(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) **1-0043799**

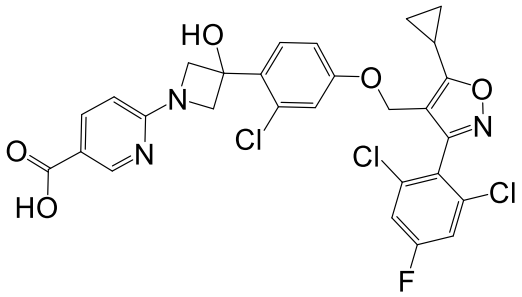
(51)[2020.01] **C07D 413/14**; A61K 31/422; A61P 1/16 (13) **B**

(21) 1-2021-04171
(22) 13/01/2020
(86) PCT/US2020/013319 13/01/2020
(87) WO2020/150136 23/07/2020
(30) 62/792,714 15/01/2019 US
(45) 25/03/2025 444
(43) 25/11/2021 404A
(73) Gilead Sciences, Inc. (US)
333 Lakeside Drive, Foster City, California 94404, United States of America
(72) BLOMGREN, Peter A. (US); CURRIE, Kevin S. (US); FRICK, Morin Mae (US); HORSTMAN, Elizabeth M. (US); KAPLAN, Joshua A. (US); KROPF, Jeffrey E. (US); WATKINS, William J. (GB).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT ĐIỀU BIẾN FXR (NR1H4) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2021-04171

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) gắn kết với FXR và hoạt động như chất chủ vận của FXR và dược phẩm chứa hợp chất này.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất gắn kết với và hoạt động như chất chủ vận hoặc chất điều biến của thụ thể farnesoid X (FXR: Farnesoid X Receptor) và hoạt động như chất chủ vận hoặc chất điều biến của FXR. Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất này để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh và/hoặc tình trạng bệnh bằng hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thụ thể farnesoid X (FXR), cũng thường được gọi là NR1H4 (phân họ thụ thể nhân 1, nhóm H, thành viên 4) khi đề cập đến thụ thể của người, là một thụ thể hormon nhân. FXR có liên quan đến nhiều chức năng sinh học. FXR được biểu hiện chủ yếu ở gan và khắp đường dạ dày-ruột, nhưng cũng được phát hiện thấy ở thận, tuyến thượng thận và buồng trứng. FXR có liên quan đến việc kiểm soát sự biểu hiện gen nội bào, và có thể tham gia vào quá trình truyền tín hiệu cận tiết và nội tiết. Ở ruột và gan, FXR thực hiện chức năng làm chất điều hòa tính nội cân bằng axit mật và sự tạo lipit ở gan. FXR cũng có liên quan đến tế bào Kupffer và tế bào nội mạc mạch máu xoang gan của gan, trong đó nó được cho là có chức năng liên quan đến tình trạng viêm, xơ hóa và tăng áp cửa.

Nhiều chất chủ vận FXR đã được biết đến và đang được nghiên cứu đối với một số tình trạng sinh lý, bao gồm bệnh gan. Chất chủ vận FXR có thể có các lợi ích đối với tình trạng nhiễm mỡ, viêm tiểu thùy, bong bóng tế bào gan và xơ hóa.

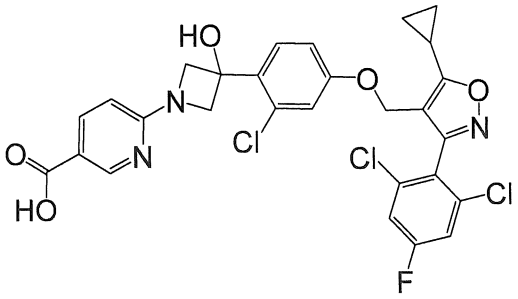
Sự chủ vận FXR có thể tạo ra các tác dụng khác nhau ở các vùng khác nhau trong cơ thể. Ở ruột nhỏ xa tâm và về mặt toàn thân là ở các cơ quan như gan, sự hoạt hóa FXR trực tiếp gây ra sự biểu hiện và tiết hormon FGF19. FGF19 điều biến axit mật bằng cách điều hòa giảm sự tổng hợp axit mật, điều này có thể có lợi, ví dụ, đối với tình trạng bệnh như bệnh gan. Chất chủ vận FXR cũng có liên quan đến các tác động bất lợi, như tình trạng ngứa. Các tác động bất lợi như vậy, và mức độ trải qua chúng, có thể phụ thuộc vào vị trí của sự chủ vận FXR. Ví dụ, tình trạng ngứa được cho là có liên quan đến sự chủ vận FXR không phải ở ruột.

