPK. Khoảng 30% trường hợp ung thư ở người có chứa các đột biến RAS hoạt hóa (Roberts và Der, *Oncogene*. 2007; 26: 3291–3310). K-RAS là dạng đồng chức năng bị đột biến thường xuyên nhất và bị đột biến ở 22% trong số tất cả các trường hợp khối u. Các đột biến KRAS đặc biệt phổ biến ở carcinom tuyến tụy (70-90%), carcinom không tế bào nhỏ (10-20%) và ung thư kết trực tràng (25-35%) (Neuzillet và đồng tác giả, 2014. *Pharmacol. Ther.* 141; 160-171). Các đột biến N-RAS và H-RAS lần lượt xuất hiện trong 8% và 3% các trường hợp ung thư (Prior và đồng tác giả, *Cancer Res.* 2012; 72 (10); 2457-2467). Đáng chú ý là, các đột biến N-RAS hoạt hóa đã được báo cáo trong 15-20% trường hợp u ác tính. Hơn nữa, việc các đột biến B-RAF hoạt hóa xảy ra ở 8% các khối u và đặc biệt phổ biến ở u ác tính (50-60%), ung thư tuyến giáp dạng nhú (40-60%), ung thư kết trực tràng (5-10%) và ung thư phổi không tế bào nhỏ (3-5%) (Neuzillet và đồng tác giả, 2014. *Pharmacol. Ther.* 141; 160-171). Ngoài sự xuất hiện của các đột biến RAS và RAF hoạt hóa, con đường truyền tín hiệu MAPK cũng có thể được điều hòa tăng trong bệnh ung thư do sự biểu hiện quá mức hoặc hoạt hóa đột biến của RTKS ngược dòng như EGFR (Lynch và đồng tác giả, *N Engl J Med.* 2004; 350: 2129–2139), HER2 (Stephens và đồng tác giả, *Nature*. 2004; 431: 525-526) và FGFR (Ahmed và đồng tác giả, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.* 2012; 1823: 850-860).

Có nhiều cơ chế mà qua đó quá trình truyền tín hiệu ERK1/2 sai lệch có thể góp phần vào sự tiến triển của bệnh ung thư. Khi hoạt hóa, ERK1/2 phosphoryl hóa và hoạt hóa một loạt các yếu tố phiên mã tham gia vào việc thúc đẩy quá trình tăng sinh và biệt hóa tế bào, như c-Fos (Murphy và đồng tác giả, *Nat. Cell Biol.* 2002; 4 (8):556-64) và ELK-1 (Gille và đồng tác giả, *EMBO J.* 1995; 14 (5):951-62). Ngoài ra, quá trình truyền tín hiệu ERK1/2 được biết là thúc đẩy sự tiến triển chu kỳ tế bào thông qua nhiều cơ chế, bao gồm cơ chế gây cảm ứng các cyclin kiểu D và cơ chế ức chế của chất ức chế kinaza

phụ thuộc vào cyclin p27^{KIP1} (Kawada và đồng tác giả, *Oncogene*. 1997; 15: 629 – 637, Lavoie và đồng tác giả, *J. Biol.Chem.* 1996; 271: 20608-20616). Hơn nữa, quá trình truyền tín hiệu ERK1/2 có thể thúc đẩy sự sống sót của tế bào bằng cách điều hòa một loạt các protein chết theo chương trình. Ví dụ về các cơ chế như vậy bao gồm sự ức chế phụ thuộc ERK1/2 của các protein thuộc họ BCL-2 gây quá trình chết theo chương trình BIM1 và BAD (She và đồng tác giả, *J. Biol Chem.* 2002; 277: 24039-24048. Ley và đồng tác giả, *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 18811–18816) và sự ổn định phụ thuộc ERK1/2 của các protein chống lại sự chết theo chương trình như MCL-1 (Domina và đồng tác giả, *Oncogene*. 2004; 23: 5301-5315).

Vai trò của ERK1/2 trong việc kháng lại chất ức chế MAPK

Một loạt các nghiên cứu tiền lâm sàng đã chứng minh rằng sự ức chế con đường MAPK ngăn chặn sự phát triển của các dòng tế bào ung thư chứa các đột biến B-Raf hoặc Ras (Friday & Adjei, *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 342-346). Các chất ức chế RAF vemurafenib và dabrafenib, và chất ức chế MEK trametinib được chấp thuận về mặt lâm sàng để điều trị u ác tính đột biến BRAF. Các tác nhân này gây ra các đáp ứng mạnh mẽ chống lại khối u ở đa số đối tượng bệnh, mặc dù khoảng thời gian đáp ứng là ngắn, do sự khởi đầu của quá trình kháng thuốc mắc phải (Chapman và đồng tác giả, *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 2507–2516. Hauschild và đồng tác giả, *Lancet*. 2012; 380: 358–365. Solit và Rosen, *N Engl J Med*. 2011; 364 (8): 772-774. Flaherty và đồng tác giả, *N. Engl. J. Med.* 2012; 367: 1694-1703). Nhiều cơ chế kháng chất ức chế B-RAF mắc phải đã được xác định. Các cơ chế này bao gồm sự điều hòa tăng hoặc sự hoạt hóa của các hoạt chất MEK thay thế như C-RAF hoặc COT1 (Villanueva và đồng tác giả, *Cancer Cell*. 2010; 18:683–95. Johannessen và đồng tác giả, *Nature*. 2010; 468: 968–72), sự điều hòa tăng quá trình truyền tín hiệu RTK hoặc NRAS (Nazarian và đồng tác giả, *Nature*. 2010; 468:973–7), và sự khởi phát các đột biến hoạt hóa MEK (Wagle và đồng tác giả, *J Clin Oncol*. 2011; 29:3085–96). Các cơ chế kháng chất ức chế MEK bao gồm sự xuất hiện của các đột biến MEK mà làm giảm liên kết của thuốc hoặc tăng cường hoạt tính MEK nội tại (Emery và đồng tác giả, *Proc Natl. Acad. Sci.* 2009; 106: 20411-20416. Wang và đồng tác giả, *Cancer Res.* 2011; 71: 5535-5545), và sự khuếch đại BRAF hoặc KRAS (Little và đồng tác giả, *Biochem Soc. Trans.* 2012; 40(1): 73-8). Đặc điểm chung của cơ chế kháng chất ức chế RAF hoặc MEK là sự hoạt hóa lại quá trình truyền tín hiệu ERK1/2, mà dẫn đến

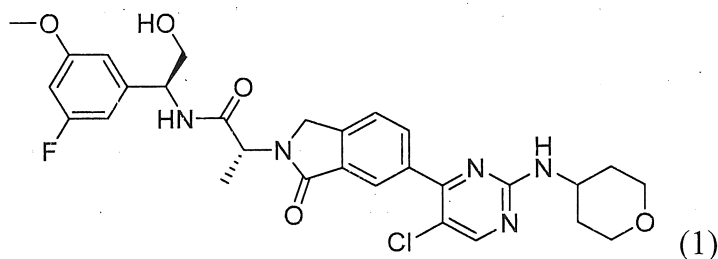
sự tăng sinh và sống sót của tế bào với sự có mặt của các chất ức chế. Dựa trên sự quan sát này, có gợi ý rằng sự ức chế ERK1/2 trực tiếp có thể là phương pháp tiếp cận trị liệu hiệu quả để khắc phục được sự kháng chất ức chế RAF hoặc MEK. Có bằng chứng tiền lâm sàng cho thấy sự ức chế ERK1/2 khắc phục được sự kháng chất ức chế RAF hoặc MEK (Hatzivassiliou và đồng tác giả, Mol Cancer Ther. 2012; 11(5):1143-54. Morris và đồng tác giả, Cancer Discov. 2013; 3 (7):742-50).

Các bệnh bổ sung

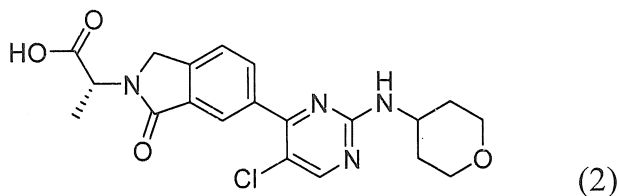
Ngoài bệnh ung thư, quá trình truyền tín hiệu ERK1/2 bất thường cũng đã được báo cáo trong các bệnh khác, bao gồm bệnh tim mạch (Muslin, Clin. Sci. 2008; 115: 203–218), bệnh Alzheimer (Giovannini và đồng tác giả, Neuroscience. 2008; 153: 618–633), bệnh thận đa nang (Omori và đồng tác giả, J Am Soc Nephrol. 2006; 17:1604–1614), bệnh suyễn (Duan và đồng tác giả, J Immunol. 2004; 172: 7053–7059) và bệnh khí phế thũng (Mercer và đồng tác giả, J. Biol. Chem. 2004; 279: 17690–17696).

(2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit

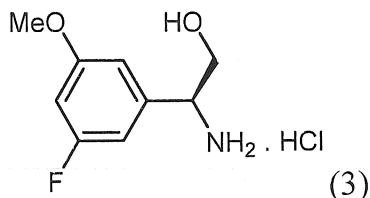
Đơn yêu cầu cấp patent quốc tế sớm hơn của chủ đơn số PCT/IB2016/001507 (các nội dung của đơn này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn) bộc lộ nhóm các hợp chất benzolactam dùng làm các chất ức chế ERK2. Một trong số các hợp chất được bộc lộ cụ thể trong đó là hợp chất (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit có công thức (1):



Quy trình điều chế hợp chất này được mô tả trong ví dụ 685 của đơn PCT/IB2016/001507 và bao gồm phản ứng của hợp chất có công thức (2):



với hợp chất có công thức (3):



trong dimethylformamit (DMF) và triethylamin khi có mặt chất hoạt hóa tạo liên kết amit O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni tetraflororat (TBTU).

Trong ví dụ 685, sáng chế bộc lộ rằng, sau khi work-up (các phản ứng phụ diễn ra sau phản ứng chính nhằm đạt được sản phẩm mong muốn) và tinh chế một phần bằng sắc ký trên silica, làm bay hơi nước giải hấp từ cột sắc ký thu được thủy tinh, thủy tinh này sau đó được nghiền nhỏ với ete thu được hợp chất (1) ở dạng chất rắn vô định hình.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Trong ví dụ 685 của đơn số PCT/IB2016/001507, hợp chất (1) được điều chế ở dạng vô định hình. Tuy nhiên, hiện nay đã phát hiện rằng có thể điều chế dạng tinh thể của hợp chất có công thức (1). Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (1) ở dạng gần như tinh thể.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp mới để điều chế hợp chất có công thức (1) và các chất trung gian tổng hợp, và các dạng chế phẩm bao gồm hợp chất có công thức (1).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là ảnh nhiễu xạ bột tia X của một dạng tinh thể (“Dạng A”) của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

Hình 2 là ảnh nhiễu xạ bột tia X của một dạng tinh thể khác (“Dạng B”) của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

Hình 3 là mẫu quét đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) của dạng tinh thể B của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

Hình 4 là profin giảm trọng lượng thu được bằng phương pháp phân tích nhiệt trọng của dạng tinh thể B của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

Hình 5 thể hiện profin khối lượng của dạng tinh thể B của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit tại các độ ẩm khác nhau thu được bằng phương pháp phân tích hấp phụ hơi động lực.

Hình 6 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối hydroclorua vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 7 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối sulphat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 8 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối napadisilat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 9 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối edisylat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 10 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối tosylat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 11 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối mesylat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 12 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối napsylat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 13 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối besylat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 14 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối isethionat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

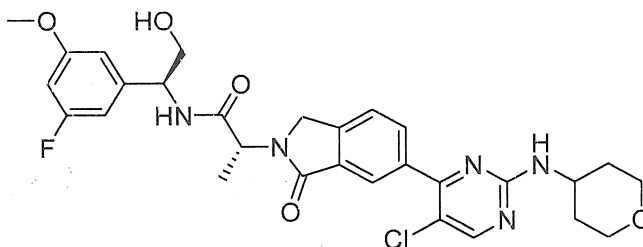
Hình 15 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối esylat vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Hình 16 thể hiện phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối hydrobromua vô định hình của hợp chất có công thức (1) thu được ở ví dụ 2.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (1)

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, có công thức (1):



(1)

hoặc dạng hỗn biến của nó, ở dạng gần như tinh thể.

Mặc dù hợp chất có công thức (1) có thể tạo thành các muối, việc đề cập đến hợp chất ở dạng tinh thể là đề cập đến bazơ tự do.

Việc đề cập đến hợp chất có công thức (1), trong đó ngữ cảnh này thừa nhận, bao gồm trong phạm vi của việc đề cập này tất cả các solvat, chất hỗn biến và các biến thể đồng vị của chúng.

Trong một chất rắn vô định hình, không tồn tại cấu trúc ba chiều mà thường tồn tại ở dạng tinh thể và vị trí của các phân tử so với nhau ở dạng vô định hình về cơ bản là ngẫu nhiên, xem ví dụ Hancock và đồng tác giả *J. Pharm. Sci.* (1997), 86, 1).

Thuật ngữ “gần như tinh thể” đề cập đến các dạng của hợp chất có công thức (1) trong đó có từ 50% đến 100% kết tinh. Trong phạm vi khoảng này, hợp chất có công thức (1) có thể có ít nhất là 55% kết tinh, hoặc ít nhất 60% kết tinh, hoặc ít nhất 70% kết tinh, hoặc ít nhất 80% kết tinh, hoặc ít nhất 90% kết tinh, hoặc ít nhất 95% kết tinh, hoặc ít

nhất 98% kết tinh, hoặc ít nhất 99% kết tinh, hoặc ít nhất 99,5% kết tinh, hoặc ít nhất 99,9% kết tinh, ví dụ 100% kết tinh.

Theo một phương án cụ thể, dạng tinh thể là 95% đến 100 % kết tinh, ví dụ ít nhất 98% kết tinh, hoặc ít nhất 99% kết tinh, hoặc ít nhất 99,5% kết tinh, hoặc ít nhất 99,6% kết tinh hoặc ít nhất 99,7% kết tinh hoặc ít nhất 99,8% kết tinh hoặc ít nhất 99,9% kết tinh, ví dụ 100% kết tinh.

Các dạng tinh thể của hợp chất theo sáng chế có thể được solvat hóa (ví dụ hydrat hóa) hoặc không được solvat hóa (ví dụ khan).

Theo một phương án, hợp chất này là khan.

Thuật ngữ "khan" khi được sử dụng trong bản mô tả này không loại trừ khả năng có một ít nước trên hoặc trong hợp chất này (ví dụ tinh thể của hợp chất này). Ví dụ, có thể có một ít nước trên bề mặt của hợp chất này (ví dụ tinh thể hợp chất), hoặc lượng nhỏ trong khối hợp chất này (ví dụ tinh thể). Thông thường, dạng khan chứa ít hơn 0,4 phân tử nước trên mỗi phân tử hợp chất, và tốt hơn nữa là chứa ít hơn 0,1 phân tử nước trên mỗi phân tử hợp chất, ví dụ 0 phân tử nước.

Theo một phương án khác, hợp chất này được solvat hóa, ví dụ được hydrat hóa. Trong đó các dạng tinh thể được hydrat hóa, chúng có thể chứa, ví dụ, tới ba phân tử nước kết tinh, thường là có tới hai phân tử nước, ví dụ một phân tử nước hoặc hai phân tử nước. Các hydrat không hợp thức cũng có thể được tạo thành trong đó số lượng phân tử nước có mặt là ít hơn một hoặc theo cách khác không phải là số nguyên. Ví dụ, trong đó có ít hơn một phân tử nước, có thể có ví dụ 0,4, hoặc 0,5, hoặc 0,6, hoặc 0,7, hoặc 0,8, hoặc 0,9 phân tử nước trên mỗi phân tử hợp chất (1).

Theo một phương án, dạng tinh thể của hợp chất (1) là monohydrat và dạng tinh thể này chứa một phân tử nước kết tinh.

Các solvat khác bao gồm các alcoholat như etanolat và isopropanolat.

Các dạng tinh thể được mô tả trong bản mô tả này, các tinh thể của chúng và các cấu trúc tinh thể của chúng tạo thành các khía cạnh khác của sáng chế.

Các tinh thể và các cấu trúc tinh thể của chúng có thể được mô tả tính chất bằng cách sử dụng một số kỹ thuật bao gồm, nhiều xạ bột tia X (XRPD), nhiều xạ tia X đơn

tinh thể, đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) và phân tích nhiệt lượng (TGA). Tính chất của các tinh thể này trong các điều kiện độ ẩm thay đổi có thể được phân tích bằng các nghiên cứu hấp phụ hơi trọng lượng (như hấp phụ hơi động lực).

Cấu trúc tinh thể của một hợp chất có thể được phân tích bằng kỹ thuật chất rắn của nhiễu xạ bột tia X (XRPD). XRPD có thể được thực hiện theo các phương pháp thông thường như các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này (xem Ví dụ 4A) và trong phần giới thiệu về Nhiễu xạ bột tia X, Ron Jenkins và Robert L. Snyder (John Wiley & Sons, New York, 1996). Sự có mặt của các đỉnh xác định (trái ngược với nhiễu nền ngẫu nhiên) trong giản đồ nhiễu xạ XRPD chỉ ra rằng hợp chất này có độ tinh thể.

Mẫu nhiễu xạ bột tia X của một hợp chất được đặc trưng bởi góc nhiễu xạ (2θ) và các tham số khoảng cách giữa các mặt phẳng (d) của phổ nhiễu xạ tia X. Các tham số này được liên hệ bởi phương trình Bragg, $n\lambda = 2d \sin \theta$, (trong đó $n=1$; λ =chiều dài bước sóng của bức xạ tia X; d = khoảng cách giữa các mặt phẳng; và θ = góc nhiễu xạ). Trong bản mô tả này, khoảng cách giữa các mặt phẳng, góc nhiễu xạ và mẫu tổng thể là quan trọng để xác định tinh thể trong kỹ thuật nhiễu xạ bột tia X, do các đặc điểm của dữ liệu. Cường độ tương đối không cần được giải thích một cách nghiêm ngặt vì nó có thể thay đổi tùy theo hướng phát triển tinh thể, kích thước hạt và điều kiện đo. Ngoài ra, các góc nhiễu xạ thường có nghĩa là các góc trùng nhau trong khoảng $2\theta \pm 0,2^\circ$.

Cho đến nay, hai dạng tinh thể đặc trưng của bazơ tự do của hợp chất (1) đã được xác định và chúng được gọi ở đây là “dạng A” và “dạng B”. Trong số hai dạng này, dạng B dường như là dạng ổn định nhất. Dữ liệu mô tả đặc điểm của cả dạng A và dạng B được trình bày trong phần các ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Cả hai dạng A và B của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit tinh thể theo sáng chế được đặc trưng bởi XRPD (xem các ví dụ 3 và 4 và các hình 1 và 2).

Trong mỗi trường hợp, mẫu nhiễu xạ bột tia X có thể biểu diễn bởi các thuật ngữ góc nhiễu xạ (2θ), khoảng cách giữa các mặt phẳng (d) và cường độ tương đối của các đỉnh trong giản đồ nhiễu xạ.

Dạng A

Dạng tinh thể thứ nhất (dạng A) của bazơ tự do của hợp chất (1) có thể được tạo thành từ phản ứng dị ly từ dung dịch muối axit clohydric của hợp chất (1) trong hỗn hợp dung môi nước:propanol có tỷ lệ 3:1, như được mô tả trong ví dụ 3A dưới đây. Giảm nhiễu xạ XRPD cho dạng A được thể hiện trên Hình 1. Trong suốt quy trình phản ứng dị ly, axit này tách ra khỏi bazơ tự do và tồn tại trong dung dịch để còn lại huyền phù của bazơ tự do của hợp chất (1).

Dạng tinh thể A cũng có thể được điều chế bằng cách tạo huyền phù muối axit clohydric vô định hình của hợp chất (1) trong nước ở 70°C trong thời gian dài (ví dụ 96 giờ) và sau đó lọc ra vật liệu tinh thể.

Dạng B

Dạng tinh thể thứ hai (dạng B) của bazơ tự do cũng có thể được điều chế bằng phản ứng dị ly một muối cộng axit (như muối hydroclorua, sulfat hoặc hydrobromua) bằng cách khuấy kéo dài huyền phù chứa nước của muối này trong nước tinh khiết nhưng ở nhiệt độ thấp hơn so với nhiệt độ sử dụng để tạo thành dạng tinh thể A trên đây. Do đó, dạng B có thể được điều chế như được mô tả trong các ví dụ 3B-3D dưới đây bằng cách tạo huyền phù muối vô định hình của axit vô cơ (như muối hydroclorua, sulfat hoặc hydrobromua) của hợp chất (1) trong nước tinh khiết ở 18-23°C, sau đó khuấy hỗn hợp này ở 45-50°C trong 20 giờ, tiếp đó là khuấy tiếp ở 30-35°C trong 96 giờ và sau đó lọc ra các tinh thể của dạng B. Giảm nhiễu xạ XRPD của dạng B được thể hiện trên Hình 2.

Phản ứng dị ly của muối cộng axit vô định hình của hợp chất (1) thành dạng tinh thể B có thể được hỗ trợ bằng cách bổ sung vào hỗn hợp phản ứng một đồng dung môi rượu như isopropanol.

Trong một phương pháp khác để điều chế dạng tinh thể B, hợp chất (1) ở dạng bazơ tự do vô định hình có thể được tạo huyền phù trong nước mà có thể được đệm hoặc không được đệm đến độ pH khoảng 2 đến pH 7 và sau đó khuấy ở nhiệt độ hơi cao một chút (ví dụ 30°C) trong khoảng thời gian (ví dụ tối đa sáu ngày, ví dụ khoảng năm ngày) đủ để chuyển hóa hợp chất vô định hình (1) thành dạng tinh thể B.

Mẫu nhiễu xạ bột tia X chứa dạng tinh thể B của hợp chất (1) mô tả các đỉnh có cường độ lớn nhất ở các góc nhiễu xạ nêu trong bảng A, tức là 14,0°, 20,6°, 24,0° và 24,2° ($\pm 0,2^\circ$).

Bảng A	
Góc nhiễu xạ (°)	Cường độ tương đối
14,0	100
20,6	85
24,0	74
24,2	71

Do đó, theo một phương án khác, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B)) của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ (2θ) 14,0 ° và/hoặc 20,6 ° và/hoặc 24,0 ° và/hoặc 24,2 ° (±0,2°).

Theo một phương án, mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của ít nhất một đỉnh ở góc nhiễu xạ được chọn từ 14,0°, 20,6°, 24,0° và 24,2° (±0,2°).

Do đó, ví dụ, theo một phương án, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của đỉnh chính ở góc nhiễu xạ 14,0° (±0,2°).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của đỉnh chính ở góc nhiễu xạ 20,6° (±0,2°).

Theo một phương pháp khác nữa, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của đỉnh chính ở góc nhiễu xạ 24,0° (±0,2°).

Theo một phương pháp khác nữa, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của đỉnh chính ở góc nhiễu xạ 24,2° (±0,2°).

Theo các phương án khác, dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở hai hoặc nhiều hơn, ví dụ ba hoặc nhiều hơn, và cụ thể là bốn góc nhiễu xạ được chọn từ 14,0°, 20,6°, 24,0° và 24,2° (±0,2°).

Mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng B của hợp chất (1) cũng có thể có các đỉnh nhỏ hơn có mặt ở các góc nhiễu xạ nêu trong bảng B, tức là 8,8, 13,0, 13,8, 14,4, 17,3, 19,3, 21,3 và 28,7 ($\pm 0,2^\circ$).

Bảng B	
Góc nhiễu xạ ($^\circ$)	Cường độ tương đối
8,8	23
13,0	23
13,8	39
14,4	20
17,3	22
19,3	36
21,3	45
28,7	22

Do đó, sáng chế cũng đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ $14,0^\circ$ và/hoặc $20,6^\circ$ và/hoặc $24,0^\circ$ và/hoặc $24,2^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$) như được định nghĩa nêu trên và tùy ý một hoặc nhiều đỉnh khác ở các góc nhiễu xạ được chọn từ $8,8^\circ$, $13,0^\circ$, $13,8^\circ$, $14,4^\circ$, $17,3^\circ$, $19,3^\circ$, $21,3^\circ$ và/hoặc $28,7^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

Theo một phương án, dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ $14,0^\circ$ và/hoặc $20,6^\circ$ và/hoặc $24,0^\circ$ và/hoặc $24,2^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$); và tùy ý một hoặc nhiều đỉnh khác ở các góc nhiễu xạ $13,8^\circ$ và/hoặc $19,3^\circ$ và/hoặc $21,3^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

Theo một phương án cụ thể, dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ $14,0^\circ$, $20,6^\circ$, $24,0^\circ$, $24,2^\circ$, $13,8^\circ$, $19,3^\circ$ và $21,3^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

Theo một phương án cụ thể khác, dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ $14,0^\circ$, $20,6^\circ$, $24,0^\circ$, $24,2^\circ$, $8,8^\circ$, $13,0^\circ$, $13,8^\circ$, $14,4^\circ$, $17,3^\circ$, $19,3^\circ$, $21,3^\circ$ và $28,7^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

Mẫu nhiễu xạ bột tia X có thể cũng được đặc trưng bởi sự có mặt của đỉnh khác ở các góc nhiễu xạ (2θ) ($\pm 0,2^\circ$) nêu trong bảng C.

Bảng C	
Góc nhiễu xạ ($^\circ$)	Cường độ tương đối
12,0	13
16,9	12
23,5	18
26,2	18
29,8	13

Sáng chế cũng đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) mà thể hiện các đỉnh ở cùng góc nhiễu xạ như các đỉnh của mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Hình 2. Tốt hơn là các đỉnh này có cùng cường độ tương đối với các đỉnh trên Hình 2.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có mẫu nhiễu xạ bột tia X gần như là được thể hiện trên Hình 2.

Dạng tinh thể theo sáng chế còn có thể được mô tả đặc điểm bởi kỹ thuật đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC).

Dạng tinh thể B của hợp chất (1) được phân tích bằng DSC và được phát hiện là thể hiện hiện tượng thu nhiệt có nhiệt độ bắt đầu nằm trong khoảng từ 100°C đến 110°C (cụ thể hơn là từ 101°C đến 108°C) và một đỉnh nằm trong khoảng từ 110°C đến 125°C (cụ thể hơn là nằm trong khoảng từ 111°C đến 114°C) như được thể hiện trên Hình 3 của các hình vẽ đi kèm. Hiện tượng này được cho là do sự bay hơi nước.

Do đó, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) mà thể hiện hiện tượng thu nhiệt có nhiệt độ bắt đầu trong khoảng từ 100°C đến 110°C (cụ thể hơn là nằm trong khoảng từ 101°C đến 108°C) khi được phân tích bằng DSC. Sáng chế cũng đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) mà thể hiện hiện tượng thu nhiệt có một đỉnh nằm trong khoảng từ 110°C và 125°C (cụ thể hơn là nằm trong khoảng từ 111°C và 113°C).

Dạng tinh thể (dạng B) theo sáng chế còn có thể được đặc trưng bởi phân tích nhiệt lượng (TGA).

Dạng gần như tinh thể B của hợp chất (1) được phân tích bằng TGA và thể hiện sự biến đổi giảm trọng lượng có nhiệt độ bắt đầu từ 85°C đến 95°C, ví dụ 90,86°C mà kết thúc ở 110°C đến 130°C, ví dụ 120°C (xem Hình 4). Việc giảm trọng lượng này tương ứng với sự bay hơi nước.

Trên cơ sở dữ liệu DSC và TGA, có ý kiến cho rằng dạng gần như tinh thể B của hợp chất (1) được mô tả ở trên là monohydrat. Điều này cũng được khẳng định bằng các nghiên cứu nhiễu xạ tia X đơn tinh thể (xem Ví dụ 4E dưới đây).

Trong dạng gần như tinh thể B của hợp chất (1), một dạng tinh thể đơn có thể chiếm ưu thế hơn, mặc dù các dạng tinh thể khác có thể có mặt với lượng nhỏ và tốt hơn là lượng không đáng kể.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất hợp chất (1) ở dạng gần như tinh thể (dạng B) chứa dạng tinh thể đơn có các đặc điểm XRPD được mô tả ở trên, và không nhiều hơn 5% trọng lượng các dạng tinh thể khác bất kỳ của hợp chất này.

Tốt hơn là, dạng tinh thể đơn (dạng B) được kèm theo là nhỏ hơn 4%, hoặc nhỏ hơn 3%, hoặc nhỏ hơn 2% trong số các dạng tinh thể khác, và cụ thể là chứa ít hơn hoặc bằng khoảng 1% trọng lượng của các dạng tinh thể khác. Tốt hơn nữa là, dạng tinh thể đơn lẻ được kèm theo là nhỏ hơn 0,9%, hoặc nhỏ hơn 0,8%, hoặc nhỏ hơn 0,7%, hoặc nhỏ hơn 0,6%, hoặc nhỏ hơn 0,5%, hoặc nhỏ hơn 0,4%, hoặc nhỏ hơn 0,3%, hoặc nhỏ hơn 0,2%, hoặc nhỏ hơn 0,1%, hoặc nhỏ hơn 0,05%, hoặc nhỏ hơn 0,01%, trọng lượng của các dạng tinh thể khác, ví dụ 0% trọng lượng của các dạng tinh thể khác.

Như sẽ trở nên rõ ràng từ các đoạn trên đây, dạng tinh thể (dạng B) của hợp chất (1) có thể được đặc trưng bởi một số thông số hóa lý khác nhau. Do đó, theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất dạng gần như tinh thể (dạng B) của hợp chất (1), mà được đặc trưng bởi một hoặc nhiều thông số bất kỳ (theo cách kết hợp bất kỳ) hoặc tất cả các thông số sau đây, cụ thể là:

(a) có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ (2θ) và cường độ nêu trong bảng A, và tùy chọn bảng B; và tùy chọn

khác trong đó mẫu nhiều xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ (2θ) và cường độ được nêu trong Bảng C; và/hoặc

(b) thể hiện các đỉnh ở cùng các góc nhiễu xạ với các đỉnh của mẫu nhiều xạ bột tia X được thể hiện trên Hình 2 và tùy ý trong đó các đỉnh có cùng cường độ tương đối với các đỉnh trên Hình 2; và/hoặc

(c) có mẫu nhiễu xạ bột tia X như được thể hiện trên Hình 2; và/hoặc

(d) thể hiện đỉnh thu nhiệt nằm trong khoảng từ 100°C đến 115°C khi được phân tích bằng DSC; và/hoặc

(e) thể hiện sự giảm trọng lượng nằm trong khoảng từ 85°C đến 130°C (ví dụ $90-120^{\circ}\text{C}$) khi được phân tích bằng phân tích nhiệt lượng (TGA).

Các quy trình điều chế các dạng tinh thể của dạng bazơ tự do của hợp chất (1)

Sáng chế cũng đề xuất các quy trình điều chế các dạng tinh thể của bazơ tự do của hợp chất (1).

Do đó, theo một khía cạnh khác của sáng chế, đề xuất quy trình điều chế các dạng gần như tinh thể của bazơ tự do của hợp chất (1); phương pháp này bao gồm:

(i) tạo huyền phù chứa nước của muối cộng axit của hợp chất (1) và khuấy huyền phù này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 75°C trong khoảng thời gian đủ để cho phép phản ứng dị ly của muối cộng axit và tạo thành dạng tinh thể của bazơ tự do của hợp chất (1), và sau đó tách dạng tinh thể này; hoặc

(ii) tạo huyền phù chứa nước của dạng vô định hình của bazơ tự do của hợp chất (1), huyền phù chứa nước này không được tạo đệm hoặc được tạo đệm đến độ pH nằm trong khoảng từ 1,75 đến 7,25, và khuấy huyền phù chứa nước ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 55°C trong khoảng thời gian đủ để cho phép xảy ra phản ứng chuyển hóa dạng vô định hình của bazơ tự do của hợp chất (1) thành dạng tinh thể của bazơ tự do của hợp chất (1), và sau đó tách dạng tinh thể này.

Trong phương án quy trình điều chế (i), việc lựa chọn nhiệt độ và thời gian khuấy sẽ ảnh hưởng đến việc liệu dạng tinh thể A hoặc dạng B được tạo ra. Do đó, ví dụ, quy trình này có thể được thực hiện ở nhiệt độ cao hơn, ví dụ $65-75^{\circ}\text{C}$ (và cụ thể hơn là

khoảng 70°C) để thu được dạng A. Ngược lại, quy trình này có thể được thực hiện ở nhiệt độ thấp hơn, ví dụ 25-55°C, thu được dạng tinh thể B.

Sự hình thành của một dạng tinh thể có thể được tạo điều kiện bằng cách bổ sung vào hỗn hợp điều chế một rượu như isopropanol.

Vật liệu ban đầu cho phương án quy trình điều chế (i) là muối cộng axit của hợp chất (1). Muối cộng axit có thể là vô định hình.

Muối cộng axit của hợp chất (1) có thể là, ví dụ muối của axit vô cơ, như muối hydroclorua, hydrobromua hoặc sulphat. Các phương pháp điều chế các muối như vậy được biết rõ bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Muối này có thể được điều chế bằng cách thêm hợp chất ở dạng bazơ tự do vào dung dịch của ion mang điện tích trái dấu trong một dung môi. Dung môi này có thể là dung môi phân cực proton, như 2-propanol hoặc metanol, và có thể bao gồm đồng dung môi không proton có cực, như diclometan.

Phương án quy trình điều chế (ii) thường dẫn đến tạo thành dạng B.

Trong phương án điều chế (ii), huyền phù chứa nước có thể được tạo đậm hoặc không được tạo đậm. Ví dụ, huyền phù này có thể không được tạo đậm hoặc được tạo đậm đến độ pH bằng 2, 5 hoặc 7. Khuấy huyền phù chứa nước cùng với gia nhiệt nhẹ, ví dụ ở nhiệt độ trong khoảng từ khoảng 25°C đến khoảng 35°C, ví dụ khoảng 30°C. Khuấy huyền phù chứa nước trong khoảng thời gian đủ để thực hiện chuyển hóa dạng vô định hình của bazơ tự do của hợp chất (1) thành dạng tinh thể của bazơ tự do của hợp chất (1). Thông thường, khuấy huyền phù này trong ít nhất một ngày, thông thường hơn là trong ít nhất hai ngày hoặc ít nhất ba ngày và, theo một phương án, khuấy trong năm ngày.

Trong tập hợp các điều kiện thay thế theo phương án quy trình điều chế (ii), quy trình này có thể được thực hiện trong khoảng thời gian ngắn hơn (ví dụ ít nhất 12 giờ, hoặc ít nhất 15 giờ; ví dụ 20 giờ) ở nhiệt độ cao hơn (ví dụ 45-55°C, đặc biệt là khoảng 50°C). Tinh thể mầm hoặc dạng A hoặc dạng B có thể được thêm vào một cách thuận lợi để hỗ trợ sự tạo thành dạng tinh thể B.

Các muối vô định hình của hợp chất có công thức (1)

Một số các muối vô định hình của các hợp chất có công thức (1) đã được điều chế (xem Ví dụ 2). Do đó, theo khía cạnh khác nữa sáng chế đề xuất muối của hợp chất có công thức (1) ở dạng vô định hình.

Muối có thể là muối hydroclorua, sulphat, napadisylat (naphthalen-1,5-disulphonat), edisylat (etanedisulphonat), tosylat (p-toluensulphonat), mesylat (metansulphonat), napsylat (2-naphthalenesulphonat), besylat (benzensulphonat), isethionat (2-hydroxyetanesulphonat), esylat (etanesulphonat) hoặc hydrobromua của hợp chất có công thức (1).

Một tập hợp các muối bao gồm các muối hydroclorua, sulphat, hydrobromua hoặc napadisylat vô định hình của hợp chất có công thức (1).

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất:

- muối hydroclorua vô định hình của hợp chất có công thức (1);
- muối sulphat vô định hình của hợp chất có công thức (1);
- muối hydrobromua vô định hình của hợp chất có công thức (1); và
- muối napadisylat vô định hình của hợp chất có công thức (1).

Các muối vô định hình có thể được điều chế bằng cách cho dạng bazơ tự do hợp chất này phản ứng với axit thích hợp trong dung môi hữu cơ, tốt hơn là dung môi có cực, không proton (ví dụ, isopropyl axetat) hoặc hỗn hợp của dung môi không proton có cực và dung môi proton có cực (ví dụ hỗn hợp của isopropylaxetat và 2- propanol).

Các muối vô định hình theo sáng chế có thể được tạo ra ở dạng các hạt có đường kính trung bình khối trong khoảng từ 1µm đến 100µm.

Các hạt này có thể có đường kính trung bình khối trong khoảng từ 2µm đến 50µm, ví dụ từ 2µm đến 25µm hoặc từ 2µm đến 10µm. Các hạt này có thể được dùng qua đường miệng (thông thường là ở dạng chế phẩm dùng được qua đường miệng tùy ý chứa một hoặc nhiều tá dược được dùng) hoặc qua các phương tiện khác, ví dụ qua đường xông hít. Khi các hạt này được dự định để dùng qua đường xông hít, thì các hạt này thông thường có đường kính trung bình khối là 1µm đến 10µm hoặc 1µm đến 5µm.

Kích cỡ của các hạt này có thể được xác định bằng các phương pháp phân tích hình ảnh, các phương pháp nhiễu xạ laze hoặc các kỹ thuật sàng lọc.

Các hạt này có thể là được tạo ra thông qua các quy trình micro hóa cơ học hoặc thông qua các quy trình tách pha trên cơ sở dung dịch. Các ví dụ về các quy trình micro hóa cơ học bao gồm các kỹ thuật nghiền.

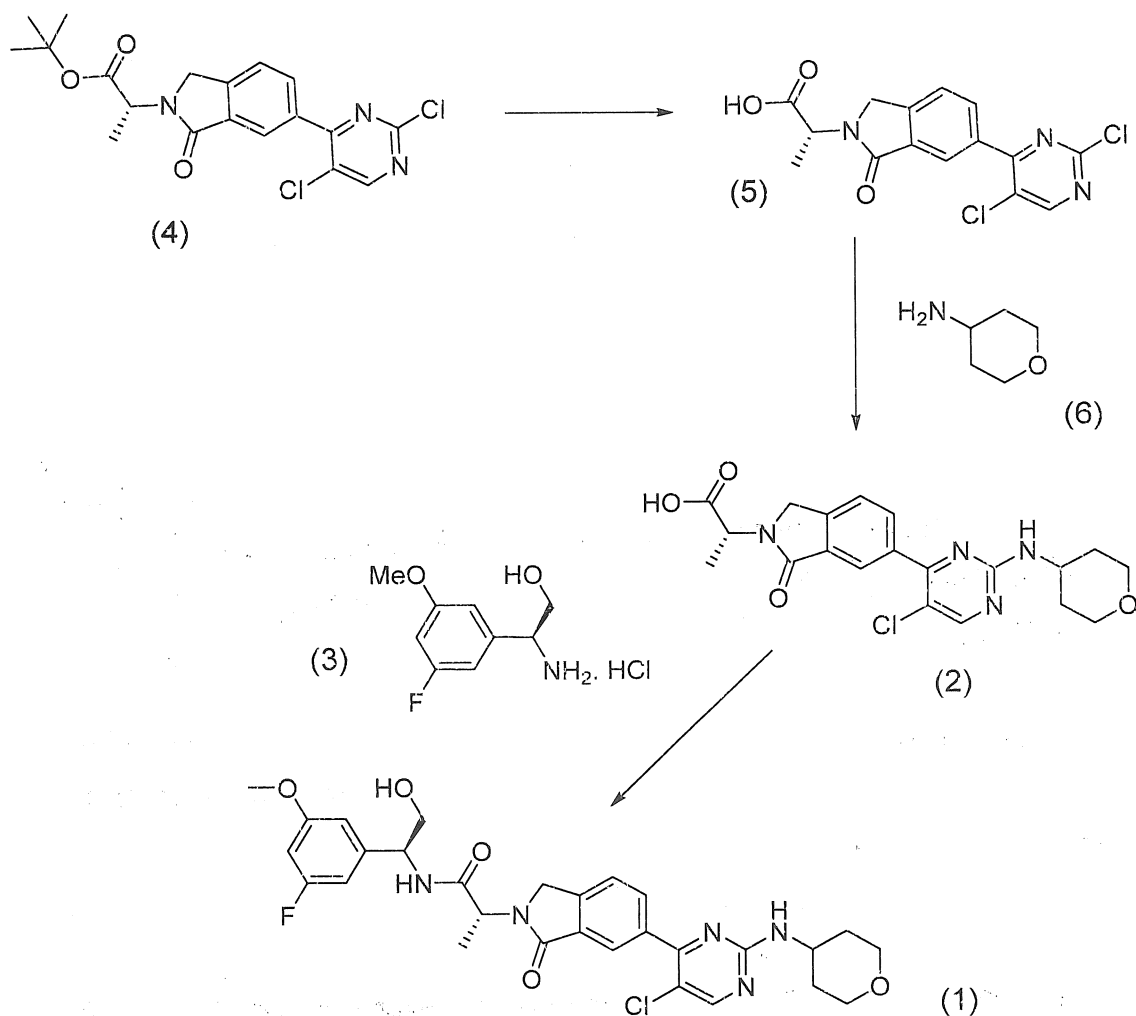
Các kỹ thuật trên cơ sở dung dịch thường liên quan đến việc sử dụng các chất lỏng, khí nén, chất lỏng gần tới hạn hoặc chất lỏng siêu tới hạn như các dung môi hoặc các môi trường làm lạnh đông để làm lạnh nhanh. Những kỹ thuật này liên quan đến sự tách pha của dung môi và hợp chất được lý bằng cách làm bay hơi, giãn nở, làm lạnh đông hoặc thay đổi thành phần của dung môi.

Các hạt này có thể được tạo ra bằng phương pháp làm khô lạnh. Theo cách khác, các hạt này có thể được tạo ra bằng phương pháp sấy phun. Do đó, theo một phương án, các muối vô định hình theo sáng chế được sấy phun.

Các muối vô định hình có thể được sử dụng làm các chất trị liệu hoặc có thể được sử dụng làm các chất trung gian trong quy trình điều chế các dạng tinh thể của bazơ tự do của hợp chất có công thức (1), như được mô tả ở trên.

Các phương pháp điều chế hợp chất có công thức (1)

Hợp chất (1) có thể được điều chế bằng chuỗi các bước xử lý được thể hiện trong Sơ đồ 1 dưới đây.



Sơ đồ 1

Phản ứng giữa hợp chất trung gian (2) với hợp chất trung gian (3) thu được hợp chất (1) được mô tả trong ví dụ 685 đơn yêu cầu cấp patent nộp trước số PCT/IB2016/001507. Tiến hành phản ứng trong dimetylformamit (DMF) và trimetylamin khi có mặt chất thúc đẩy tạo liên kết amit O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni tetrafloroborat (TBTU). Trong đơn số PCT/IB2016/001507, hợp chất trung gian (2) được điều chế bằng cách thủy phân este *tert*-butyl tương ứng, este này chính nó được điều chế bằng phản ứng giữa hợp chất trung gian (4) với amin (6).

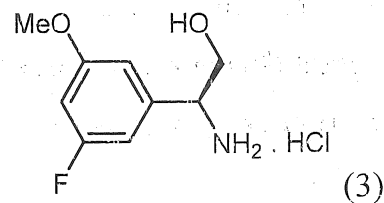
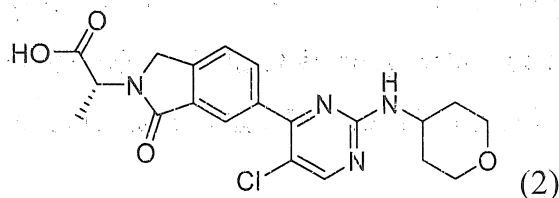
Theo sáng chế, một số cải biến đã được thực hiện cho quy trình được mô tả trong đơn số PCT/IB2016/001507.

Thứ nhất, các điều kiện của quy trình cho bước cuối, phản ứng giữa hợp chất trung gian (2) và (3) được cải biến. Do đó, thay vì sử dụng chất phản ứng ngẫu hợp TBTU, các chất phản ứng ngẫu hợp thay thế như *N,N,N',N'*-tetrametyl-O-(7-azabenzotriazol-1-

yl)uroni hexaflophosphat (HATU) và 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit (EDCI) được sử dụng. Ngoài ra, cũng như trietylamin, các bazơ thay thế như diisopropyletylamin (DIPEA) và 4-dimetylaminopyridin (DMAP) được sử dụng.

Thứ hai, thay vì cho hợp chất trung gian (4) phản ứng với amin (6) và sau đó thủy phân gốc *tert*-butyl este thu được hợp chất (2) như được mô tả trong PCT/IB2016/001507, đầu tiên thủy phân gốc *tert*-butyl este trong hợp chất trung gian (4) thu được axit carboxylic (5), sau đó axit này phản ứng với amin (6) thu được hợp chất (2).

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (1), quy trình này bao gồm cho hợp chất có công thức (2) phản ứng với hợp chất có công thức (3):



dung môi không proton khi có mặt bazơ amin bậc ba và tác nhân thúc đẩy liên kết amit trong đó tác nhân thúc đẩy liên kết amit được chọn từ *N,N,N',N'*-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat (HATU) và 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit (EDCI).

Theo một phương án cụ thể, tác nhân thúc đẩy liên kết amit là *N,N,N',N'*-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat (HATU).

Các ví dụ về các bazơ amin bậc ba để sử dụng trong quy trình này là diisopropyletylamin (DIPEA), 4-dimetylaminopyridin (DMAP) và trietylamin và các hỗn hợp của nó.

Theo một phương án cụ thể, bazơ amin bậc ba này là diisopropyletylamin (DIPEA).

Các ví dụ về các dung môi không proton là diclometan, etyl axetat và dimetylformamit.

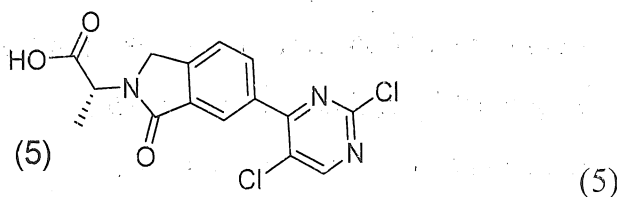
Theo một phương án cụ thể, dung môi không proton này là diclometan.

Theo một phương án ưu tiên, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (1), quy trình này bao gồm cho hợp chất có công thức (2) phản ứng với hợp chất có công thức (3) trong dung môi không proton là diclometan khi có mặt bazơ amin bậc ba là diisopropyletylamin (DIPEA) và tác nhân thúc đẩy liên kết amit là *N,N,N',N'*-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat (HATU).

Phản ứng giữa hợp chất (2) và (3) thường được tiến hành mà không cần gia nhiệt bên ngoài và, ví dụ, có thể được tiến hành ở nhiệt độ không lớn hơn 25°C. Do đó, ví dụ, khi các chất phản ứng được trộn để tạo thành hỗn hợp phản ứng, hỗn hợp phản ứng này có thể được khuấy ở nhiệt độ trong khoảng 15-25°C cho đến khi phản ứng hoàn thành.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (1) như được xác định trong bản mô tả này, quy trình này bao gồm:

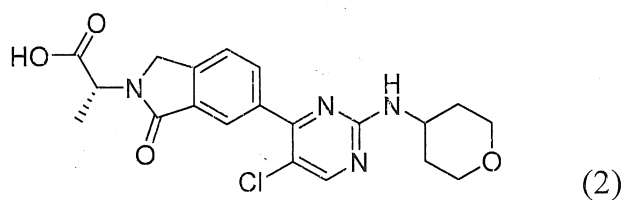
a) cho hợp chất có công thức (5):



phản ứng với hợp chất có công thức (6)

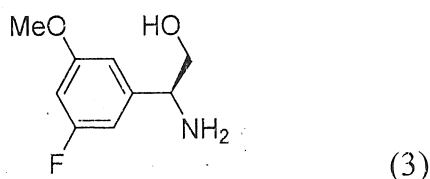


thu được hợp chất có công thức (2):



và

b) cho hợp chất có công thức (2) phản ứng với hợp chất có công thức (3):



thu được hợp chất có công thức (1) và sau đó tùy ý tạo thành muối hoặc dạng tinh thể của nó.

Bước (a) thường được tiến hành trong dung môi không proton có cực, như 1-methyl-2-pyrrolidion (NMP). Phản ứng có thể được tiến hành ở nhiệt độ cao; ví dụ nhiệt độ vượt quá 60°C, thường là vượt quá 70°C, đặc biệt là nhiệt độ trong khoảng từ 75-95°C (ví dụ 80 đến 95°C).

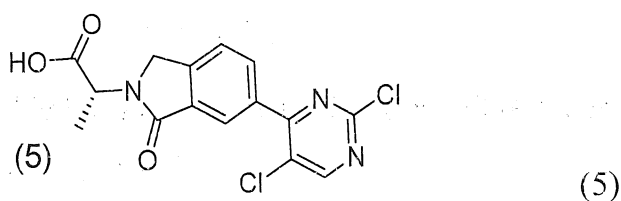
Bước (a) được thực hiện khi có mặt bazơ, có thể là bazơ vô cơ như cacbonat kim loại kiềm, ví dụ kali cacbonat.

Tiến trình của phản ứng giữa các hợp chất có công thức (5) và (6) có thể được kiểm soát để xác định mức độ phản ứng. Ví dụ, phản ứng này có thể được kiểm soát cho đến khi lượng hợp chất có công thức (5) còn lại nhỏ hơn mức mong muốn (ví dụ, nhỏ hơn 1 mol% lượng ban đầu của nó). Bước (a) thường có thời gian phản ứng từ 1 đến 8 giờ, ví dụ từ 2 đến 7 giờ, và thường là từ 4 đến 6 giờ.

Bước (b) được tiến hành trong các điều kiện được mô tả ở trên cho phản ứng giữa hợp chất (2) và (3) thu được hợp chất (1).

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (2), quy trình này bao gồm:

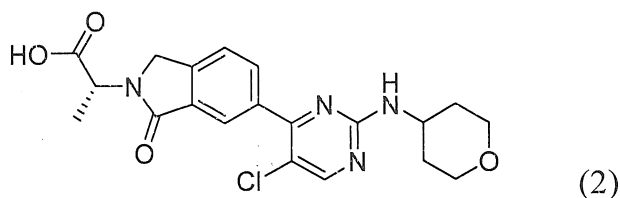
a) cho hợp chất có công thức (5):



phản ứng với hợp chất có công thức (6)

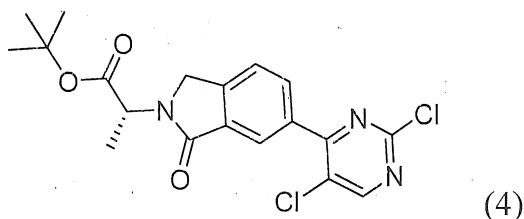


thu được hợp chất có công thức (2):



Phản ứng có thể được tiến hành trong các điều kiện được mô tả cho bước (b) trên đây.

Hợp chất (5) có thể được điều chế bằng cách thủy phân hợp chất *tert*-butyl este có công thức (4):



ví dụ sử dụng axit vô cơ như axit clohydric đậm đặc. Phản ứng thủy phân có thể được hỗ trợ bằng cách gia nhiệt nhẹ, ví dụ đến nhiệt độ trong khoảng từ 30-45°C, và điển hình hơn là trong khoảng 35-40°C. Có thể sử dụng đồng dung môi, đồng dung môi này có thể là dung môi hydrocacbon hoặc hydrocacbon được clo hóa. Đôi khi đồng dung môi này là toluen.

Hợp chất (4) có thể được điều chế bằng các phương pháp được mô tả trong PCT/IB2016/001507; xem ví dụ Chế phẩm 94 trong bản mô tả này.

Các chế phẩm chứa hợp chất có công thức (1)

Hợp chất có công thức (1) có độ hòa tan tương đối thấp trong nước. Do đó sáng chế đề xuất các chế phẩm chứa hợp chất (1) trong đó bao gồm chất dẫn thuốc chính không phải là nước. Các chế phẩm này thích hợp dùng qua đường miệng.

Đã phát hiện ra rằng hợp chất (1) có độ hòa tan tốt trong một số dung môi không chứa nước. Do đó, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (1) và chất dẫn thuốc được chọn từ:

- rượu C₂₋₄;
- hợp chất polyete;
- các mono-este của các axit béo mạch dài C₈ đến C₁₈ cùng với

glyxerol hoặc propylen glycol;

- các di- hoặc tri- glyxerit của các axit béo mạch dài C_8 đến C_{10} ;

và các hỗn hợp của nó.

Dược phẩm có thể ở dạng dung dịch của hợp chất (1) trong chất dẫn thuốc.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế dược phẩm chứa hợp chất có công thức (1), phương pháp này bao gồm bước phân tán hợp chất có công thức (1) trong chất dẫn thuốc được chọn từ:

- rượu C_{2-4} ;
- hợp chất polyete;
- các mono-este của các axit béo mạch dài C_8 đến C_{18} cùng với glyxerol hoặc propylen glycol;
- các di- hoặc tri- glyxerit của các axit béo mạch dài C_8 đến C_{10} ;

và các hỗn hợp của nó.

Thông thường, hợp chất có công thức (1) được phân tán trong chất dẫn thuốc để tạo thành dung dịch hoặc huyền phù. Theo một phương án, hợp chất có công thức (1) được tạo huyền phù trong chất dẫn thuốc. Theo một phương án khác, hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong chất dẫn thuốc để tạo thành huyền phù.

Chất dẫn thuốc này có thể bao gồm rượu C_{2-4} đơn chức hoặc đa chức, tốt hơn là rượu C_{2-3} , ví dụ etanol hoặc propylen glycol.

Khi chất dẫn thuốc bao gồm hợp chất polyete, thì hợp chất polyete có thể là polyetylen glycol (PEG). Polyetylen glycol có thể có khối lượng phân tử trung bình là từ 200 đến 10,000 g/mol, ví dụ 300 đến 8,000 g/mol. Theo một phương án, polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình xấp xỉ từ 200 đến 400 g/mol, ví dụ 300 đến 450 g/mol.

Tùy thuộc vào bản chất và khối lượng tương đối của các hợp phần của chất dẫn thuốc, các chế phẩm có thể là dạng lỏng, bán rắn hoặc rắn. Ví dụ, khi sử dụng PEG có khối lượng phân tử cao hơn, độ nhớt của chế phẩm có thể tăng lên đến mức có thể được coi là “chất bán rắn” hoặc chất rắn trong khi các PEG có khối lượng phân tử thấp hơn có thể tạo thành các chế phẩm lỏng. Việc đề cập đến các dung dịch trong ngữ cảnh về các

chế phẩm này bao gồm cả các dung dịch rắn cũng như là các dung dịch lỏng (hoặc bán rắn).

Ngoài ra hoặc theo cách khác, chất dẫn thuốc này có thể bao gồm axit caprylic hoặc axit capric và các mono-, di- và tri-este của các axit caprylic hoặc axit capric. Các ví dụ về este này bao gồm propylen glycol monocaprylat, glyxerol monocaprylat, glyxerol dicaprylat, glyxerol tricaprylat, glyxerol monocaprat, glyxerol dicaprat, và glyxerol tricaprat. Các apylocaproyl macrogol-8 glyxerit (Labrasol® ALF) là chất dẫn thuốc có sẵn trên thị trường bao gồm hỗn hợp của các mono-, di- và tri- glyxerol este của các axit caprylic và axit capric và cả các mono- và di-este của các polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 200 đến 400 g/mol.

Theo phương án thay thế khác, chất dẫn thuốc này có thể bao gồm monoglyxerit của axit béo mạch dài hơn, như axit linolic hoặc axit oleic. Các ví dụ về các chất dẫn thuốc này bao gồm Glyxerol monolinoleat (Maisine CC™) và các Glyxerol monooleat (loại 40, Peceol™).

Theo một phương án, chất dẫn thuốc này được chọn từ etanol, propylen glycol, polyetylen glycol và các hỗn hợp của nó. Ví dụ, chất dẫn thuốc này có thể bao gồm dạng kết hợp của propylen glycol và etanol, như dạng kết hợp của propylen glycol và etanol theo tỷ lệ 50:50 đến 90:10% trọng lượng/trọng lượng (ví dụ, propylen glycol và etanol theo tỷ lệ 75:25 hoặc 85:15% trọng lượng/trọng lượng). Theo một phương án, chất dẫn thuốc này bao gồm dạng kết hợp của propylen glycol và etanol theo tỷ lệ 75:25 đến 90:10% trọng lượng/trọng lượng.

Theo một phương án khác, chất dẫn thuốc này được chọn từ etanol, polyetylen glycol 400 (PEG 400) và propylen glycol, và các hỗn hợp của chúng.

Chế phẩm này thường cho phép dùng qua đường miệng hợp chất (1) để đạt được tổng liều hàng ngày lên đến 1,2g mỗi ngày. Trong các chế phẩm theo sáng chế, nồng độ của hợp chất (1) trong chất dẫn thuốc có thể nằm trong khoảng từ 10mg/mL đến 130mg/mL, ví dụ 40mg/mL đến 125mg/mL, và cụ thể hơn là từ 110mg/mL đến 125mg/mL. Nồng độ 120mg/mL cho phép liều 1,2g của hợp chất (1) cần được dùng trong 10mL chế phẩm.

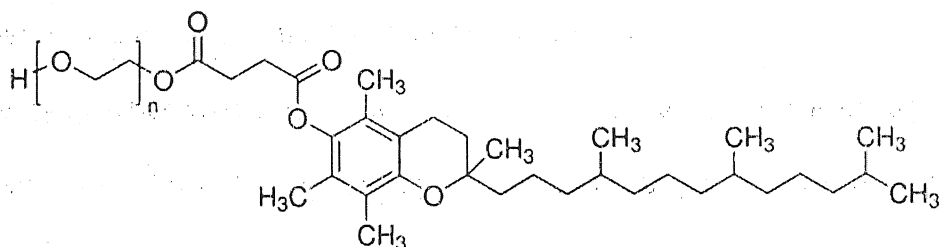
Theo cách khác, chế phẩm này có thể được chứa trong viên nang. Các viên nang phù hợp để phân phối các chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này bao gồm các viên nang gelatin cứng hoặc mềm. Theo một phương án, chế phẩm này được chứa trong viên nang gelatin mềm. Thuật ngữ “gelatin” khi được sử dụng trong bản mô tả này không chỉ đề cập đến các viên nang được chế biến từ gelatin mà còn đề cập đến các viên nang được chế biến từ các vật liệu tương đương không phải là gelatin như pullulan hoặc xenluloza biến tính như hydroxypropylmetyl xenluloza.

Chế phẩm này có thể cũng bao gồm một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt để hỗ trợ khả năng hòa tan của hợp chất (1) trong (các) chất dẫn thuốc được chọn. Chất hoạt động bề mặt này cũng có thể hoạt động để ức chế sự kết tủa của hợp chất có công thức (1) khi chế phẩm này được pha loãng trong đường dạ dày ruột.

Thông thường, chất hoạt động bề mặt này là chất hoạt động bề mặt không ion.

Chất hoạt động bề mặt không ion này có thể là, ví dụ, polyol este, polyoxyetylen este hoặc poloxame.

Theo một phương án, chất hoạt động bề mặt này là tocopherol polyetylen glycol (TPG), như D- α -tocopherol polyetylen glycol succinat (TPGS), có công thức:



trong đó giá trị trung bình của n là nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 30, thông thường hơn là trong khoảng từ khoảng 15 đến khoảng 27; ví dụ trong khoảng từ khoảng 20 đến 25. Một TPGS cụ thể là α -tocopherol polyetylen glycol 1000 succinat (khối lượng phân tử trung bình xấp xỉ 1513) trong đó gốc polyoxyetylen $[-O-CH_2-CH_2]_n$ có khối lượng phân tử bằng khoảng 1000 (ví dụ 950 đến 1050) và giá trị trung bình của n bằng khoảng 22. Các ví dụ về các polyol este bao gồm các glycol và glyxerol este và các dẫn xuất sorbitan.

Các este của axit béo của sorbitan (thường được gọi là Spans) và các dẫn xuất etoxy hóa của chúng (thường được gọi là Tweens) bao gồm Sorbitan monolaurat (Span

20), Sorbitan monopalmitat (Span 40), Sorbitan monostearat (Span 60), Sorbitan mono-oleat (Span 80), Sorbitan tristearat (Span 65), Sorbitan trioleat (Span 8), Polyoxyetylen (20) sorbitan monolaurat (Tween 20), Polyoxyetylen (20) sorbitan monopalmitat (Tween 40), Polyoxyetylen (20) sorbitan monostearat (Tween 60), Polyoxyetylen (20) sorbitan mono-oleat (Tween 80), Polyoxyetylen (20) sorbitan tristearat (Tween 65) và Polyoxyetylen (20) sorbitan tri-oleat (Tween 85).

Các ví dụ cụ thể khác về chất hoạt động bề mặt bao gồm dầu thầu dầu được hydro hóa polyoxyl 40 (Cremophor RH 40, Kolliphor® RH40), dầu thầu dầu polyoxyl 35 (Cremophor EL, Kolliphor® EL), polysorbat 80 (Tween 80), Gelucire 44/14 (Lauroyl macrogol-32 glyxerit), Solutol HS-15 (Macrogol 15 hydroxystearat) và Labrasol® ALF (caprylocaproyl macrogol-8 glyxerit). Theo một phương án chất hoạt động bề mặt này là Cremophor RH 40.

Theo một phương án, chế phẩm này bao gồm hợp chất có công thức (1), etanol và tocopherol polyetylen glycol (TPG), ví dụ D- α -Tocopherol polyetylen glycol 1000 succinat (TPGS). Etanol và TPG có thể có mặt với tỷ lệ nằm trong khoảng 20:80 etanol:TPG đến 60:40 etanol:TPG, ví dụ, 30:70 etanol:TPG đến 50:50 etanol.

Theo một phương án khác, chế phẩm này bao gồm, ngoài hợp chất có công thức (1) ra, chất dẫn thuốc bao gồm:

- (i) propylen glycol;
- (ii) chất hoạt động bề mặt không ion (như Cremophor RH40 và tocopherol polyetylen glycol); và tùy ý
- (iii) etanol.

Theo một phương án khác, chế phẩm này bao gồm, ngoài hợp chất có công thức (1) ra, chất dẫn thuốc bao gồm:

- (i) propylen glycol;
- (ii) chất hoạt động bề mặt không ion polyoxyetylen este; và tùy ý
- (iii) etanol.

Chất hoạt động bề mặt không ion polyoxyetylen este có thể là, ví dụ, tocopherol polyetylen glycol (TPG), như D- α -tocopherol polyetylen glycol succinat (TPGS) như được xác định trước đó.

Theo một phương án cụ thể, chế phẩm này không chứa etanol (iii).

Theo một phương án cụ thể khác, chế phẩm này chứa etanol (iii).

Theo một phương án cụ thể khác, chất dẫn thuốc này bao gồm propylen glycol và tocopherol polyetylen glycol (TPG). Theo phương án này, chất dẫn thuốc có thể bao gồm TPGS với tỷ lệ khối lượng là 1:2 đến 10:1 propylen glycol:TPGS và có thể tùy ý còn bao gồm thêm etanol với tỷ lệ khối lượng là 1:10 đến 2:1 etanol:propylen glycol (ví dụ D- α -Tocopherol polyetylen glycol 1000 succinat (TPGS)) với tỷ lệ khối lượng từ 1:2 đến 5:1 propylen glycol : tocopherol polyetylen glycol; và tùy ý còn bao gồm thêm etanol với tỷ lệ khối lượng là etanol : propylen glycol là từ 1:10 đến 2:1.

Các chế phẩm chứa hợp chất có công thức (1), propylen glycol, chất hoạt động bề mặt không ion polyoxyetylen este; và tùy ý etanol có thể được chứa tiện lợi trong viên nang, ví dụ viên nang gelatin cứng hoặc viên nang gelatin mềm.

Hợp chất có công thức (1) trong bước a) có thể là ở dạng tinh thể. Theo một phương án, hợp chất có công thức (1) trong bước a) là ở dạng tinh thể như được mô tả ở đây.

Độ hòa tan trong dung dịch nước thấp của các hợp chất được lý có thể được cải thiện bằng cách giảm kích cỡ hạt rắn của các hợp chất. Bằng cách làm giảm kích cỡ hạt của hợp chất được lý, diện tích bề mặt có lợi cho sự sonvat hóa được gia tăng.

Do đó, theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (1) ở dạng các hạt có đường kính trung bình khối nằm trong khoảng 1 μ m đến 100 μ m.

Các hạt này có thể có đường kính trung bình khối nằm trong khoảng 2 μ m đến 50 μ m, ví dụ nằm trong khoảng 2 μ m đến 25 μ m hoặc nằm trong khoảng 2 μ m đến 10 μ m. Các hạt này có thể được dùng đường miệng (thông thường là ở dạng chế phẩm dùng qua đường miệng tùy ý chứa một hoặc nhiều tá dược được dùng) hoặc qua các phương tiện khác, ví dụ qua đường xông hít. Khi các hạt được dự định để dùng qua đường xông hít, các hạt thông thường có đường kính trung bình khối từ 1 μ m đến 10 μ m hoặc 1 μ m đến 5 μ m.

Kích cỡ của các hạt này có thể được xác định bằng các phương pháp phân tích hình ảnh, các phương pháp nhiễu xạ laze hoặc các kỹ thuật sàng lọc.

Các hạt này có thể được tạo ra thông qua các quy trình micro hóa cơ học hoặc thông qua các quy trình tách pha trên cơ sở dung dịch. Các ví dụ về các quy trình micro hóa cơ học bao gồm các kỹ thuật nghiền.

Các kỹ thuật trên cơ sở dung dịch thường liên quan đến việc sử dụng các chất lỏng, khí nén, chất lỏng gần tới hạn hoặc chất lỏng siêu tới hạn như các dung môi hoặc các môi trường làm lạnh đông để làm lạnh nhanh. Những kỹ thuật này liên quan đến sự tách pha của dung môi và hợp chất được lý bằng cách làm bay hơi, giãn nở, làm lạnh đông hoặc thay đổi thành phần của dung môi.

Các hạt này có thể được tạo ra bằng phương pháp làm khô lạnh. Theo cách khác, các hạt này có thể được tạo ra bằng phương pháp sấy phun.

Định nghĩa

Hợp chất có công thức (1) có thể được gọi trong đơn này theo tên hóa học của nó hoặc, để thuận tiện, là “hợp chất”, “hợp chất có công thức (1)”, “hợp chất (1)” hoặc “hợp chất theo sáng chế”. Mỗi trong số các từ đồng nghĩa này dùng để chỉ hợp chất được thể hiện trong công thức (1) ở trên và có tên hóa học (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-N-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

Thuật ngữ đường kính trung bình khối, khi được sử dụng trong bản mô tả này để xác định các kích cỡ hạt, được định nghĩa là đường kính mà tại đó 50% các hạt theo khối có đường kính lớn hơn và 50% các hạt có đường kính nhỏ hơn. Đường kính này dùng để chỉ đường kính hình cầu tương đương, mà với đường kính hình cầu đó hạt không hình cầu là bằng với đường kính của hạt hình cầu có cùng thể tích của hạt không hình cầu này.

Thuật ngữ ERK1/2 có nghĩa là một trong hai hoặc cả hai isozym ERK1 và ERK2 của các kinaza được điều hòa bởi tín hiệu ngoại bào (ERK).

“Độ công hiệu” là chỉ số đo hoạt tính dược chất được biểu hiện bằng lượng cần thiết để tạo ra tác dụng với cường độ nhất định. Dược chất có độ công hiệu cao dẫn tới đáp ứng lớn hơn tại các nồng độ thấp. Độ công hiệu tỷ lệ thuận với ái lực và độ hiệu nghiệm. Ái lực là khả năng liên kết của dược chất với enzym. Độ hiệu nghiệm là mỗi

quan hệ giữa khả năng chiếm đích và khả năng khởi đầu một đáp ứng ở mức phân tử, tế bào, mô hoặc toàn thân.

Thuật ngữ “chất ức chế” dùng để chỉ chất ức chế enzyme mà ở dạng phối tử hoặc được chất mà phong bế hoặc làm giảm các đáp ứng sinh học do ERK1/2 làm trung gian gây ra. Các chất ức chế làm trung gian để điều chỉnh các tác dụng của chúng bằng cách liên kết với các vị trí hoạt tính hoặc với các vị trí dị lập thể trên các enzyme, hoặc chúng có thể tương tác tại các vị trí liên kết duy nhất mà thường không tham gia vào sự điều chỉnh sinh học hoạt tính của enzyme. Sự ức chế có thể phát sinh trực tiếp hoặc gián tiếp, và có thể được làm trung gian để điều chỉnh bởi cơ chế bất kỳ và ở mức sinh lý bất kỳ. Do vậy, sự ức chế bởi các phối tử hoặc các được chất có thể trong trường hợp khác nhau thể hiện chính nó theo các cách khác nhau về mặt chức năng. Hoạt tính ức chế có thể đảo ngược được hoặc không thể đảo ngược được tùy thuộc vào tuổi thọ của phức hợp chất ức chế - enzyme, mà, kết quả là, tuổi thọ này lại phụ thuộc vào bản chất của liên kết chất ức chế - enzyme.

Thuật ngữ “điều trị” như được sử dụng trong bản mô tả này trong ngữ cảnh điều trị tình trạng bệnh lý tức là trạng thái, rối loạn hoặc bệnh, thường gắn liền với việc điều trị và trị liệu, cho dù đối với người hay động vật (ví dụ trong các ứng dụng thú y), trong đó một số hiệu quả điều trị mong muốn là đạt được, ví dụ, ức chế sự tiến triển của tình trạng này, và bao gồm cả sự giảm tốc độ tiến triển, tạm dừng tốc độ tiến triển, cải thiện các tình trạng, làm giảm nhẹ hoặc thuyên giảm ít nhất một hội chứng liên quan hoặc do tình trạng đang được điều trị gây ra và chữa trị tình trạng này. Ví dụ, việc điều trị có thể giảm bớt một hoặc một số hội chứng của rối loạn hoặc loại bỏ hoàn toàn rối loạn.

Thuật ngữ “phòng bệnh” (tức là sử dụng hợp chất như biện pháp phòng bệnh) như được sử dụng trong bản mô tả này trong phạm vi điều trị tình trạng bệnh lý tức là trạng thái, rối loạn hoặc bệnh, thường gắn liền với việc phòng bệnh hoặc ngăn ngừa, cho dù đối với người hay động vật (ví dụ trong các ứng dụng thú y), trong đó đạt được một số hiệu quả điều trị mong muốn, ví dụ, ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh hoặc bảo vệ khỏi bị bệnh. Phòng bệnh bao gồm phong bế toàn bộ và hoàn toàn tất cả các hội chứng của rối loạn trong một thời gian không xác định thời gian, chỉ làm chậm sự khởi phát của một hoặc một số hội chứng của bệnh, hoặc làm cho bệnh ít có khả năng xảy ra và không bao

gồm sự cải thiện tình trạng bệnh, làm giảm nhẹ hoặc thuyên giảm ít nhất một hội chứng liên quan đến hoặc do tình trạng bệnh đang được điều trị gây ra và chữa trị tình trạng này.

Việc đề cập đến phòng bệnh hoặc điều trị trạng thái bệnh hoặc tình trạng bệnh như ung thư bao gồm cả trong phạm vi làm thuyên giảm hoặc giảm tỷ lệ mắc bệnh ví dụ như bệnh ung thư.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “làm trung gian”, khi được sử dụng ví dụ kết hợp với ERK1/2 như mô tả ở đây (và được áp dụng ví dụ cho nhiều quá trình sinh lý, bệnh, trạng thái, tình trạng, liệu pháp, phương pháp điều trị hoặc can thiệp) nhằm mục đích đem lại tác dụng hạn chế sao cho các quá trình, bệnh, trạng thái, tình trạng, cách điều trị và can thiệp mà thuật ngữ này được áp dụng là những phương pháp mà trong đó protein này đóng vai trò sinh học. Trong các trường hợp thuật ngữ này được sử dụng cho bệnh, trạng thái hoặc tình trạng, vai trò sinh học của protein này có thể là trực tiếp hoặc gián tiếp và có thể là cần thiết và/hoặc đủ để biểu hiện các hội chứng bệnh, trạng thái hoặc tình trạng (hoặc nguyên nhân hoặc sự tiến triển của nó). Như vậy, chức năng của protein (và đặc biệt là các mức độ bất thường của chức năng, ví dụ như sự biểu hiện quá mức hoặc biểu hiện dưới mức) không nhất thiết phải là nguyên nhân gần gốc của bệnh, trạng thái hoặc tình trạng: đúng hơn, dự tính rằng bệnh, trạng thái hoặc tình trạng do nhiều nguyên nhân đa yếu tố gây ra và các tiến triển phức tạp trong đó protein đáng xem xét là chỉ có liên quan một phần. Trong các trường hợp mà thuật ngữ này được sử dụng cho việc điều trị, phòng bệnh hoặc can thiệp, vai trò của protein có thể là trực tiếp hoặc gián tiếp và có thể cần thiết và/hoặc đủ cho tác dụng của việc điều trị, phòng bệnh hoặc kết quả của can thiệp. Như vậy, tình trạng hay trạng thái bệnh do protein gây ra bao gồm cả sự phát triển mức độ kháng thuốc hoặc kháng điều trị ung thư cụ thể bất kỳ.

Các dạng kết hợp theo sáng chế có thể tạo ra tác dụng hiệu nghiệm so với tác dụng điều trị của các hợp chất/tác nhân riêng lẻ khi được cho dùng riêng rẽ.

Thuật ngữ “hiệu nghiệm” bao gồm các tác dụng có lợi như tác dụng cộng tính, tác dụng hiệp đồng, giảm các tác dụng phụ, giảm độc tính, tăng thời gian tiến triển bệnh, tăng thời gian sống sót, tính nhạy cảm hoặc tái nhạy cảm của một tác nhân này đối với một tác nhân khác, hoặc cải thiện tỷ lệ đáp ứng. Có lợi là, tác dụng hiệu lực có thể cho phép giảm liều dùng của mỗi hoặc một trong hai thành phần được cấp cho đối tượng

bệnh, qua đó làm giảm độc tính của hóa trị liệu, đồng thời tạo ra và/hoặc duy trì hiệu quả điều trị tương tự. Tác dụng “hiệp đồng” trong ngữ cảnh này dùng để chỉ tác dụng điều trị được tạo ra bởi liệu pháp kết hợp mà lớn hơn tổng các tác dụng điều trị của các tác nhân của liệu pháp kết hợp này khi được sử dụng riêng rẽ. Tác dụng “cộng tính” trong ngữ cảnh này dùng để chỉ tác dụng điều trị được tạo ra bởi liệu pháp kết hợp mà lớn hơn tác dụng điều trị của các tác nhân bất kỳ của liệu pháp kết hợp khi được sử dụng riêng rẽ. Thuật ngữ “tỷ lệ đáp ứng” như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ, trong trường hợp khối u rắn, mức độ giảm kích cỡ của khối u tại một thời điểm nhất định, ví dụ 12 tuần. Vì vậy, ví dụ, tỷ lệ đáp ứng 50% có nghĩa là giảm 50% kích cỡ khối u. Ở đây khi đề cập đến “đáp ứng lâm sàng” chỉ tỷ lệ đáp ứng là 50% hoặc cao hơn. “Đáp ứng một phần” được định nghĩa trong bản mô tả này là tỷ lệ đáp ứng nhỏ hơn 50% với điều kiện là nó lớn hơn 0%.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dạng kết hợp”, như được áp dụng cho hai hoặc nhiều hợp chất và/hoặc tác nhân, được dự định là để xác định các vật liệu trong đó hai hoặc nhiều tác nhân được kết hợp. Các thuật ngữ “được kết hợp” và “kết hợp” trong ngữ cảnh này cần phải được hiểu cho phù hợp.

Việc kết hợp của hai hay nhiều hợp chất/tác nhân trong một dạng kết hợp có thể là dạng vật lý hoặc phi vật lý. Ví dụ về các hợp chất/tác nhân được kết hợp về mặt vật lý bao gồm:

- các chế phẩm (ví dụ như các dạng chế phẩm đơn nhất) bao gồm hai hay nhiều hợp chất/tác nhân trong hỗn hợp (ví dụ trong cùng một liều đơn vị);
- các chế phẩm chứa vật liệu trong đó hai hay nhiều hợp chất/tác nhân được liên kết về mặt hóa học/sinh lý học (ví dụ bằng liên kết ngang, kết tụ phân tử hoặc liên kết với một gốc chất dẫn thông thường);
- các chế phẩm chứa vật liệu trong đó hai hay nhiều hợp chất/tác nhân được cùng đóng gói về mặt hóa học/hóa lý (ví dụ đặt trên và hoặc trong các túi chứa lipid, các hạt (ví dụ các vi hạt cỡ micro hoặc nano) hoặc các giọt nhũ tương nhỏ);

- các kit dược phẩm, các gói dược phẩm hoặc gói chăm sóc đối tượng bệnh trong đó hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân được cùng đóng gói hoặc cùng có mặt (ví dụ, là một phần của một dãy các liều đơn vị);

Các ví dụ về các hợp chất/tác nhân kết hợp về mặt phi vật lý bao gồm:

- vật liệu (ví dụ dạng chế phẩm không đơn nhất) bao gồm ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân cùng với các hướng dẫn về cách kết hợp ngay lúc dùng của ít nhất một hợp chất để tạo thành một dạng kết hợp vật lý của hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân;
- vật liệu (ví dụ dạng chế phẩm không đơn nhất) bao gồm ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân cùng với các hướng dẫn sử dụng cho liệu pháp kết hợp với hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân;
- vật liệu chứa ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân cùng với các hướng dẫn cách sử dụng cho nhóm đối tượng bệnh trong đó (các) hợp chất khác trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân được (hoặc đang được) cho sử dụng;
- vật liệu chứa ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân với một lượng hoặc ở dạng mà được thiết kế đặc biệt để sử dụng ở dạng kết hợp với (các) hợp chất khác trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “liệu pháp kết hợp” được dự định là để xác định các liệu pháp mà bao gồm việc sử dụng dạng kết hợp của hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân (như được xác định ở trên). Do vậy, việc đề cập đến “liệu pháp kết hợp”, “các dạng kết hợp” và việc sử dụng các hợp chất/tác nhân “kết hợp” trong đơn sáng chế này có thể dùng để chỉ các hợp chất/tác nhân được sử dụng dưới dạng một phần của cùng một phác đồ điều trị tổng thể. Như vậy, liều lượng phù hợp của mỗi trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân có thể là khác nhau: mỗi hợp chất/tác nhân có thể được cho sử dụng cùng một lúc hoặc vào những thời điểm khác nhau. Do đó, cần hiểu rõ rằng các hợp chất/tác nhân của dạng kết hợp này có thể được sử dụng lần lượt (ví dụ như trước hoặc sau) hoặc cùng một lúc, hoặc là trong cùng một dạng chế phẩm dược phẩm (tức là sử dụng cùng nhau), hoặc trong các dược phẩm khác nhau (tức là sử dụng riêng). Sử dụng một cách đồng thời trong cùng một dạng chế phẩm dược phẩm là ở dạng chế phẩm

đơn nhất trong khi sử dụng một cách đồng thời trong các dạng chế phẩm dược phẩm khác nhau là không đơn nhất. Các liều lượng của mỗi trong số hai hay nhiều hợp chất/tác nhân trong liệu pháp kết hợp cũng có thể khác nhau về đường sử dụng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “kit dược phẩm” định nghĩa đây gồm một hoặc nhiều liều đơn vị dược phẩm cùng với phương tiện định lượng (ví dụ thiết bị đo) và/hoặc các phương tiện phân phối (ví dụ như ống xông hít hoặc ống tiêm), tùy ý tất cả được chứa trong vỏ bao ngoài thông thường. Trong các kit dược phẩm chứa dạng kết hợp của hai hay nhiều hợp chất/tác nhân, các hợp chất/tác nhân riêng lẻ có thể là các dạng chế phẩm đơn nhất hoặc không đơn nhất. (Các) liều đơn vị có thể được chứa trong gói dạng vỹ. Kit dược phẩm có thể tùy ý bao gồm thêm hướng dẫn sử dụng.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “gói dược phẩm” định nghĩa một đây gồm một hoặc nhiều liều đơn vị của dược phẩm, tùy ý được chứa trong vỏ bao ngoài thông thường. Trong các gói dược phẩm chứa dạng kết hợp của hai hay nhiều hợp chất/tác nhân, các hợp chất/tác nhân riêng lẻ có thể là các dạng chế phẩm đơn nhất hoặc không đơn nhất. (Các) liều đơn vị có thể được chứa trong gói dạng vỹ. Gói dược phẩm có thể tùy ý bao gồm thêm hướng dẫn sử dụng.

Các muối, solvat, chất hỗ biến, và chất đồng vỹ

Việc đề cập đến hợp chất có công thức (1) bao gồm các dạng ion, muối, solvat, chất hỗ biến và các biến thể đồng vỹ của chúng, trừ khi ngữ cảnh chỉ ra theo cách khác.

Các muối

Hợp chất có công thức (1) có thể tồn tại dưới dạng các muối, và cụ thể là các muối cộng axit. Tất cả các muối như vậy là thuộc phạm vi của sáng chế, và việc đề cập đến hợp chất có công thức (1) bao gồm các dạng muối của hợp chất này trừ khi ngữ cảnh chỉ ra theo cách khác.

Các muối có công thức (1) có thể được tổng hợp từ hợp chất (1) bằng các phương pháp hóa học thông thường như các phương pháp được mô tả trong tài liệu *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, trang 388, Tháng 08/2002. Nói chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho dạng bazơ tự do của hợp chất này phản ứng với axit thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn

hợp gồm cả hai; nói chung, môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril được sử dụng.

Các muối cộng axit (các muối đơn hoặc muối kép) có thể được tạo thành từ nhiều loại axit, cả vô cơ và hữu cơ. Các ví dụ về các muối cộng axit bao gồm các muối đơn hoặc muối kép được tạo thành với axit được chọn từ nhóm bao gồm axit axetic, 2,2-dicloaxetic, adic, alginic, ascorbic (ví dụ L-ascorbic), L-aspartic, benzensulfonic, benzoic, 4-axetamidobenzoic, butanoic, (+) camphoric, camphor-sulfonic, (+)-(1S)-camphor-10-sulfonic, capric, caproic, caprylic, xinamic, xitric, xyclamic, dodexylsulfuric, etan-1,2-disulfonic, etansulfonic, 2-hydroxyetansulfonic, formic, fumaric, galactaric, gentisic, glucoheptonic, D-gluconic, glucuronic (ví dụ D-glucuronic), glutamic (ví dụ L-glutamic), α -oxoglutaric, glycolic, hippuric, các axit hydrohalic (ví dụ hydrobromic, clohydric, hydriodic), isethionic, lactic (ví dụ (+)-L-lactic, ($\pm$)-DL-lactic), lactobionic, maleic, malic, (-)-L-malic, malonic, ($\pm$)-DL-mandelic, metansulfonic, naphtalen-2-sulfonic, naphtalen-1,5-disulfonic, 1-hydroxy-2-naphtoic, nicotinic, nitric, oleic, orotic, oxalic, palmitic, pamoic, phosphoric, propionic, pyruvic, L-pyroglutamic, salixylic, 4-amino-salixylic, sebacic, stearic, succinic, sulfuric, tannic, (+)-L-tartaric, thioxyanic, *p*-toluensulfonic, undexylenic và valeric, cũng như các axit amin được axyl hóa và các nhựa trao đổi cation.

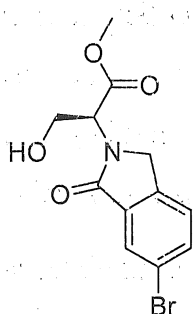
Một nhóm cụ thể các muối bao gồm các muối được tạo thành từ các axit axetic, clohydric, hydriodic, phosphoric, nitric, sulfuric, xitric, lactic, succinic, maleic, malic, isethionic, fumaric, benzensulfonic, toluensulfonic, metansulfonic (mesylat), etansulfonic, naphtalensulfonic, valeric, axetic, propanoic, butanoic, malonic, glucuronic và lactobionic. Một muối cụ thể là muối hydroclorua.

Các dạng muối của hợp chất theo sáng chế thường là các muối được dụng, và các ví dụ về các muối được dụng được thảo luận trong tài liệu của Berge và đồng tác giả, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," *J. Pharm. Sci.*, Tập 66, trang 1-19. Tuy nhiên, các muối không phải là muối được dụng cũng có thể được điều chế ở các dạng chất trung gian mà sau đó có thể chuyển hóa thành các muối được dụng. Các dạng muối không được dụng này, có thể hữu ích, ví dụ, khi tinh chế hoặc tách hợp chất theo sáng chế, cũng tạo thành một phần của sáng chế.

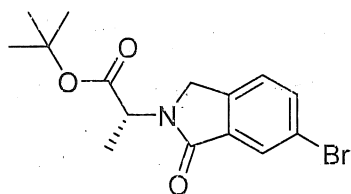
Các đồng phân hình học và chất hỗn biến

Hợp chất có công thức (1) có thể tồn tại ở một số các dạng đồng phân khác nhau và việc đề cập đến hợp chất có công thức (1) bao gồm tất cả các dạng như vậy, trừ khi ngữ cảnh chỉ ra theo cách khác. Để tránh sự nghi ngờ, khi một hợp chất có thể tồn tại ở một trong số các dạng đồng phân và chỉ một dạng được mô tả hoặc chỉ ra cụ thể, tuy nhiên tất cả các dạng khác vẫn được bao gồm trong công thức (1).

Quy ước sử dụng đường “gạch gạch” hoặc “hình nêm” để biểu thị hóa học lập thể được sử dụng để ký hiệu các dạng hóa học lập thể cụ thể, ví dụ như được minh họa bởi hai phân tử được mô tả dưới đây.



Metyl (S)-2-(6-bromo-1-oxoisindolin-2-yl)-3-hydroxypropanoat



tert-butyl (R)-2-(6-bromo-1-oxoisindolin-2-yl)propanoat

Các chất đồng phân quang học có thể được mô tả đặc điểm hoặc nhận biết bởi hoạt tính quang học của chúng (tức là ở dạng các đồng phân + và –, hoặc các đồng phân *d* và *l*) hoặc chúng có thể được mô tả đặc điểm bởi hóa học lập thể tuyệt đối sử dụng danh pháp “R và S” được phát triển bởi Cahn, Ingold và Prelog, xem tài liệu: *Advanced Organic Chemistry* bởi Jerry March, tái bản lần thứ 4, John Wiley & Sons, New York, 1992, các trang 109-114, và cũng xem tài liệu: Cahn, Ingold & Prelog, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1966, 5, 385-415.