Vẫn cần có chất chủ vận FXR có hiệu lực, độ chọn lọc mong muốn và giảm các tác động bất lợi.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất gắn kết với thụ thể NR1H4 (FXR) và hoạt động như chất chủ vận hoặc chất điều biến của FXR. Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất này để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh và/hoặc tình trạng bệnh thông qua sự gắn kết của thụ thể nhân này với hợp chất này.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I),

hoặc muối dược dụng của nó.

Một số phương án đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và tá dược dược dụng.

Một số phương án đề xuất hợp chất có công thức (I) ở dạng rắn hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhân mắc tình trạng bệnh được điều tiết bởi FXR bao gồm bước dùng hợp chất có công thức (I) cho bệnh nhân có nhu cầu.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện đồ thị của nồng độ FGF19 trong huyết tương theo thời gian ở khỉ cynomolgus sau khi dùng liều hợp chất ví dụ 1.

Fig.2 thể hiện đồ thị của nồng độ FGF19 trong huyết tương theo thời gian ở khỉ cynomolgus sau khi dùng liều hợp chất ví dụ so sánh 1.

Fig.3 thể hiện đồ thị của nồng độ FGF19 trong huyết tương theo thời gian ở khỉ cynomolgus sau khi dùng liều hợp chất ví dụ so sánh 2.

Fig.4 là giản đồ nhiễu xạ bột tia X của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I).

Fig.5 là đường cong DSC của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I).

Fig.6 là đường cong TGA của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến chất chủ vận FXR. Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm và phương pháp liên quan đến chất chủ vận FXR và việc sử dụng hợp chất này để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh và tình trạng bệnh thông qua sự gắn kết của FXR với hợp chất này. Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm và phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh gan bao gồm chất chủ vận FXR kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung.

Chất chủ vận FXR được biểu hiện ở gan và khắp đường dạ dày-ruột, nơi mà sự hoạt động hoặc không hoạt động của nó có thể góp phần gây ra một hoặc nhiều bệnh về gan, như NASH, PSC và/hoặc tình trạng xơ hóa gan. Tuy nhiên, chất chủ vận FXR cũng được tìm thấy ở các vùng khác của cơ thể, trong trường hợp này, chức năng của nó có thể thay đổi. FGF19 là gen đích chính của FXR ở tế bào biểu mô của ruột hồi. Sự hoạt hóa sinh lý của FXR ở ruột hồi bởi axit mật gây ra sự tiết FGF19. Ở gan, sự chủ vận FXR và sự truyền tín hiệu FGF19 có các chức năng trùng nhau và riêng biệt. Ví dụ, cả hai quá trình đều ức chế sự tổng hợp axit mật. Sự chủ vận FXR ở tế bào gan gián tiếp điều hòa giảm nhiều enzym tương tự mà bị khử bởi FGF19.

Chất chủ vận FXR có thể hữu dụng trong việc điều trị và ngăn ngừa nhiều tình trạng bệnh, bao gồm bệnh gan. Bệnh gan có thể bao gồm các tổn hại cấp tính hoặc mạn tính đối với gan, ví dụ, do sự nhiễm trùng, tổn thương, tích tụ bất thường của các chất bình thường trong máu, hoặc do các nguyên nhân khác. Mặc dù nhiều chất chủ vận FXR và các chất tương tự liên quan đã được biết đến, nhưng các chất chủ vận FXR này có thể có các hạn chế bao gồm hiệu quả kém, các vấn đề về chuyển hóa và/hoặc các biến cố bất lợi.

Sáng chế đề cập đến chất chủ vận FXR và chế phẩm và phương pháp có liên quan. Bất ngờ là, chất chủ vận FXR nêu trong bản mô tả này có thể duy trì hiệu quả điều trị tốt trong khi giảm thiểu các tác động bất lợi và các vấn đề về chuyển hóa bất lợi.

Theo một số phương án, chất chủ vận FXR nêu trong bản mô tả này có thể có hiệu lực tế bào mong muốn. Ví dụ, theo một số phương án, hiệu lực tế bào cao có thể tạo ra sự chủ vận FXR cao hơn với liều thuốc được dùng thấp hơn so với hợp chất có hiệu lực tế bào thấp hơn.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chất chủ vận FXR mà có thể thể hiện mức độ chủ vận FXR trong đường dạ dày-ruột cao và mức độ chủ vận FXR toàn thân giảm. Chất chủ vận FXR nêu trong bản mô tả này có thể làm tăng tiết FGF19 khi dùng qua đường miệng trong khi giảm thiểu sự tăng FGF19 khi dùng qua đường tĩnh mạch. Sự chủ vận FXR toàn thân giảm có thể là có lợi, ví dụ, nhờ làm giảm và/hoặc hạn chế khả năng xảy ra các phản ứng bất lợi nhất định, chẳng hạn như ngứa, hoặc nhờ làm giảm nguy cơ tương tác thuốc tiềm ẩn với các thuốc toàn thân.

Theo một số phương án, chất chủ vận FXR nêu trong bản mô tả này có độ chọn lọc đích tốt. Ví dụ, chất chủ vận FXR nêu trong bản mô tả này kích hoạt FXR và không làm thay đổi đáng kể hoạt tính của TGR5 và/hoặc các thụ thể hormon nhân khác liên quan đến FXR. Theo một số phương án, chất chủ vận FXR nêu trong bản mô tả này ưu tiên kích hoạt FXR ở ruột hơn FXR ở gan.

Thuận lợi là, chất chủ vận FXR dùng qua đường miệng nêu trong bản mô tả này có thể tạo ra sự tăng phụ thuộc liều đối với mức FGF19 trong huyết tương và sự giảm đối với mức C4 trong huyết thanh, cho thấy sự tổng hợp axit mật giảm.

Định nghĩa và thông số chung

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ và các cụm từ nêu dưới đây nói chung được dự định là có nghĩa như được thể hiện dưới đây, ngoại trừ đến mức độ mà ngữ cảnh sử dụng chúng thể hiện theo cách khác.

Việc đề cập đến "khoảng" một giá trị hoặc thông số trong bản mô tả này bao gồm (và mô tả) các phương án hướng đến chính giá trị hoặc thông số đó. Theo các

phương án nhất định, thuật ngữ "khoảng" bao gồm lượng được nêu ± 10%. Theo các phương án khác, thuật ngữ "khoảng" bao gồm lượng được nêu ± 5%. Theo các phương án nhất định khác, thuật ngữ "khoảng" bao gồm lượng được nêu ± 1%. Ngoài ra, thuật ngữ "khoảng X" bao gồm mô tả về "X". Ngoài ra, các dạng thể hiện số ít bao gồm cả các dạng thể hiện số nhiều, trừ khi có quy định khác rõ ràng theo ngữ cảnh. Do đó, ví dụ, việc đề cập đến "hợp chất" bao gồm các hợp chất như vậy và việc đề cập đến "thử nghiệm" bao gồm việc đề cập đến một hoặc nhiều thử nghiệm và các dạng tương đương của chúng mà đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật.