Các chất đồng phân quang học có thể được tách bằng một số kỹ thuật bao gồm sắc ký bất đối xứng (sắc ký trên giá thể bất đối xứng) và các kỹ thuật này là đã được biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Là một phương pháp khác với sắc ký bất đối xứng, các chất đồng phân quang học có thể được tách bằng cách tạo các muối đồng phân không đối quang với các axit bất đối xứng như axit (+)-tartaric, axit (-)-pyroglutamic, axit (-)-di-toluoyl-L-tartaric, axit (+)-mandelic, axit (-)-malic, và axit (-)-camphorsulfonic, tách các chất đồng phân không đối quang bằng phương pháp kết tinh chọn lọc, và sau đó phân ly các muối để thu được chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ của bazo tự do. Tương tự như vậy, các chất đồng phân quang học của các hợp chất axit có thể được tách bằng cách tạo ra các muối đồng phân không đối quang với các amin bất đối xứng như Brucin, Cinchonidin, quinin, v.v..

Việc tách các chất đồng phân đối ảnh bổ sung có thể đạt được bằng cách liên kết cộng hóa trị chất phụ trợ bất đối xứng tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh vào hợp chất này và sau đó thực hiện việc tách các chất đồng phân không đối quang sử dụng các phương pháp thông thường như sắc ký. Sau đó là cắt liên kết cộng hóa trị nêu trên để tạo ra sản phẩm tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh thích hợp. Ví dụ, các chất đồng phân quang học của các hợp chất bất đối xứng chứa nhóm hydroxyl tự do có thể được tách bằng cách tạo ra các este của axit Mosher và sau đó tách các chất đồng phân không đối quang tạo thành bằng phương pháp sắc ký, tiếp theo là cắt este này để tái tạo nhóm hydroxyl tự do.

Trong trường hợp cấu hình hóa học lập thể cụ thể được thể hiện trong các hợp chất theo sáng chế, điều này có thể được hiểu có nghĩa là ít nhất 55% (ví dụ ít nhất 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% hoặc 95%) hợp chất là có mặt ở dạng hóa học lập thể đó là dạng khác biệt với các dạng đồng phân khác của hợp chất này. Theo một phương án tổng quát, 99% hoặc nhiều hơn (ví dụ gần như là toàn bộ) tổng lượng hợp chất có công thức (1) có mặt trong cấu hình hóa học lập thể được mô tả.

Các biến thể đồng vị

Trong bản mô tả, việc đề cập đến hợp chất có công thức (1) bao gồm tất cả các biến thể được đánh dấu bằng chất đồng vị được dùng của nó, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng các nguyên tử có cùng số nguyên tử, nhưng số khối hoặc khối lượng nguyên tử khác với số khối hoặc khối lượng nguyên tử thường được phát hiện trong tự nhiên.

Các ví dụ về các chất đồng vị thích hợp để đưa vào hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất đồng vị của hydro, như ^2H (D) và ^3H (T), cacbon, như ^{11}C , ^{13}C và ^{14}C , clo, như ^{36}Cl , flo, như ^{18}F , nitơ, như ^{13}N và ^{15}N , và oxy, như ^{15}O , ^{17}O và ^{18}O .

Các hợp chất có công thức (1) được đánh dấu bằng chất đồng vị nhất định, ví dụ, các hợp chất kết hợp chất đồng vị có hoạt tính phóng xạ, là hữu ích trong các thử nghiệm phân phối thuốc hoặc cơ chất trong mô. Hợp chất có công thức (1) cũng có thể có các đặc tính chẩn đoán giá trị ở chỗ chúng có thể được sử dụng để phát hiện hoặc nhận biết sự tạo thành phức hợp giữa hợp chất được đánh dấu và các phân tử, các peptit, các protein, các enzym hoặc các thụ thể khác. Các phương pháp phát hiện hoặc nhận biết này có thể sử dụng các hợp chất mà được đánh dấu bằng các chất đánh dấu như các chất đồng vị phóng xạ, các enzym, các chất huỳnh quang, các chất dạ quang (ví dụ, luminol, các dẫn xuất luminol, luxiferin, aequorin và luxiferaza), v.v.. Các chất đồng vị có hoạt tính phóng xạ triti, tức là ^3H (T), và cacbon-14, tức là ^{14}C , là hữu ích đặc biệt cho mục đích này do dễ đưa vào và dễ dàng cho các phương pháp phát hiện sẵn có.

Việc thế bằng các chất đồng vị nặng hơn như đơteri, tức là ^2H (D), có thể mang lại các lợi ích trị liệu nhất định do độ ổn định chuyển hóa lớn hơn, ví dụ, thời gian bán hủy *in vivo* tăng hoặc các yêu cầu về liều lượng giảm, và do vậy có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. Cụ thể, mọi đề cập đến hydro trong đơn này phải được hiểu là bao gồm ^1H và ^2H , cho dù hydro được định nghĩa một cách rõ ràng, hoặc hydro có mặt có ngụ ý để thỏa mãn hóa trị của nguyên tử (cụ thể là của cacbon) thích hợp.

Việc thế bằng các chất đồng vị phát positron, như ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O và ^{13}N , có thể là hữu ích trong các nghiên cứu chụp hình cắt lớp bức xạ positron (PET) (Positron Emission Topography-chụp hình cắt lớp bức xạ positron) để kiểm tra mức độ xâm chiếm đích.

Nói chung, các hợp chất có công thức (1) được đánh dấu bằng chất đồng vị có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ hoặc bởi các quy trình tương tự với các quy trình được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế và các dạng chế phẩm kèm theo bằng cách sử dụng các chất phản ứng được đánh dấu bằng chất đồng vị thích hợp thay thế cho chất phản ứng không được đánh dấu được sử dụng trước đó.

Các chất phức

Công thức (1) cũng bao gồm trong phạm vi của nó các chất phức (ví dụ các chất phức bao thể hoặc các clathrat với các hợp chất như các xyclodextrin, hoặc các phức với kim loại) của hợp chất này. Các chất phức bao thể, các clathrat và các chất phức kim loại có thể được tạo ra bằng các phương thức của các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các thuộc tính sinh học

Dự kiến rằng hợp chất (1) sẽ là hữu ích trong y học hoặc liệu pháp trị liệu.

Hợp chất theo sáng chế là các chất ức chế của ERK1/2, và sẽ là hữu ích trong việc phòng ngừa hoặc điều trị các tình trạng bệnh lý hoặc các bệnh được mô tả ở đây, ví dụ, các tình trạng bệnh lý và các bệnh được thảo luận dưới đây và các tình trạng bệnh lý và các bệnh được mô tả trong mục “Tình trạng kỹ thuật của sáng chế” trên đây mà trong đó ERK1/2 đóng một vai trò nhất định. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế sẽ là hữu ích trong việc phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh hoặc các tình trạng bệnh lý do ERK1/2 làm trung gian, ví dụ, các bệnh hoặc các tình trạng bệnh lý như các loại bệnh ung thư mà trong đó hoạt tính ERK1/2 là cần thiết hoặc được điều hòa tăng do các đột biến hoạt hóa trong các hợp phần ngược dòng (như RAS, K-RAS, NRAS và RAF) của con đường MAPK.

Đề cập đến việc ngăn ngừa hoặc phòng bệnh hoặc điều trị một tình trạng hoặc bệnh nào đó như bệnh ung thư bao gồm trong phạm vi của thuật ngữ này việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải tình trạng hoặc bệnh này. Vì vậy, ví dụ, dự kiến rằng hợp chất theo sáng chế sẽ là hữu ích trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh ung thư.

Đề cập đến hợp chất có công thức (1) ở dưới bao gồm cả các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (1) được mô tả ở đây và hợp chất có công thức (1) được điều chế theo các phương pháp được mô tả ở đây.

Do vậy, theo các phương án khác nữa của sáng chế, sáng chế đề xuất:

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong y học.
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng do ERK1/2 làm trung gian gây ra.

- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng do ERK1/2 làm trung gian gây ra.
- Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng do ERK1/2 làm trung gian gây ra ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng do ERK1/2 làm trung gian gây ra.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng do ERK1/2 làm trung gian gây ra.
- Phương pháp giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng do ERK1/2 làm trung gian gây ra ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).

Cụ thể hơn, hợp chất (1) là chất ức chế ERK1/2. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có độ công hiệu ức chế chống lại ERK1 hoặc ERK2, và cụ thể là chống lại ERK1/2.

Hợp chất có công thức (1) là chất ức chế ERK có khả năng liên kết vào ERK1/2 và biểu hiện độ công hiệu đối với ERK1/2. Theo một phương án, hợp chất ức chế có công thức (1) biểu hiện tính chọn lọc đối với ERK1/2 hơn so với các thành viên khác của họ kinaza, và có thể có khả năng liên kết vào và/hoặc biểu hiện sự ức chế ERK1 và/hoặc ERK2 hơn là khả năng liên kết vào và/hoặc biểu hiện sự ức chế thành viên khác trong số các thành viên họ kinaza.

Chức năng ERK1/2 trong việc kiểm soát quá trình truyền tín hiệu tế bào, cũng liên quan đến nhiều bệnh, bao gồm cả các rối loạn gắn liền với hiện tượng tích tụ tế bào (ví dụ, ung thư, rối loạn tự miễn dịch, viêm và chứng tái phát hẹp), các rối loạn trong đó hiện tượng tự hủy tế bào quá mức gây ra hiện tượng mất tế bào (ví dụ, đột quỵ, suy tim, thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, bệnh xơ cứng cột

bên teo cơ, AIDS, thiếu máu cục bộ (đột quỵ, nhồi máu cơ tim) và bệnh loãng xương hoặc điều trị các bệnh tự miễn dịch như đa xơ cứng (multiple sclerosis - MS).

Tình trạng hoặc bệnh do ERK1/2 làm trung gian được đề cập theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên có thể là một hoặc nhiều bệnh và rối loạn bất kỳ trong số các bệnh và các rối loạn trên đây.

Do đó, cũng dự kiến rằng hợp chất theo sáng chế như được định nghĩa trong bản mô tả này có thể là hữu ích trong việc điều trị các tình trạng khác như viêm, viêm gan, viêm loét kết tràng, viêm dạ dày, chứng tự miễn, viêm, chứng tái phát hẹp, đột quỵ, suy tim, các tình trạng thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, loạn dưỡng trương lực cơ, và bệnh xơ cứng cột bên teo cơ, AIDS, thiếu máu cục bộ như tổn thương não do chấn thương, tổn thương tủy sống, thiếu máu cục bộ não, tổn thương do thiếu máu cục bộ não/sự tái tưới máu (I/R), thiếu máu cục bộ gây tổn thương hệ thần kinh trung ương (CNS) cấp tính và mạn tính, đột quỵ hoặc nhồi máu cơ tim, các bệnh thoái hóa của hệ cơ xương như bệnh loãng xương, các bệnh tự miễn dịch như đa xơ cứng (MS) và bệnh đái tháo đường typ I, và các bệnh về mắt như bệnh thoái hóa võng mạc hình thành từ hiện tượng mất kiểm soát của sự chết tế bào theo chương trình.

Do có ái lực đối với ERK1/2, hợp chất theo sáng chế sẽ là hữu ích trong việc đem lại phương tiện kiểm soát quá trình truyền tín hiệu tế bào. Do đó, có dự liệu rằng hợp chất này có thể chứng tỏ là hữu ích trong việc điều trị hoặc phòng ngừa các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư.

Do vậy, theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất:

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để phòng ngừa hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư.
- Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư.
- Phương pháp giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải các rối loạn tăng sinh như các loại bệnh ung thư ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).

Các ví dụ về bệnh ung thư (và các loại tương đương lành tính của chúng) mà có thể được điều trị (hoặc được ức chế) bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các khối u có nguồn gốc biểu mô (u tuyến và ung thư biểu mô thuộc các loại khác nhau bao gồm cả ung thư biểu mô tuyến, ung thư biểu mô tế bào vảy, ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp và các bệnh ung thư biểu mô khác) như ung thư biểu mô của bàng quang và đường tiết niệu, vú, đường dạ dày ruột (bao gồm cả thực quản, dạ dày (thuộc dạ dày), ruột non, kết tràng, trực tràng và hậu môn), gan (ung thư biểu mô tế bào gan), túi mật và hệ thống mật, tụy ngoại tiết, thận, phổi (ví dụ, ung thư biểu mô tuyến, ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ, ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ, ung thư biểu mô phế quản-phế nang và u trung biểu mô), đầu và cổ (ví dụ, các bệnh ung thư về lưỡi, khoang miệng, thanh quản, hầu, mũi hầu, amidan, tuyến nước bọt, khoang mũi và các xoang cạnh mũi), buồng trứng, ống dẫn trứng, màng bụng, âm đạo, âm hộ, dương vật, cổ tử cung, cơ trơn giữa của tử cung, nội mạc tử cung, tuyến giáp (ví dụ, ung thư biểu mô thể nang tuyến giáp), tuyến thượng thận, tuyến tiền liệt, da và bộ phận phụ của tử cung (ví dụ, u hắc sắc tố, ung thư biểu mô tế bào đáy, ung thư biểu mô tế bào vảy, u quá sản biểu mô sừng, vết chàm loạn sản); các bệnh ác tính về huyết học (tức là bệnh bạch cầu, u bạch huyết) và các rối loạn huyết học tiền ác tính và các rối loạn của dạng ác tính ở đường ranh giới bao gồm cả các bệnh ác tính về huyết học và các tình trạng có liên quan của dòng dõi dạng bạch huyết (ví dụ, bệnh bạch cầu bạch huyết bào cấp tính [ALL], bệnh bạch cầu bạch huyết bào mạn tính [CLL], các bệnh u bạch huyết tế bào B như u bạch huyết tế bào B lớn lan tỏa [DLBCL], u bạch huyết thể nang, u bạch huyết Burkitt, u bạch huyết tế bào áo nang, u bạch huyết tế bào T và các bệnh bạch cầu, u bạch huyết tế bào tiêu diệt tự nhiên [natural killer-NK], u

bạch huyết Hodgkin, bệnh bạch cầu tế bào tua, tăng sinh bất thường globulin miễn dịch đơn dòng có ý nghĩa chưa xác định, u tương bào, đa u tủy, và các rối loạn tăng sinh bạch huyết bào sau ghép), và các bệnh ác tính về huyết học và các tình trạng có liên quan của dòng dòng tủy (ví dụ, bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương cấp tính [AML], bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương mạn tính [CML], bệnh bạch cầu tủy bào-bạch cầu đơn nhân to mạn tính [CMML], hội chứng tăng bạch cầu ưa eosin, các rối loạn tăng sinh tủy như bệnh đa hồng cầu, bệnh tăng tiểu cầu thiết yếu và xơ tủy nguyên phát, hội chứng tăng sinh tủy, hội chứng loạn sản tủy, và bệnh bạch cầu dạng tiền tủy bào); các khối u có nguồn gốc trung mô, ví dụ, ung thư mô trung bì của mềm mô, xương hoặc sụn như ung thư mô trung bì xương, ung thư mô trung bì xơ, ung thư mô trung bì sụn, ung thư mô trung bì cơ vân, ung thư mô trung bì cơ trơn, ung thư mô trung bì mỡ, ung thư mô trung bì mạch, ung thư mô trung bì Kaposi, ung thư mô trung bì Ewing, ung thư mô trung bì hoạt dịch, ung thư mô trung bì dạng biểu mô, các mô khối u đệm dạ dày ruột, u mô bào lành tính và u mô bào ác tính, và ung thư mô trung bì xơ hạ bì lồi; các khối u được tạo ra từ tế bào mào thần kinh bao gồm cả các khối u tế bào hắc sắc tố (ví dụ, u hắc sắc tố ác tính hoặc u hắc sắc tố màng mạch nhỏ), các khối u của dây thần kinh ngoại vi và dây thần kinh sọ, các khối u nguyên bào thần kinh ngoại vi (ví dụ, u nguyên bào thần kinh), các khối u của hệ thần kinh trung ương (CNS) phôi thai, u phôi hạch; các khối u của hệ thần kinh trung ương hoặc hệ thần kinh ngoại vi (ví dụ, u tế bào hình sao, u thần kinh đệm và u nguyên bào thần kinh đệm, u màng não, u màng não thất, khối u tuyến tủy và u tế bào Schwann); các khối u nội tiết (ví dụ, các khối u tuyến yên, khối u tuyến thượng thận, khối u tế bào tiểu đảo, khối u tuyến cận giáp, khối u thần kinh-nội tiết và ung thư biểu mô tủy xương của tuyến giáp); các khối u bộ phận phụ của tử cung và ở mắt (ví dụ, u nguyên bào võng mạc); các khối u nguyên bào nuôi và tế bào mầm (ví dụ, u quái, u tế bào mầm tinh hoàn, u tế bào mầm buồng trứng, chửa trứng và ung thư biểu mô nhau thai); và các khối u ở phôi thai và trẻ em (ví dụ, u nguyên bào tủy, u nguyên bào thần kinh, khối u Wilms, và khối u ngoại bì thần kinh nguyên thủy); hoặc các hội chứng, bẩm sinh hoặc theo cách khác, điều này làm cho đối tượng bệnh dễ bị ảnh hưởng bởi dạng ác tính (ví dụ, khô da sắc tố). Các ví dụ khác nữa về bệnh ung thư (và các loại tương đương lành tính của chúng) mà có thể được điều trị (hoặc được ức chế) bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các khối u của tinh hoàn và não (ví dụ, u dây thần kinh).

Vì vậy, trong các dược phẩm, các cách sử dụng hoặc các phương pháp theo sáng chế dùng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bao gồm sự tăng trưởng tế bào bất thường (tức là sự tăng trưởng tế bào nhanh và/hoặc không được kiểm soát), tình trạng hoặc bệnh này bao gồm sự tăng trưởng tế bào bất thường theo một phương án là ung thư.

Theo một phương án, dạng ác tính huyết học là bệnh bạch cầu. Theo một phương án khác, dạng ác tính huyết học là u bạch huyết. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế là để sử dụng trong việc phòng bệnh hoặc điều trị bệnh bạch cầu, như bệnh bạch cầu cấp tính hoặc mạn tính, cụ thể là bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), bệnh bạch cầu bạch huyết bào cấp tính (ALL), bệnh bạch cầu bạch huyết bào mạn tính (CLL), hoặc bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML). Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế là để sử dụng trong việc phòng bệnh hoặc điều trị u bạch huyết, như u bạch huyết cấp tính hoặc mạn tính, cụ thể là u bạch huyết Burkitt, u bạch huyết Hodgkin, u bạch huyết không Hodgkin hoặc u bạch huyết tế bào B lớn lan tỏa. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế là để sử dụng trong việc phòng bệnh hoặc điều trị bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML) hoặc bệnh bạch cầu bạch huyết bào cấp tính (ALL). Theo một phương án, bệnh ung thư này là AML. Theo một phương án khác, bệnh ung thư này là CLL.

Nhiều bệnh đặc trưng bởi hiện tượng tạo mạch không được điều hòa và dai dẳng. Các bệnh tăng sinh mạn tính thường đi kèm hiện tượng tạo mạch sâu rộng, điều này có thể góp phần vào hoặc duy trì tình trạng tăng sinh và/hoặc tình trạng viêm, hoặc điều này dẫn đến hiện tượng phá hủy mô thông qua sự tăng sinh xâm lấn của các mạch máu. Sự tăng trưởng khối u và hiện tượng di căn đã được phát hiện thấy là phụ thuộc vào hiện tượng tạo mạch. Do đó, hợp chất theo sáng chế có thể là hữu ích trong việc phòng ngừa và phá vỡ quy trình khởi đầu của hiện tượng tạo mạch khối u. Cụ thể, hợp chất theo sáng chế có thể là hữu ích trong việc điều trị hiện tượng di căn và ung thư di căn.

Hiện tượng di căn hoặc bệnh di căn là sự lan ra của bệnh từ một cơ quan hoặc phần đến một cơ quan hoặc phần không liền kề khác. Các loại bệnh ung thư mà có thể được điều trị bằng hợp chất theo sáng chế bao gồm các khối u nguyên phát (tức là các tế bào ung thư ở vị trí khởi nguồn), sự xâm lấn cục bộ (các tế bào ung thư mà thâm nhập và thâm nhiễm bao quanh các mô bình thường ở diện tích cục bộ), và các khối u di căn (hoặc thứ phát) tức là các khối u mà đã hình thành từ các tế bào ác tính mà đã lưu thông

thông qua dòng máu (sự lan ra qua máu) hoặc thông qua hệ bạch huyết hoặc qua các khoang cơ thể (xuyên qua khoang cơ thể) đến các mô và trị trí khác trong cơ thể.

Theo các phương án nêu trên, các loại bệnh ung thư cụ thể bao gồm ung thư biểu mô tế bào gan, u hắc sắc tố, ung thư thực quản, thận, kết tràng, trực tràng-kết tràng, phổi, ví dụ, u trung biểu mô hoặc ung thư biểu mô tuyến phổi, vú, bàng quang, dạ dày ruột, buồng trứng và ung thư tuyến tiền liệt.

Một phân nhóm bệnh ung thư khác gồm ung thư thận, u hắc sắc tố, kết tràng, phổi, vú, buồng trứng và ung thư tuyến tiền liệt.

Một phân nhóm bệnh ung thư khác gồm ung thư tụy.

Một phân nhóm bệnh ung thư khác gồm bệnh bạch cầu, như các bệnh bạch cầu cấp tính và mạn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), và bệnh bạch cầu bạch huyết bào mạn tính (CLL).

Một phân nhóm bệnh ung thư khác nữa gồm u trung biểu mô bao gồm cả u trung biểu mô màng bụng ác tính hoặc u trung biểu mô màng phổi ác tính.

Một số bệnh ung thư nhất định thì kháng lại phương pháp điều trị bằng các thuốc cụ thể. Điều này có thể là do loại khối u (các bệnh ác tính biểu mô thông thường nhất vốn dĩ là kháng hóa chất trị liệu) hoặc hiện tượng kháng có thể phát sinh một cách tự phát khi mà bệnh tiến triển hoặc do việc điều trị. Ở khía cạnh này, các dạng đề cập đến u trung biểu mô bao gồm u trung biểu mô có hiện tượng kháng với chất độc topoisomeraza, các chất alkyl hóa, các chất kháng tubulin, các chất kháng folat, các hợp chất platin và liệu pháp phóng xạ, cụ thể là u trung biểu mô kháng lại xisplatin. Theo cách tương tự, các dạng đề cập đến đa u tủy bao gồm đa u tủy nhạy cảm với bortezomib hoặc đa u tủy chai lòn thuốc và các dạng đề cập đến bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương mạn tính bao gồm bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương mạn tính nhạy cảm với imitanib và bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương mạn tính chai lòn thuốc. Ở khía cạnh này, các dạng đề cập đến ung thư tuyến tiền liệt bao gồm ung thư tuyến tiền liệt có hiện tượng kháng với liệu pháp kháng androgen, cụ thể là abirateron hoặc enzalutamid, hoặc ung thư tuyến tiền liệt kháng cắt tinh hoàn. Các dạng đề cập đến u hắc sắc tố bao gồm u hắc sắc tố mà kháng lại phương pháp điều trị bằng chất ức chế BRAF và/hoặc chất ức chế MEK.

Các loại bệnh ung thư có thể là bệnh ung thư mà nhạy cảm với quá trình ức chế ERK1 hoặc ERK2 hoặc cụ thể hơn cả là ERK1/2.

Có dự kiến thêm rằng hợp chất theo sáng chế sẽ đặc biệt hữu ích trong việc điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh ung thư thuộc loại gắn liền với hoặc đặc trưng bởi sự có mặt của mức truyền tín hiệu Ras, BRAF và/hoặc MEK tăng.

Các mức truyền tín hiệu Ras, BRAF hoặc MEK tăng được phát hiện thấy ở nhiều loại bệnh ung thư và gắn liền với sự tiên lượng xấu. Ngoài ra, các loại bệnh ung thư có các đột biến Ras, BRAF hoặc MEK hoạt hóa cũng có thể là nhạy cảm đối với chất ức chế ERK1/2. Các mức truyền tín hiệu Ras, BRAF hoặc MEK tăng và các đột biến ở Ras, BRAF hoặc MEK có thể được nhận diện bằng các kỹ thuật được tóm lược trong bản mô tả này. Dù một loại bệnh ung thư cụ thể có phải là bệnh mà nhạy cảm với sự ức chế ERK1/2 hay không thì cũng có thể được xác định bằng phương pháp như được nêu ra ở mục có đầu đề là “Các phương pháp chẩn đoán”.

Một phân nhóm bệnh ung thư khác nữa gồm u hắc sắc tố NRas và AML NRas.

Một phân nhóm bệnh ung thư khác gồm ung thư phổi KRas, ung thư tụy KRas và ung thư kết tràng-trực tràng (CRC) KRas.

Một phân nhóm bệnh ung thư khác gồm ung thư kết tràng-trực tràng (CRC) BRAF, ung thư phổi BRAF và u hắc sắc tố BRAF.

Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất:

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng có đột biến Ras, đột biến BRAF hoặc đột biến MEK.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng có đột biến Ras, đột biến BRAF hoặc đột biến MEK.
- Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng có đột biến Ras, đột biến BRAF hoặc đột biến MEK ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng có đột biến Ras, đột biến BRAF hoặc đột biến MEK.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) để sản xuất dược phẩm nhằm giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng có đột biến Ras, đột biến BRAF hoặc đột biến MEK.
- Phương pháp giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng có đột biến Ras, đột biến BRAF hoặc đột biến MEK ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị (hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh ung thư được chọn từ khối u ác tính NRas và AML NRas.
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị (hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh ung thư được chọn từ ung thư phổi KRas, ung thư tuyến tụy KRas và ung thư đại trực tràng KRas (CRC).
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị (hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh ung thư được chọn từ ung thư đại trực tràng BRAF (CRC), ung thư phổi BRAF và khối u ác tính BRAF.
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị (hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh ung thư là khối u ác tính BRAF.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư như được xác định trong bản mô tả này.
- Phương pháp điều trị (hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh ung thư ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú như người), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc tình trạng như được mô tả ở đây, cụ thể là ung thư.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để điều

trị bệnh hoặc tình trạng như được mô tả ở đây, cụ thể là ung thư.

- Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng như được mô tả ở đây, cụ thể là ung thư, ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).
- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng như được mô tả ở đây, cụ thể là ung thư.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) để sản xuất được phẩm nhằm giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng như được mô tả ở đây, cụ thể là ung thư.
- Phương pháp giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc bệnh hoặc tình trạng như được mô tả ở đây, cụ thể là ung thư, ở đối tượng (ví dụ đối tượng động vật có vú, như người, có nhu cầu sử dụng), mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).

Hợp chất (1) cũng có thể là hữu ích trong việc điều trị sự tăng trưởng khối u, hiện tượng sinh bệnh, hiện tượng kháng lại liệu pháp hóa học và liệu pháp phóng xạ bằng cách làm cho các tế bào nhạy cảm với liệu pháp hóa học, và hữu ích trong vai trò là chất chống di căn.

Sự can thiệp trị liệu chống ung thư thuộc tất cả các loại nhất thiết phải làm tăng các mức căng thẳng được áp đặt đối với các tế bào khối u đích. Trong quá trình giảm nhẹ các tác dụng có hại của các mức căng thẳng như vậy, ERK1/2 liên quan trực tiếp đến việc kháng lại các tác dụng của thuốc ung thư và chế độ điều trị. Vì vậy, các chất ức chế của ERK1/2 thể hiện nhóm hóa trị liệu có tiềm năng đối với: (i) việc làm cho các tế bào ác tính nhạy cảm với thuốc chống ung thư và/hoặc phương pháp điều trị chống ung thư; (ii) việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải hiện tượng kháng lại thuốc chống ung thư và/hoặc phương pháp điều trị chống ung thư; (iii) đẩy lùi hiện tượng kháng lại thuốc chống ung thư và/hoặc phương pháp điều trị chống ung thư; (iv) tăng cường hoạt tính của thuốc chống ung thư và/hoặc phương pháp điều trị chống ung thư; (v) trì hoãn hoặc

phòng ngừa sự khởi phát của hiện tượng kháng lại thuốc chống ung thư và/hoặc phương pháp điều trị chống ung thư.

Do có khả năng ức chế ERK1/2, hợp chất này sẽ hữu ích trong việc đem lại phương tiện kiểm soát quá trình truyền tín hiệu tế bào. Do đó, cũng dự kiến rằng hợp chất theo sáng chế có thể là hữu ích trong việc điều trị các tình trạng khác như các rối loạn viêm như viêm gan, viêm loét kết tràng, và viêm dạ dày; các tình trạng thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, loạn dưỡng trương lực cơ, và bệnh xơ cứng cột bên teo cơ; AIDS, thiếu máu cục bộ như chứng tái phát hẹp, tổn thương não do chấn thương, tổn thương tủy sống, thiếu máu cục bộ não, tổn thương do thiếu máu cục bộ não/sự tái tưới máu (I/R), thiếu máu cục bộ gây tổn thương hệ thần kinh trung ương (CNS) cấp tính và mạn tính, đột quỵ hoặc nhồi máu cơ tim; các bệnh thoái hóa của hệ cơ xương như bệnh loãng xương; các bệnh tự miễn dịch như đa xơ cứng (MS) và bệnh đái tháo đường typ I, và các bệnh về mắt như bệnh thoái hóa võng mạc.

Ái lực của hợp chất theo sáng chế trong vai trò là chất ức chế của ERK1/2 có thể được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm sinh học và thử nghiệm vật lý sinh học được nêu ra trong các ví dụ trong bản mô tả này.

Các phương pháp chẩn đoán

Trước khi cho dùng hợp chất có công thức (1), đối tượng (ví dụ, đối tượng bệnh) có thể được sàng lọc để xác định xem liệu bệnh hoặc tình trạng mà đối tượng bệnh đang mắc hoặc có thể đang mắc có phải là bệnh mà thường dễ bị ảnh hưởng bởi phương pháp điều trị bằng hợp chất thể hiện sự ức chế ERK1/2 hay không. Thuật ngữ ‘đối tượng bệnh’ bao gồm cả đối tượng bệnh là người và đối tượng bệnh thú y.

Ví dụ, mẫu sinh học được lấy từ đối tượng bệnh có thể được phân tích để xác định xem liệu tình trạng hoặc bệnh, như ung thư, mà đối tượng bệnh đang mắc hoặc có thể đang mắc là bệnh mà đặc trưng bởi sự bất thường gen hoặc sự biểu hiện protein bất thường mà dẫn đến hiện tượng điều hòa tăng của các mức truyền tín hiệu ERK1/2 hoặc dẫn đến quá trình làm cho một con đường nào đó nhạy cảm với chức năng ERK1/2 bình thường hoặc đến hiện tượng điều hòa tăng của con đường sinh hóa học phía cuối nguồn của quá trình hoạt hóa ERK1/2.

Các ví dụ về các dạng bất thường như vậy mà đem lại quá trình hoạt hóa hoặc làm cho con đường ERK1/2 nhạy cảm, bao gồm cả các đột biến hoạt hóa ở dạng đồng đẳng Ras như KRAS hoặc ở BRAF, như được bàn luận ở mục Tình trạng kỹ thuật của sáng chế.

Các đột biến của Ras đã được phát hiện ở các dòng tế bào và các khối u nguyên phát bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở u hắc sắc tố, ung thư kết tràng - trực tràng, ung thư phổi không tế bào nhỏ, và các loại bệnh ung thư của tụy, tuyến tiền liệt, tuyến giáp, đường tiết niệu và đường hô hấp trên (Cancer Res. 2012; 72: 2457–2467).

Thuật ngữ điều hòa tăng bao gồm hiện tượng biểu hiện tăng hoặc hiện tượng biểu hiện quá mức, bao gồm cả hiện tượng khuếch đại gen (tức là nhiều bản sao gen), sai lệch di truyền học tế bào và mức biểu hiện tăng bởi tác dụng phiên mã, hoặc mức truyền tín hiệu tăng thông qua quá trình hoạt hóa ERK1/2. Vì vậy, đối tượng bệnh có thể được làm xét nghiệm chẩn đoán để phát hiện chỉ thị phân tử đặc trưng về hiện tượng điều hòa tăng của ERK1/2. Thuật ngữ sự chẩn đoán bao gồm việc sàng lọc. Về thuật ngữ chỉ thị phân tử, chúng tôi đưa vào cả các chỉ thị phân tử di truyền bao gồm cả, ví dụ, việc đo thành phần ADN để nhận diện sự có mặt của các đột biến của Ras (ví dụ, KRAS) hoặc BRAF. Thuật ngữ chỉ thị phân tử còn bao gồm các chỉ thị phân tử mà đặc trưng về hiện tượng điều hòa tăng của ERK1/2, bao gồm cả mức protein, tình trạng protein và mức ARN thông tin của các protein được đề cập trên đây. Mức khuếch đại gen bao gồm nhiều hơn 7 bản sao, cũng như mức tăng thêm là từ 2 đến 7 bản sao.

Các thử nghiệm chẩn đoán dùng để phát hiện các đột biến KRAS và BRAF được mô tả trong tài liệu: de Castro và đồng tác giả *Br. J. Cancer*. 10/07/2012;107(2):345-51. doi: 10.1038/bjc.2012,259. Epub 19/06/2012, “A comparison of three methods for detecting KRAS mutations in formalin-fixed colorectal cancer specimens.”; và Gonzalez và đồng tác giả, *Br J Dermatol*. 04/2013;168(4): 700-7. doi: 10.1111/bjd.12248, “BRAF mutation testing algorithm for vemurafenib treatment in melanoma: recommendations from an expert panel” và các phần tham chiếu được trích dẫn trong đó.

Một số xét nghiệm chẩn đoán về các đột biến BRAF đã được phê duyệt bởi Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) và các thông tin chi tiết về các thử nghiệm này có thể được tìm thấy trên trang web của FDA. Các ví dụ về các xét nghiệm chẩn đoán như vậy là thử nghiệm cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test, một thử

thử nghiệm đi kèm của sản phẩm vemurafenib của Roche, và thử nghiệm THx1D BRAF, một thử nghiệm đi kèm của sản phẩm Tafenlar (dabrafenib) và sản phẩm Mekinist (trametinib).

Các xét nghiệm chẩn đoán và các phương pháp sàng lọc thường được thực hiện trên mẫu sinh học (tức là mô cơ thể hoặc dịch cơ thể) được chọn lựa từ các mẫu sinh thiết khối u, các mẫu máu (phân lập và làm giàu các tế bào khối u rời rưng), dịch não - tủy, huyết tương, huyết thanh, nước bọt, các phần sinh thiết phân, đờm, phép phân tích nhiễm sắc thể, dịch màng phổi, dịch màng bụng, phết niêm mạc má khoang miệng, sinh thiết da hoặc nước tiểu.

Các phương pháp nhận diện và phân tích sai lạc di truyền học tế bào, mức khuếch đại gen, các đột biến và hiện tượng điều hòa tăng của các protein thì người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Việc thực hiện thử nghiệm lâm sàng đối với hầu hết các biến thể gen có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phương pháp tiêu chuẩn như phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) đặc hiệu alen, phản ứng chuỗi enzym polymeraza phiên mã ngược (RT-PCR), phép phân tích trình tự ADN bằng các phương pháp giải trình tự thế hệ tiếp theo hoặc giải trình Sanger thông thường, phương pháp giải trình tự Sanger dựa trên dideoxy, giải trình tự tổng hợp dựa trên pyrophosphat, khuếch đại mẫu dò phụ thuộc vào hiện tượng đa nối (MLPA), hoặc ARMS PCR. Việc thực hiện thử nghiệm lâm sàng về số bản sao gen và các dạng thay đổi gen cấu trúc có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phương pháp tiêu chuẩn như giải trình tự ARN (RNazaq), các thử nghiệm nCounter ARN trạng thái gần của quá trình lai của Nanostring, hoặc phương pháp lai in-situ như phương pháp lai in situ huỳnh quang (FISH). Các công nghệ giải trình tự thế hệ tiếp theo (NGS) mới hơn, như giải trình tự song song theo kiểu hàng loạt cho phép giải trình tự toàn bộ exome hoặc giải trình tự toàn bộ hệ gen.

Trong việc sàng lọc bằng RT-PCR, mức của ARN thông tin trong khối u được đánh giá bằng cách tạo ra bản sao ADN bổ trợ của ARN thông tin sau đó là quá trình khuếch đại ADN bổ trợ bằng PCR. Các phương pháp khuếch đại PCR, việc chọn lựa các đoạn mồi, và điều kiện cho quá trình khuếch đại, thì người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Các thao tác axit nucleic và PCR được thực hiện bằng các phương pháp tiêu chuẩn, như được mô tả, ví dụ, trong tài liệu: Ausubel, F.M. và đồng tác giả, eds. (2004) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons Inc., hoặc

Innis, M.A. và đồng tác giả, eds. (1990) PCR Protocols: a guide to methods and applications, Academic Press, San Diego. Các phản ứng và các thao tác liên quan đến các kỹ thuật axit nucleic cũng được mô tả trong tài liệu: Sambrook và đồng tác giả, (2001), tái bản lần thứ ba, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Theo cách khác, kit có bán trên thị trường dùng cho RT-PCR (ví dụ, Roche Molecular Biochemicals) có thể được sử dụng, hoặc hệ phương pháp như được nêu ra trong các patent Mỹ số 4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659, 5,272,057, 5,882,864, và 6,218,529 và được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Một ví dụ về kỹ thuật lai in-situ dùng để đánh giá mức biểu hiện ARN thông tin là phương pháp lai in-situ huỳnh quang (FISH) (xem Angerer (1987) Meth. Enzymol., 152: 649).

Nhìn chung, phương pháp lai in situ bao gồm các bước chính sau đây: (1) cố định mô cần được phân tích; (2) xử lý trước khi lai mẫu để làm tăng khả năng tiếp cận được của axit nucleic đích, và để làm giảm khả năng liên kết không đặc hiệu; (3) lai hỗn hợp gồm các axit nucleic với axit nucleic trong cấu trúc sinh học hoặc mô; (4) rửa sau khi lai để loại bỏ các đoạn axit nucleic không được liên kết trong quá trình lai, và (5) phát hiện các đoạn axit nucleic được lai. Các mẫu dò được sử dụng trong các ứng dụng như vậy thường được đánh dấu, ví dụ, bằng chất đồng vị phóng xạ hoặc chất chỉ thị huỳnh quang. Các mẫu dò cụ thể thì đủ dài, ví dụ, từ khoảng chừng 50, 100, hoặc 200 nucleotit đến khoảng chừng 1000 nucleotit hoặc hơn, để giúp lai đặc hiệu được với (các) axit nucleic đích trong các điều kiện nghiêm ngặt. Các phương pháp tiêu chuẩn dùng để thực hiện FISH được mô tả trong tài liệu: Ausubel, F.M. và đồng tác giả, eds. (2004) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc và Fluorescence In Situ Hybridization: Technical Overview của John M. S. Bartlett trong Molecular Diagnosis of Cancer, Methods and Protocols, tái bản lần thứ hai; ISBN: 1-59259-760-2; Tháng 3/2004, pps. 077-088; Chuỗi tài liệu: Methods in Molecular Medicine.

Các phương pháp dùng cho việc định hình biểu hiện gen được mô tả bằng tài liệu: (DePrimo và đồng tác giả (2003), *BMC Cancer*, 3:3). Nói một cách vắn gọn, quy trình này là như sau: ADN bổ trợ sợi kép được tổng hợp từ ARN tổng bằng cách sử dụng oligome (dT)₂₄ để tạo môi cho quá trình tổng hợp sợi thứ nhất của ADN bổ trợ, ví dụ, từ ARN thông tin được polyadenyl hóa, sau đó là quá trình tổng hợp sợi thứ hai của ADN bổ trợ bằng các đoạn môi hexame ngẫu nhiên. ADN bổ trợ sợi kép được sử dụng làm

khuôn mẫu cho quá trình phiên mã *in vitro* ARN hỗ trợ bằng cách sử dụng ribonucleotit được biotin hóa. ARN hỗ trợ được phân đoạn về mặt hóa học theo các quy trình được mô tả bằng tài liệu: Affymetrix (Santa Clara, CA, Mỹ), và sau đó, được lai qua đêm trên các Mảng Hệ gen của Người (Human Genome Arrays) hoặc với các mẫu dò oligonucleotit đặc hiệu gen trên các Mảng Hệ gen của Người. Theo cách khác, các mảng đa hình nucleotit đơn (single nucleotide polymorphism - SNP), loại vi mảng ADN, có thể được sử dụng để phát hiện các hiện tượng đa hình trong quần thể.

Theo cách khác, các sản phẩm protein được biểu hiện từ các ARN thông tin có thể được thử nghiệm bằng phương pháp hóa mô miễn dịch hoặc huỳnh quang miễn dịch của các mẫu khối u, thử nghiệm miễn dịch pha rắn bằng các đĩa vi chuẩn độ, thẩm tách Western, quá trình điện di mao quản, quá trình điện di gel polyacrylamit - SDS 2 chiều, ELISA, phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy và các phương pháp khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này dùng để phát hiện các protein đặc hiệu. Các phương pháp phát hiện thường bao gồm sử dụng các kháng thể đặc hiệu với vị trí. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ công nhận rằng tất cả các kỹ thuật đã biết như vậy dùng để phát hiện hiện tượng điều hòa tăng của ERK1/2, phát hiện các thể đột biến hoặc các biến thể ERK1/2, hoặc phát hiện mức khuếch đại 11q22 có thể là áp dụng được trong trường hợp này.

Các mức bất thường của các protein như ERK1/2 có thể được đo bằng cách sử dụng các thử nghiệm protein tiêu chuẩn, ví dụ, những thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả này. Các mức tăng hoặc hiện tượng biểu hiện quá mức cũng có thể được phát hiện trong mẫu mô, ví dụ, mô khối u bằng cách đo mức protein bằng một thử nghiệm như thử nghiệm từ Chemicon International. Protein đang được quan tâm thường được kết tủa miễn dịch từ sản phẩm phân giải mẫu và các mức của nó được đo. Các phương pháp thử nghiệm còn bao gồm cách sử dụng các chất đánh dấu.

Hiện tượng biểu hiện quá mức ERK có thể được đo bằng sinh thiết khối u. Các phương pháp dùng để đánh giá các dạng thay đổi bản sao gen bao gồm các kỹ thuật thường được sử dụng trong các phòng thí nghiệm di truyền học tế bào như MLPA (Khuếch đại mẫu dò phụ thuộc vào hiện tượng đa nối), phương pháp PCR đa môi phát hiện số bản sao bất thường, hoặc các kỹ thuật PCR khác mà có thể phát hiện hiện tượng khuếch đại gen, dạng tăng thêm và dạng xóa bỏ.

Các thử nghiệm ngoài chức năng cũng có thể được sử dụng khi thích hợp, ví dụ, đo các tế bào bệnh bạch cầu lưu thông ở đối tượng bệnh ung thư, để đánh giá tính đáp ứng đối với thử thách bằng chất ức chế.

Do đó, tất cả các kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng để nhận diện các khối u đặc biệt thích hợp cho phương pháp điều trị bằng hợp chất theo sáng chế.