Sáng chế được mô tả theo cách minh họa trong bản mô tả này có thể được thực hiện một cách thích hợp khi không có mặt một đặc điểm hoặc các đặc điểm, một dấu hiệu giới hạn hoặc các dấu hiệu giới hạn bất kỳ mà không được nêu cụ thể trong bản mô tả này. Do đó, ví dụ, các thuật ngữ "chứa", "bao gồm", "có", v.v., sẽ được hiểu theo cách có thể mở rộng và không giới hạn. Ngoài ra, các thuật ngữ và các cách diễn đạt dùng trong bản mô tả này được sử dụng như các thuật ngữ mô tả và không làm giới hạn, và việc sử dụng các thuật ngữ và các cách diễn đạt như vậy không nhằm loại trừ bất kỳ dạng tương đương nào của các đặc điểm được thể hiện và được mô tả hoặc các phần của chúng, mà thừa nhận rằng có thể thực hiện các dạng sửa đổi khác nhau trong phạm vi của sáng chế được yêu cầu bảo hộ.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể ở dạng "tiền dược chất". Thuật ngữ "tiền dược chất" được định nghĩa trong lĩnh vực dược là dẫn xuất không có hoạt tính sinh học của thuốc mà khi được dùng cho cơ thể người thì được chuyển hóa thành dược chất gốc có hoạt tính sinh học theo quá trình hóa học hoặc enzym nào đó. Ví dụ về tiền dược chất bao gồm axit carboxylic được este hóa.

Ở gan người, UDP-glucuronosyltransferaza hoạt động trên một số hợp chất có nhóm amino, carbamyl, thio (sulfhydryl) hoặc hydroxyl để liên hợp axit uridin diphosphat-α-D-glucuronic thông qua liên kết glycosit, hoặc để este hóa các hợp chất có nhóm carboxy hoặc hydroxyl trong quá trình chuyển hóa giai đoạn II. Hợp chất theo sáng chế có thể được glucuron hóa, tức là được liên hợp với axit glucuronic, để tạo ra glucuronit, cụ thể là (β-D)glucuronit.

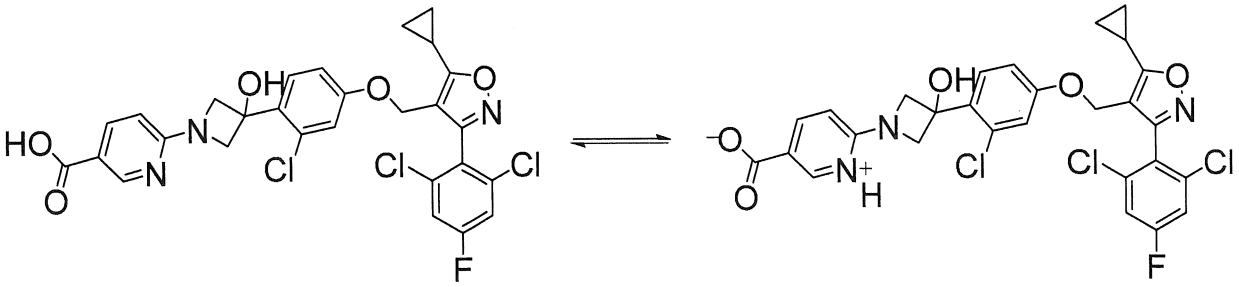
Một bước trong quá trình tạo mật là bước liên hợp axit mật riêng lẻ với axit amin, cụ thể là glyxin hoặc taurin. Hợp chất theo sáng chế có thể được liên hợp với glyxin hoặc taurin ở vị trí có thể thế được.