Do vậy, theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất:

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị hoặc phòng bệnh (hoặc để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) một tình trạng hoặc bệnh nào đó ở đối tượng bệnh mà đã được sàng lọc và đã được xác định là mắc, hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng mà thường là dễ bị ảnh hưởng bởi phương pháp điều trị bằng hợp chất thể hiện sự ức chế ERK1/2 (tức là chất ức chế ERK1/2).
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để điều trị hoặc phòng bệnh (để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) một tình trạng hoặc bệnh nào đó ở đối tượng bệnh mà đã được sàng lọc và đã được xác định là mắc, hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng mà thường là dễ bị ảnh hưởng bởi phương pháp điều trị bằng hợp chất thể hiện sự ức chế ERK1/2 (tức là chất ức chế ERK1/2).
- Phương pháp dùng để điều trị hoặc phòng bệnh (để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) một tình trạng hoặc bệnh nào đó ở đối tượng bệnh mà đã được sàng lọc và đã được xác định là mắc, hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng mà thường là dễ bị ảnh hưởng bởi phương pháp điều trị bằng hợp chất thể hiện sự ức chế ERK1/2 (tức là chất ức chế ERK1/2), mà phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).

Một khía cạnh khác của sáng chế bao gồm hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong việc phòng bệnh hoặc điều trị bệnh ung thư ở đối tượng bệnh được chọn lựa từ tiểu quần thể có hiện tượng biểu hiện quá mức hoặc một đột biến hoạt hóa trong con đường truyền tín hiệu ERK1/2 (ví dụ, Ras, BRAF hoặc MEK). Do vậy, theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất:

- Hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc điều trị hoặc phòng bệnh (hoặc để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) ung thư ở đối tượng bệnh được chọn lựa từ tiểu quần thể có hiện tượng biểu hiện quá mức hoặc một đột biến hoạt hóa trong con đường truyền tín hiệu ERK1/2, ví dụ, Ras (ví dụ KRAS), BRAF hoặc MEK.
- Sử dụng hợp chất có công thức (1) cho việc sản xuất dược phẩm dùng để điều trị hoặc phòng bệnh (để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) ung thư ở đối tượng bệnh được chọn lựa từ tiểu quần thể có hiện tượng biểu hiện quá mức hoặc một đột biến hoạt hóa trong con đường truyền tín hiệu ERK1/2 Ras (ví dụ, KRAS), BRAF hoặc MEK.
- Phương pháp dùng để điều trị hoặc phòng bệnh (để sử dụng trong việc giảm bớt hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) ung thư ở đối tượng bệnh được chọn lựa từ tiểu quần thể có hiện tượng biểu hiện quá mức hoặc một đột biến hoạt hóa trong con đường truyền tín hiệu ERK1/2 Ras (ví dụ, KRAS), BRAF hoặc MEK, mà phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của hợp chất có công thức (1).
- Phương pháp dùng để chẩn đoán và điều trị một tình trạng hoặc bệnh nào đó do ERK1/2 làm trung gian, mà phương pháp này bao gồm (i) sàng lọc đối tượng bệnh để xác định xem liệu bệnh hoặc tình trạng mà đối tượng bệnh đang mắc hoặc có thể đang mắc là bệnh mà thường là dễ bị ảnh hưởng bởi phương pháp điều trị bằng hợp chất có ái lực đối với ERK1/2; và (ii) trường hợp có chỉ định rằng tình trạng hoặc bệnh này đối tượng bệnh dễ bị ảnh hưởng như vậy, sau đó, cho đối tượng bệnh dùng hợp chất có công thức (1).

Các dạng bào chế dược phẩm

Hợp chất (1) được điều chế theo quy trình mới theo sáng chế và các dạng tinh thể mới của hợp chất (1) có thể được sử dụng cho đối tượng riêng một mình nhưng thông thường hơn là được trình bày ở dạng dược phẩm (ví dụ dạng chế phẩm).

Vì vậy, theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (1) và ít nhất một tá dược được dùng và tùy ý, chất trị liệu hoặc chất phòng bệnh khác như được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế còn đề xuất các phương pháp sản xuất dược phẩm bao gồm việc đưa vào sự kết hợp (ví dụ, trộn) hợp chất có công thức (1), ít nhất một tá dược được dụng đã nêu và tùy ý, chất trị liệu hoặc chất phòng bệnh khác như được mô tả trong bản mô tả này.

(Các) tá dược được dụng có thể được chọn lựa từ, ví dụ, các chất mang (ví dụ, chất mang rắn, lỏng hoặc bán rắn), chất phụ trợ, chất pha loãng, chất làm đầy hoặc chất độn, chất tạo hạt, chất bao, chất kiểm soát phóng thích thuốc, chất kết dính, chất làm tan rã, chất làm trơn, chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất đệm, chất tạo huyền phù, chất làm đặc, chất tạo hương vị, chất làm ngọt, chất làm mất mùi vị khó chịu, chất làm ổn định hoặc các tá dược bất kỳ khác thường được sử dụng trong các dược phẩm. Các ví dụ về tá dược dùng cho các loại dược phẩm khác nhau được nêu chi tiết hơn dưới đây.

Thuật ngữ “dược dụng” như được sử dụng trong bản mô tả này được dùng để chỉ các hợp chất, chất liệu, chế phẩm, và/hoặc các dạng liều lượng mà, thuộc phạm vi của phán đoán y học chuẩn xác, thích hợp để sử dụng có sự tiếp xúc với mô của đối tượng (ví dụ, đối tượng là người) mà không có độc tính quá mức, sự kích ứng, đáp ứng dị ứng, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý. Mỗi tá dược còn phải là “có thể chấp nhận được” theo nghĩa là tương hợp với các thành phần khác của dạng chế phẩm.

Các dược phẩm chứa các hợp chất (1) có thể được bào chế theo các kỹ thuật đã biết, ví dụ, xem tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, Mỹ.

Các dược phẩm này có thể ở dạng bất kỳ thích hợp để dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, khu trú, trong mũi, trong phế quản, dưới lưỡi, ở mắt, ở tai, trực tràng, trong âm đạo, hoặc qua da. Trường hợp chế phẩm này được dự định để dùng ngoài đường tiêu hóa, thì chúng có thể được bào chế để dùng trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, dưới da hoặc cho phương thức phân phối trực tiếp vào cơ quan hoặc mô đích bằng phương pháp tiêm, tiêm truyền hoặc các phương tiện phân phối khác. Việc phân phối này có thể là bằng phương pháp tiêm nhanh, tiêm truyền thời gian ngắn hoặc tiêm truyền thời gian dài hơn và có thể là thông qua phương pháp phân phối thụ động hoặc thông qua việc sử dụng thiết bị dẫn động bơm tiêm hoặc bơm tiêm truyền thích hợp.

Các dạng bào chế dược phẩm được làm thích ứng để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch tiêm vô trùng chứa nước và dung dịch tiêm vô trùng không chứa

nước mà có thể chứa chất chống oxy hóa, dung dịch đệm, chất kìm hãm vi khuẩn, đồng dung môi, chất có hoạt tính bề mặt, hỗn hợp dung môi hữu cơ, chất tạo phức hợp cyclodextrin, chất nhũ hóa (dùng để tạo và làm ổn định dạng chế phẩm nhũ tương), các hợp phần liposom dùng để tạo liposom, các polyme có thể gel hóa được dùng để tạo gel dạng polyme, chất bảo vệ quá trình đông khô và các dạng kết hợp của các chất dùng để, *trong số những điều khác*, làm ổn định thành phần có hoạt tính trong dạng tan được và làm cho dạng chế phẩm này tương thích với máu của đối tượng tiếp nhận được dự định. Các dạng bào chế được phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa cũng có thể có dạng là huyền phù vô trùng chứa nước và huyền phù vô trùng không chứa nước mà có thể bao gồm chất tạo huyền phù và chất làm đặc (R. G. Strickly, Solubilizing Excipients in oral and injectable formulations, Pharmaceutical Research, Tập 21(2) 2004, trang 201-230).

Các dạng bào chế này có thể được trình bày trong vật chứa liều đơn vị hoặc vật chứa đa liều, ví dụ, các ống thuốc tiêm được bịt kín, lọ và bơm tiêm đóng sẵn thuốc, và có thể được tích trữ trong điều kiện được làm đông khô (được đông khô) chỉ đòi hỏi việc bổ sung chất màng lỏng vô trùng, ví dụ, nước pha tiêm, ngay lập tức trước khi sử dụng. Theo một phương án, dạng chế phẩm được đề xuất ở dạng thành phần được có hoạt tính (ví dụ, ở dạng được làm đông khô hoặc dạng được làm khô được nghiền mịn khác) trong chai dùng cho quá trình hoàn nguyên kế tiếp bằng cách sử dụng chất pha loãng thích hợp.

Dạng bào chế được phẩm này có thể được điều chế bằng cách làm khô lạnh hợp chất có công thức (1). Quy trình làm khô lạnh dùng để chỉ quy trình làm đông khô chế phẩm. Do đó, làm khô lạnh và đông khô được sử dụng trong bản mô tả này trong vai trò là từ đồng nghĩa. Làm khô lạnh là phương pháp khử nước trong đó chất nền chứa dung môi được làm đông lạnh và sau đó được hút chân không để loại bỏ dung môi bằng quy trình thăng hoa, tức là chuyển đổi trực tiếp từ trạng thái đông lạnh thể rắn sang trạng thái thể khí. Làm khô lạnh thường bao gồm ba giai đoạn; giai đoạn làm đông lạnh; giai đoạn sấy sơ cấp; và giai đoạn sấy thứ cấp. Trong suốt giai đoạn làm đông lạnh, chất nền được làm đông lạnh đến nhiệt độ ở dưới điểm nóng chảy của nó. Trong giai đoạn sấy sơ cấp tiếp theo, chất nền đã được làm đông lạnh này được hút chân không do đó cho phép loại bỏ dung môi bằng quy trình thăng hoa. Hầu hết dung môi được loại bỏ khỏi chất nền trong giai đoạn này. Tuy nhiên, một lượng nhỏ dung môi có thể vẫn bị dính kết hoặc hấp phụ vào chất nền vào cuối giai đoạn sấy sơ cấp. Để loại bỏ phần dung môi còn lại này,

chân không được duy trì nhưng chất nền đã được làm khô một phần được làm ấm đến nhiệt độ mà tại đó nó không còn được làm đông lạnh nữa. Dung môi còn lại được loại bỏ bằng cách làm bay hơi.

Quy trình làm đông khô có thể được thực hiện trong thiết bị làm khô lạnh, cấu trúc của thiết bị này có thể là hoàn toàn thông thường. Thiết bị làm khô lạnh này thông thường có một khoang trong đó các thùng chứa khô lạnh chứa dung dịch có thể được xếp đặt để làm khô lạnh. Khoang này thông thường được nối với nguồn chân không (ví dụ bơm chân không) để có thể làm giảm áp suất trong khoang. Thiết bị này cũng có thể có phương tiện để làm lạnh đông hoặc gia nhiệt các thành phần chứa trong khoang.

Dạng bào chế được phẩm cũng có thể được điều chế bằng cách sấy phun hợp chất có công thức (1). Sấy phun là phương pháp tạo ra các hạt cỡ micron trong đó dung dịch hoặc huyền phù của chất nền trong dung môi được phun mịn để tạo thành dạng phân tán chứa các giọt dung dịch hoặc huyền phù và sau đó trải qua quy trình gia nhiệt và/hoặc hút chân không một phần để loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi. Chất nền đầu tiên được hòa tan hoặc được tạo huyền phù trong dung môi thích hợp, và sau đó dung dịch được cho đi qua bình phun hoặc vòi phun trong khoang sấy. Khí được gia nhiệt (ví dụ, không khí hoặc nitơ) cũng có thể được phun vào khoang sấy khô để tiếp xúc với lượng nguyên liệu đã được phun hoặc khoang sấy khô có thể được trải qua quy trình hút chân không một phần, để bắt đầu làm bay hơi dung môi. Khi dung môi bay hơi, các hạt rắn của chất nền được tạo thành và có thể được thu hồi. Kích cỡ của các hạt thu được ở dạng bột có thể được thay đổi bằng cách chọn bình phun hoặc vòi phun thích hợp.

Quy trình sấy phun có thể được thực hiện bằng máy sấy phun, cấu trúc của máy sấy phun này có thể hoàn toàn thông thường. Máy sấy phun thường có bình phun hoặc vòi phun làm phân tán dung dịch thành dạng bụi mịn (thông thường đường kính nhỏ hơn 500 μ m). Quy trình sấy phun mịn được điều khiển trong khoang sấy. Thông thường, khoang sấy khô cũng có một đầu vào để nhận khí nóng (như không khí hoặc nitơ) và cũng tùy ý được nối với một nguồn chân không (ví dụ bơm chân không) để có thể làm giảm áp suất trong khoang. Khoang sấy khô cũng có thể có một cửa ra mà qua đó có thể thu gom được các hạt rắn được tạo thành từ quy trình làm bay hơi dung môi từ các giọt phun.

Các huyền phù và dung dịch tiêm chế ngay lúc dùng có thể được điều chế từ các

dạng hạt cốm, viên nén và bột vô trùng.

Các dược phẩm theo sáng chế dùng để tiêm ngoài đường tiêu hóa cũng có thể bao gồm chất phân tán, huyền phù, nhũ tương hoặc dung dịch chứa nước hoặc dung dịch không chứa nước vô trùng được dụng cũng như bột vô trùng dùng cho quy trình hoàn nguyên thành các chất phân tán hoặc dung dịch tiêm vô trùng chỉ trước khi sử dụng. Các ví dụ về chất pha loãng, dung môi, chất dẫn hoặc chất mang chứa nước và chất mang không chứa nước thích hợp bao gồm nước, etanol, các polyol (như glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, và các chất tương tự), carboxymetylxenluloza và các hỗn hợp thích hợp của chúng, dầu thực vật (như dầu ôliu, dầu hướng dương, dầu hoa rum, hoặc dầu ngô), và các este hữu cơ tiêm như etyl oleat. Độ lỏng đúng đắn có thể được duy trì, ví dụ, bằng cách sử dụng chất liệu bao (hoặc làm đặc) như lexitin, bằng cách duy trì kích cỡ hạt cần thiết trong trường hợp chất phân tán, và bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể còn chứa các chất phụ trợ như chất bảo quản, chất thẩm ướt, chất nhũ hóa, và chất phân tán. Có thể đảm bảo tác dụng phòng ngừa hoạt động của vi sinh vật bằng việc lấy vào các chất kháng khuẩn và kháng nấm khác nhau, ví dụ, paraben, clobutanol, phenol, axit sorbic, và các chất tương tự. Cũng có thể là thích hợp khi lấy vào các chất để điều chỉnh trương lực như đường, natri clorua, và các chất tương tự. Có thể đem lại quá trình hấp thụ kéo dài của dạng dược phẩm tiêm bằng việc lấy vào các chất mà trì hoãn quá trình hấp thụ như nhôm monostearat và gelatin.

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm này là ở dạng thích hợp để dùng qua tĩnh mạch, ví dụ, bằng phương pháp tiêm hoặc tiêm truyền. Để dùng trong tĩnh mạch, dung dịch này có thể được cho dùng theo liều lượng như nguyên trạng, hoặc có thể được bơm vào túi tiêm truyền (chứa tá dược được dụng, như dung dịch muối 0,9% hoặc dextroza 5%), trước khi cho dùng.

Theo một phương án khác, dược phẩm này là ở dạng thích hợp để dùng dưới da (s.c.).

Các dạng liều lượng dược phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng bao gồm viên nén (được bao hoặc không được bao), viên nang (vỏ cứng hoặc vỏ mềm), viên nén con nhộng, viên tròn, viên thuốc hình thoi, xi rô, dung dịch, bột, hạt, cốm ngọt và huyền

phù, viên nén dùng dưới lưỡi, bánh thuốc hoặc miếng dán như miếng dán má trong khoang miệng.

Vì vậy, chế phẩm viên nén có thể chứa liều đơn vị của hợp chất có hoạt tính cùng với chất mang hoặc chất pha loãng trở như đường hoặc rượu đường, ví dụ; lactoza, sucroza, sorbitol hoặc manitol; và/hoặc chất pha loãng được tạo ra không đường như natri carbonat, canxi phosphat, canxi carbonat, hoặc xenluloza hoặc dẫn xuất của chúng như xenluloza vi tinh thể (MCC), metyl xenluloza, etyl xenluloza, hydroxypropyl metyl xenluloza, và tinh bột như tinh bột ngô. Viên nén có thể còn chứa các thành phần tiêu chuẩn như vậy trong vai trò là chất kết dính và chất tạo hạt như polyvinylpyrrolidon, chất làm tan rã (ví dụ, các polyme được liên kết ngang có thể trương nở được như carboxymetylxenluloza được liên kết ngang), chất làm trơn (ví dụ, stearat), chất bảo quản (ví dụ, paraben), chất chống oxy hóa (ví dụ, BHT), chất đệm (ví dụ, dung dịch đệm phosphat hoặc dung dịch đệm xitrat), và các chất sủi bọt như các hỗn hợp xitrat/bicarbonat. Các tá dược như vậy là đã biết rõ và không cần phải bàn luận chi tiết ở đây.

Viên nén có thể được thiết kế để phóng thích thuốc sau khi tiếp xúc với dịch dạ dày (viên nén phóng thích ngay lập tức) hoặc để phóng thích theo phương thức có kiểm soát (viên nén phóng thích có kiểm soát) trong khoảng thời gian kéo dài hoặc với một vùng cụ thể của đường dạ dày-ruột.

Dạng chế phẩm viên nang có thể thuộc loại gelatin cứng hoặc gelatin mềm và có thể chứa hợp phần có hoạt tính ở dạng rắn, bán rắn, hoặc lỏng. Viên nang gelatin có thể được tạo ra từ gelatin động vật hoặc tổng hợp hoặc các dạng tương đương được tạo ra từ thực vật của chúng.

Các dạng liều lượng rắn (ví dụ, viên nén, viên nang v.v.) có thể được bao hoặc không được bao ngoài. Các chất bao có thể đóng vai trò là màng bảo vệ (ví dụ, polyme, sáp hoặc dầu bóng) hoặc đóng vai trò là cơ cấu dùng để kiểm soát quy trình phóng thích thuốc hoặc có thể phục vụ mục đích thẩm mỹ hoặc mục đích nhận diện. Chất bao (ví dụ, polyme loại Eudragit™) có thể được thiết kế để phóng thích hợp phần có hoạt tính ở vị trí mong muốn trong đường dạ dày ruột. Vì vậy, chất bao có thể được chọn lựa để suy biến trong các điều kiện độ pH nhất định trong đường dạ dày ruột, nhờ đó phóng thích

một cách chọn lọc hợp chất trong dạ dày hoặc trong hồi tràng, tá tràng, kết tràng hoặc hồng tràng.

Thay vì, hoặc ngoài chất bao ra, thuốc này có thể được trình bày trong cơ chất rắn bao gồm chất kiểm soát phóng thích thuốc, ví dụ, chất làm chậm phóng thích thuốc mà có thể được làm thích ứng để phóng thích hợp chất theo phương thức có kiểm soát trong đường dạ dày ruột. Theo cách khác, thuốc này có thể được trình bày trong chất bao polyme, ví dụ, chất bao polyme polymetacrylat, mà có thể được làm thích ứng để phóng thích một cách chọn lọc hợp chất trong các điều kiện có độ axit hoặc độ kiềm khác nhau trong đường dạ dày ruột. Theo cách khác, chất liệu cơ chất hoặc chất bao làm chậm quy trình phóng thích có thể có hình dạng là polyme có thể ăn mòn được (ví dụ, polyme maleic anhydride) mà về cơ bản bị ăn mòn một cách liên tục khi mà dạng liều lượng di chuyển thông qua đường dạ dày ruột. Theo một lựa chọn thay thế khác, chất bao có thể được thiết kế để phân rã dưới tác động của vi sinh vật trong ruột. Là một lựa chọn thay thế khác nữa, hợp chất có hoạt tính có thể được bào chế trong hệ thống phân phối mà đem lại sự kiểm soát thẩm thấu quy trình phóng thích của hợp chất. Dạng chế phẩm phóng thích thẩm thấu và phóng thích chậm khác hoặc dạng chế phẩm phóng thích duy trì (ví dụ, dạng chế phẩm dựa trên nhựa trao đổi ion) có thể được điều chế theo các phương pháp đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hợp chất có công thức (1) có thể được bào chế với chất mang và được cho dùng dưới dạng hạt nano. Hạt nano làm tăng diện tích bề mặt, trợ giúp quy trình hấp thụ hợp chất, và đem lại khả năng xảy ra quy trình thâm nhập trực tiếp vào tế bào. Các hệ thống phân phối thuốc hạt nano được mô tả trong tài liệu: "Nanoparticle Technology for Drug Delivery", được biên tập bởi Ram B. Gupta và Uday B. Kompella, Informa Healthcare, ISBN 9781574448573, được công bố ngày 13 tháng 3 năm 2006. Hạt nano dùng cho việc phân phối thuốc cũng được mô tả trong tài liệu: J. Control. Release, 2003, 91 (1-2), 167-172, và trong tài liệu: *Sinha và đồng tác giả*, Mol. Cancer Ther. 01/08 (2006) 5, 1909.

Các dược phẩm này bao gồm từ xấp xỉ 1% (khối lượng/khối lượng) đến xấp xỉ 95% thành phần có hoạt tính và từ 99% (khối lượng/khối lượng) đến 5% (khối lượng/khối lượng) tá dược được dùng hoặc dạng kết hợp của các tá dược. Cụ thể hơn là, chế phẩm này có thể bao gồm từ xấp xỉ 20% (khối lượng/khối lượng) đến xấp xỉ 90%

(khối lượng/khối lượng) thành phần có hoạt tính và từ 80% (khối lượng/khối lượng) đến 100% tá dược được dùng hoặc dạng kết hợp của các tá dược.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể là, ví dụ, ở dạng liều đơn vị, như ở dạng ống thuốc tiêm, lọ, viên thuốc đạn, viên bao đường, viên nén hoặc viên nang, hoặc bơm tiêm đóng sẵn thuốc.

(Các) tá dược được dùng có thể được chọn lựa theo dạng vật lý mong muốn của dạng chế phẩm và có thể, ví dụ, được chọn lựa từ chất pha loãng (ví dụ, chất pha loãng rắn như chất làm đầy hoặc chất độn; và chất pha loãng lỏng như dung môi và đồng dung môi), chất làm tan rã, chất đệm, chất làm trơn, chất trợ giúp dòng chảy, chất kiểm soát phóng thích thuốc (ví dụ, sáp hoặc polyme trì hoãn hoặc làm chậm quy trình phóng thích), chất kết dính, chất tạo hạt, sắc tố, chất dẻo hóa, chất chống oxy hóa, chất bảo quản, chất tạo hương vị, chất làm mất mùi vị khó chịu, chất điều chỉnh trương lực và chất bao.

Người có hiểu biết trung bình sẽ có trình độ chuyên môn để chọn lựa các lượng thích hợp của các thành phần để sử dụng trong các dạng chế phẩm này. Ví dụ, viên nén và viên nang thường chứa 0-20% chất làm tan rã, 0-5% chất làm trơn, 0-5% chất trợ giúp dòng chảy và/hoặc 0-99% (khối lượng/khối lượng) chất làm đầy/ hoặc chất độn (tùy thuộc vào liều lượng thuốc). Chúng còn có thể chứa 0-10% (khối lượng/khối lượng) chất kết dính polyme, 0-5% (khối lượng/khối lượng) chất chống oxy hóa, 0-5% (khối lượng/khối lượng) sắc tố. Ngoài ra, viên nén phóng thích chậm thường chứa 0-99% (khối lượng/khối lượng) polyme (tùy thuộc vào liều lượng). Chất bao màng của viên nén hoặc viên nang thường chứa 0-10% (khối lượng/khối lượng) polyme kiểm soát quy trình phóng thích (ví dụ, trì hoãn), 0-3% (khối lượng/khối lượng) sắc tố, và/hoặc 0-2% (khối lượng/khối lượng) chất dẻo hóa.

Dạng chế phẩm ngoài đường tiêu hóa thường chứa 0-20% (khối lượng/khối lượng) dung dịch đệm, 0-50% (khối lượng/khối lượng) đồng dung môi, và/hoặc 0-99% (khối lượng/khối lượng) nước pha tiêm (WFI) (tùy thuộc vào liều lượng và nếu được làm đông khô). Dạng chế phẩm dùng cho phương pháp tiêm phóng thích chậm trong cơ có thể còn chứa 0-99% (khối lượng/khối lượng) dầu.

Có thể thu được các dược phẩm để dùng qua đường miệng bằng cách kết hợp thành phần có hoạt tính với các chất mang rắn, nếu mong muốn tạo hạt hỗn hợp thu được,

và chế biến hỗn hợp này, nếu mong muốn hoặc cần thiết, sau khi bổ sung các tá dược thích hợp, vào viên nén, lõi viên bao đường hoặc viên nang. Cũng có thể đưa các thành phần này vào polyme hoặc cơ chất sáp mà cho phép các thành phần có hoạt tính khuếch tán hoặc phóng thích theo các lượng được đo.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được bào chế ở dạng chất phân tán rắn. Chất phân tán rắn là các pha phân tán thuần nhất cực kỳ mịn của hai chất rắn hoặc nhiều hơn nữa. Dung dịch rắn (hệ thống phân tán ở cấp độ phân tử), một loại chất phân tán rắn, là đã biết rõ để sử dụng trong công nghệ dược (xem Chiou và Riegelman, *J. Pharm. Sci.*, 60, 1281-1300 (1971)) và là hữu ích trong việc làm tăng tốc độ hòa tan và làm tăng độ sinh khả dụng của thuốc tan kém trong nước.

Sáng chế còn đề xuất các dạng liều lượng rắn bao gồm dung dịch rắn được mô tả ở trên. Các dạng liều lượng rắn bao gồm viên nén, viên nang và viên nén nhai, hoặc viên nén phân tán hoặc viên nén sủi bọt. Các tá dược đã biết có thể được trộn lẫn với dung dịch rắn để đem lại dạng liều lượng mong muốn. Ví dụ, viên nang có thể chứa dung dịch rắn được trộn lẫn với (a) chất làm tan rã và chất làm trơn, hoặc (b) chất làm tan rã, chất làm trơn và chất hoạt động bề mặt. Ngoài ra, viên nang có thể chứa chất độn, như lactoza hoặc xenluloza vi tinh thể. Viên nén có thể chứa dung dịch rắn được trộn lẫn với ít nhất một chất làm tan rã, chất làm trơn, chất hoạt động bề mặt, chất độn và chất chảy trượt. Viên nén nhai có thể chứa dung dịch rắn được trộn lẫn với chất độn, chất làm trơn, và nếu mong muốn, chất làm ngọt phụ thêm (như chất làm ngọt nhân tạo), và các chất tạo hương vị thích hợp. Cũng có thể tạo dung dịch rắn bằng cách phun dung dịch của thuốc và polyme thích hợp lên trên bề mặt của các chất mang trợ như các viên đường ('viên đường màu'). Các viên này có thể được làm đầy kế tiếp vào viên nang hoặc được nén thành viên nén.

Các dạng bào chế dược phẩm có thể được trình bày cho đối tượng bệnh trong "gói cho đối tượng bệnh" chứa toàn bộ tiến trình điều trị trong một gói đơn lẻ, thông thường là gói dạng vỉ. Gói cho đối tượng bệnh có ưu điểm so với các dạng kê đơn truyền thống, trong đó dược sĩ chia nhỏ lượng cung cấp dược phẩm của đối tượng bệnh từ lượng cung cấp lớn, ở đối tượng bệnh luôn luôn có sự tiếp cận với tờ hướng dẫn sử dụng được chứa trong gói cho đối tượng bệnh, bình thường là mất trong các dạng kê đơn cho đối tượng

bệnh. Việc lấy vào tờ hướng dẫn sử dụng đã cho thấy là cải thiện sự tuân thủ của đối tượng bệnh với các hướng dẫn của thầy thuốc.

Các chế phẩm để sử dụng khu trú và phân phối qua đường mũi bao gồm thuốc mỡ, kem, thuốc xịt, miếng dán, gel, giọt chất lỏng và miếng chèn (ví dụ, miếng chèn vào mắt). Các chế phẩm như vậy có thể được bào chế theo các phương pháp đã biết.

Các ví dụ về dạng chế phẩm với phương thức cho dùng ở trực tràng hoặc trong âm đạo bao gồm viên thuốc đặt âm đạo và viên thuốc đạn mà có thể, ví dụ, được tạo ra từ chất liệu sáp hoặc có thể đúc được được tạo hình chứa hợp chất có hoạt tính. Dung dịch của hợp chất có hoạt tính cũng có thể được sử dụng cho việc dùng ở trực tràng.

Chế phẩm để 64ung bằng cách xông hít có thể có dạng là chế phẩm bột có thể xông hít được hoặc thuốc xịt bột hoặc chất lỏng, và có thể được cho 64ung ở dạng tiêu chuẩn bằng cách sử dụng các thiết bị xông hít bột hoặc các thiết bị phân phối sol khí. Các thiết bị như vậy là đã biết rõ. Đối với phương thức cho 64ung bằng cách xông hít, dạng chế phẩm bột thông thường bao gồm hợp chất có hoạt tính cùng với chất pha loãng bột rắn trơ như lactoza.

Hợp chất có công thức (1) nhìn chung sẽ được trình bày ở dạng liều đơn vị và, như vậy, sẽ thường chứa đủ hợp chất để đem lại mức hoạt tính sinh học mong muốn. Ví dụ, dạng chế phẩm có thể chứa từ 1 nanogram đến 2 gam thành phần có hoạt tính, ví dụ, từ 1 nanogram đến 2 miligram thành phần có hoạt tính. Trong khoảng này, các khoảng nhỏ cụ thể của hợp chất là 0,1 miligram đến 2 gam thành phần có hoạt tính (thông thường hơn là từ 10 miligram đến 1 gam, ví dụ, 50 miligram đến 500 miligram), hoặc 1 microgam đến 20 miligram (ví dụ, 1 microgam đến 10 miligram, ví dụ 0,1 miligram đến 2 miligram thành phần có hoạt tính).

Đối với chế phẩm 64ung qua đường miệng, dạng liều đơn vị có thể chứa từ 1 miligram đến 2 gam, thông thường hơn là 10 miligram đến 1 gam, ví dụ, 50 miligram đến 1 gam, ví dụ, 100 miligram đến 1 gam, hợp chất có hoạt tính.

Hợp chất theo sáng chế sẽ được dùng cho đối tượng bệnh cần đến hợp chất này (ví dụ, đối tượng bệnh là con người hoặc đối tượng bệnh là động vật) theo lượng đủ để đạt được tác dụng trị liệu mong muốn.

Các phương pháp điều trị

Hợp chất có công thức (1) có thể là hữu ích trong việc phòng bệnh hoặc điều trị một loạt tình trạng hoặc bệnh do ERK1/2 làm trung gian. Các ví dụ về các tình trạng và bệnh như vậy được nêu trên đây.

Hợp chất này thường được đem cho đối tượng cần đến phương thức cho dùng như vậy dùng, ví dụ, đối tượng bệnh là con người hoặc đối tượng bệnh là động vật, cụ thể là con người.

Hợp chất này thường được cho dùng theo lượng mà hữu ích về mặt trị liệu hoặc phòng bệnh và nhìn chung là không độc. Tuy nhiên, trong các tình huống nhất định (ví dụ, trong trường hợp các bệnh đe dọa đến tính mạng), các lợi ích của việc cho dùng hợp chất có công thức (1) có thể lấn át các nhược điểm của các tác dụng độc hoặc các tác dụng phụ bất kỳ, trong trường hợp này, có thể xem là thích hợp khi cho dùng hợp chất theo lượng mà gắn liền với một mức độ độc tính nào đó.

Hợp chất này có thể được cho dùng trong thời gian kéo dài để duy trì các tác dụng trị liệu có lợi hoặc có thể được cho dùng chỉ trong một khoảng thời gian ngắn. Theo cách khác, nó có thể được cho dùng theo cách liên tục hoặc theo cách mà đem lại việc dùng liều gián đoạn (ví dụ, theo cách nhịp đập).

Liều dùng hằng ngày điển hình của hợp chất có công thức (1) có thể là nằm trong khoảng từ 100 picogram đến 100 miligram cho mỗi kilogram thể trọng, thông thường hơn là 5 nanogram đến 25 miligram cho mỗi kilogram của thể trọng, và thông thường hơn là 10 nanogram đến 15 miligram cho mỗi kilogram (ví dụ, 10 nanogram đến 10 miligram, và thông thường hơn là 1 microgam cho mỗi kilogram đến 20 miligram cho mỗi kilogram, ví dụ 1 microgam đến 10 miligram cho mỗi kilogram) cho mỗi kilogram thể trọng mặc dù các liều lượng cao hơn hoặc thấp hơn có thể được cho dùng khi cần thiết. Hợp chất có công thức (1) và các công thức phụ của nó có thể được cho dùng trên cơ sở là hằng ngày hoặc trên cơ sở là lặp lại, ví dụ, 2, hoặc 3, hoặc 4, hoặc 5, hoặc 6, hoặc 7, hoặc 10 hoặc 14, hoặc 21, hoặc 28 ngày một lần.

Hợp chất theo sáng chế có thể được cho dùng bằng đường miệng trong khoảng liều lượng, ví dụ, 1 đến 1500mg, 2 đến 800mg, hoặc 5 đến 500mg, ví dụ, 2 đến 200mg hoặc 10 đến 1000mg, các ví dụ cụ thể về các liều lượng bao gồm 10, 20, 50 và 80mg. Hợp chất này có thể được cho dùng một lần hoặc nhiều lần mỗi ngày để thu được tác dụng trị liệu mong muốn. Hợp chất này có thể được cho dùng một cách liên tục (tức là

được dùng mỗi ngày mà không nghỉ để duy trì chế độ điều trị). Theo cách khác, hợp chất này có thể được cho dùng theo kiểu ngắt quãng (tức là được dùng một cách liên tục trong một khoảng thời gian đã cho như một tuần, sau đó, ngưng trong một khoảng thời gian như một tuần và sau đó, được dùng một cách liên tục trong một khoảng thời gian khác như một tuần v.v. xuyên suốt thời gian chế độ điều trị). Các ví dụ về chế độ điều trị liên quan đến phương thức cho dùng ngắt quãng bao gồm các chế độ trong đó phương thức cho dùng là theo các chu kỳ là một tuần điều trị, một tuần nghỉ; hoặc hai tuần điều trị, một tuần nghỉ; hoặc ba tuần điều trị, một tuần nghỉ; hoặc hai tuần điều trị, hai tuần nghỉ; hoặc bốn tuần điều trị hai tuần nghỉ; hoặc một tuần điều trị ba tuần nghỉ - trong một hoặc nhiều chu kỳ, ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10 chu kỳ hoặc nhiều hơn nữa. Phương pháp điều trị không liên tục này cũng có thể là dựa trên số ngày hơn là nguyên một tuần. Ví dụ, phương pháp điều trị này có thể bao gồm việc dùng theo liều hằng ngày trong khoảng thời gian từ 1 đến 6 ngày, không dùng theo liều trong khoảng thời gian từ 1 đến 6 ngày mà mẫu hình này lặp lại trong suốt quy trình điều trị. Số ngày (hoặc tuần) trong đó các hợp chất theo sáng chế không được cho dùng theo liều lượng không nhất thiết phải ngang bằng số ngày (hoặc tuần) trong đó các hợp chất theo sáng chế được cho dùng theo liều lượng.

Theo một lịch biểu dùng thuốc cụ thể, đối tượng bệnh sẽ được cho dùng một đợt tiêm truyền hợp chất có công thức (1) trong các khoảng thời gian là một giờ hằng ngày trong khoảng thời gian lên đến mười ngày, cụ thể là lên đến năm ngày trong một tuần, và phương pháp điều trị này được lặp lại ở một khoảng thời gian gián cách mong muốn như hai đến bốn tuần, cụ thể là ba tuần một lần.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được cho dùng bằng phương pháp tiêm truyền liên tục hoặc liều mạnh. Hợp chất theo sáng chế có thể được cho dùng hằng ngày đến một lần mỗi tuần, hoặc hai tuần một lần, hoặc ba tuần một lần, hoặc bốn tuần một lần trong suốt chu kỳ điều trị. Nếu được cho dùng hằng ngày trong suốt chu kỳ điều trị, thì việc dùng theo liều hằng ngày này có thể là không liên tục trong số tuần này của chu kỳ điều trị: ví dụ, được cho dùng theo liều lượng trong một tuần (hoặc một số ngày), không cho dùng theo liều trong một tuần (hoặc một số ngày, mà mẫu hình này lặp lại trong suốt chu kỳ điều trị).

Theo một lịch biểu dùng thuốc, đối tượng bệnh có thể được cho dùng một đợt tiêm truyền hợp chất có công thức (1) trong các khoảng thời gian là một giờ hằng ngày trong 5 ngày và phương pháp điều trị này được lặp lại ba tuần một lần.

Theo một lịch biểu dùng thuốc cụ thể khác, đối tượng bệnh được cho dùng một đợt tiêm truyền trong 30 phút đến 1 giờ, sau đó là các đợt tiêm truyền duy trì trong thời gian có thể thay đổi được, ví dụ, 1 đến 5 giờ, ví dụ, 3 giờ.

Theo một lịch biểu dùng thuốc cụ thể khác nữa, đối tượng bệnh được cho dùng một đợt tiêm truyền liên tục trong khoảng thời gian là 12 giờ đến 5 ngày, cụ thể là sự tiêm truyền liên tục là 24 giờ đến 72 giờ.

Tuy nhiên, cuối cùng, số lượng của hợp chất được cho dùng và loại chế phẩm được sử dụng sẽ tương xứng với bản chất của bệnh hoặc tình trạng sinh lý đang được điều trị và sẽ theo sự thận trọng của thầy thuốc.

Đã khám phá ra rằng các chất ức chế ERK1/2 có thể được sử dụng làm một chất đơn lẻ hoặc ở dạng kết hợp với các chất chống ung thư khác. Ví dụ, có thể là có lợi khi kết hợp chất ức chế mà ức chế quá trình truyền tín hiệu ERK với một chất khác mà hoạt động thông qua một điểm khác biệt trong thác tải nạp tín hiệu hoặc một cơ chế khác biệt để điều hòa sự tăng trưởng tế bào, vì vậy mà điều trị hai đặc tính trong số các đặc tính đặc trưng của sự phát triển của bệnh ung thư. Các thử nghiệm kết hợp có thể được thực hiện, ví dụ, như được mô tả trong tài liệu: Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv Enzyme Regulat* 1984; 22: 27-55.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được cho dùng ở dạng chất trị liệu đơn nhất hoặc nó có thể được cho dùng ở liều pháp kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất khác (hoặc các liệu pháp) dùng cho việc điều trị tình trạng bệnh cụ thể, ví dụ, bệnh tân sinh như ung thư như được định nghĩa trên đây. Đối với việc điều trị các tình trạng trên đây, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng một cách thuận lợi ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều chất y dược khác, cụ thể hơn là, với các chất chống ung thư khác hoặc chất phụ trợ (các chất hỗ trợ trong liệu pháp) trong liệu pháp ung thư. Các ví dụ về các chất trị liệu hoặc phương pháp điều trị khác mà có thể được cho dùng cùng nhau (dù là một cách đồng thời hay ở các khoảng thời gian gián cách khác nhau) với hợp chất có công thức (1) bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở:

- Các chất ức chế topoisomeraza I
- Các chất chống chuyển hóa
- Các chất hướng đích tubulin
- Chất kết dính ADN và các chất ức chế topoisomeraza II
- Các chất alkyl hóa
- Các kháng thể đơn dòng
- Các chất kháng hormon
- Các chất ức chế quá trình tải nạp tín hiệu
- Các chất ức chế con đường ubiquitin-proteasom
- Các liệu pháp miễn dịch
- Chất điều hòa sự chết tế bào
- Các chất ức chế ADN methyl transferaza
- Xytokin và retinoit
- Các liệu pháp được hướng đích bằng chất nhuộm sắc
- Liệu pháp phóng xạ, và,
- Chất trị liệu hoặc chất phòng bệnh khác.