Hợp chất theo sáng chế có thể ở dạng muối dược dụng. Thuật ngữ "muối dược dụng" dùng để chỉ muối được tạo ra từ bazơ hoặc axit dược dụng không độc, bao gồm bazơ hoặc axit vô cơ và bazơ hoặc axit hữu cơ. Hợp chất theo sáng chế có thể ở dạng muối dược dụng. Thuật ngữ "muối dược dụng" dùng để chỉ muối được tạo ra từ bazơ hoặc axit dược dụng không độc, bao gồm bazơ hoặc axit vô cơ và bazơ hoặc axit hữu cơ. Trong trường hợp hợp chất theo sáng chế chứa một hoặc nhiều nhóm axit hoặc bazơ, thì sáng chế cũng bao gồm muối có thể chấp nhận về mặt dược học hoặc về mặt độc học tương ứng của nó, cụ thể là muối dược dụng của nó. Do đó, hợp chất theo sáng chế mà chứa nhóm axit có thể có mặt trong nhóm này và có thể được sử dụng theo sáng chế, ví dụ, dưới dạng muối kim loại kiềm, muối kim loại kiềm thổ hoặc muối amoni. Ví dụ chính xác hơn về muối như vậy bao gồm muối natri, muối kali, muối canxi, muối magie hoặc muối với amoniac hoặc amin hữu cơ như, ví dụ, etylamin, etanolamin, trietanolamin, axit amin hoặc các bazơ khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật. Hợp chất theo sáng chế mà chứa một hoặc nhiều nhóm bazơ, tức là nhóm mà có thể được proton hóa, có thể có mặt và có thể được sử dụng theo sáng chế ở dạng muối cộng với axit vô cơ hoặc hữu cơ của nó. Ví dụ về axit thích hợp bao gồm hydro clorua, hydro bromua, axit phosphoric, axit sulfuric, axit nitric, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic, axit naphtalendisulfonic, axit oxalic, axit axetic, axit tartaric, axit lactic, axit salixylic, axit benzoic, axit formic, axit propionic, axit pivalic, axit dietylaxetic, axit malonic, axit suxinic, axit pimelic, axit fumaric, axit maleic, axit malic, axit sulfaminic, axit phenylpropionic, axit gluconic, axit ascorbic, axit isonicotinic, axit xitric, axit adipic và các axit khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật.

Nếu hợp chất theo sáng chế đồng thời chứa các nhóm axit và bazơ trong phân tử, thì sáng chế cũng bao gồm, ngoài các dạng muối đã nêu, muối nội hoặc betain (ion lưỡng tính). Muối tương ứng có thể được tạo ra bằng các phương pháp thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật như,

ví dụ, bằng cách cho muối này tiếp xúc với axit hoặc bazơ hữu cơ hoặc vô cơ trong dung môi hoặc thể phân tán, hoặc bằng cách trao đổi anion hoặc trao đổi cation với các muối khác.

Theo một số phương án, muối dược dụng của hợp chất có công thức (I) bao gồm ion lưỡng tính. Ví dụ, hợp chất có công thức (I) có thể tạo thành ion lưỡng tính dưới đây:



Sáng chế cũng bao gồm tất cả các muối của hợp chất theo sáng chế mà không thích hợp để sử dụng trực tiếp trong dược phẩm do có tính tương thích sinh lý thấp, nhưng có thể được sử dụng, ví dụ, làm hợp chất trung gian cho các phản ứng hóa học hoặc cho quy trình điều chế muối dược dụng. Axit và bazơ hữu dụng để phản ứng với hợp chất cơ bản để tạo ra muối dược dụng (muối cộng axit hoặc muối cộng bazơ, một cách tương ứng) đã được biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật. Tương tự, phương pháp điều chế muối dược dụng từ hợp chất cơ bản (theo sáng chế) đã được biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả trong tài liệu, ví dụ, Berge, et al. Journal of Pharmaceutical Science, Jan. 1977 vol. 66, No.1, và các nguồn khác.

Ngoài ra, hợp chất nêu trong bản mô tả này có thể trải qua hiện tượng hỗ biến (tautomerism). Khi hiện tượng hỗ biến, ví dụ, hiện tượng hỗ biến keto-enol, của hợp chất hoặc tiền dược chất của nó có thể xảy ra, thì mỗi dạng riêng lẻ, như, ví dụ, dạng keto và dạng enol, đều thuộc phạm vi của sáng chế cũng như hỗn hợp của chúng theo tỷ lệ bất kỳ. Điều tương tự cũng áp dụng đối với chất đồng phân lập thể, như, ví dụ, chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân cis/tran, chất đồng phân không đối quang, conforme và dạng tương tự.

Thuật ngữ "nhóm bảo vệ" dùng để chỉ nhóm của hợp chất mà che giấu hoặc làm thay đổi tính chất của nhóm chức hoặc tính chất của toàn bộ hợp chất. Các

nhóm bảo vệ hóa học và chiến lược bảo vệ/khử bảo vệ đã được biết rõ trong lĩnh vực. Xem tài liệu, ví dụ, Protective Groups in Organic Chemistry, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Nhóm bảo vệ thường được sử dụng để che giấu khả năng phản ứng của các nhóm chức nhất định, để hỗ trợ cho hiệu quả của phản ứng hóa học mong muốn, ví dụ, tạo ra và phá vỡ liên kết hóa học theo cách có trật tự và có kế hoạch. Thuật ngữ "khử bảo vệ" dùng để chỉ việc loại bỏ nhóm bảo vệ.

"Nhóm rời chuyển" bao gồm mảnh phân tử mà có thể tách ra cùng với cặp điện tử từ liên kết cộng hóa trị với nguyên tử cacbon phản ứng trong phản ứng hóa học.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật hiểu rằng khi danh sách các phần tử thế thay thế bao gồm các thành viên mà, do các yêu cầu về hóa trị của chúng hoặc các lý do khác, không thể được sử dụng để thế cho một nhóm cụ thể, thì danh sách này cần được hiểu theo kiến thức của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật là chỉ bao gồm các thành viên thuộc danh sách này mà thích hợp để thế cho nhóm cụ thể này.

Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có thể có mặt ở dạng solvat, như hợp chất bao gồm nước dưới dạng solvat, hoặc solvat dược dụng, như rượu, cụ thể là etanol. "Solvat" được tạo ra do sự tương tác của dung môi và hợp chất.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến chất đồng phân quang học, raxemat hoặc các hỗn hợp khác của hợp chất nêu trong bản mô tả này hoặc muối dược dụng hoặc hỗn hợp của chúng. Nếu muốn, chất đồng phân có thể được tách ra bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực, ví dụ, bằng kỹ thuật sắc ký lỏng. Trong các trường hợp đó, chất đồng phân đối ảnh hoặc chất đồng phân không đối quang đơn lẻ, tức là, dạng có hoạt tính quang học, có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp bất đối xứng hoặc bằng cách phân giải. Quá trình phân giải có thể được thực hiện, ví dụ, bằng các phương pháp thông thường như kết tinh trong điều kiện có mặt chất phân giải, hoặc sắc ký bằng cách sử dụng, ví dụ, cột sắc ký lỏng áp suất cao (HPLC) không đối xứng.

"Chất đồng phân lập thể" dùng để chỉ hợp chất được tạo thành từ các nguyên tử tương tự được liên kết bằng các liên kết tương tự nhưng có cấu trúc ba chiều

khác nhau mà không thể hoán đổi được cho nhau. Sáng chế đề cập đến các chất đồng phân lập thể khác nhau và hỗn hợp của chúng, và bao gồm "các chất đồng phân đối ảnh", dùng để chỉ hai chất đồng phân lập thể mà các phân tử của chúng là các ảnh gương không thể đặt chồng lên nhau của nhau. "Các chất đồng phân không đối quang" là các chất đồng phân lập thể có ít nhất hai nguyên tử bất đối xứng, mà không phải các ảnh gương của nhau.