Các ví dụ cụ thể về chất chống ung thư hoặc chất phụ trợ (hoặc các muối của chúng), bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở một hoặc nhiều chất bất kỳ trong số các chất được chọn lựa từ các nhóm (i)-(xlviii), và tùy ý nhóm (xlix) và hoặc (l), dưới đây:

- (i) Các hợp chất platin, ví dụ, xisplatin (tùy ý được kết hợp với amifostin), carboplatin hoặc oxaliplatin;
- (ii) Các hợp chất taxan, ví dụ, paclitaxel, các hạt được liên kết protein paclitaxel (AbraxaneTM), docetaxel, cabazitaxel hoặc larotaxel;
- (iii) Các chất ức chế topoisomeraza I, ví dụ, các hợp chất camptothecin, ví dụ, camptothecin, irinotecan(CPT11), SN-38, hoặc topotecan;

- (iv) Các chất ức chế topoisomeraza II, ví dụ, các epipodophyllotoxin chống khối u hoặc các dẫn xuất podophyllotoxin, ví dụ, etopozit, hoặc tenipozit;
- (v) Các vinca alkaloit, ví dụ, vinblastin, vincristin, vincristin liposom (Onco-TCS), vinorelbin, vindesin, vinflunin hoặc vinvesir;
- (vi) Các dẫn xuất nucleosit, ví dụ, 5-flouraxil (5-FU, tùy ý ở dạng kết hợp với leucovorin), gemxitabin, capexitabin, tegafur, UFT, S1, cladribin, xytarabin (Ara-C, arabinozit xytosin), fludarabin, clofarabin, hoặc nelarabin;
- (vii) Các chất chống chuyển hóa, ví dụ, clofarabin, aminopterin, hoặc metotrexat, azaxitidin, xytarabin, floxuridin, pentostatin, thioguanin, thiopurin, 6-mercaptopurin, hoặc hydroxyure (hydroxycarbamit) hoặc trifluridin (tùy ý ở dạng kết hợp với tipiraxil);
- (viii) Các chất alkyl hóa, như mù tạt nito hoặc nitrosoure, ví dụ, xyclophosphamit, chlorambucil, carmustin (BCNU), bendamustin, thiotepa, melphalan, treosulfan, lomustin (CCNU), altretamin, busulfan, dacarbazin, estramustin, fôtemustin, ifosfamid (tùy ý, ở dạng kết hợp với mesna), pipobroman, procarbazin, streptozoxin, temozolomit, uraxil, mecloretamin, metylxyclohexylcloetyl nitrosure, hoặc nimustin (ACNU);
- (ix) Antraxyclin, các antraxendion và các thuốc có liên quan, ví dụ, daunorubixin, doxorubixin (tùy ý ở dạng kết hợp với dexrazoxan), dạng chế phẩm liposom của doxorubixin (ví dụ, Caelyx™, Myocet™, Doxil™), idarubixin, mitoxantron, epirubixin, amsacrin, hoặc valrubixin;
- (x) Các epothilon, ví dụ, ixabepilon, patupilon, BMS-310705, KOS-862 và ZK-EPO, epothilon A, epothilon B, desoxyepothilon B (còn được gọi là epothilon D hoặc KOS-862), aza-epothilon B (còn được gọi là BMS-247550), aulimalit, isolaulimalit, hoặc luetherobin;
- (xi) Các chất ức chế ADN metyl transferaza, ví dụ, temozolomit, azaxytidin, dexitabin hoặc guadexitabin (SGI-110);
- (xii) Các chất kháng folat, ví dụ, metotrexat, pemetrexed dinatri, hoặc raltitrexed;

- (xiii) Các chất kháng sinh gây độc tế bào, ví dụ, antinomycin D, bleomycin, mitomycin C, dactinomycin, carminomycin, daunomycin, levamisol, plicamycin, hoặc mithramycin;
- (xiv) Các chất kết dính tubulin, ví dụ, combrestatin, colchicin hoặc nocodazol;
- (xv) Các chất ức chế quá trình tải nạp tín hiệu như các chất ức chế Kinaza, ví dụ, các chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza (ví dụ, các chất ức chế EGFR (thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu mô), các chất ức chế VEGFR (thụ thể yếu tố tăng trưởng nội màng mạch), các chất ức chế PDGFR (thụ thể yếu tố tăng trưởng được tạo ra từ tiểu cầu), các chất ức chế Axl, MTKI (các chất ức chế kinaza đa hướng đích), các chất ức chế Raf, các chất ức chế ROCK, các chất ức chế mTOR, các chất ức chế MEK hoặc các chất ức chế PI3K), ví dụ, imatinib mesylat, erlotinib, gefitinib, dasatinib, lapatinib, dovinotinib, axitinib, nilotinib, vandetanib, vatalinib, pazopanib, sorafenib, sunitinib, temsirolimus, everolimus (RAD 001), vemurafenib (PLX4032 hoặc RG7204), dabrafenib, encorafenib, selumetinib (AZD6244), trametinib (GSK121120212), dactolisib (BEZ235), buparlisib (BKM-120; NVP-BKM-120), BYL719, copanlisib (BAY-80-6946), ZSTK-474, CUDC-907, apitolisib (GDC-0980; RG-7422), pictilisib (pictrelisib, GDC-0941, RG-7321), GDC-0032, GDC-0068, GSK-2636771, idelalisib (trước đây là CAL-101, GS 1101, GS-1101), MLN1117 (INK1117), MLN0128 (INK128), IPI-145 (INK1197), LY-3023414, ipatasertib, afuresertib, MK-2206, MK-8156, LY-3023414, LY294002, SF1126 hoặc PI-103, sonolisib (PX-866), hoặc AT13148.
- (xvi) Các chất ức chế Kinaza Aurora, ví dụ, AT9283, barasertib (AZD1152), TAK-901, MK0457 (VX680), cenisertib (R-763), danusertib (PHA-739358), alisertib (MLN-8237), hoặc MP-470;
- (xvii) Các chất ức chế CDK, ví dụ, AT7519, roscovitine, seliciclib, alvociclib (flavopiridol), dinaciclib (SCH-727965), 7-hydroxy-staurosporin (UCN-01), JNJ-7706621, BMS-387032 (còn được gọi là SNS-032), PHA533533, ZK-304709, hoặc AZD-5438 và bao gồm cả các chất ức chế CDK4 như palbociclib (PD332991) và ribociclib (LEE-011);

(xviii) Các chất ức chế PKA/B và các chất ức chế con đường PKB (akt), ví dụ, AT13148, AZD5363, Semaphore, SF1126 và các chất ức chế mTOR như các chất tương tự rapamycin, AP23841 và AP23573, các chất ức chế calmodulin (các chất ức chế chuyển đoạn miền đầu nĩa), API-2/TCN (trixiribin), RX-0201, enzastaurin HCl (LY317615), NL-71-101, SR-13668, PX-316, hoặc KRX-0401 (perifosin/ NSC 639966);

(xviii) Các chất ức chế Hsp90, ví dụ, onalespib (AT13387), herbimycin, geldanamycin (GA), 17-allylamino-17-desmethoxygeldanamycin (17-AAG), ví dụ, NSC-330507, Kos-953 và CNF-1010, 17-dimethylaminoethylamino-17-desmethoxygeldanamycin hydrochlorua (17-DMAG), ví dụ, NSC-707545 và Kos-1022, NVP-AUY922 (VER-52296), NVP-BEP800, CNF-2024 (BIIB-021, một purin dùng qua đường miệng), ganetespib (STA-9090), SNX-5422 (SC-102112), hoặc IPI-504 hoặc TAS-116;

(xix) Các kháng thể đơn dòng (không được tiếp hợp hoặc được tiếp hợp vào chất đồng vị phóng xạ, độc tố hoặc các chất khác), các dẫn xuất kháng thể và các chất có liên quan, như các kháng thể kháng CD, kháng VEGFR, kháng HER2 hoặc kháng thể kháng EGFR, ví dụ, rituximab (CD20), ofatumumab (CD20), ibritumomab tiuxetan (CD20), GA101 (CD20), tositumomab (CD20), epratuzumab (CD22), lintuzumab (CD33), gemtuzumab ozogamixin (CD33), alemtuzumab (CD52), galiximab (CD80), trastuzumab (kháng thể HER2), pertuzumab (HER2), trastuzumab-DM1 (HER2), ertumaxomab (HER2 và CD3), cetuximab (EGFR), panitumumab (EGFR), necitumumab (EGFR), nimotuzumab (EGFR), bevacizumab (VEGF), catumaxumab (EpCAM và CD3), abagovomab (CA125), farletuzumab (thụ thể folat), elotuzumab (CS1), denosumab (phối tử RANK), figitumumab (IGF1R), CP751,871 (IGF1R), mapatumumab (thụ thể TRAIL), metMAB (met), mitumomab (ganglioside GD3), naptumomab estafenatox (5T4), hoặc siltuximab (IL6) hoặc các chất điều biến miễn dịch như các kháng thể phong bế CTLA-4 và/hoặc các kháng thể chống lại PD-1 và PD-L1 và/hoặc PD-L2, ví dụ, ipilimumab (CTLA4), MK-3475 (pembrolizumab, trước đây là lambrolizumab, kháng thể kháng PD-1), nivolumab (kháng thể kháng PD-1), BMS-936559 (kháng thể kháng PD-

L1), MPDL320A, AMP-514 hoặc MEDI4736 (kháng thể kháng PD-L1), hoặc tremelimumab (trước đây là ticilimumab, CP-675,206, kháng thể kháng CTLA-4);

- (xx) Các chất đối kháng thụ thể estrogen hoặc các chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (SERM) hoặc các chất ức chế quá trình tổng hợp estrogen, ví dụ, tamoxifen, fulvestrant, toremifen, droloxifen, faslodex, hoặc raloxifen;
- (xxi) Các chất ức chế aromataza và các thuốc có liên quan, như exemestan, anastrozol, letrazol, testolacton aminoglutethimit, mitotan hoặc vorozol;
- (xxii) Các chất kháng androgen (tức là các chất đối kháng thụ thể androgen) và các chất có liên quan, ví dụ, bicalutamit, nilutamit, flutamit, cyproteron, hoặc ketoconazol;
- (xxiii) Các hormon và các chất tương tự của chúng như medroxyprogesteron, diethylstilbestrol (còn được gọi là diethylstilboestrol) hoặc octreotit;
- (xxiv) Các steroid, ví dụ, dromostanolon propionat, megestrol axetat, nandrolon (decanoat, phenpropionat), fluoxymestron hoặc gossypol,
- (xxv) Chất ức chế xytochrom steroid P450 17alpha-hydroxylaza-17,20-lyaza (CYP17), ví dụ, abirateron;
- (xxvi) Các chất đối kháng hoặc các chất chủ vận hormon phóng thích kích thích tố sinh dục (GnRA), ví dụ, abarelix, goserelin axetat, histrelin axetat, leuprolit axetat, triptorelin, buserelin, hoặc deslorelin;
- (xxvii) Các glucocorticoit, ví dụ, prednison, prednisolon, dexametason;
- (xxviii) Các chất biệt hóa, như retinoit, rexinoit, vitamin D hoặc axit retinoic và các chất phong bế quá trình chuyển hóa axit retinoic (RAMBA), ví dụ, accutan, alitretinoin, bexarotene, hoặc tretinoin;
- (xxix) Các chất ức chế farnesyltransferaza, ví dụ, tipifarnib;
- (xxx) Các liệu pháp được hướng đích bằng chất nhuộm sắc như các chất ức chế histon deaxetylaza (HDAC), ví dụ, natri butyrat, axit suberoylanilit hydroxamit (SAHA), depsipeptit (FR 901228), dacinostat (NVP-LAQ824), R306465/ JNJ-

- 16241199, JNJ-26481585, trichostatin A, vorinostat, chlamydocin, A-173, JNJ-MGCD-0103, PXD-101, hoặc apicidin;
- (xxxi) Các thuốc hướng đích con đường ubiquitin-proteasome bao gồm cả các chất ức chế proteasome, ví dụ, bortezomib, carfilzomib, CEP-18770, MLN-9708, hoặc ONX-0912; các chất ức chế NEDD8; chất đối kháng HDM2 và deubiquitinaza (DUB);
- (xxxii) Các thuốc quang động, ví dụ, porfimer natri hoặc temoporfin;
- (xxxiii) Các chất chống ung thư được tạo ra từ sinh vật biển như trabectedin;
- (xxxiv) Các thuốc được đánh dấu phóng xạ dùng cho liệu pháp miễn dịch phóng xạ, ví dụ, bằng chất đồng vị phát hạt beta (ví dụ, Iot -131, Ytri-90) hoặc chất đồng vị phát hạt alpha (ví dụ, Bismut-213 hoặc Actini-225), ví dụ, ibritumomab, Iot tositumomab hoặc radi alpha;
- (xxxv) Các chất ức chế telomeraza, ví dụ, telomestatin;
- (xxxvi) Các chất ức chế proteinaza kim loại cơ chất, ví dụ, batimastat, marimastat, prinostat hoặc metastat;
- (xxxvii) Các interferon tái tổ hợp (như interferon- γ và interferon α) và các interleukin (ví dụ, interleukin 2), ví dụ, aldesleukin, denileukin diftitox, interferon alfa 2a, interferon alfa 2b, hoặc peginterferon alfa 2b;
- (xxxviii) Các chất điều biến đáp ứng miễn dịch chọn lọc, ví dụ, talidomit, hoặc lenalidomit;
- (xxxix) Các vaccin trị liệu như sipuleucel-T (Provenge) hoặc OncoVex;
- (xl) Các chất hoạt hóa xytokin bao gồm Picibanil, Romurtit, Sizofiran, Virulizin, hoặc Thymosin;
- (xli) Arsen trioxit;
- (xlii) Các chất ức chế của các thụ thể được liên hợp với protein G (GPCR), ví dụ, atrasentan ;
- (xliii) Các enzym như L-asparaginaza, pegaspargaza, rasburicaza, hoặc pegademaza;

- (xlv) Các chất ức chế sửa chữa ADN như các chất ức chế PARP, ví dụ, olaparib, velaparib, iniparib, INO-1001, AG-014699, hoặc ONO-2231;
- (xlv) Các chất chủ vận của thụ thể chết (ví dụ, thụ thể phối tử kích thích hiện tượng tự hủy tế bào liên quan đến TNF (TRAIL)), như mapatumumab (trước đây là HGS-ETR1), conatumumab (trước đây là AMG 655), PRO95780, lexatumumab, dulanermin, CS-1008, apomab hoặc các phối tử TRAIL tái tổ hợp như Phối tử TRAIL/Apo2 tái tổ hợp của Người;
- (xlvi) Các liệu pháp miễn dịch như các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch; các vắc xin ung thư và liệu pháp tế bào CAR-T;
- (xlvii) Chất điều hòa sự chết tế bào (hiện tượng tự hủy tế bào) bao gồm cả các chất đối kháng Bcl-2 (u bạch huyết tế bào B 2) như venetoclax (ABT-199 hoặc GDC-0199), ABT-737, ABT-263, TW-37, sabutoclax, obatoclax, và MIM1 và các chất đối kháng IAP bao gồm cả LCL-161 (Novartis), Debio-1143 (Debiopharma / Ascenta), AZD5582, Birinapant / TL-32711 (TetraLogic), CUDC-427 / GDC-0917 / RG-7459 (Genentech), JP1201 (Joyant), T-3256336 (Takeda), GDC-0152 (Genentech), HGS-1029 / AEG-40826 (HGS/ Aegera) hoặc ASTX-660;
- (xlviii) Các chất phòng bệnh (bổ trợ); tức là các chất mà làm giảm hoặc giảm nhẹ một số tác dụng phụ trong số các tác dụng phụ gắn liền với các chất liệu pháp hóa học, ví dụ,
- các chất chống nôn,
 - các chất mà phòng ngừa hoặc làm giảm thời gian giảm bạch cầu trung tính gắn liền với liệu pháp hóa học và phòng ngừa các biến chứng mà phát sinh từ các mức tiểu cầu, hồng cầu hoặc bạch cầu giảm, ví dụ, interleukin-11 (ví dụ, oprelvekin), erythropoietin (EPO) và các chất tương tự của chúng (ví dụ, darbepoetin alfa), các chất đồng đẳng yếu tố kích thích khuẩn
 - lạc như yếu tố kích thích khuẩn lạc - đại thực bào bạch cầu hạt (GM-CSF) (ví dụ, sargramostim), và yếu tố kích thích khuẩn lạc-bạch cầu hạt (G-CSF) và các chất tương tự của chúng (ví dụ, filgrastim, pegfilgrastim),

- các chất mà ức chế hiện tượng tiêu xương như denosumab hoặc bisphosphonat, ví dụ, zoledronat, axit zoledronic, pamidronat và ibandronat,
- các chất mà ức chế các đáp ứng viêm như dexametason, prednison, và prednisolon,
- các chất được sử dụng để làm giảm các mức hormon tăng trưởng và IGF-I trong máu (và các hormon khác) ở các đối tượng bệnh có bệnh to đầu chi hoặc các khối u tạo ra hormon hiểm khác, như các dạng tổng hợp của hormon somatostatin, ví dụ, octreotit axetat,
- chất giải độc cho các thuốc mà làm giảm mức axit folic như leucovorin, hoặc axit folinic,
- các chất dùng cho chứng đau, ví dụ, các chất có thuốc phiện như morphin, diamorphin và fentanyl,
- các thuốc chống viêm không steroid (NSAID) như các chất ức chế COX-2, ví dụ, celecoxib, etoricoxib và lumiracoxib,
- các chất dùng cho chứng viêm niêm mạc, ví dụ, palifermin,
- các chất dùng cho việc điều trị các tác dụng phụ bao gồm chứng chán ăn, chứng suy mòn, chứng phù hoặc các giai đoạn thuyên tắc mạch huyết khối, như megestrol axetat; và

(l) liệu pháp phóng xạ vì các mục đích tiết căn, xoa dịu hoặc phòng bệnh (hoặc, vì các mục đích phụ trợ hoặc phụ trợ trước).

Mỗi hợp chất trong số các hợp chất có mặt trong các dạng kết hợp theo sáng chế có thể được cho dùng theo các lịch biểu liều lượng khác nhau riêng biệt và thông qua các đường dùng khác nhau. Như vậy, liều lượng học của mỗi chất trong số hai chất hoặc nhiều hơn nữa có thể khác biệt: mỗi chất có thể được cho dùng vào cùng một thời điểm hoặc ở các thời điểm khác nhau. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết thông qua kiến thức tổng quát thông thường của mình các chế độ dùng thuốc theo liều và các liệu pháp kết hợp để sử dụng. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều chất khác mà được cho dùng theo chế độ kết

hợp hiện có của chúng. Các ví dụ về các chế độ kết hợp tiêu chuẩn được đề xuất dưới đây.

Hợp chất taxan được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 50 đến 400mg cho mỗi mét vuông (mg/m^2) của diện tích bề mặt cơ thể, ví dụ, 75 đến 250 mg/m^2 , cụ thể là, đối với paclitaxel theo liều lượng là khoảng chừng 175 đến 250 mg/m^2 và đối với docetaxel trong khoảng chừng 75 đến 150 mg/m^2 cho mỗi tiến trình điều trị.

Hợp chất camptothecin được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 0,1 đến 400mg cho mỗi mét vuông (mg/m^2) của diện tích bề mặt cơ thể, ví dụ, 1 đến 300 mg/m^2 , cụ thể là đối với irinotecan theo liều lượng là khoảng chừng 100 đến 350 mg/m^2 và đối với topotecan trong khoảng chừng 1 đến 2 mg/m^2 cho mỗi tiến trình điều trị.

Dẫn xuất podophyllotoxin chống khối u được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 30 đến 300mg cho mỗi mét vuông (mg/m^2) của diện tích bề mặt cơ thể, ví dụ, 50 đến 250 mg/m^2 , cụ thể là đối với etopozit theo liều lượng là khoảng chừng 35 đến 100 mg/m^2 và đối với tenipozit trong khoảng chừng 50 đến 250 mg/m^2 cho mỗi tiến trình điều trị.

Vinca alkaloit chống khối u được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 2 đến 30mg cho mỗi mét vuông (mg/m^2) của diện tích bề mặt cơ thể, cụ thể là đối với vinblastin theo liều lượng là khoảng chừng 3 đến 12 mg/m^2 , đối với vincristin theo liều lượng là khoảng chừng 1 đến 2 mg/m^2 , và đối với vinorelbin theo liều lượng là khoảng chừng 10 đến 30 mg/m^2 cho mỗi tiến trình điều trị.

Dẫn xuất nucleosit chống khối u được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 200 đến 2500mg cho mỗi mét vuông (mg/m^2) của diện tích bề mặt cơ thể, ví dụ, 700 đến 1500 mg/m^2 , cụ thể là đối với 5-FU theo liều lượng là 200 đến 500 mg/m^2 , đối với gemxitabin theo liều lượng là khoảng chừng 800 đến 1200 mg/m^2 và đối với capexitabin trong khoảng chừng 1000 đến 2500 mg/m^2 cho mỗi tiến trình điều trị.

Các chất alkyl hóa như mù tạt nitơ hoặc nitrosoure được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 100 đến 500mg cho mỗi mét vuông (mg/m^2) của diện tích bề mặt cơ thể, ví dụ, 120 đến 200 mg/m^2 , cụ thể là đối với xyclophosphamit theo liều lượng là khoảng chừng 100 đến 500 mg/m^2 , đối với chlorambucil theo liều lượng là khoảng chừng

0,1 đến 0,2mg/kg, đối với carmustin theo liều lượng là khoảng chừng 150 đến 200mg/m², và đối với lomustin theo liều lượng là khoảng chừng 100 đến 150mg/m² cho mỗi tiến trình điều trị.

Dẫn xuất antraxyclin chống khối u được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 10 đến 75mg cho mỗi mét vuông (mg/m²) của diện tích bề mặt cơ thể, ví dụ, 15 đến 60mg/m², cụ thể là đối với doxorubixin theo liều lượng là khoảng chừng 40 đến 75mg/m², đối với daunorubixin theo liều lượng là khoảng chừng 25 đến 45mg/m², và đối với idarubixin theo liều lượng là khoảng chừng 10 đến 15mg/m² cho mỗi tiến trình điều trị.

Chất kháng estrogen được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là khoảng chừng 1 đến 100mg hằng ngày tùy thuộc vào chất cụ thể và tình trạng đang được điều trị. Tamoxifen được cho dùng một cách thuận lợi bằng đường miệng theo liều lượng là 5 đến 50mg, cụ thể là 10 đến 20mg hai lần mỗi ngày, tiếp tục liệu pháp này trong thời gian đủ để đạt được và duy trì tác dụng trị liệu. Toremifen được cho dùng một cách thuận lợi bằng đường miệng theo liều lượng là khoảng chừng 60mg một lần mỗi ngày, tiếp tục liệu pháp này trong thời gian đủ để đạt được và duy trì tác dụng trị liệu. Anastrozol được cho dùng một cách thuận lợi bằng đường miệng theo liều lượng là khoảng chừng 1mg một lần mỗi ngày. Droloxifen được cho dùng một cách thuận lợi bằng đường miệng theo liều lượng là khoảng chừng 20-100mg một lần mỗi ngày. Raloxifen được cho dùng một cách thuận lợi bằng đường miệng theo liều lượng là khoảng chừng 60mg một lần mỗi ngày. Exemestan được cho dùng một cách thuận lợi bằng đường miệng theo liều lượng là khoảng chừng 25mg một lần mỗi ngày.

Các kháng thể được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là khoảng chừng 1 đến 5mg cho mỗi mét vuông (mg/m²) của diện tích bề mặt cơ thể, hoặc như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, nếu khác biệt. Trastuzumab được cho dùng một cách thuận lợi theo liều lượng là 1 đến 5mg cho mỗi mét vuông (mg/m²) của diện tích bề mặt cơ thể, cụ thể là 2 đến 4mg/m² cho mỗi tiến trình điều trị.

Trường hợp hợp chất có công thức (1) được cho dùng ở liệu pháp kết hợp với một, hai, ba, bốn hoặc nhiều chất trị liệu khác hơn nữa (cụ thể là một hoặc hai, cụ thể hơn là một), thì các hợp chất này có thể được cho dùng một cách đồng thời hoặc một cách liên tiếp. Trong trường hợp sau, hai hoặc nhiều hợp chất hơn nữa sẽ được cho dùng trong

khoảng thời gian và theo lượng và phương thức mà đủ để đảm bảo đạt được một tác dụng có lợi hoặc tác dụng hiệp trợ. Khi được cho dùng một cách liên tiếp, thì chúng có thể được cho dùng ở các khoảng thời gian gián cách cách nhau gần (ví dụ, trong khoảng thời gian là 5-10 phút) hoặc ở các khoảng thời gian gián cách dài hơn (ví dụ, cách nhau 1, 2, 3, 4 giờ hoặc nhiều hơn nữa, hoặc thậm chí là các khoảng thời gian cách nhau dài hơn khi cần thiết), chế độ liều lượng chính xác tương xứng với các thuộc tính của (các) chất trị liệu. Các liều lượng này có thể được cho dùng, ví dụ, một lần, hai lần hoặc nhiều hơn nữa cho mỗi tiến trình điều trị, mà có thể được lặp lại, ví dụ, 7, 14, 21 hoặc 28 ngày một lần.

Cần phải hiểu rằng phương pháp cụ thể và thứ tự sử dụng và các lượng theo liều lượng tương ứng và các chế độ dùng cho mỗi hợp phần của dạng kết hợp sẽ phụ thuộc vào chất y dược cụ thể khác và hợp chất theo sáng chế đang được sử dụng, đường dùng của chúng, khối u cụ thể đang được điều trị và vật chủ cụ thể đang được điều trị. Phương pháp tối ưu và thứ tự sử dụng và các lượng theo liều lượng và chế độ có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này xác định một cách dễ dàng bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường và xem xét đến thông tin được nêu trong bản mô tả này.

Tỷ lệ khối lượng của hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều (các) chất chống ung thư khác khi được cho dùng ở dạng kết hợp có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này xác định. Tỷ lệ và liều lượng chính xác và tần suất sử dụng sẽ phụ thuộc vào hợp chất cụ thể theo sáng chế và (các) chất chống ung thư khác được sử dụng, tình trạng cụ thể đang được điều trị, mức độ trầm trọng của tình trạng đang được điều trị, độ tuổi, trọng lượng, giới tính, chế độ ăn, thời gian cho dùng và tình trạng cơ thể tổng quát của đối tượng bệnh cụ thể, phương thức cho dùng cũng như phương thuốc khác mà cá thể có thể đang dùng, như đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, rõ ràng rằng lượng hữu hiệu hằng ngày có thể được hạ thấp hoặc được làm tăng tùy thuộc vào đáp ứng của đối tượng được điều trị và/hoặc tùy thuộc vào sự đánh giá của thầy thuốc kê đơn hợp chất theo sáng chế. Một tỷ lệ khối lượng cụ thể của hợp chất có công thức (1) này và một chất chống ung thư khác có thể nằm trong khoảng từ 1/10 đến 10/1, cụ thể hơn là từ 1/5 đến 5/1, thậm chí cụ thể hơn là từ 1/3 đến 3/1.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được cho dùng chung với các phương pháp điều trị không hóa trị liệu như liệu pháp phóng xạ, liệu pháp quang động, liệu pháp gen; phẫu thuật và chế độ ăn có kiểm soát.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể có các ứng dụng trị liệu trong việc làm cho các tế bào khối u nhạy cảm đối với liệu pháp phóng xạ và liệu pháp hóa học. Do đó, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng làm "chất nhạy cảm phóng xạ" và/hoặc "chất nhạy cảm với hóa trị liệu" hoặc có thể được cho dùng ở dạng kết hợp với một "chất nhạy cảm phóng xạ" và/hoặc "chất nhạy cảm với hóa trị liệu" khác. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế là để sử dụng làm chất nhạy cảm với hóa trị liệu.

Thuật ngữ "chất nhạy cảm phóng xạ" được định nghĩa là phân tử được đem cho các đối tượng bệnh dùng theo các lượng hữu hiệu về mặt trị liệu để làm tăng tính nhạy cảm của các tế bào đối với bức xạ ion hóa và/hoặc để thúc đẩy quá trình điều trị các bệnh mà có thể điều trị được bằng bức xạ ion hóa.

Thuật ngữ "chất nhạy cảm với hóa trị liệu" được định nghĩa là phân tử được đem cho các đối tượng bệnh dùng theo các lượng hữu hiệu về mặt trị liệu để làm tăng tính nhạy cảm của các tế bào đối với liệu pháp hóa học và/hoặc thúc đẩy quá trình điều trị các bệnh mà có thể điều trị được bằng hóa trị liệu.

Nhiều quy trình điều trị bệnh ung thư hiện tại sử dụng các chất nhạy cảm phóng xạ chung với bức xạ của tia x. Các ví dụ về chất nhạy cảm phóng xạ được hoạt hóa bằng tia x bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất sau: metronidazol, misonidazol, desmetylmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomycin C, RSU 1069, SR 4233, EO9, RB 6145, nicotinamit, 5-bromodeoxyuridin (BUdR), 5-iododeoxyuridin (IUdR), bromodeoxytydin, flodeoxyuridin (FudR), hydroxyure, xisplatin, và các chất đồng đẳng hữu hiệu về mặt trị liệu và các dẫn xuất của chất này.

Liệu pháp quang động (PDT) về các loại bệnh ung thư sử dụng ánh sáng nhìn thấy làm chất hoạt hóa bức xạ của chất làm nhạy cảm. Các ví dụ về chất nhạy cảm phóng xạ quang động bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các chất sau: các dẫn xuất haematoporphyrin, Photofrin, các dẫn xuất benzoporphyrin, thiocetioporphyrin, pheoborbide-a, bacterioclophyll-a, naphthaloxyanin, phtaloxyanin, kẽm phtaloxyanin, và các chất đồng đẳng hữu hiệu về mặt trị liệu và các dẫn xuất của chất này.

Các chất nhạy cảm phóng xạ có thể được cho dùng chung với một lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của một hoặc nhiều hợp chất khác, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các hợp chất mà thúc đẩy quá trình sáp nhập các chất nhạy cảm phóng xạ vào các tế bào đích; các hợp chất mà kiểm soát dòng chảy của chất trị liệu, dưỡng chất, và/hoặc oxy đến các tế bào đích; các chất hóa trị liệu mà tác động lên khối u bằng hoặc không bằng bức xạ phụ thêm; hoặc các hợp chất hữu hiệu về mặt trị liệu khác dùng để điều trị bệnh ung thư hoặc các bệnh khác.

Các chất nhạy cảm với hóa trị liệu có thể được cho dùng chung với một lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của một hoặc nhiều hợp chất khác, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: các hợp chất mà thúc đẩy quá trình đưa các chất nhạy cảm với hóa trị liệu vào các tế bào đích; các hợp chất mà kiểm soát dòng chảy của chất trị liệu, dưỡng chất, và/hoặc oxy đến các tế bào đích; các chất hóa trị liệu mà tác động lên khối u hoặc các hợp chất hữu hiệu về mặt trị liệu khác dùng để điều trị bệnh ung thư hoặc bệnh khác. Các chất đối kháng canxi, ví dụ, verapamil, được phát hiện thấy là hữu ích ở dạng kết hợp với các chất chống tân sinh để thiết lập tính nhạy cảm với hóa trị ở các tế bào khối u kháng lại các chất hóa trị liệu được chấp nhận và để tăng cường độ hiệu nghiệm của các hợp chất như vậy ở các bệnh ác tính nhạy cảm với thuốc.

Để sử dụng trong liệu pháp kết hợp với một chất hóa trị liệu khác, hợp chất có công thức (1) và một, hai, ba, bốn hoặc nhiều chất trị liệu khác hơn nữa có thể, ví dụ, được bào chế cùng nhau trong dạng liều lượng chứa hai, ba, bốn hoặc nhiều chất trị liệu hơn nữa, tức là trong một dược phẩm đơn nhất chứa tất cả các hợp phần. Theo một chọn lựa thay thế khác, các chất trị liệu riêng biệt có thể được bào chế một cách tách biệt và được trình bày cùng nhau dưới dạng kit, tùy ý có các hướng dẫn về cách sử dụng chúng.

Sẽ được nhìn nhận từ phần trên đây rằng, theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất dạng kết hợp của hợp chất có công thức (1) và một chất trị liệu khác, ví dụ, một chất trị liệu khác như được định nghĩa trên đây.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (1) cùng với chất mang dược dụng và một hoặc nhiều (các) chất trị liệu như được định nghĩa trên đây.

Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất:

- Dạng kết hợp như được định nghĩa trong bản mô tả này để sử dụng trong việc điều trị (để sử dụng trong việc giảm nhẹ hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh hoặc tình trạng như được mô tả trong bản mô tả này, cụ thể là, bệnh ung thư.
- Sử dụng dạng kết hợp như được định nghĩa trong bản mô tả này để sản xuất được phẩm để điều trị (để sử dụng trong việc giảm nhẹ hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh hoặc tình trạng như được mô tả trong bản mô tả này, cụ thể là, bệnh ung thư.
- Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị (để sử dụng trong việc giảm nhẹ hoặc làm giảm tỷ lệ mắc phải) bệnh hoặc tình trạng như được mô tả trong bản mô tả này, cụ thể là bệnh ung thư, ở đối tượng (ví dụ, đối tượng là động vật có vú, như người, cần điều trị), phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng này dùng lượng hữu hiệu về mặt trị liệu của dạng kết hợp như được định nghĩa trong bản mô tả này.
- Dạng kết hợp như được định nghĩa trong bản mô tả này để sử dụng trong việc ức chế sự tăng trưởng của các tế bào khối u (ví dụ, ở đối tượng bệnh).
- Sử dụng dạng kết hợp như được định nghĩa trong bản mô tả này để sản xuất được phẩm để ức chế sự tăng trưởng của các tế bào khối u ở đối tượng bệnh.
- Phương pháp ức chế sự phát triển các tế bào khối u (ví dụ ở đối tượng bệnh), phương pháp này bao gồm việc cho các tế bào khối u tiếp xúc với hợp chất có công thức (1) hoặc liệu pháp kết hợp như được định nghĩa trong bản mô tả này.

Trong mỗi phương án trong số các phương án nêu trên, hợp chất có công thức (1) và một hoặc nhiều chất trị liệu, ít nhất một trong số các tác nhân này là chất chống ung thư, có thể được cấp đồng thời, riêng rẽ hoặc lần lượt trong khi điều trị cho các đối tượng bệnh bị ung thư.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp phòng và trị bệnh (hoặc làm thuyên giảm hoặc giảm bớt tỷ lệ mắc) ung thư, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng bệnh dùng liệu pháp kết hợp với xạ trị và hóa trị liệu hợp chất có công thức (1).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (1) để sử dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị (hoặc làm thuyên giảm hoặc giảm bớt tỷ lệ mắc) ung thư kết hợp với xạ trị và hóa trị liệu.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế bây giờ sẽ được minh họa, nhưng không được giới hạn, ở việc đề cập đến các phương án cụ thể được mô tả trong các ví dụ dưới đây. Các hợp chất được đặt tên bằng cách sử dụng gói phần mềm đặt tên tự động như AutoNom (MDL) hoặc ChemAxon Structure to Name hoặc được nhà cung cấp hóa chất đặt tên. Trong phần các ví dụ thực hiện sáng chế, các ký tự viết tắt dưới đây được sử dụng.

Bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự và/hoặc giống với các quy trình chung dưới đây, các hợp chất được nêu dưới đây được điều chế.

Các quy trình tổng hợp dưới đây được đưa ra để minh họa các phương pháp được sử dụng; đối với chế phẩm và bước đã biết, tiền chất được sử dụng có thể không cần thiết được dẫn xuất từ giai đoạn riêng lẻ được tổng hợp theo bước trong bản mô tả này.

Trong trường hợp hợp chất được mô tả là hỗn hợp gồm hai chất đồng phân không đối quang/epime, cấu hình của tâm đối xứng không xác định và được biểu diễn bằng các đường thẳng.

Như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các hợp chất được tổng hợp bằng cách sử dụng các quy trình chuẩn như được chỉ ra có thể tồn tại dưới dạng solvat ví dụ hydrat, và/hoặc chứa dung môi còn lại hoặc các lượng nhỏ tạp chất. Các hợp chất được tách dưới dạng muối, có thể có hệ số tỷ lệ là số nguyên tức là muối đơn hoặc muối kép, hoặc hệ số tỷ lệ trung gian.

Một số hợp chất dưới đây được tách dưới dạng muối, ví dụ phụ thuộc vào axit được sử dụng trong phương pháp tinh chế. Một số hợp chất được tách dưới dạng bazơ tự do.

Các từ viết tắt

ca. Xấp xỉ

conc. Đậm đặc

Corr.	Được hiệu chỉnh
DCM	Diclometan
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyletylamin
1,4-DMB	1,4-Dimetoxybenzen
DMF	<i>N,N</i> -Dimetylformamit
<i>d</i> ₆ -DMSO	Dimethylsulfoxit được đơteri hóa
eq.	Đương lượng
EtOAc	Etyl axetat
FaSSGF	Trạng thái nhịn ăn mô phỏng dịch dạ dày
FaSSIF	Trạng thái nhịn ăn mô phỏng dịch ruột
g	gam
GF/F	Loại màng lọc vi sợi thủy tinh
h	Giờ
¹ H	Proton
	1-[Bis(dimetylamino)metylen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxit
HATU	hexaflophosphat
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
Kg	Kilogam
L	Lit
LC-MS	Sắc ký lỏng-khối phổ

M	Mol
MeCN	Axetonitril
MeOH	Metanol
2-MeTHF	2-Metyltetrahydrofuran
mg	milligam
Mins	Phút
mL	millilit
mol	Mol
MW	Khối lượng phân tử
NMP	1-Metyl-2-pyrrolidinon
NMR	Cộng hưởng từ hạt nhân
TFA	Axit trifloaxetic
th	Lý thuyết
TLC	Sắc ký lớp mỏng
TPGS	D- α -Tocopherol polyetylen glycol 1000 sucxinat
Uncorr.	Không được hiệu chỉnh
UV	Tử ngoại
vol	Thể tích
w/v	Trọng lượng/thể tích
w/w	Trọng lượng/trọng lượng

wrt

Đối với

wt

Trọng lượng

BINAP, 2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtalen; CDI, 1,1'-carbonyldiimidazol; DCE, 1,2-dicloetan; DCM, Diclometan; DIPEA, diisopropyletylamin; DMSO, dimetylsulfoxit; DMF, N,N-dimetylformamit; DMAP, - (dimetylamino)pyridin; EtOAc, etyl axetat; h, giờ; HATU, *N,N,N',N'*-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat; HBTU, 3-[Bis(dimetylamino)metyliumyl]-3H-benzotriazol-1-oxit hexaflophosphat; HCl, axit clohydric; HPLC, Sắc ký lỏng hiệu năng cao; LC-MS, Sắc ký lỏng đo khối phổ; LiHMDS, lithi bis(trimetylsilyl)amit; mins., Phút; MeCN, axetonitril; MS, Khối phổ; NBS, N-bromosucinimit; NMR, Phổ cộng hưởng từ hạt nhân; PdCl₂(dppf)₂, (1,1'-Bis(diphenylphosphino)-feroxen)paladi(II) diclorua; Pd₂(dba)₃, tris(dibenzylidin axeton)paladi (0); Petrol, phân đoạn ete dầu hỏa có điểm sôi nằm trong khoảng từ 40 – 60°C; PyBOP, benzotriazol-1-yloxy)tris(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat; RT, nhiệt độ trong phòng; Sat., bão hòa; SCX, nhựa trao đổi cation pha rắn; SPhos, 2-Dixyclohexylphosphino-2',6'-dimetoxybiphenyl; S-Phos Pd G3, (2-Dixyclohexylphosphino-2',6'-dimetoxybiphenyl) [2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) metansulfonat; TBDMSCl, tert-butyldimetylsilyl clorua; TBTU, *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni tetraflororat; TFA, axit trifloaxetic; THF, Tetrahydrofuran; XPhos, 2-Dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl; XantPhos, 4,5-Bis(diphenylphosphino)-9,9-dimetylxanten.

Khi khối lượng được đưa ra ở các đương lượng trọng lượng (wt) và các đương lượng thể tích (vol), 1 vol bằng 1mL trên gam vật liệu ban đầu (mà được xác định là có giá trị đương lượng trọng lượng là 1 wt). Ví dụ, khi sử dụng 50mg (0,05g) vật liệu ban đầu (được xác định là có đương lượng trọng lượng là 1 wt), một lượng 20 vol là bằng với 1mL (0,05 x 20 = 1).

Các phương pháp tổng hợp

Tất cả các vật liệu ban đầu và dung môi thu được hoặc từ các nguồn thương mại hoặc được điều chế theo tài liệu tham chiếu. Trừ khi ngữ cảnh chỉ ra theo cách khác, tất cả các phản ứng đều được khuấy. Các dung dịch hữu cơ thường được làm khô trên magie sulfat khan. Các phản ứng hydro hóa được thực hiện trên bình hydro hóa Parr, bình phản

ứng dòng Thales H-cube trong các điều kiện được nêu hoặc trong bình cầu khí hydro. Các phản ứng có sử dụng vi sóng được thực hiện trong thiết bị phản ứng vi sóng CEM Discover và Smithcreator, gia nhiệt đến nhiệt độ không đổi bằng cách sử dụng phương pháp chiếu vi sóng nguồn thay đổi. Sắc ký cột pha thường thường được tiến hành trên hệ thống sắc ký nhanh được tự động hóa như hệ thống CombiFlash Companion hoặc CombiFlash RF sử dụng hộp cartridge silica nhồi sẵn (230-400 mesh, 40-63 μ m). SCX được mua từ hãng Supelco và xử lý với axit clohydric 1M trước khi sử dụng. Trừ khi ngữ cảnh chỉ ra theo cách khác, hỗn hợp phản ứng được tinh chế trước tiên được pha loãng bằng MeOH và axit hóa bằng một vài giọt AcOH. Nạp trực tiếp dung dịch này vào SCX và rửa bằng MeOH. Sau đó rửa giải vật liệu mong muốn bằng cách rửa bằng NH₃ 1% trong MeOH.

Trong trường hợp hợp chất được mô tả là hỗn hợp gồm hai chất đồng phân không đối quang/epime, cấu hình của tâm đối xứng không xác định và được biểu diễn bằng các đường thẳng.

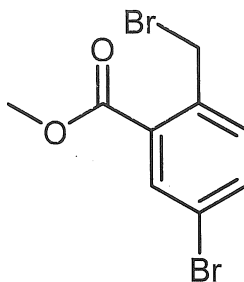
Dữ liệu NMR

Phổ ¹H NMR thu được trên phổ kế Bruker Avance III ở 400 MHz. Hoặc các đỉnh trung tâm của clorofom-*d*, dimetylsulfoxit-*d*₆ hoặc phương pháp chuẩn nội tetrametylsilan được sử dụng làm quy chuẩn. Về dữ liệu NMR, trong đó số lượng proton đã chuyển nhỏ hơn số lượng proton lý thuyết trong phân tử, giả định rằng (các) tín hiệu bị mất bị che bởi các đỉnh dung môi và/hoặc nước. Ngoài ra, trong đó phổ thu được trong các dung môi NMR proton, sự trao đổi proton của NH và/hoặc OH với dung môi xảy ra và do đó thường không quan sát thấy các tín hiệu này.

Ví dụ 1

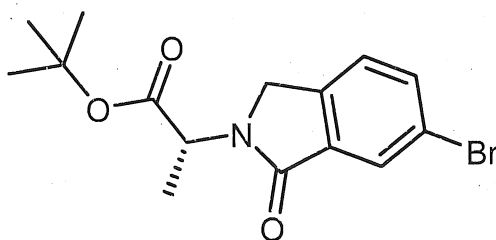
Tổng hợp (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flu-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit vô định hình

Bước 1: metyl 5-brom-2-(brommetyl)benzoat



Trong bình năm cổ dung tích 10L được trang bị bộ ngưng tụ, que khuấy, cửa nạp khí N₂ và bộ sục khí, thêm methyl-5-brom-2-metylbenzoat (500,0g, 2,18 mol, 1,0 đương lượng) và N-bromsuxinimit (Fluorochem, 388,5g, 2,18 mol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch đang khuấy chứa 1,2-dicloetan (1,9L). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 90°C (bể dầu). Hòa tan azobisisobutyronitril (5,0g, 0,03 mol, 0,014 đương lượng) trong DCE (100mL) và thêm 20mL dung dịch thu được vào phễu nhỏ giọt. Thêm từ từ dung dịch này vào khi hỗn hợp phản ứng đạt 85°C. Khi sự hồi lưu và sủi bọt mạnh chấm dứt, thêm trong một phần 80mL dung dịch còn lại vào hỗn hợp phản ứng và khuấy ở 90°C trong 1 giờ. NMR cho thấy phản ứng hoàn thành với khoảng 11% vật liệu ban đầu vẫn còn. Sau đó làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng bằng cách sử dụng đá khô trong bể dầu và khi nhiệt độ bên trong giảm xuống ~30°C, dập tắt hỗn hợp phản ứng bằng cách bổ sung nước (2,0L). Sau 5 phút, gộp hai hỗn hợp phản ứng đồng nhất, chuyển vào phễu phân tách và gom lớp hữu cơ. Chiết lại lớp nước bằng cách sử dụng DCM (2 x 2,0L). Gộp tất cả các lớp hữu cơ và rửa bằng nước (2L) và nước muối (2L), làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô trong chân không thu được chất lỏng màu cam (1,397kg, 104%, từ 2 x 500g lần chạy mẫu).

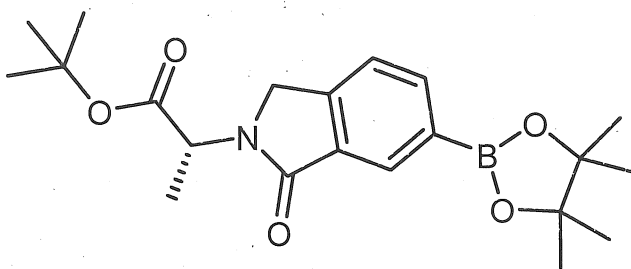
Bước 2 - tert-butyl (2R)-2-(6-brom-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)propanoat



Trong bình năm cổ dung tích 10L được trang bị bộ ngưng tụ, que khuấy, cửa nạp khí N₂ và bộ sục khí thêm methyl 5-brom-2-(brommetyl)benzoat (từ bước 1) (660g, 2,14 mol, 1,0 đương lượng), t-butyl (2R)-2-aminopropanoat.HCl (467g, 2,57 mol, 1,2 đương lượng) và diisopropyletylamin (1,0 L, 6,42 mol, 3,0 đương lượng, d= 0,742) vào dung

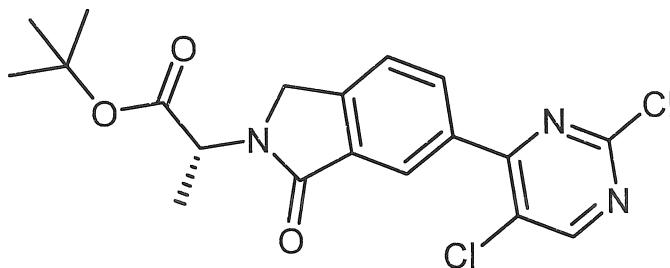
dịch được khuấy chứa THF (5,0L). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 80°C trong bể dầu qua đêm. Sau đó làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng bằng cách sử dụng đá khô và sau đó rót hai hỗn hợp phản ứng đồng nhất vào phễu phân tách lớn. Thêm dung dịch bão hòa trong nước chứa NaHCO₃ (5,6L) vào và khuấy hỗn hợp này trong 5 phút. Gôm lớp hữu cơ và chiết pha nước bằng cách sử dụng etyl axetat (2 x 4L). Gộp các pha hữu cơ và rửa bằng nước muối (5,6L) và khuấy trong 3 phút, làm khô trên MgSO₄, lọc và cô trong chân không thu được chất rắn dính màu cam-nâu còn lại, cho chất rắn này vào trong tủ sấy chân không ở 40°C qua đêm. Tạo huyền phù đặc chất rắn này (1,4kg) trong ete dầu hỏa 40-60 (2,5L) và khuấy mạnh qua đêm trước khi lọc và rửa bằng ete dầu hỏa, 2 x 300mL) thu được chất rắn màu vàng (480cg).

Bước 3: tert-butyl (2R)-2-[1-oxo-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl]propanoat



Trong bình năm cổ dung tích 10L được trang bị phương tiện khuấy trên đỉnh, bộ ngưng tụ, cảm biến nhiệt độ và cửa nạp khí N₂ và bộ sục khí, thêm tert-butyl (2R)-2-(6-brom-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)propanoat (từ bước 2) (500g, 1,469 mol, 1,0 đương lượng), bis(pinacolato)diboron (446,3g, 1,764mol, 1,2 đương lượng) và kali axetat khan (433,9g, 4,409 mol, 3 đương lượng) vào dung dịch được khuấy chứa dioxan (4L). Sau đó khử khí hỗn hợp phản ứng này bằng N₂ trong 30 phút trước khi thêm Pd(dppf)Cl₂ (21,5g, 0,029 mol, 0,02 đương lượng) vào và khử khí tiếp hỗn hợp phản ứng trong 10 phút và sau đó gia nhiệt đến 90°C trong bể dầu. Khuấy hỗn hợp phản ứng này qua đêm (LƯU Ý: sau 2-3 giờ ở 90°C, phản ứng tỏa nhiệt từ 88°C đến 104°C kết hợp với hồi lưu mạnh và dung dịch này chuyển từ dung dịch màu cam-đỏ sang màu nâu sẫm trong ~30 phút trước khi làm mát lại xuống 90°C). Làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng bằng cách sử dụng đá khô trước khi được gộp lại và lọc qua đệm Celit (phễu lọc thủy tinh đóng cục 4L, đệm dày ~2 inso). Rửa đệm này bằng dioxan (1L) cho đến khi tất cả màu được rửa hết.

Bước 4: tert-butyl (2R)-2-[6-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindolin-2-yl]propanoat



Sau đó chia đôi dung dịch từ Bước 3 và cho mỗi nửa dung dịch này vào bình năm cổ được trang bị giống như trong bước trên đây. Thêm 2,4,5-triclopyrimidin (404,4g, 252,8mL, 2,205 mol, 1,5 đương lượng, D = 1,6), kali cacbonat (609,4g, 4,409 mol, 3 đương lượng) vào bình năm cổ này và sau đó khử khí bằng N₂ trong 30 phút trước khi thêm Pd(dppf)Cl₂ (21,5g, 0,029 mol, 0,02 đương lượng) vào và khử khí tiếp trong 10 phút. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 65°C trong bể dầu và sau đó thêm nước (500mL) vào qua phễu nhỏ giọt qua 5 phút (Lưu ý: tỏa nhiệt từ 62°C đến 72°C một vài phút sau khi bổ sung nước ban đầu). Cho phản ứng qua đêm. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng bằng cách sử dụng đá khô và lọc qua đệm Celit (phễu lọc thủy tinh đóng cục 4L, đệm dày ~3 inso), rửa đệm này bằng DCM (2L). Sau đó cô dịch lọc này đến gần khô thu được vật liệu thô nhựa đường màu nâu-đen (1909g).

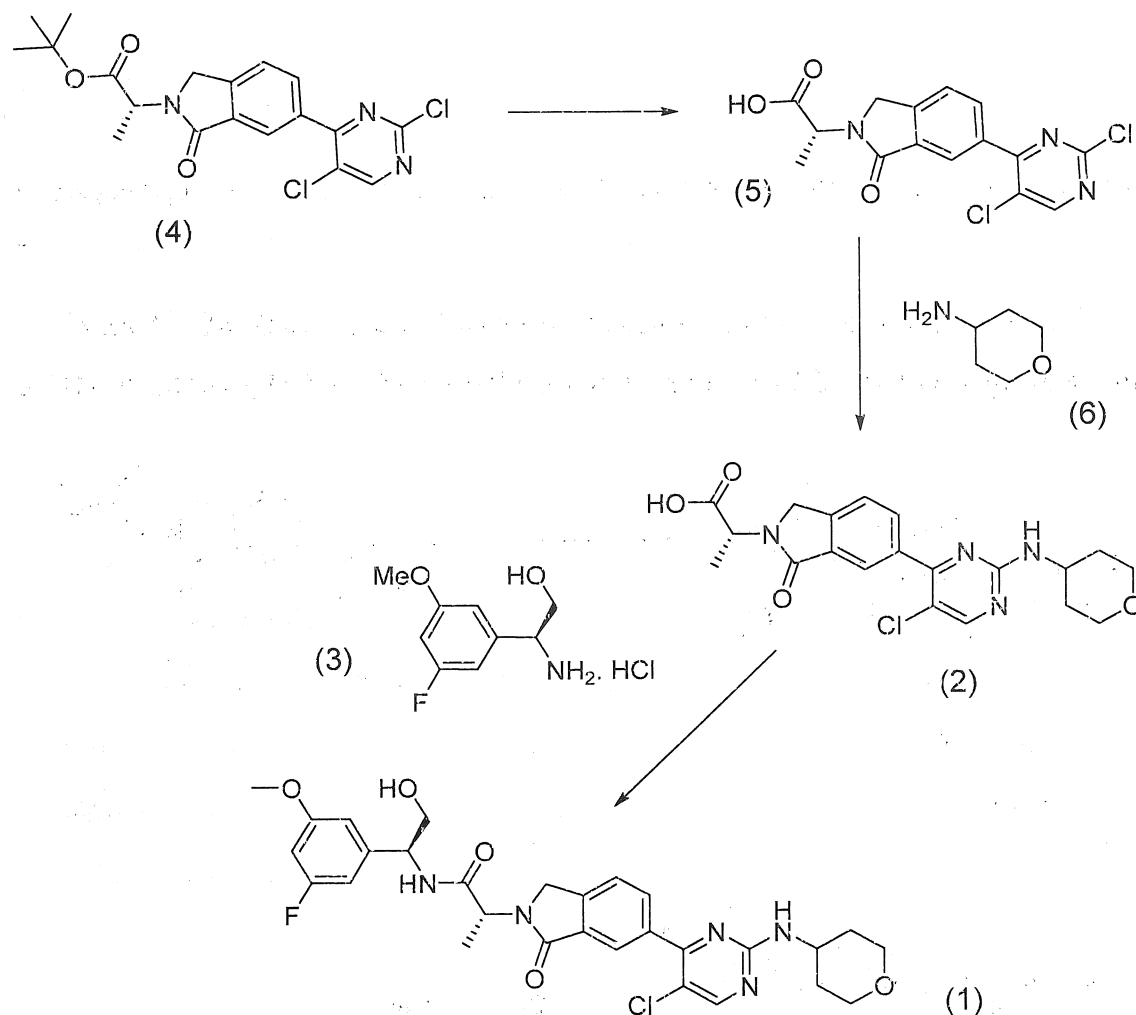
Phân chia vật liệu thô này làm hai và nạp khô trên cột silica và rửa giải bằng 6 x 4 L etyl axetat 40%/xăng. (Lưu ý: trộn tất cả các phân đoạn để gộp lại và cô đến khi gần khô – chạy sắc ký TLC sản phẩm này trên etyl axetat 30%/xăng R_f = ~0,5). Làm mát hỗn hợp màu nâu còn lại đến nhiệt độ trong phòng và thêm xăng (4L) vào và khuấy trên thiết bị cô quay trong 2 giờ để kết tinh sản phẩm. Lọc sản phẩm này và rửa bánh lọc bằng xăng (2x2L) thu được chất rắn màu trắng (548g).

Theo cách khác, tert-butyl (2R)-2-[6-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindolin-2-yl]propanoat (Hợp chất trung gian (4)) có thể được điều chế như được mô tả trong đơn PCT/IB2016/001507 (Công bố quốc tế số WO2017/068412) - xem các chế phẩm 76, 89 và 94 trong tài liệu này.

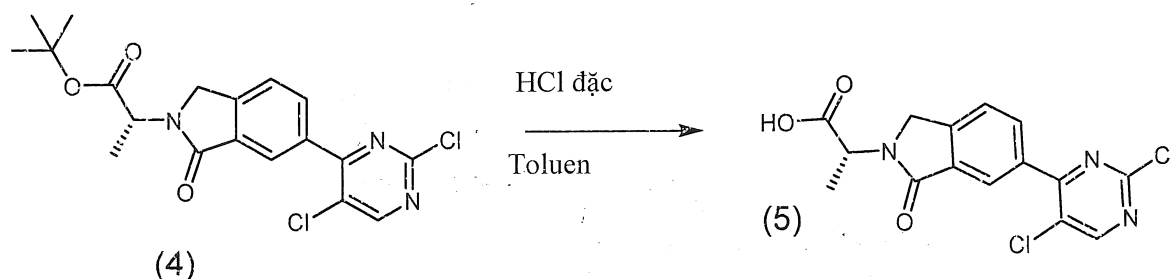
(2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit vô định hình (Hợp chất 1) được tổng hợp từ tert-butyl (2R)-2-[6-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-oxo-2,3-

dihydro-1H-isoindolin-2-yl]propanoat (từ bước 4) theo sơ đồ tổng hợp được minh họa dưới đây:

Bước 5: (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1*S*)-1-(3-flu-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit



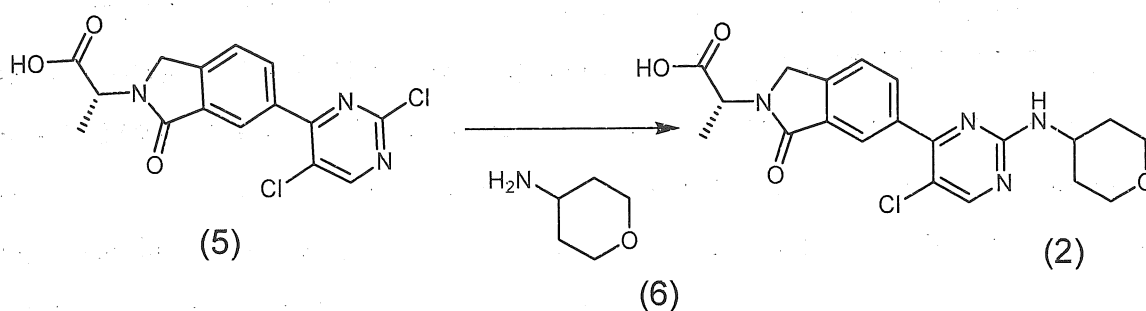
Giai đoạn 1: Khử bảo vệ bởi nhóm Boc của hợp chất (4)



Thêm axit clohydric đậm đặc (1 vol) vào dung dịch chứa hợp chất (4) (được cung cấp bởi hãng Manchester Organics) (1,0 wt) trong toluen (13 vol) ở 15 đến 25°C tiếp đó rửa bằng dòng toluen (1 vol). Gia nhiệt hỗn hợp này tới 35 đến 40°C và khuấy ở nhiệt độ

này cho đến khi hoàn thành phản ứng (đạt tiêu chí: $\leq 2,0\%$ diện tích là hợp chất (4), thời gian phản ứng dự kiến là từ 16 đến 24 giờ). Cô huyền phù này dưới áp suất giảm ở nhiệt độ lên đến 50°C đến khi thu được chất rắn ướt. Nạp toluen (3 x 10 vol) vào cùng với cô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ lên đến 50°C thu được chất rắn ướt sau mỗi lần nạp liên tiếp. Nạp toluen (4 vol) vào và cô quay huyền phù này trên thiết bị cô quay ở áp suất khí quyển ở nhiệt độ lên đến 50°C trong 10 đến 20 phút. Bỏ bình phản ứng khỏi thiết bị cô quay và giả hóa các thành phần phản ứng trong ít nhất 1 giờ ở 15 đến 25°C . Thu gom các chất rắn bằng cách lọc, rửa bằng toluen (2 x 2 vol) và làm khô trong nitơ đến khi lượng toluen là $\leq 6,0\%$ trọng lượng/trọng lượng và lượng nước là $\leq 2,0\%$ trọng lượng/trọng lượng. Phân tách chất trung gian (5) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt đến màu be nhạt (74 đến 95%th, 64 đến 82% trọng lượng/trọng lượng).

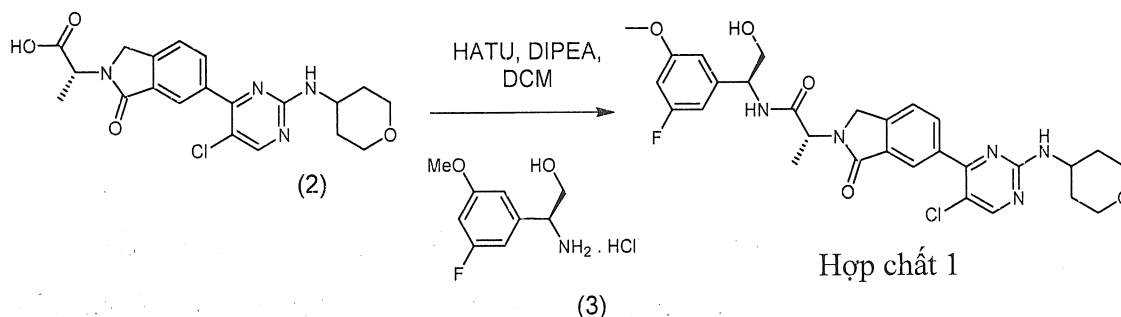
Giai đoạn 2: Chất trung gian (5) ghép cặp với 4-aminotetrahydropyran



Thêm kali cacbonat (0,86 wt, 2,2 mol đương lượng), tiếp đó là 4-aminotetrahydropyran (6) (0,4 vol, 1,3 mol đương lượng) ở 15 đến 40°C và dung dịch rửa dòng NMP (0,5 vol) vào dung dịch chứa hợp chất (5) (1,0 wt được hiệu chỉnh, 1,0 mol đương lượng) trong 1-metyl-2-pyrrolidinon (NMP) (9,5 vol) ở 15 đến 25°C . Gia nhiệt hỗn hợp này tới 80 đến 95°C và khuấy ở nhiệt độ này cho đến khi hoàn thành phản ứng (đạt tiêu chí: $\leq 1,0$ mol% Chất trung gian (5), thời gian phản ứng là từ 4 đến 6 giờ). Làm mát hỗn hợp này tới 15 đến 25°C và thêm axit clohydric 3M (10 vol) vào, duy trì nhiệt độ trong khoảng từ 15 đến 30°C . Thêm diclometan (DCM) (10 vol) vào và phân tách các pha. Chiết lại pha nước có tính axit bằng DCM (5 vol) và rửa các pha hữu cơ được gộp lại bằng nước tinh khiết (8 x 10 vol) cho đến khi lượng NMP được kiểm soát $\leq 15,0\%$ trọng lượng/trọng lượng. Rửa pha hữu cơ bằng dung dịch NaCl 13% trọng lượng/trọng lượng (10 vol), xử lý bằng than hoạt tính (0,3 wt) và làm khô trên magiê sulphat (1,0 wt). Lọc hỗn hợp này để loại bỏ chất làm khô, rửa bằng DCM (2 x 2 vol) và cô các dịch lọc

được gộp lại dưới áp suất giảm ở nhiệt độ lên đến 35°C thu được (2) ở dạng bột màu nâu nhạt (74 đến 90%th, 88 đến 107% trọng lượng/trọng lượng).

Giai đoạn 3: Điều chế hợp chất 1



Thêm amin (3) (0,68 wt, 1,27 mol đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất (2) (1,0 wt, 1,0 mol đương lượng) trong DCM (12,5 vol). Làm mát huyền phù này tới 10 đến 15°C và thêm DIPEA (1,67 vol, 4,0 mol đương lượng) vào. Khuấy dung dịch thu được trong 5 đến 10 phút trước khi bổ sung từng phần HATU (1,15 wt, 1,27 mol đương lượng) vào, duy trì nhiệt độ phản ứng <25°C. Khuấy hỗn hợp này ở 15 đến 25°C cho đến khi phản ứng được cho là hoàn thành bằng HPLC (<0,5% diện tích là hợp chất (2), thường là 1 giờ). Khi phản ứng hoàn thành, cô hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm ở nhiệt độ lên đến 38°C thu được dầu màu cam pha động, dạng đặc. Hòa tan phần cặn trong EtOAc (10 vol) và rửa bằng nước tinh khiết (10 vol), dung dịch amoni clorua 25% trọng lượng/trọng lượng (2 x 10 vol), dung dịch NaHCO₃ 8% trọng lượng/trọng lượng (2 x 10 vol) và dung dịch NaCl 13% trọng lượng/trọng lượng (6 x 10 vol), sau đó làm khô trên MgSO₄ (1,0 wt). Loại bỏ chất rắn bằng cách lọc và rửa bánh lọc bằng etyl axetat (2 x 2 vol). Cô các dịch lọc trên thiết bị cô quay ở nhiệt độ lên đến 40°C thu được hợp chất 1 thô ở dạng bột màu vàng nhạt. Tinh chế hợp chất 1 thô bằng sắc ký nhanh trên cột khô.

Cũng quan sát thấy quy trình biến đổi hoàn toàn hợp chất (2) thành Hợp chất 1 khi trải qua các điều kiện trên đây nhưng trong đó 1-etyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) được sử dụng làm chất phản ứng ngẫu hợp thay vì HATU, 4-dimethylaminopyridin (4-DMAP) được sử dụng làm bazơ thay vì DIPEA và dimethylformamide (DMF) được sử dụng làm dung môi thay vì DCM.

Quy trình chạy sắc ký:

Nạp silica (20 wts) vào cột khô của sắc ký nhanh và rửa silica và nhồi bằng cách rửa giải qua etyl axetat (thường là 2 x 20 vol). Hòa tan hợp chất 1 thô (1 wt không được

hiệu chỉnh) trong DCM (4 vol) và nạp cẩn thận trên cột này. Sau đó rửa giải cột này như sau:

- EtOAc nguyên chất 40 x 20 vol F1-240
- MeOH 1% trong EtOAc 10 x 20 vol F41-50
- MeOH 5 đến 10% trong EtOAc 3 x 20 vol F51-53 dòng phun cột

Phân tích tất cả các phân đoạn thu được bằng HPLC và sản phẩm thường được rửa giải trong các phân đoạn từ 12 đến 45. Chỉ những phân đoạn có vẻ sạch nhất và mãnh liệt nhất bằng sắc ký TLC (ví dụ các phân đoạn từ 15 đến 25 trong phạm vi rửa giải sản phẩm ví dụ nêu trên) mới được nhóm lại với nhau khi không có dữ liệu HPLC. Sản phẩm bên ngoài có chứa các phân đoạn được phân tích bằng HPLC để xác định xem liệu đây có phải là độ tinh khiết phù hợp để kết hợp với các phân đoạn sản phẩm chính hay không. Khi kết hợp tất cả các phân đoạn và cô đến khi tạo thành bột hoặc thể tích thấp, pha loãng sản phẩm này với etyl axetat (ví dụ 10 vol), khuấy thu được dung dịch và sau đó lọc qua giấy lọc sợi thủy tinh. Sau đó cô các dịch lọc thu được Hợp chất 1 vô định hình ở dạng bột có màu trắng nhợt đến màu vàng nhạt (65 đến 85%th, 91 đến 119% trọng lượng/trọng lượng).

Ví dụ 2

Chế phẩm chứa các muối vô định hình của hợp chất 1

Điều chế các dung dịch gốc của các ion mang điện tích trái dấu trong 2-propanol. Nạp dung dịch gốc thích hợp (500 μ L, 10vol) vào dung dịch của hợp chất 1 (như được điều chế theo Ví dụ 1) trong isopropyl axetat (2,5ml, 50vol) và khuấy. Làm mát các chất rắn không kết tinh hoặc kết tủa kém, cô bằng cách làm bay hơi hoặc xử lý tiếp với t-butylmetylete (TBME).

Phân tách các chất rắn bằng cách lọc, làm khô dưới dòng nitơ trong 96 giờ, chuyển các chất rắn thu được vào thiết bị phân tích và phân tích bằng ^1H NMR và XRPD (xem bảng sau).

Ion mang điện tích trái dấu của axit	Hệ số tỷ lượng ion mang điện	Tên muối sử dụng phổ biến	Hợp chất 1: Hệ số tỷ lượng ion mang điện tích	Mẫu XRPD
--------------------------------------	------------------------------	---------------------------	---	----------

	tích trái dấu		trái dấu như được xác định bằng ^1H NMR (phổ ^1H NMR)	
Dạng không được ion hóa	KHÔNG XÁC ĐỊNH	Dưới dạng bazơ tự do	KHÔNG XÁC ĐỊNH	vô định hình
Axit clohydric 4M (dung dịch 1,4-dioxan, 99%)	1	Hydroclorua	(Xem Hình 6)	vô định hình
Axit sulphuric (95%)	2	Sulphat	(Xem Hình 7)	vô định hình
Axit naphtalen- 1,5-disulfonic tetrahydrat (97%)	1	Napadisilat	1 đến 1 (Xem Hình 8)	vô định hình
Axit etan-1,2- disulfonic trihydrat (98%)	1	Edisylat	1 đến 1 (Xem Hình 9)	vô định hình
axit 4- toluensulfonic monohydrat	1	Tosylat	1 đến 1 (Xem Hình 10)	vô định hình
Axit metansulphonic (99,5%)	1	Mesylat	1 đến 1 (Xem Hình 11)	vô định hình
Axit naphtalen- 2-sulfonic monohydrat (99%)	1	Napsylat	1 đến 1 (Xem Hình 12)	vô định hình

Axit benzensulphonic (90%)	1	Besylat	1 đến 1 (Xem Hình 13)	vô định hình
muối natri của axit 2-hydroxyetan sulfonic (98%)	1	Isethionat	(Xem Hình 14)	vô định hình
Axit etan sulfonic (95%)	1	Esylat	1 đến 1 (Xem Hình 15)	vô định hình
Axit bromhidric (99%), (48% trong nước)	1	Hydrobromua	(Xem Hình 16)	vô định hình

Ví dụ 3

Điều chế các dạng tinh thể của hợp chất 1

Ví dụ 3A – Điều chế dạng tinh thể A

Tạo huyền phù muối hydroclorua của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit (như được điều chế trong ví dụ 2) trong nước tinh khiết (35 đơn vị thể tích) ở 70°C trong khoảng thời gian 96 giờ. Tách chất rắn bằng cách lọc, làm khô dưới dòng nitơ trong 96 giờ, chuyển các chất rắn thu được ra vào thiết bị phân tích và phân tích bằng XRPD (xem Hình 1).

Ví dụ 3B – Điều chế dạng tinh thể B (Phương pháp I)

Tạo huyền phù muối hydroclorua của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit (như được điều chế trong ví dụ 2) trong nước tinh khiết (2ml, 20vol) ở 18 đến 23°C. Khuấy các dung dịch này ở 45 đến 50°C trong 20 giờ. Sau đó hạ nhiệt độ xuống 30 đến 35°C và khuấy dung dịch này trong 96 giờ nữa. XRPD của chất rắn thu được được thể hiện phù hợp với mẫu XRPD của Hình 2.

Ví dụ 3C – Điều chế dạng tinh thể B (Phương pháp II)

Tạo huyền phù muối hydroclorua của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit (như được điều chế trong ví dụ 2) trong nước tinh khiết (20vol) và khuấy hỗn hợp này ở 40°C trong nitơ trong 20 giờ. Nạp 2-propanol (7,6vol) vào và khuấy hỗn hợp này ở 40°C trong 20 giờ. Kiểm soát quy trình chuyển hóa bằng XRPD. XRPD của chất rắn thu được được thể hiện phù hợp với mẫu XRPD của Hình 2.

Ví dụ 3D – Điều chế dạng tinh thể B (Phương pháp III)

Nạp (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit (như được điều chế trong ví dụ 1) (100mg, 1,0wt.), tiếp đó là etyl axetat hoặc toluen (15 vol) và *tert*-butylmetylete (15 vol) vào trong lọ. Khuấy huyền phù này trong 7 ngày ở 30°C. Sau thời gian này tách sản phẩm bằng cách lọc, rửa bằng dung môi hoàn toàn tái chế, làm khô dưới dòng nitơ ở 18-23°C và phân tích bằng XRPD làm bằng chứng cho sự kết tinh. XRPD của chất rắn thu được phù hợp với mẫu XRPD của Hình 2.

Ví dụ 4

Mô tả đặc điểm khác của dạng tinh thể B của hợp chất 1

Dạng tinh thể B của hợp chất 1 thu được trong ví dụ 3B, 3C và 3D được nghiên cứu bằng cách sử dụng kỹ thuật nhiễu xạ bột tia X, đo nhiệt lượng quét vi sai, phân tích nhiệt lượng và hấp phụ hơi động lực.

Ví dụ 4A – Nhiễu xạ bột tia X

Các tinh thể chứa dạng tinh thể B của Hợp chất 1 được điều chế theo phương pháp của Ví dụ 3. Phân tích nhiễu xạ bột tia X (XRPD) được thực hiện bằng máy đo nhiễu xạ bột Bruker D2 Phaser được trang bị đầu dò LynxEye. Các mẫu đã trải qua quy trình điều chế tối thiểu, nhưng nếu cần, chúng được nghiền nhẹ trong chày và cối giã trước khi thu được. Các mẫu thử được đặt ở trung tâm của giá đỡ mẫu silicon trong túi 5 mm (khoảng 5 đến 10mg). Các mẫu được quay liên tục trong quy trình thu thập dữ liệu và được quét bằng cách sử dụng cỡ bước 0,02° hai theta (2θ) trong khoảng từ 4° đến 40° hai theta và thời gian bước là 34,5 giây. Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm Bruker Difffrac.Suite. Giản đồ nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể B của hợp chất này được thể hiện trên Hình

2 và góc nhiễu xạ 2θ và cường độ liên kết với mỗi đỉnh được thể hiện trong bảng dưới đây.

Góc nhiễu xạ ($^{\circ}$)	Cường độ tương đối
8,75	23
12,00	13
13,03	23
13,82	39
14,05	100
14,43	20
16,89	12
17,31	22
19,34	36
20,56	85
21,25	45
23,52	18
23,97	74
24,15	71
26,18	18
28,74	22
29,84	13

Ví dụ 4B - Đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC)

Các tinh thể chứa dạng tinh thể B của Hợp chất 1 được điều chế theo phương pháp của Ví dụ 3. Sử dụng thiết bị Mettler Toledo DSC 821 để phân tích nhiệt hoạt động cùng với phần mềm STARTM. Phân tích này được thực hiện trong chén nhôm mở dung tích 40 μ L, trong nitơ và cỡ mẫu nằm trong khoảng từ 1 đến 10mg. Thông thường, phân tích được thực hiện trong khoảng nhiệt độ từ 20 $^{\circ}$ đến 250 $^{\circ}$ ở gradien nhiệt độ là 10 $^{\circ}$ C/phút. Tia quét DSC của hợp chất kết tinh được thể hiện trên Hình 3.

Ví dụ 4C – Phân tích nhiệt lượng (TGA)

Các tinh thể chứa dạng tinh thể B của Hợp chất 1 được điều chế theo phương pháp của Ví dụ 3. Khoảng 7mg mẫu được đặt vào chén HT TGA bạch kim, chén này đã được

làm sạch bằng cách sử dụng đèn khò butan và cân trừ bì bằng chức năng tự trọng tự động của thiết bị. Gia nhiệt các mẫu trong khí quyển nitơ từ 25 đến 800°C ở tốc độ 10°C/phút. Profin giảm trọng lượng của hợp chất tinh thể được thể hiện trên Hình 4.

Ví dụ 4D – Phân tích hấp phụ hơi động lực

Các tinh thể chứa dạng tinh thể B của Hợp chất 1 được điều chế theo phương pháp của Ví dụ 3. Khoảng 20mg mẫu được cân trong chén nhôm và được nạp vào thiết bị DVS Intrinsic được giữ ở 25°C. Mẫu này được làm cân bằng trong ba giờ ở độ ẩm tương đối RH 0% trước khi tăng độ ẩm RH từ 0-30% ở lượng tăng 5%. Sau đó tăng độ ẩm của mẫu này ở lượng tăng 10% đến độ ẩm RH 90%. Profin độ biến đổi tương tự được sử dụng cho giai đoạn giải hấp. Ở mỗi bước, tốc độ thay đổi khối lượng trên mỗi đơn vị thời gian (dt) là 0,002%/phút được đặt làm tham số cân bằng. Profin hấp phụ/giải hấp của hợp chất này được thể hiện trên Hình 5.

Ví dụ 4E – Các nghiên cứu nhiễu xạ tia X đơn tinh thể

Cấu trúc tia X đơn tinh thể của dạng B của hợp chất có công thức (1) được xác định ở 100K bằng cách sử dụng tinh thể thu được bởi quy trình bay hơi chậm từ isopropyl axetat.

Các dữ liệu được thu thập trên nguồn Rigaku Oxford Diffraction Supernova Dual Source, Cu ở nhiễu xạ kế Zero, Atlas CCD được trang bị thiết bị làm mát Oxford Cryosystems. Dữ liệu được thu thập bằng cách sử dụng Cu K α . Giải và tinh chỉnh các cấu trúc bằng cách sử dụng bộ phần mềm Bruker AXS SHELXTL. Các chi tiết đầy đủ có thể được tìm thấy trong Bảng dưới đây. Trừ khi có quy định khác, các nguyên tử hydro gắn với cacbon được đặt theo hình học và được tinh chỉnh bằng tham số chuyển vị đẳng hướng di động. Các nguyên tử hydro gắn vào một dị nguyên tử được đặt trong bộ tổng hợp Fourier khác và được tinh chỉnh tự do với tham số chuyển vị đẳng hướng. Giảm độ nhiễu xạ tham chiếu cho cấu trúc tinh thể đã được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp Mercury (C. F. a. Macrae, “Mercury: visualization and analysis of crystal structures,” J. Appl. Cryst., quyển 39, các trang 453-457, 2006).

Thu thập dữ liệu và tinh chỉnh cấu trúc

Nhiễu xạ kế	SuperNova, Dual, Cu at zero, Atlas
Nguồn bức xạ	Nguồn tia X SuperNova (Cu), CuK α

Các phương pháp thu dữ liệu	quét
Khoảng theta để thu dữ liệu	3,460 đến 66,589°
Các khoảng chỉ số	$-14 \leq h \leq 15$, $-10 \leq k \leq 9$, $-14 \leq l \leq 15$
Các phản xạ thu thập được	24752
Phản xạ độc lập	4834 [R(int) = 0,0371]
Khoảng đo phản xạ độc lập	97,4%
Hiệu chỉnh hấp phụ	Số liệu bán kinh nghiệm từ các hệ số tương đương
Truyền dẫn tối đa và tối thiểu	1,00000 và 0,80872
Kỹ thuật giải cấu trúc	Các phương pháp trực tiếp
Chương trình giải / tinh chỉnh cấu trúc	SHELXTL (Sheldrick, 2013)
Kỹ thuật tinh chỉnh	Bình phương tối thiểu ma trận đầy đủ trên F^2

Dữ liệu tinh thể

Dung môi kết tinh	Isopropyl axetat
Phương pháp kết tinh	Bay hơi chậm
Công thức kinh nghiệm	$C_{29}H_{33}ClFN_5O_6$
Cân công thức	602,05
Nhiệt độ	100(2) K
Bước sóng	1,54178 Å
Kích thước tinh thể	0,180 x 0,060 x 0,050 mm
Dạng tinh thể	Khối không màu
Hệ tinh thể	Đơn nghiêng
Nhóm không gian	$P2_1$
Kích thước ô đơn vị	$a = 12,6616(2)$ Å $a = 90^\circ$ $b = 9,0139(2)$ Å $b = 103,2380(10)^\circ$ $c = 13,1214(2)$ Å $c = 90^\circ$
Thể tích	1457,76(5) Å ³

Các tinh thể được thấy là đơn sắc, nhóm không gian P21 với R1 cuối cùng $= [I > 2s(I)] = 2,93\%$.

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách sử dụng dữ liệu nhiễu xạ và được khẳng định như được mô tả trong công thức (1) ở đây với tham số Flack $= -0,004$ (7).

Trong đơn vị bất đối xứng có một phân tử hợp chất có công thức (1) và một phân tử nước, cả hai phân tử này đều được sắp xếp đầy đủ, khẳng định rằng dạng tinh thể B là một monohydrat của hợp chất có công thức (1).

Ví dụ 5

Xác định độ hòa tan của dạng tinh thể B của Hợp chất (1) trong các dung môi chứa nước

Độ hòa tan của dạng tinh thể B và dạng vô định hình của hợp chất có công thức (1) được xác định trong nước tinh khiết và dung dịch đệm ở cùng nồng độ trong thời gian khuấy lên đến 24 giờ ở 18 đến 23°C. Độ pH và nhiệt độ của các dung dịch này được kiểm soát để khẳng định rằng độ lệch pH không xảy ra vào cuối thí nghiệm.

Quy trình tổng quát

Tạo huyền phù mỗi mẫu chứa hợp chất có công thức (1) (50mg) trong nước tinh khiết (2mL) hoặc dung dịch đệm thích hợp và khuấy ở nhiệt độ môi trường (18-23°C) trong 20 đến 24 giờ. Sau thời gian này, ly tâm các huyền phù đặc, pha loãng nếu thích hợp bằng chất pha loãng mẫu HPLC (axetonitril/nước, 1/1, thể tích/thể tích) và phân tích bằng diện tích đỉnh HPLC. So sánh các giá trị đo được với đường cong hiệu chuẩn thích hợp cho hợp chất có công thức (1). Độ hòa tan gần đúng đã được tính toán và các hệ số bù được sử dụng cho các hệ số pha loãng thích hợp và các thử nghiệm theo % trọng lượng/trọng lượng. Hệ số pha loãng đảm bảo rằng các giá trị diện tích đỉnh nằm trong các khoảng đường cong hiệu chuẩn mong muốn.

Làm khô mẫu chất rắn còn lại trong ống ly tâm trong tủ sấy chân không và phân tích bằng XRPD. Nếu mẫu thử thể hiện bằng chứng bất kỳ về độ kết tinh khác ngoài mẫu nhiễu xạ dự kiến cho dạng tinh thể của hợp chất (1) thì thực hiện thêm phân tích bằng ^1H NMR để xác nhận danh tính hóa học.

Điều chế các dung dịch đệm sử dụng trong nghiên cứu này được mô tả dưới đây:

pH 1,2 – Trộn 50mL dung dịch kali clorua 0,2M với 85mL dung dịch axit clohydric 0,2M.

pH 2 – Trộn 50mL dung dịch kali clorua 0,2M với 13mL dung dịch axit clohydric 0,2M.

pH 3 – Trộn 100mL kali hydro phtalat 0,1M với 44,6mL dung dịch axit clohydric 0,1M.

pH 4 – Trộn 100mL kali hydro phtalat 0,1M với 0,2mL dung dịch axit clohydric 0,1M.

pH 5 – Trộn 100mL kali hydro phtalat 0,1M với 45,2mL dung dịch natri hydroxit 0,1M.

pH 6 – Trộn 100mL kali dihydro orthophosphat 0,1M với 11,2mL dung dịch natri hydroxit 0,1M.

pH 7 – Trộn 100mL kali dihydro orthophosphat 0,1M với 58,2mL dung dịch natri hydroxit 0,1M.

pH 8 – Trộn 100mL kali dihydro orthophosphat 0,1M với 93,4mL dung dịch natri hydroxit 0,1M.

Kết quả

Đầu vào	Độ tinh khiết hóa học của đầu vào (% diện tích)	Dung dịch đệm	Phép đo pH / T°C cân bằng (t=24 giờ)	Độ tan đo được (mg/mL),	Thuật ngữ mô tả
Dạng vô định hình của hợp chất có công thức (I)	97,48	Nước tinh khiết	7,73 / 20,6	<0,1mg/mL (0,0234mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch	1,12 / 20,2	≥0,1mg/mL	tan rất ít

		đệm pH 1,2		(0,1249mg/mL)	
		dung dịch đệm pH 2	2,00 / 19,2	<0,1mg/mL (0,0226mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 3	3,07 / 20,2	<0,1mg/mL (0,0257mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 4	3,98 / 19,1	<0,1mg/mL (0,0418mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 5	4,99 / 19,4	<0,1mg/mL (0,0268mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 6	6,01 / 19,4	<0,1mg/mL (0,0149mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 7	6,97 / 21,0	<0,1mg/mL (0,0136mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 8	8,16 / 19,8	<0,1mg/mL (0,0138mg/mL)	thực tế không hòa tan

Đầu vào	Độ tinh khiết hóa học của đầu vào (% diện tích)	Dung dịch đệm	Phép đo pH / T°C cân bằng (t=24 giờ)	Độ tan đo được (mg/mL)	thuật ngữ mô tả
Dạng tinh thể B của hợp chất có công thức (I)	99,10	Nước tinh khiết	7,88 / 22,1	<0,1mg/mL (0,0187mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 1,2	1,11 / 20,8	<0,1mg/mL (0,0154mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 2	2,01 / 20,4	<0,1mg/mL (0,0034mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 3	3,08 / 20,7	<0,1mg/mL (0,0045mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 4	4,00 / 20,4	<0,1mg/mL (0,0049mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 5	5,00 / 20,7	<0,1mg/mL (0,0031mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 6	6,02 / 20,5	<0,1mg/mL (0,0027mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 7	6,98 / 20,5	<0,1mg/mL (0,0017mg/mL)	thực tế không hòa tan
		dung dịch đệm pH 8	8,02 / 20,2	<0,1mg/mL (0,0020mg/mL)	thực tế không hòa tan

				tan
	Nước tinh khiết	7,71 / 20,4	<0,1mg/mL (0,0012mg/mL)	thực tế không hòa tan
	dung dịch đệm pH 1,2	1,19 / 19,5	<0,1mg/mL (0,0164mg/mL)	thực tế không hòa tan

Kết luận và quan sát

Cả hai dạng tinh thể và dạng vô định hình của hợp chất có công thức (1) thực tế không hòa tan trong các dung dịch đệm ở độ pH 1,2 đến 8,0 (khoảng <0,1mg/mL).

Xác định độ hòa tan của dạng tinh thể B của Hợp chất (1) trong các dung môi không chứa nước

Quy trình

Dạng B của Hợp chất (1), được điều chế như được mô tả trong ví dụ 3, được nạp vào dung môi thích hợp (2ml) trong khoảng thời gian khoảng 1 giờ. Bảo hòa các dung dịch này có chủ đích và khuấy trong 72 giờ ở 18 đến 23°C. Sau thời gian này, ly tâm các huyền phù, lấy mẫu các dịch nổi, pha loãng tương ứng và diện tích đỉnh của các chất phân tích tương ứng được xác định bằng sắc ký HPLC và được so sánh với diện tích đỉnh của các chất hiệu chỉnh chuẩn. Độ hòa tan gần đúng được tính toán và độ hòa tan được kiểm tra thực tế trên cơ sở không có dung môi khan để khẳng định rằng các kết quả này là phù hợp.

Quan sát và kết quả

	Etanol (2mL)	Glyxerol (2mL)	PEG 400 (2mL)	Propylen glycol (2mL)
Lần nạp thứ nhất / khuấy 1 giờ ở 18 đến 23°C	198,74mg	200,30mg	198,96mg	200,91mg
Lần nạp thứ hai / khuấy +1 giờ ở	200,07mg	---	200,78mg	201,03mg

18 đến 23°C				
Lần nạp thứ ba / khuấy +1,5 giờ ở 18 đến 23°C	200,94mg	---	200,27mg	201,17mg
Lần nạp thứ tư / khuấy +72 giờ ở 18 đến 23°C	200,12mg	---	---	199,76mg
Lần nạp thứ năm / khuấy +2 giờ ở 18 đến 23°C	200,34mg	---	---	---

Ly tâm các dung dịch bão hòa và thêm 100 μ L dịch nổi đã làm sạch vào 250mL thể tích (etanol) hoặc 100mL thể tích (chất còn lại) và tạo thể tích với chất pha loãng mẫu. Sau đó các mẫu đã pha loãng được phân tích bằng điện tích đỉnh HPLC và độ hòa tan tối đa ước tính được tính và báo cáo trong bảng dưới đây.

Dung môi	Độ hòa tan tối đa ước tính (mg/mL), ở 18 đến 23°C
Etanol	337
Glyxerol	5
PEG 400	229
Propylen glycol	289

Để khẳng định độ hòa tan ước tính theo đúng độ lớn, các dung dịch được điều chế đến nồng độ đo tối đa ước tính và các hỗn hợp này được khuấy qua đêm trong cùng điều kiện để khẳng định sự hòa tan.

Kết luận

Hợp chất có công thức (1) đã được chứng minh là có độ hòa tan lớn hơn đáng kể trong etanol, PEG 400 và propylen glycol so với trong nước.

Ví dụ 6

Các dạng chế phẩm lỏng - I

Các dung môi

- a. Propylen glycol – P4347 SIGMA-ALDRICH (đáp ứng các tiêu chuẩn kỹ thuật của Hội đồng Dược điển Hoa Kỳ (USP))
- b. Etanol - 29221 SIGMA-ALDRICH (được thử nghiệm theo Ph.Eur.)
- c. Super Refined™ PEG 400 – Croda (JP, USP-NF, PhEur)
- d. Dạng kết hợp của propylen glycol và etanol, 75:25 (% trọng lượng/trọng lượng)
- e. Dạng kết hợp của propylen glycol và etanol, 85:15 (% trọng lượng/trọng lượng)

Quy trình tiêu chuẩn

Hợp chất có công thức (1) được ủ trong mỗi dung môi ở nồng độ 500mg/mL trong các lọ thủy tinh (ở 25 °C bằng cách sử dụng máy gia nhiệt heater block RS9000) và để trong điều kiện khuấy trộn liên tục. Tại T = 1, 3, 7, 24 và 48 giờ.

Huyền phù thu được được siêu ly tâm (tức là cỡ mẫu 500 đến 1000µL) trong 15 phút ở tốc độ 13.000 vòng/phút và được kiểm tra bằng mắt thường để xác định mức độ làm trong. Nếu không đạt được mức độ làm trong thỏa đáng thì lặp lại quy trình ly tâm để làm lắng hợp chất không hòa tan còn lại bất kỳ. Chất nổi bề mặt được lấy mẫu khi có liên quan (ví dụ 100µL đến 1000µL), được pha loãng khi thích hợp và được phân tích bằng phương pháp HPLC-UV để thiết lập nồng độ thực tế.

Ví dụ 7

Các dạng chế phẩm lỏng - II

Các dạng chế phẩm lỏng sau đây được điều chế.

7-1. Hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong 5g TPSG và 5g propylen glycol.

7-2. Hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong 6g TPSG và 6g propylen glycol.

7-3. Hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong 2,5g TPSG và 7,5g propylen glycol.

7-4. Hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong TPGS (20% trọng lượng/trọng lượng), Etanol (15% trọng lượng/trọng lượng) và propylen glycol (65% trọng lượng/trọng lượng)

7-5. Hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong propylen glycol (100% trọng lượng/trọng lượng)

7-6. Hợp chất có công thức (1) được hòa tan trong TPGS (10% trọng lượng/trọng lượng), Etanol (10% trọng lượng/trọng lượng) và propylen glycol (80% trọng lượng/trọng lượng)

Nồng độ của hợp chất có công thức (1) trong mỗi dạng chế phẩm là 100mg/mL.

Mỗi dạng chế phẩm phải trải qua các nghiên cứu pha loãng trong dịch dạ dày mô phỏng và dịch ruột mô phỏng bằng các phương pháp này được mô tả ở dưới. Trong các thử nghiệm này, các nồng độ của hợp chất có công thức (1) được xác định bằng cách sử dụng phương pháp HPLC-UV sau đây.

Các thông số phương pháp LC

Cột: Halo C18 150 x 4,6mm; 2,7 μ m

Thể tích phun: 5 μ L

Bộ dò: UV @ 221nm

Pha động A: Nước/Axetonitril/TFA (5/95/0,05 thể tích/thể tích/thể tích)

Pha động B: Nước/Axetonitril/TFA (95/5/0,5 thể tích/thể tích/thể tích)

Thời gian (phút)	%A	%B
0,0	100	0
2,0	100	0
24,0	60	40
28,0	50	50
33,0	0	100
36,0	0	100
36,1	100	0
40,0	100	0

Tốc độ dòng: 1,0mL/phút

Nhiệt độ cột: 40°C

Thời gian chạy: 40 phút

Thời gian tích phân: 36 phút

Lọ rửa: Chất pha loãng mẫu

Các nghiên cứu pha loãng

Mỗi dạng chế phẩm được nạp vào 50mL FaSSGF (được điều chế theo phương pháp được mô tả trong <http://biorelevant.com/fassif-fessif-fassgf/how-to-make/>) và được lấy mẫu ở ba thời điểm (T= 5 phút, 15 phút và 30 phút) lấy ra ít nhất 2mL một mẫu.

Sau đó pha loãng thêm hỗn hợp này với 44mL của dịch ruột mô phỏng ở trạng thái nhịn ăn FaSSIF (được điều chế theo phương pháp được mô tả trong <http://biorelevant.com/fassif-fessif-fassgf/how-to-make/>) và được lấy mẫu ở tám thời điểm (T = 5 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 3 giờ, 5 giờ, và 7 giờ). Phân tích các mẫu đối với hợp chất có công thức (1) nồng độ bằng phương pháp HPLC-UV.

Đối với các dạng chế phẩm 7-1 và 7-2, khoảng 65% hợp chất có công thức (1) vẫn được hòa tan sau 30 phút pha loãng trong FaSSGF. Ở bước pha loãng tiếp theo, khi đưa vào FaSSIF, lượng hợp chất được hòa tan vẫn còn khoảng 50% cho đến 3 giờ và sau đó giảm dần. Ngoại suy từ các kết quả của nghiên cứu pha loãng này với “trường hợp pha loãng ở người”, mong đợi rằng >60% của liều 1000mg hợp chất có công thức (1) sẽ hòa tan trong dạng chế phẩm 7-1 hoặc dạng chế phẩm 7-2 (tức là khoảng 600mg) và sẽ vẫn còn trong dung dịch khi vào dạ dày.

Đối với dạng chế phẩm 7-3, sau 30 phút pha loãng trong FaSSGF khoảng 33% được chất vẫn còn được hòa tan. Ở bước pha loãng tiếp theo, khi đưa vào FaSSIF, lượng được chất vẫn còn được hòa tan ở mức khoảng 27% cho đến 3 giờ và sau đó giảm dần. Ngoại suy từ các kết quả của nghiên cứu pha loãng này với “trường hợp pha loãng ở người”, mong đợi rằng >30% của liều 1000mg sẽ hòa tan trong dạng chế phẩm 7-3 (tức là khoảng 300mg) và sẽ vẫn còn trong dung dịch khi vào dạ dày.

Đối với dạng chế phẩm 7-4, sau 30 phút pha loãng trong FaSSGF khoảng 30% của dược chất vẫn còn được hòa tan. Ở bước pha loãng tiếp theo, khi đưa vào FaSSIF, lượng dược chất vẫn còn được hòa tan ở mức khoảng 24% cho đến 3 giờ và sau đó giảm dần. Ngoại suy từ các kết quả của nghiên cứu pha loãng này với “trường hợp pha loãng ở người”, mong đợi rằng >30% của liều 1000mg sẽ hòa tan trong dạng chế phẩm 7-4 (tức là khoảng 300mg) và sẽ vẫn còn trong dung dịch khi vào dạ dày.

Đối với dạng chế phẩm 7-5, sau 30 phút pha loãng trong FaSSGF khoảng 2% của dược chất vẫn còn được hòa tan. Ở bước pha loãng tiếp theo, khi đưa vào FaSSIF, lượng dược chất vẫn còn được hòa tan ở mức khoảng 2%.

Đối với dạng chế phẩm 7-6, sau 30 phút pha loãng trong FaSSGF khoảng 17% của dược chất vẫn còn được hòa tan. Ở bước pha loãng tiếp theo, khi đưa vào FaSSIF, lượng dược chất vẫn còn được hòa tan ở mức khoảng 11%.

Dạng chế phẩm 7-6 được phát hiện là đặc biệt có lợi. Dạng giả dược (tức là chỉ riêng chất dẫn thuốc và không có mặt hợp chất có công thức (1)) của dạng chế phẩm này ban đầu tạo thành một chất lỏng trong suốt có chứa một số chất lắng cặn nhưng chất lắng này được hòa tan lại bằng cách gia nhiệt đến 50°C và chất lỏng vẫn trong suốt không có chất lắng cặn hoặc bị vẩn đục sau 24 và 96 giờ. Dạng hoạt tính của dạng chế phẩm 7-6 có chứa 100mg/mL của hợp chất có công thức (1) tạo thành một dung dịch trong suốt mà vẫn ở dạng chất lỏng trong suốt không có kết tủa hoặc hoặc dung dịch không bị vẩn đục sau 24 và 192 giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Ví dụ 8

Hoạt tính sinh học

Ví dụ 8A - Thử nghiệm ức chế ERK2 *In vitro*

Hoạt tính ức chế của các hợp chất theo sáng chế được xác định sử dụng quy trình thao tác chuẩn được nêu dưới đây.

Hoạt tính của enzyme ERK2 (Life Technologies) được xác định bằng cách sử dụng phổ huỳnh quang phân giải theo thời gian đo mức phosphoryl hóa của dạng cấu trúc bị cắt bớt của Yếu tố phiên mã hoạt hóa 2 được đánh dấu bằng protein huỳnh quang màu xanh lá cây (ATF2-GFP) (Life Technologies). Các phản ứng trong thử nghiệm chứa Tris 50mM độ pH 7,5, MgCl₂ 10mM, EGTA 1mM, Triton X-100 0,01%, DTT 1mM, DMSO

2,5%, ATF2-GFP 0,4 μ M, ATP 20 μ M và ERK2 0,25 nM được thiết lập với sự có mặt của hợp chất và được cho tiến hành trong 30 phút tại nhiệt độ trong phòng. Sau đó, làm dừng các phản ứng bằng cách sử dụng chất đệm pha loãng TR-FRET (Life Technologies), EDTA 25mM và Tb-Kháng-pATF2 (Tb-Anti-pATF2) 2 nM (Thr71) (Life Technologies). Sau khi ủ thêm trong khoảng thời gian ít nhất 30 phút, đọc giá trị phổ huỳnh quang trên máy đọc Pherastar (modun quang Lanthascreen; bước sóng kích thích 340nm, bước sóng phát xạ 520nm (kênh A), 495nm (kênh B)). Tỷ lệ giữa tổng số A và B được sử dụng để tính toán tín hiệu. Các trị số IC₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng phương trình đáp ứng liều sigma (Phần mềm Prism GraphPad, La Jolla, CA, Mỹ).

Trong các thử nghiệm sử dụng ERK2, hợp chất có công thức (1) có giá trị IC₅₀ là 0,0027 μ M.

Ví dụ 8B - Hoạt tính chống tăng sinh

Hoạt tính chống tăng sinh của các hợp chất theo sáng chế được xác định bằng cách đo khả năng hợp chất có công thức (1) ức chế sự sinh trưởng ở dòng tế bào u melanin A375 ở người.

Sự tăng sinh tế bào được xác định bằng cách đo sự đổi màu của resazurin (thuốc thử Alamar blue) thành resorufin đáp ứng hoạt tính của ty thể (Nociari, M. M, Shalev, A., Benias, P., Russo, C. *Journal of Immunological Methods* 1998, 213, 157-167). Các tế bào A375 (American Type Culture Collection, Teddington, UK) được sinh trưởng trong Môi trường Eagle được cải biến theo Dulbecco + FBS 10%. Mỗi giếng trong đĩa đáy phẳng 96 giếng màu đen được gieo bởi 2 x 10³ tế bào trong 200 μ L môi trường nuôi cấy hoàn chỉnh một ngày trước khi xử lý hợp chất. Ủ các tế bào cùng với hợp chất trong dimetyl sulfoxit (DMSO) 0,1% (thể tích/thể tích) trong 4 ngày trước khi bổ sung 20 μ L thuốc thử Alamar blue. Sau khi ủ thêm 6 giờ tại 37°C đọc đĩa trên máy đọc đĩa Spectramax Gemini (Molecular Devices; bước sóng kích thích 535nm, bước sóng phát xạ 590nm). Các trị số GI₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng phương trình đáp ứng liều sigma (Phần mềm Prism GraphPad, La Jolla, CA, Mỹ).

Trong các thử nghiệm sử dụng các tế bào A375, hợp chất có công thức (1) có giá trị GI₅₀ là 0,0034 μ M.

Quy trình thao tác kết hợp đối với sự tăng sinh tế bào

Hiệu quả của hợp chất có công thức (1) (Hợp chất I) kết hợp với tác nhân chống ung thư (Hợp chất II) có thể được đánh giá bằng kỹ thuật sau. Các dòng tế bào ung thư ở người (ví dụ như A375) được gieo trên các đĩa nuôi cấy mô 96 giếng tại nồng độ $2 \times 10^3 - 4 \times 10^3$ tế bào/giếng. Cho phép thu hồi các tế bào trong khoảng 16-24 giờ trước khi bổ sung (các) hợp chất hoặc mẫu đối chứng DMSO (DMSO 0,1-0,5%). Ủ các tế bào cùng với hợp chất trong dimethyl sulfoxit (DMSO) 0,1% - 0,5% (thể tích/thể tích) trong khoảng 72-96 giờ, trước khi bổ sung 20 μ L thuốc thử Alamar blue. Sau khi ủ thêm 6 giờ tại 37°C, đọc đĩa trên máy đọc đĩa Spectramax Gemini (Molecular Devices; bước sóng kích thích 535nm, bước sóng phát xạ 590nm). Các trị số GI₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng phương trình đáp ứng liều sigma (Phần mềm Prism GraphPad, La Jolla, CA, Mỹ). Xác định trị số GI₅₀ đối với Hợp chất II với sự có mặt các liều khác nhau của Hợp chất I. Tính hiệp đồng được xác định khi giá trị GI₅₀ dịch chuyển xuống dưới với sự có mặt của các liều dưới mức hiệu quả của Hợp chất I. Tính cộng tính được xác định khi sự đáp ứng với Hợp chất II và Hợp chất I cùng nhau tạo thành hiệu quả tương đương với tổng hiệu quả của hai hợp chất riêng lẻ. Các hiệu quả đối kháng được định nghĩa là hiệu quả làm cho giá trị GI₅₀ dịch chuyển lên trên, tức là hiệu quả mà trong đó sự đáp ứng với hai hợp chất là nhỏ hơn so với tổng hiệu quả của hai hợp chất này.

Ví dụ 9: Các dạng dược phẩm

(i) Dạng chế phẩm viên nén

Chế phẩm dạng viên nén chứa hợp chất có công thức (1) được bào chế bằng cách trộn một lượng vừa đủ của hợp chất (ví dụ 50-250mg) với chất pha loãng, chất làm phân rã, tác nhân nén và/hoặc chất chảy trượt thích hợp. Một viên nén có thể đạt được chứa 50mg hợp chất cùng với 197mg lactoza (BP) là chất pha loãng, và 3mg magiê stearat là chất bôi trơn và ép để tạo thành một viên nén theo cách đã biết. Viên nén đã được ép này có thể tùy ý được bao phim.

(ii) Dạng chế phẩm viên nang

Dạng chế phẩm viên nang được bào chế bằng cách trộn 100-250mg (ví dụ 100mg) hợp chất có công thức (1) với một lượng tương đương của lactoza (ví dụ 100mg) và làm đầy hỗn hợp thu trong các viên nang gelatin cứng cân quang theo tiêu chuẩn. Chất làm phân rã và/hoặc chất chảy trượt thích hợp có thể được đưa vào với các lượng vừa đủ theo yêu cầu.

(iii) Dạng chế phẩm tiêm I

Chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa bằng cách tiêm có thể được bào chế bằng cách hoà tan hợp chất có công thức (1) (ví dụ ở dạng muối) trong nước chứa propylen glycol 10% để tạo ra nồng độ của hợp chất hoạt tính là 1,5% theo khối lượng. Sau đó, dung dịch này được khử trùng bằng cách lọc, đổ đầy trong ống tiêm ampun và đóng kín lại. Tùy ý, dung dịch này có thể được làm đẳng trương trước khi khử trùng.

(iv) Dạng chế phẩm tiêm II

Chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa để tiêm được bào chế bằng cách hoà tan trong nước hợp chất có công thức (1) (ví dụ ở dạng muối) (2mg/mL) và manitol (50mg/mL), lọc vô trùng dung dịch này và đổ đầy trong các lọ nhỏ cỡ 1mL đóng kín hoặc các ống tiêm ampun hoặc bơm tiêm đóng sẵn thuốc.

(v) Dạng chế phẩm tiêm III

Dạng chế phẩm để truyền tĩnh mạch bằng cách tiêm hoặc truyền có thể được bào chế bằng cách hòa tan hợp chất có công thức (1) (ví dụ ở dạng muối) trong nước ở mức 20mg/mL và sau đó tùy ý được điều chỉnh độ đẳng trương. Sau đó, lọ được đóng kín và khử trùng bằng nồi hấp. Theo cách khác, dạng chế phẩm này có thể được đổ đầy trong ống tiêm ampun hoặc lọ nhỏ hoặc bơm tiêm đóng sẵn thuốc, được khử trùng bằng cách lọc và đóng kín.

(vi) Dạng chế phẩm tiêm IV

Dạng chế phẩm để truyền tĩnh mạch bằng cách tiêm hoặc truyền có thể được bào chế bằng cách hòa tan hợp chất có công thức (1) (ví dụ ở dạng muối) trong nước chứa chất đệm (ví dụ axetat 0,2 M độ pH 4,6) ở mức 20mg/mL. Sau đó, lọ được đóng kín và khử trùng bằng nồi hấp. Theo cách khác, bơm tiêm đóng sẵn thuốc sau đó được đóng kín và được khử trùng bằng nồi hấp hoặc được khử trùng bằng cách lọc và đóng kín.

(vii) Dạng chế phẩm tiêm dưới da hoặc trong cơ

Chế phẩm để dùng dưới da (hoặc trong cơ) được bào chế bằng cách trộn hợp chất có công thức (1) cùng với dầu ngô loại dùng cho dược phẩm để tạo ra nồng độ 5-50mg/mL (ví dụ 5mg/mL). Chế phẩm này được khử trùng và đổ đầy trong một vật chứa thích hợp.

(viii) Dạng chế phẩm đông khô

Các phần phân ước của hợp chất có công thức (1) đã được bào chế được đặt trong các lọ nhỏ cỡ 50mL và được làm đông khô. Trong quy trình làm đông khô, các chế phẩm được làm đông lạnh bằng cách sử dụng quy trình làm khô lạnh một bước tại (-45°C) Nhiệt độ được nâng lên -10°C để gắn mỗi, sau đó được giảm tới nhiệt độ đông lạnh tại -45°C, tiếp đó là bước làm khô sơ cấp tại +25°C trong khoảng 3400 phút, sau đó là bước làm khô thứ cấp với các bước tăng thêm nếu nhiệt độ đến 50°C. Áp suất trong quy trình làm khô sơ cấp và thứ cấp được đặt tại 80 militorr.

(ix) Dạng chế phẩm đông khô II

Các phần phân ước của hợp chất có công thức (1) hoặc muối của nó đã được bào chế được đặt trong các lọ nhỏ cỡ 50mL và được làm đông khô. Trong quy trình làm đông khô, các chế phẩm được làm đông lạnh bằng cách sử dụng quy trình làm khô lạnh một bước tại (-45°C) Nhiệt độ được nâng lên -10°C để gắn mỗi, sau đó được giảm tới nhiệt độ đông lạnh tại -45°C, tiếp đó là bước làm khô sơ cấp tại +25°C trong khoảng 3400 phút, sau đó là bước làm khô thứ cấp với các bước tăng thêm nếu nhiệt độ đến 50°C. Áp suất trong quy trình làm khô sơ cấp và thứ cấp được đặt tại 80 militorr.

(x) Dạng chế phẩm đông khô để dùng qua đường tĩnh mạch III

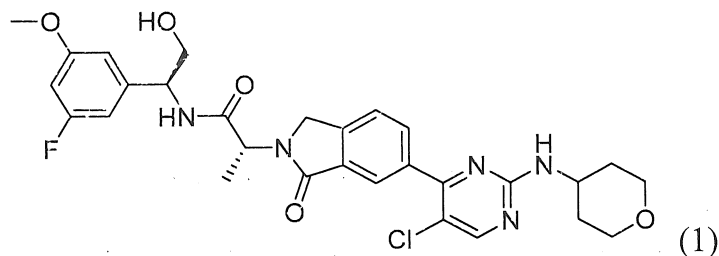
Dung dịch đậm chứa nước được điều chế bằng cách hòa tan hợp chất có công thức (1) trong chất đậm. Dung dịch đậm được đổ đầy, bằng cách lọc để loại bỏ hạt vật chất, vào trong một vật chứa (như lọ thủy tinh Loại 1) mà sau đó được đóng kín một phần (ví dụ như bằng nút Flotec). Nếu hợp chất và dạng chế phẩm là đủ ổn định, dạng chế phẩm này được khử trùng bằng cách hấp ở 121°C trong một khoảng thời gian thích hợp. Nếu dạng chế phẩm này không ổn định để hấp khử trùng, nó có thể được khử trùng bằng cách sử dụng một bộ lọc phù hợp và được đổ đầy dưới các điều kiện vô trùng trong các lọ vô trùng. Dung dịch được làm đông khô sử dụng một chu trình phù hợp. Sau khi hoàn thành chu trình làm đông khô, các lọ được làm đầy trở lại với nitơ đến mức áp suất khí quyển, đóng nút và gia cố (ví dụ bằng nhôm uốn). Để dùng qua đường tĩnh mạch, chất rắn được làm khô lạnh có thể được hoàn nguyên bằng chất pha loãng được dụng, như nước muối 0,9% hoặc dextroza 5%. Dung dịch này có thể được định lượng dưới dạng là, hoặc có thể được pha loãng thêm vào một túi truyền (chứa chất pha loãng được dụng, như nước muối 0,9% hoặc dextroza 5%), trước khi dùng.

(xii) Bột trong chai

Chế phẩm dùng đường uống được bào chế bằng cách đổ đầy vào chai hoặc lọ với hợp chất của công thức (1). Sau đó chế phẩm này được hoàn nguyên bằng chất pha loãng thích hợp ví dụ như nước, nước trái cây, hoặc chất dẫn có sẵn trên thị trường như OraSweet hoặc Syrspend. Dung dịch được hoàn nguyên có thể được đưa vào các cốc định lượng hoặc các ống tiêm qua miệng để sử dụng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, có công thức (1):



hoặc dạng hỗn biến của nó.

2. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 55%.

3. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 60%.

4. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 70%.

5. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 80%.

6. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 90%.

7. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 95%.

8. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 98% .

9. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 99% .

10. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 99,5% .

11. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 1, tinh thể này kết tinh ít nhất 99,9% .

12. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ 14,0° và/hoặc 20,6° và/hoặc 24,0° và/hoặc 24,2° ($\pm 0,2^\circ$).

13. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit có mẫu nhiễu xạ bột tia X được đặc trưng bởi sự có mặt của các đỉnh chính ở các góc nhiễu xạ và khoảng cách giữa các mặt phẳng được nêu trong Bảng A:

Bảng A	
Góc nhiễu xạ (°)	Cường độ tương đối
14,0	100
20,6	85
24,0	74
24,2	71

14. Tinh thể của (2R)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-2-yl)-N-[(1S)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit theo điểm 4 trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X còn được đặc trưng bởi sự có mặt của một

hoặc nhiều đỉnh khác ở các góc nhiễu xạ và khoảng cách giữa các mặt phẳng được nêu trong bảng B.

Bảng B	
Góc nhiễu xạ (°)	Cường độ tương đối
8,8	23
13,0	23
13,8	39
14,4	20
17,3	22
19,3	36
21,3	45
28,7	22

15. Tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit mà thể hiện hiện tượng thu nhiệt có nhiệt độ bắt đầu nằm trong khoảng từ 100°C đến 110°C khi được đưa vào quy trình đo nhiệt lượng quét vi sai.

16. Tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit mà thể hiện hiện tượng thu nhiệt có nhiệt độ bắt đầu nằm trong khoảng từ 101°C đến 108°C khi được đưa vào quy trình đo nhiệt lượng quét vi sai.

17. Tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit mà thể hiện hiện tượng thu nhiệt có một đỉnh nằm trong khoảng nhiệt độ từ 110°C đến 125°C khi được đưa vào quy trình đo nhiệt lượng quét vi sai.

18. Tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphe-nyl)-2-hydroxyetyl]propanamit mà thể hiện hiện tượng thu nhiệt có một đỉnh nằm trong khoảng nhiệt độ từ 111°C đến 113°C khi được đưa vào quy trình đo nhiệt lượng quét vi sai.

19. Tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit mà thể hiện sự giảm trọng lượng trong khoảng nhiệt độ từ 85°C đến 130°C khi được đưa vào quy trình phân tích nhiệt trọng.

20. Tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit mà thể hiện sự giảm trọng lượng trong khoảng nhiệt độ từ 90 đến 120°C khi được đưa vào quy trình phân tích nhiệt trọng.

21. Tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 20, tinh thể này là hydrat.

22. Tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 20, tinh thể này là monohydrat.

23. Quy trình điều chế tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit; quy trình này bao gồm bước:

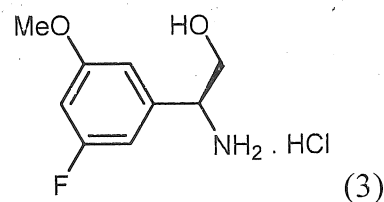
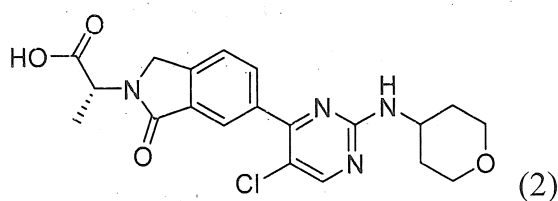
(i) tạo huyền phù chứa nước của muối cộng axit của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit và khuấy huyền phù này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 75°C trong khoảng thời gian đủ để cho phép xảy ra phản ứng dị ly của muối cộng axit và tạo thành dạng tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, và sau đó tách dạng tinh thể này; hoặc

(ii) tạo huyền phù chứa nước của dạng vô định hình của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, trong đó huyền phù chứa nước này không được tạo đệm hoặc được tạo đệm đến độ pH nằm trong khoảng từ 1,75 đến 7,25, và khuấy huyền phù chứa nước này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 55°C trong khoảng thời gian đủ để cho phép xảy ra sự chuyển hóa dạng vô định hình của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit thành dạng tinh thể của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, và sau đó tách dạng tinh thể này.

24. Muối hydroclorua, sulphat, napadisylat (naphtalen-1,5-disulphonat), edisylat (etandisulphonat), tosylat (p-toluensulphonat), mesylat (metansulphonat), napsylat (2-naphtalensulphonat), besylat (benzensulphonat), isethionat (2-hydroxyetansulphonat), esylat (etansulphonat) hoặc hydrobromua dạng vô định hình của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

25. Muối hydroclorua, sulphat, hydrobromua hoặc napadisylat dạng vô định hình của (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit.

26. Quy trình điều chế (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, quy trình này bao gồm bước cho hợp chất có công thức (2) phản ứng với hợp chất có công thức (3):

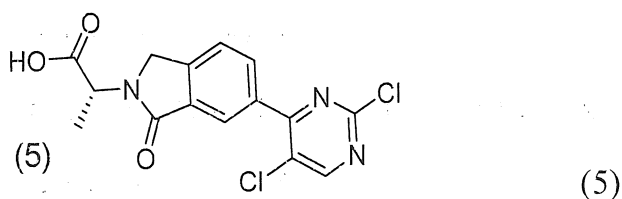


trong dung môi không proton khi có mặt bazơ amin bậc ba và tác nhân thúc đẩy liên kết amit trong đó tác nhân thúc đẩy liên kết amit được chọn từ *N,N,N',N'*-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat (HATU) và 1-etyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimmit (EDCI).

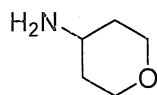
27. Quy trình theo điểm 26 trong đó bazơ amin bậc ba là diisopropyletylamin (DIPEA).

28. Quy trình điều chế (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxyphenyl)-2-hydroxyetyl]propanamit, quy trình này bao gồm bước:

a) cho hợp chất có công thức (5):

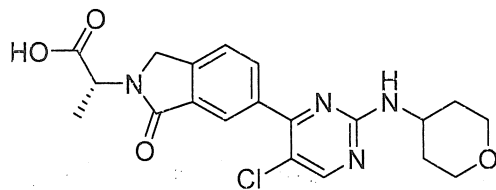


phản ứng với hợp chất có công thức (6)



(6)

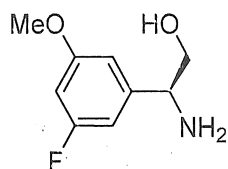
thu được hợp chất có công thức (2):



(2)

và:

b) cho hợp chất có công thức (2) phản ứng với hợp chất có công thức (3):



(3)

thu được hợp chất có công thức (1), và sau đó tùy ý tạo thành muối hoặc dạng tinh thể của nó.

29. Dược phẩm chứa (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit và chất dẫn thuốc được chọn từ:

- rượu C₂₋₄;

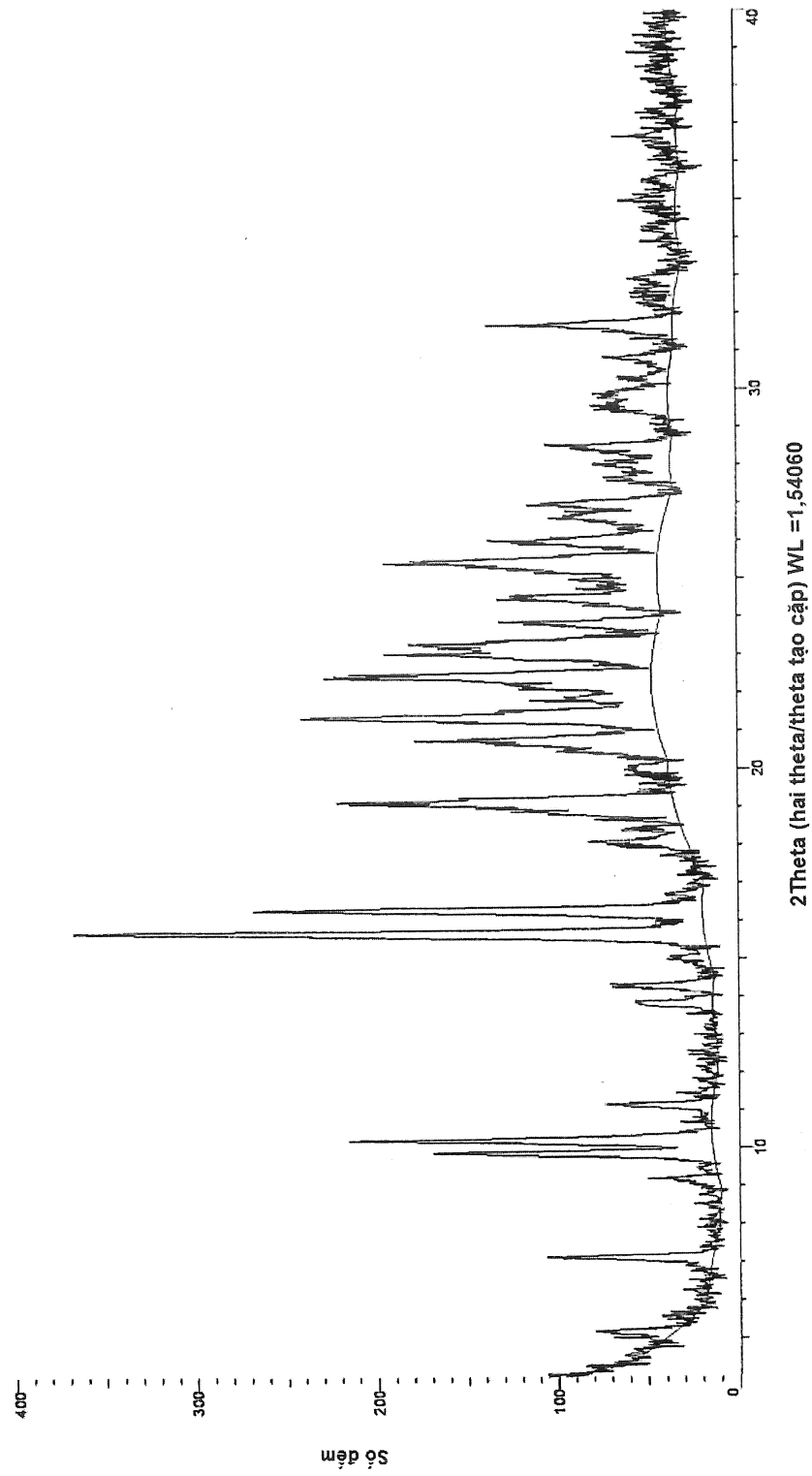
- hợp chất polyete;

- các mono-este của các axit béo mạch dài C₈ đến C₁₈ cùng với glyxerol hoặc propylen glycol;

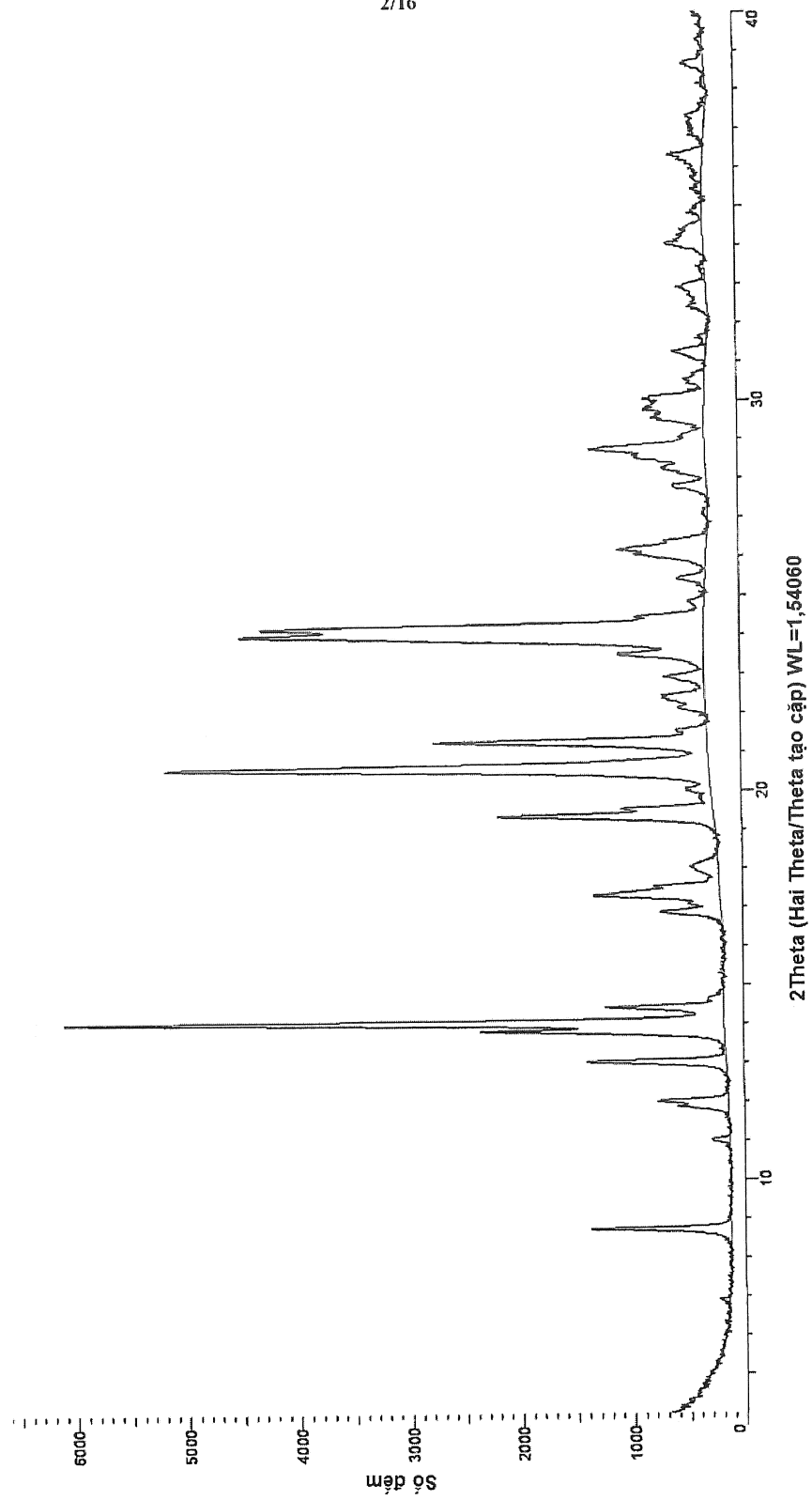
- các di- hoặc tri-glyxerit của các axit béo mạch dài C₈ đến C₁₀;

và các hỗn hợp của nó; và tùy ý chất hoạt động bề mặt không ion.

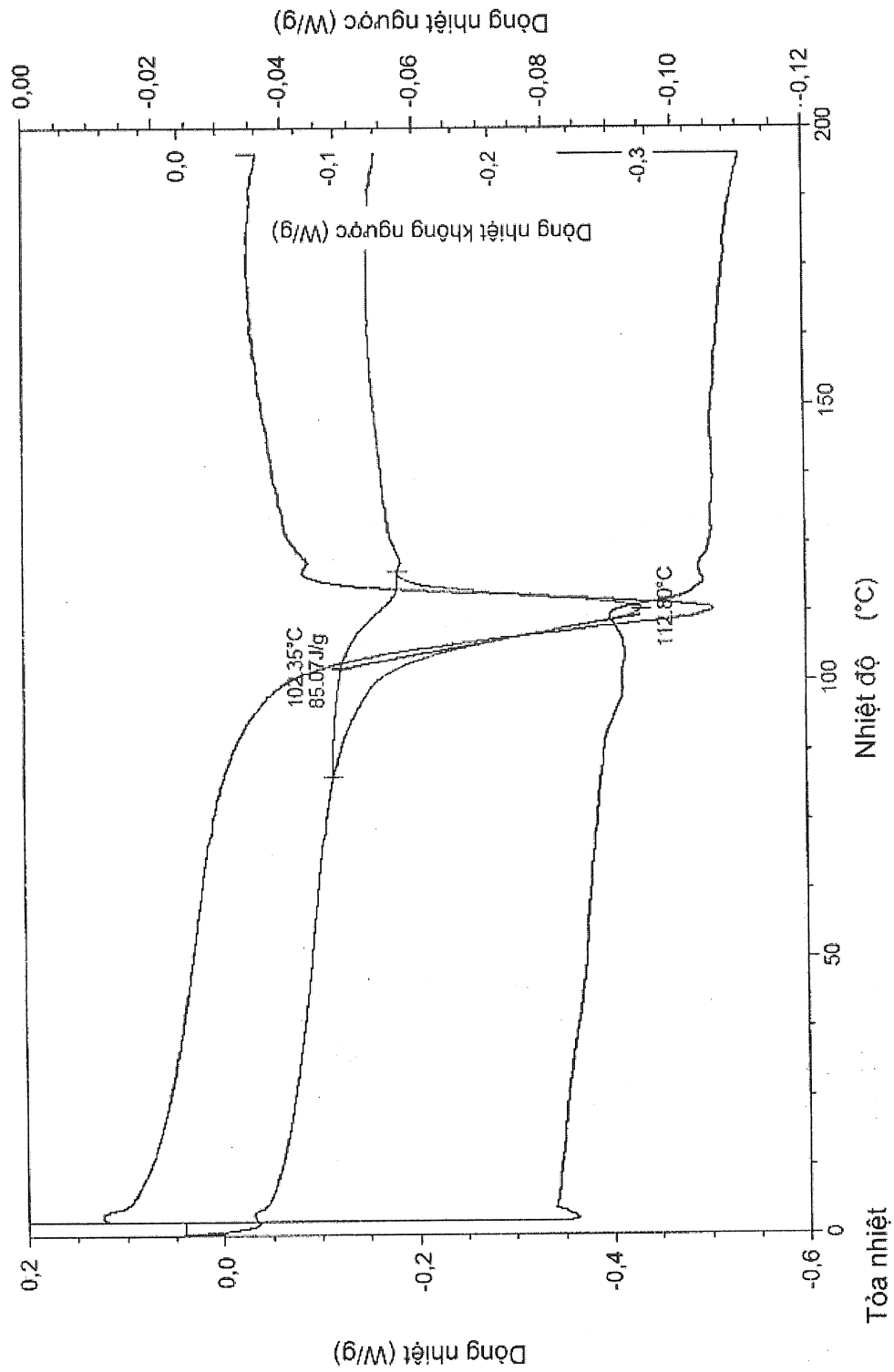
30. Hạt bao gồm (2*R*)-2-(6-{5-clo-2-[(oxan-4-yl)amino]pyrimidin-4-yl}-1-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[(1*S*)-1-(3-flo-5-metoxypheyl)-2-hydroxyetyl]propanamit có đường kính trung bình khối nằm trong khoảng từ 1µm đến 100µm.



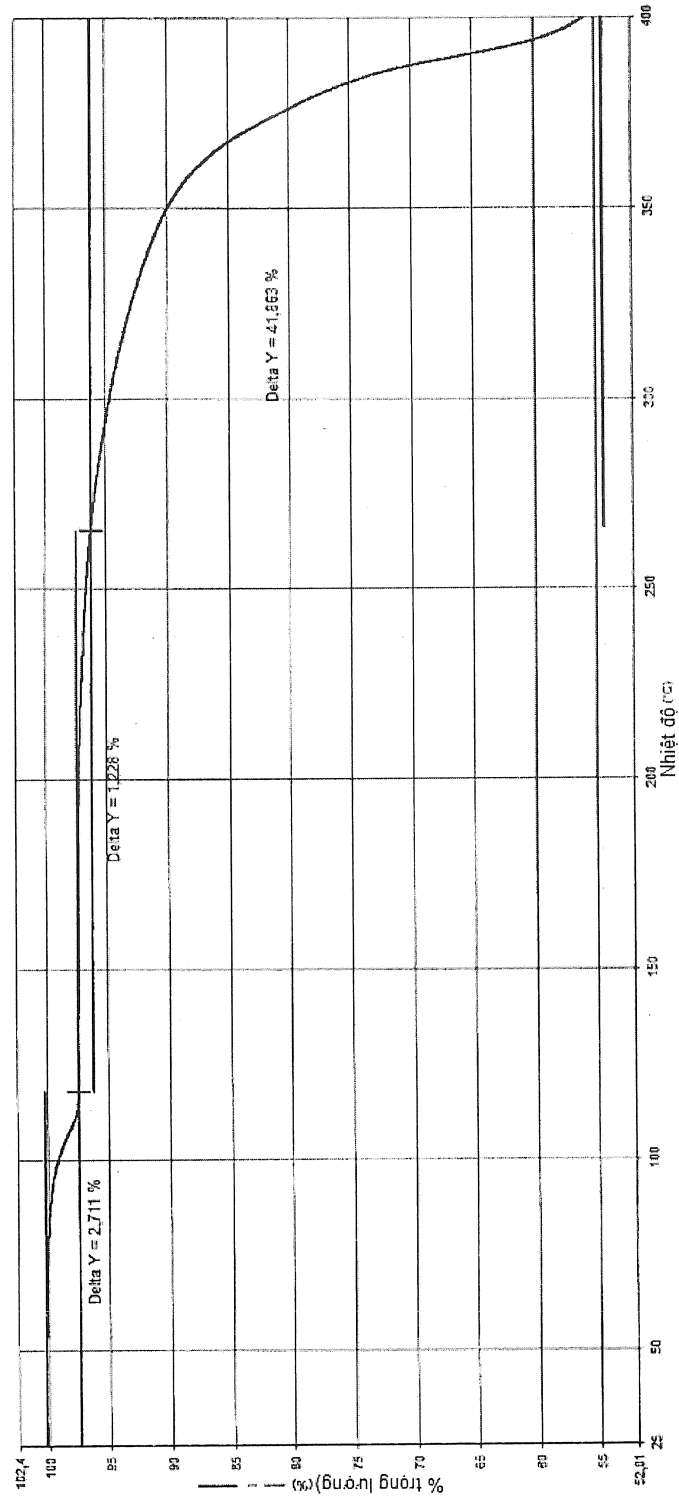
Hình 1



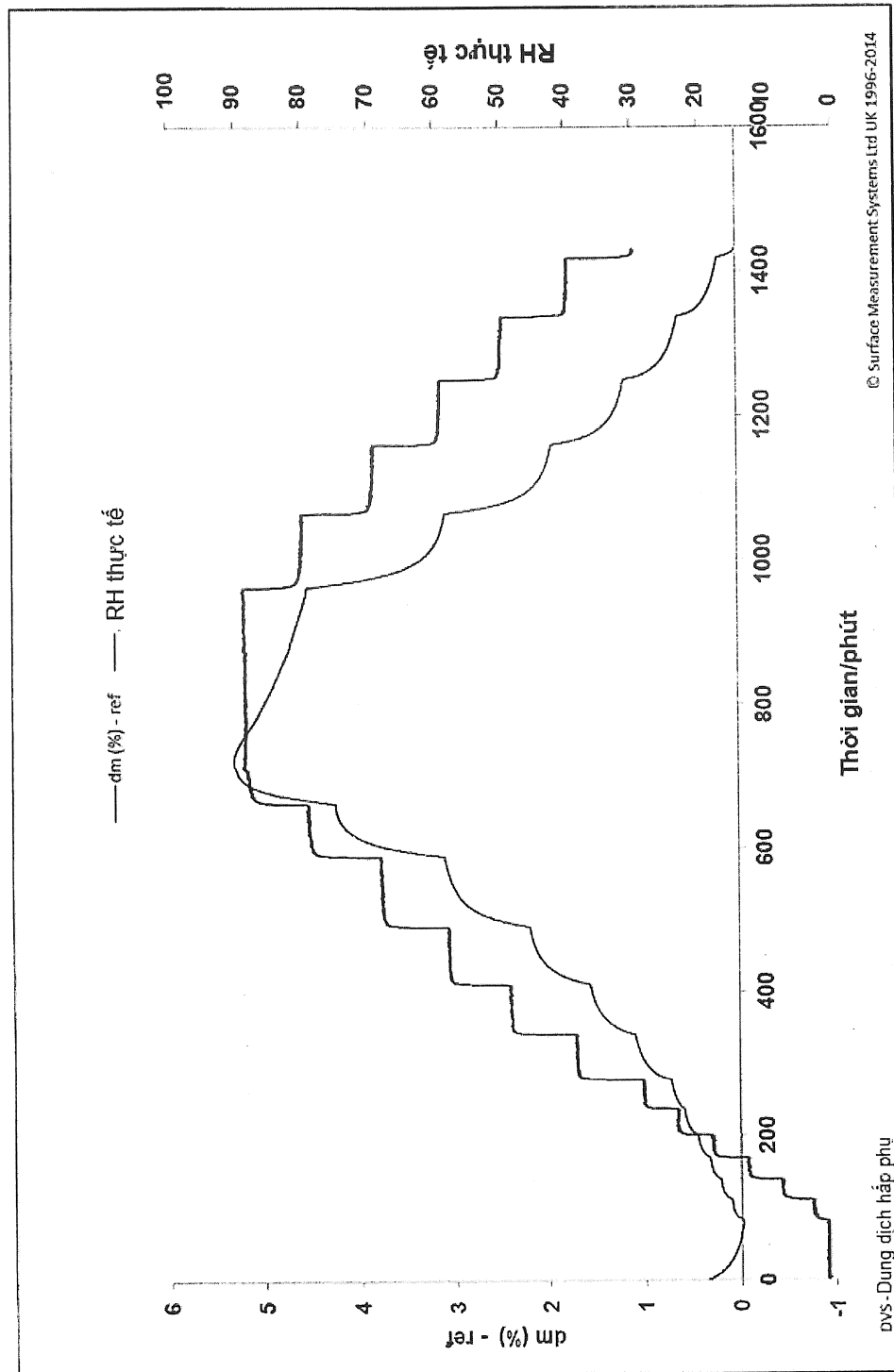
Hình 2



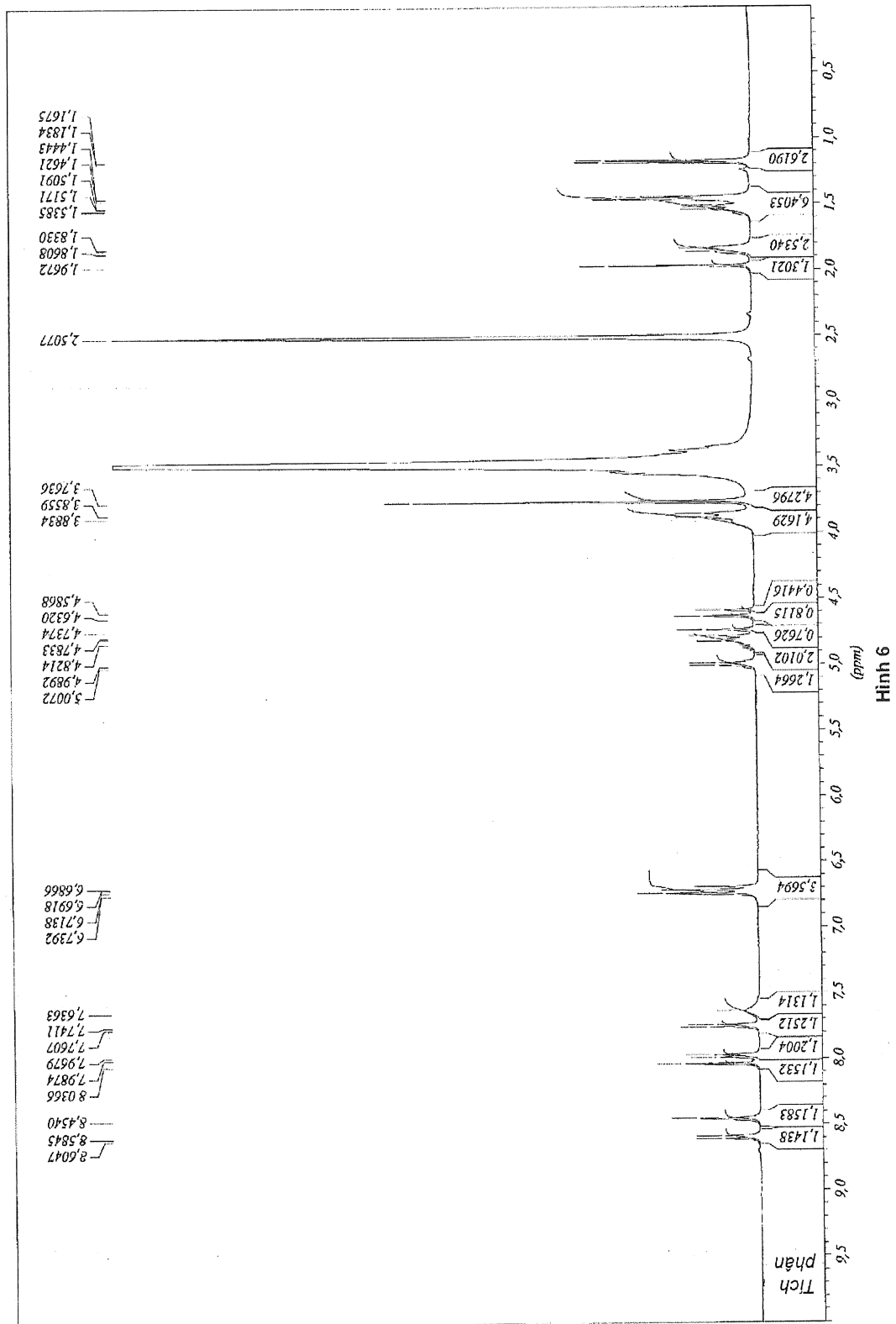
Hình 3

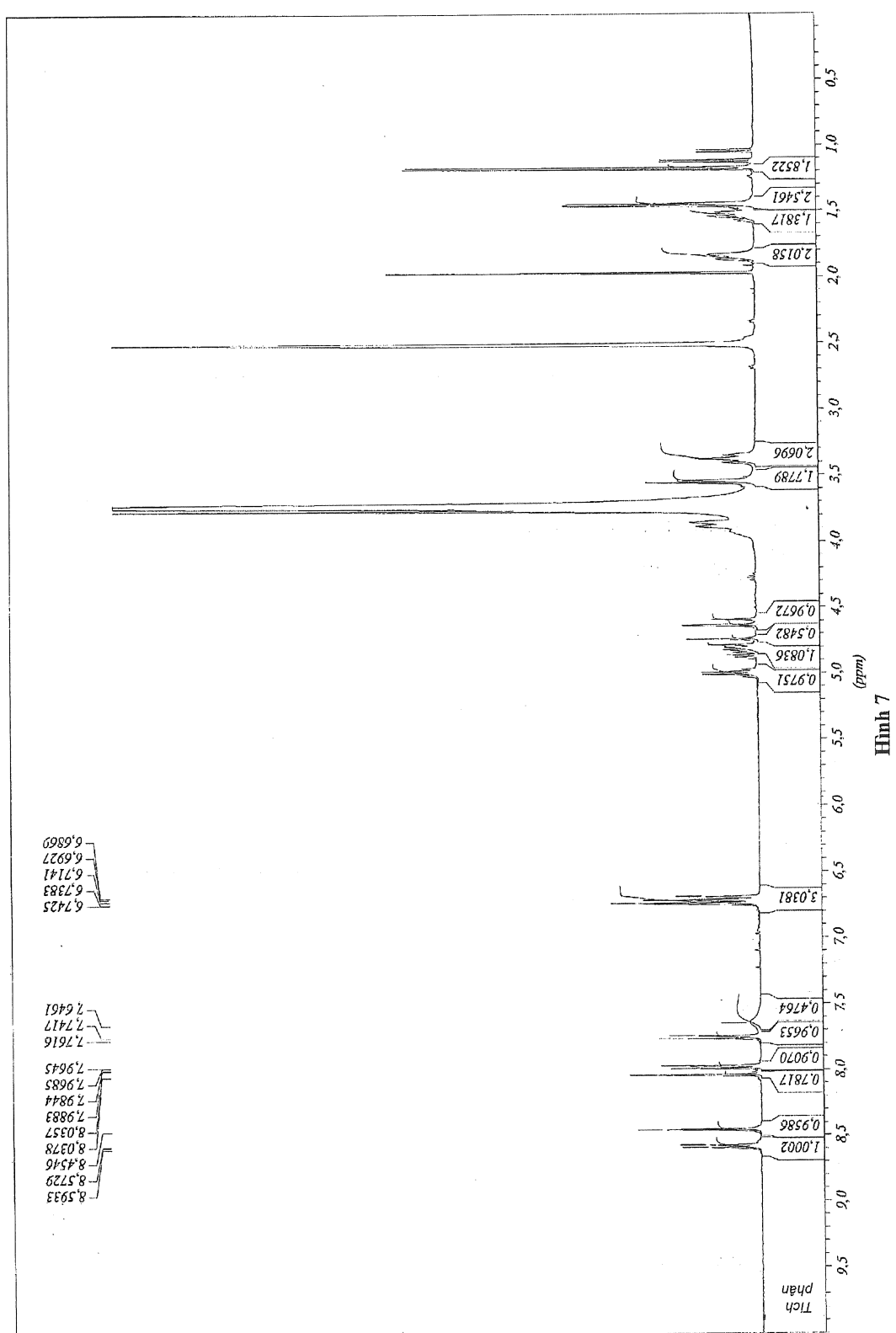


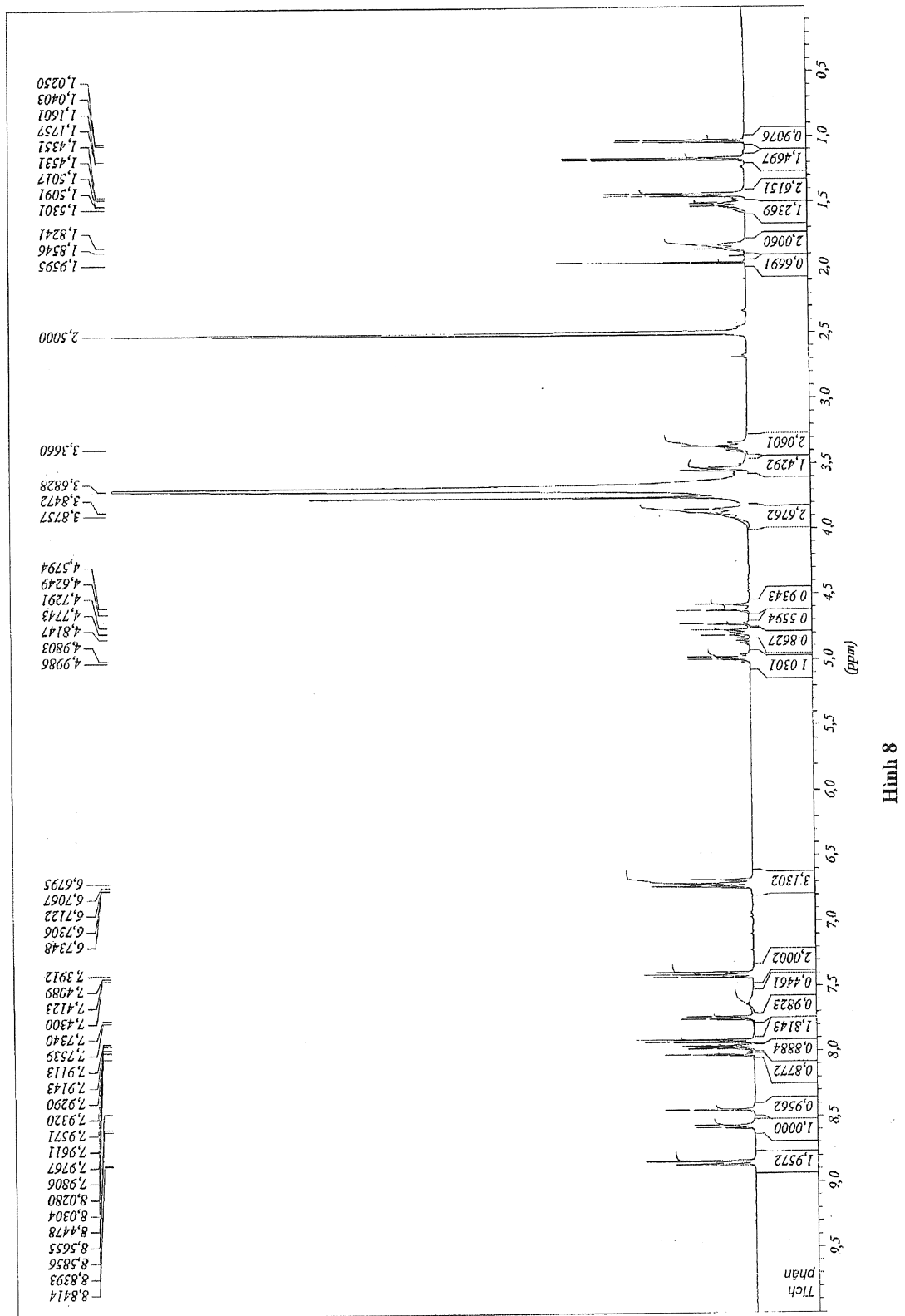
Hình 4

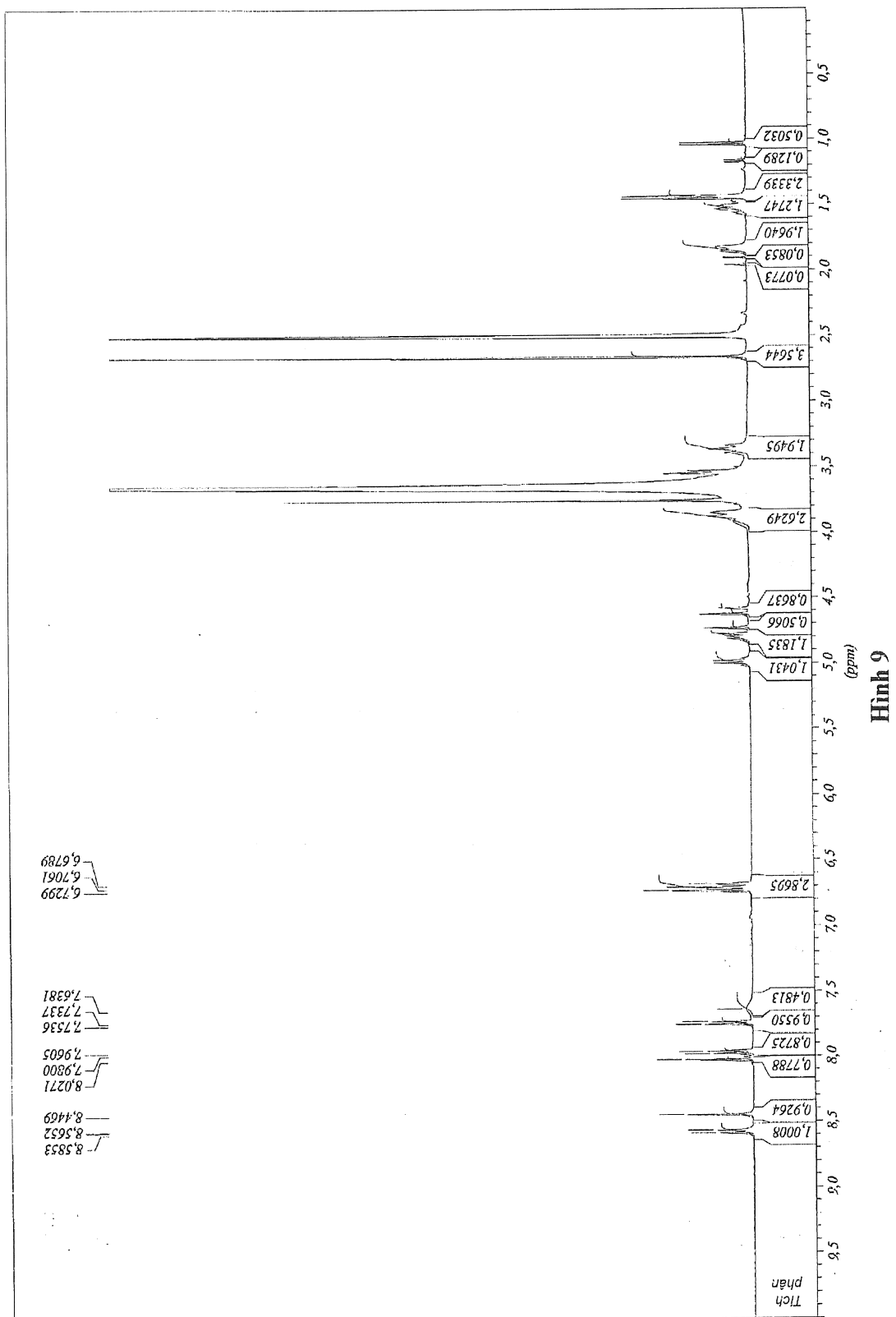


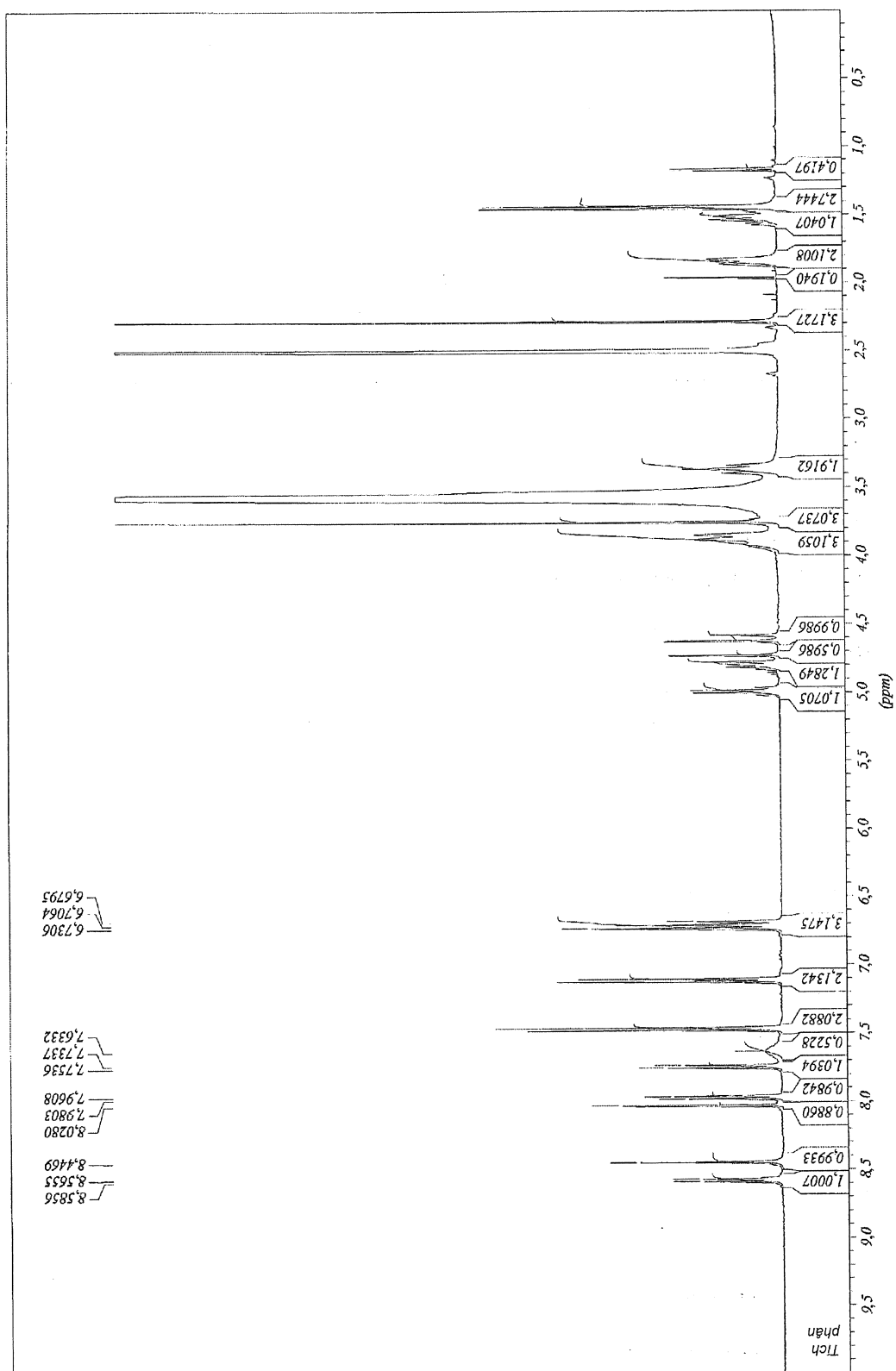
Hình 5





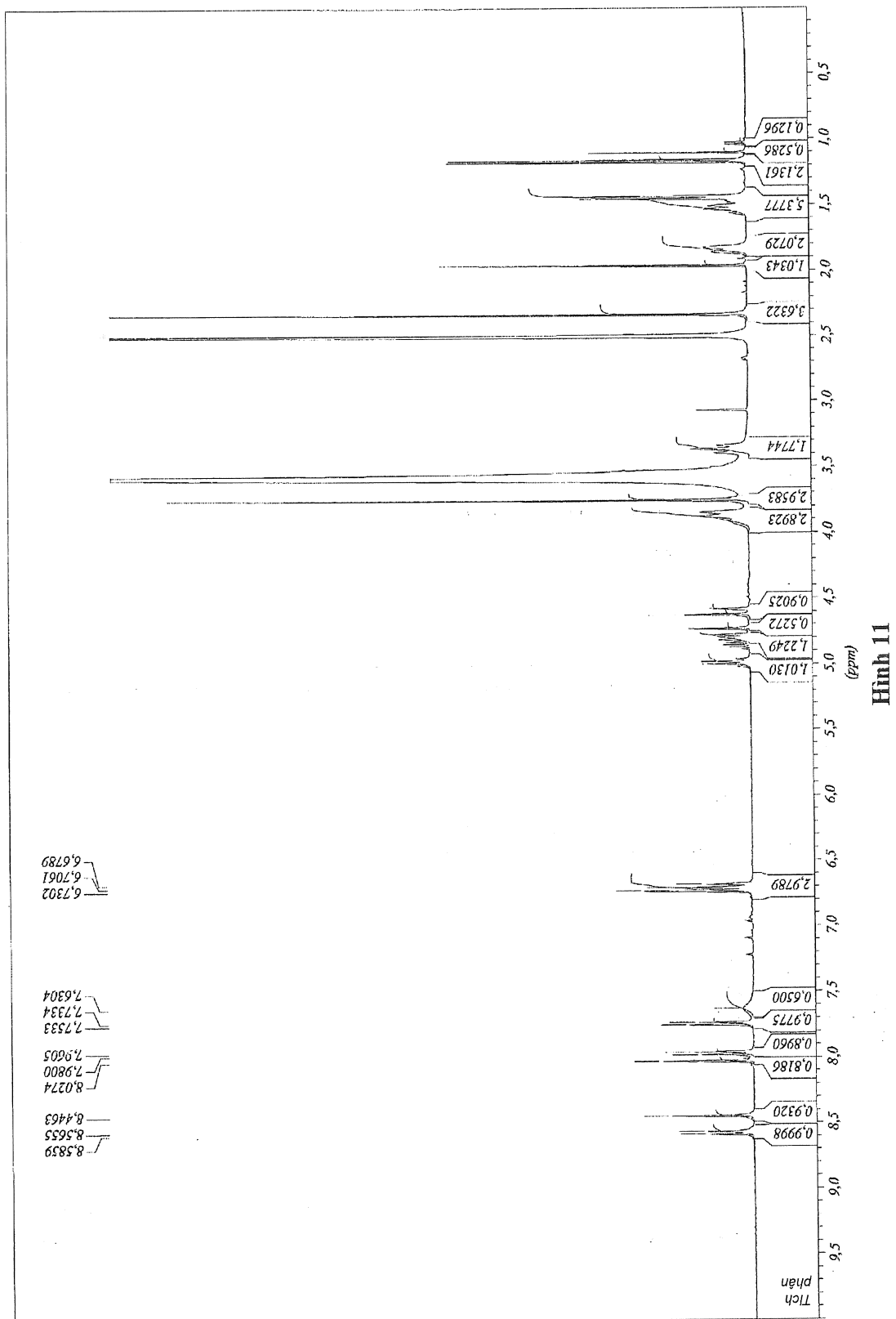


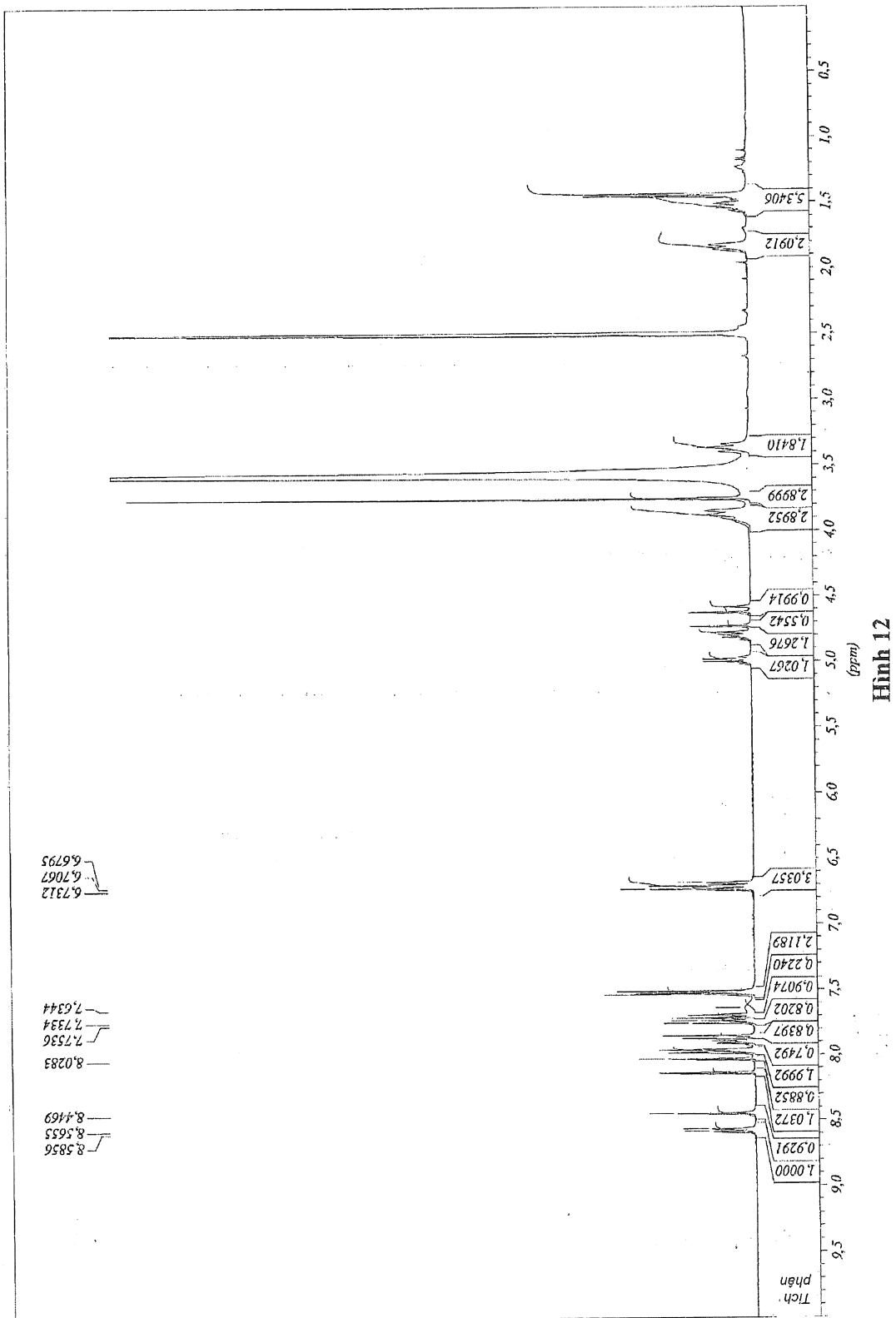


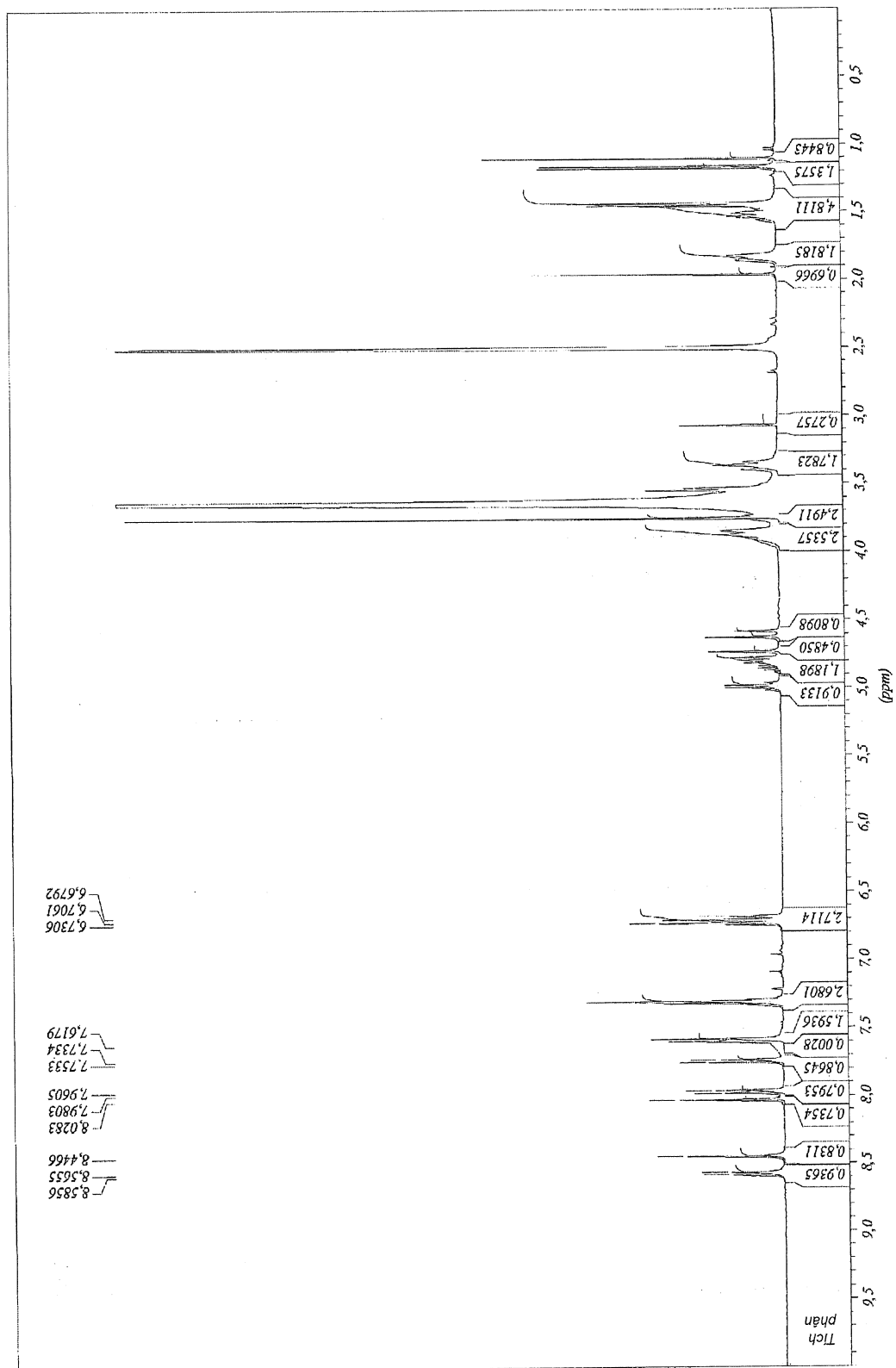


Hình 10

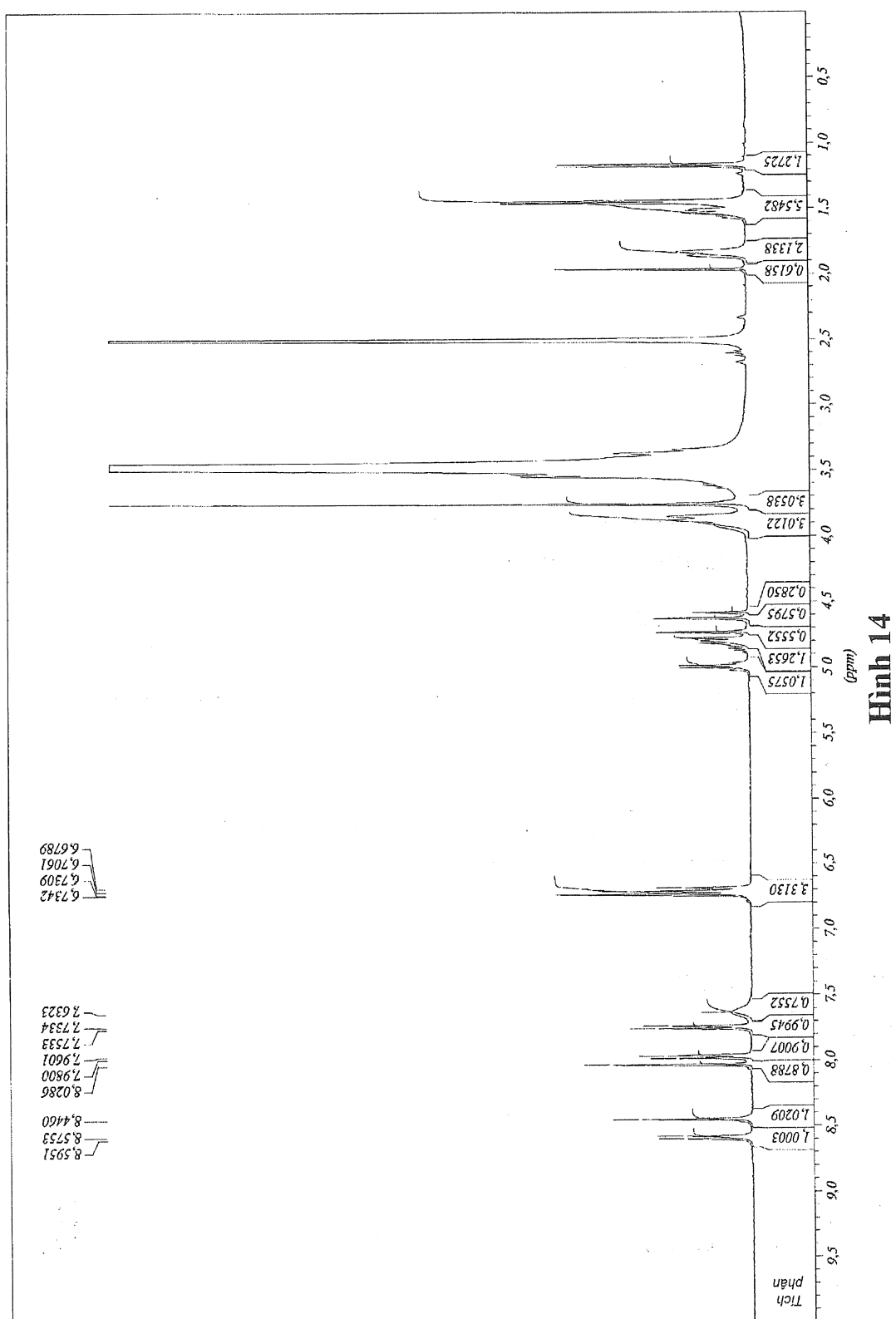
11/16

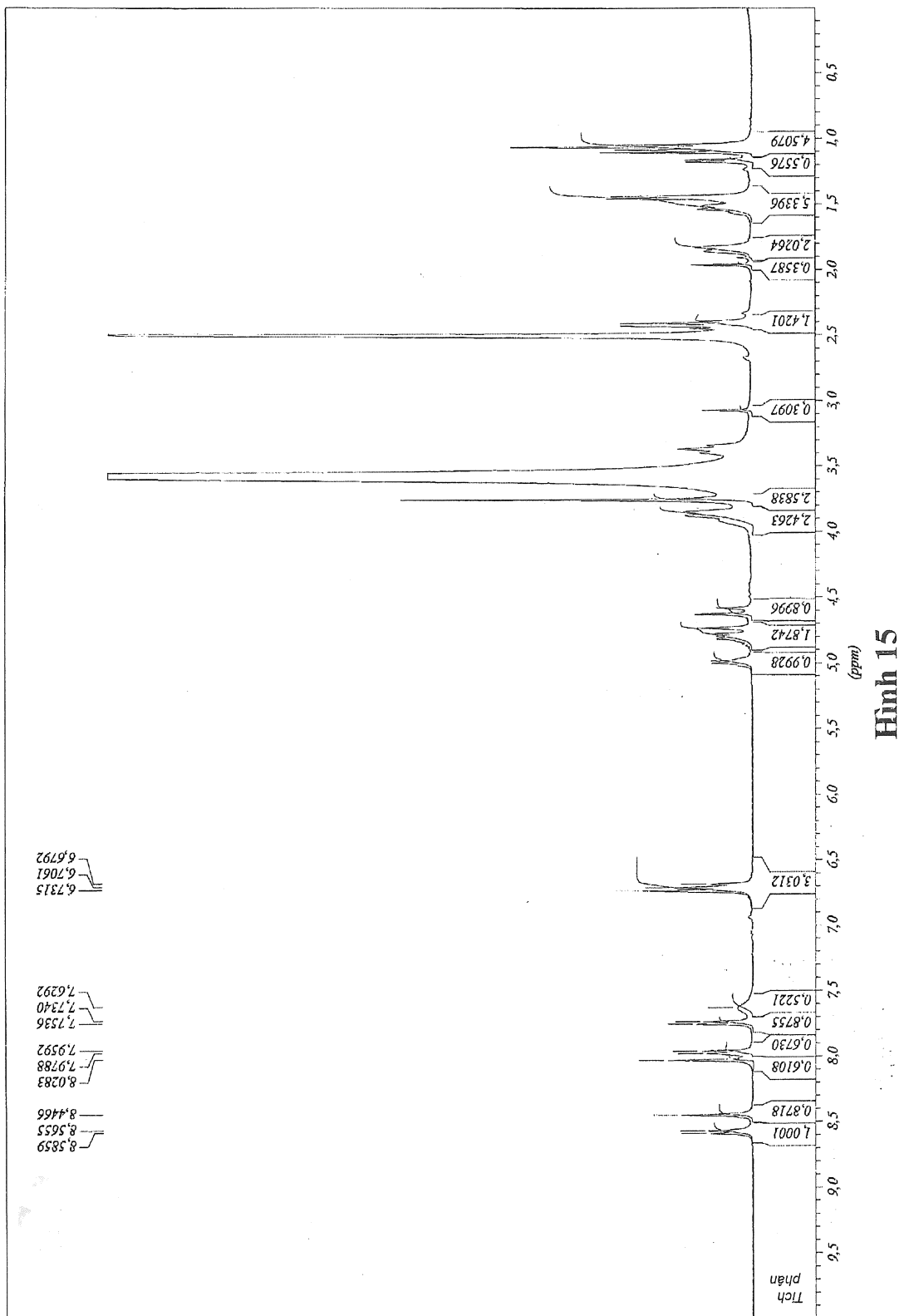




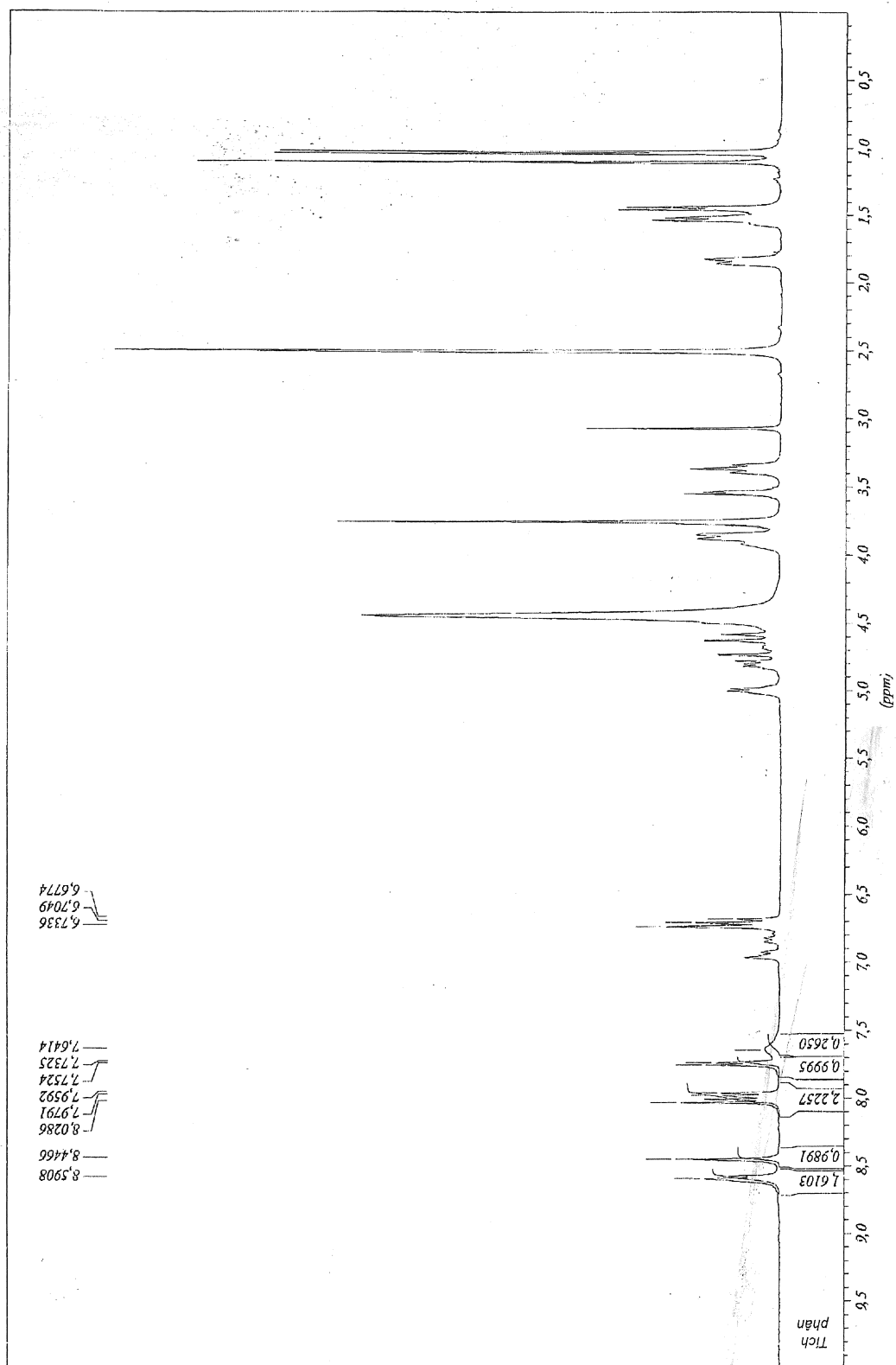


Hình 13





16/16



Hình 16