Theo một số phương án, hợp chất nêu trong bản mô tả này và muối dược dụng của nó có thể bao gồm tâm bất đối xứng, và do đó có thể tạo ra các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và các dạng đồng phân lập thể khác mà có thể được xác định, về mặt hóa học lập thể tuyệt đối, là (*R*)- hoặc (*S*)- hoặc là (D)- hoặc (L)- đối với axit amin. Một số phương án bao gồm tất cả các chất đồng phân có thể có như vậy, cũng như các dạng triệt quang (raxemic) và tinh khiết về mặt quang học của chúng. Các chất đồng phân có hoạt tính quang học dạng (+) và (-), (*R*)- và (*S*)- hoặc (D)- và (L)- có thể được điều chế bằng cách sử dụng synthon không đối xứng hoặc chất phản ứng không đối xứng, hoặc được phân giải bằng các kỹ thuật thông thường, ví dụ, sắc ký và kết tinh phân đoạn. Kỹ thuật thông thường để điều chế/phân tách các chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ bao gồm tổng hợp không đối xứng từ tiền chất tinh khiết về mặt quang học thích hợp hoặc phân giải raxemat (hoặc raxemat của muối hoặc dẫn xuất) bằng cách sử dụng, ví dụ, kỹ thuật sắc ký lỏng áp suất cao (HPLC: high pressure liquid chromatography) không đối xứng. Khi hợp chất nêu trong bản mô tả này chứa liên kết đôi dạng olefin hoặc các tâm bất đối xứng hình học khác, và trừ khi có quy định cụ thể khác, dự định rằng hợp chất này bao gồm cả các chất đồng phân hình học dạng *E* và *Z*.

Chế phẩm được đề xuất trong bản mô tả này mà chứa hợp chất nêu trong bản mô tả này hoặc muối dược dụng, chất đồng phân, hoặc hỗn hợp của chúng có thể bao gồm hỗn hợp triệt quang, hoặc hỗn hợp chứa lượng dư đồng phân đối ảnh của một chất đồng phân đối ảnh hoặc chất đồng phân không đối quang đơn lẻ hoặc hỗn hợp đồng phân không đối quang. Tất cả các dạng đồng phân như vậy của hợp chất này đều được bao gồm một cách rõ ràng trong bản mô tả này giống như khi mỗi và mọi dạng đồng phân được liệt kê một cách cụ thể và riêng lẻ.

Công thức hoặc cấu trúc bất kỳ nêu trong bản mô tả này cũng được dự định là thể hiện dạng không được đánh dấu cũng như dạng được đánh dấu đồng vị của hợp chất. Hợp chất được đánh dấu đồng vị có cấu trúc được thể hiện bằng công thức nêu trong bản mô tả này, ngoại trừ một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối được chọn. Ví dụ về chất đồng vị mà có thể được kết hợp vào hợp chất theo sáng chế bao gồm chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, flo và clo, như, nhưng không giới hạn ở, 2H (đoteri, D), ^{3}H (triti), ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl và ^{125}I. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị khác nhau theo sáng chế, ví dụ, các hợp chất mà chất đồng vị phóng xạ như ^{3}H, ^{13}C và ^{14}C được kết hợp vào đó. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị này có thể hữu dụng trong các nghiên cứu về chuyển hóa, nghiên cứu về động học phản ứng, kỹ thuật phát hiện hoặc chụp ảnh, như kỹ thuật chụp xạ hình cắt lớp bằng bức xạ positron (PET) hoặc kỹ thuật chụp xạ hình cắt lớp bằng bức xạ đơn photon (SPECT) bao gồm các thử nghiệm phân bố mô nền hoặc thuốc hoặc trong liệu pháp xạ trị bệnh nhân. Hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế và tiền dược chất của nó thường có thể được điều chế bằng cách thực hiện các quy trình nêu trong các sơ đồ hoặc trong các ví dụ và các phương pháp điều chế được mô tả dưới đây bằng cách thế chất phản ứng được đánh dấu đồng vị sẵn có cho chất phản ứng không được đánh dấu đồng vị.

Sáng chế cũng bao gồm "chất tương tự được đánh dấu đoteri" của hợp chất nêu trong bản mô tả này, trong đó từ 1 đến n hydro gắn vào nguyên tử cacbon được thay thế bằng đoteri, trong đó n là số lượng hydro trong phân tử. Hợp chất như vậy có thể thể hiện khả năng kháng chuyển hóa tăng và do đó hữu dụng trong việc làm tăng thời gian bán hủy của hợp chất của công thức (I) bất kỳ khi được dùng cho động vật có vú, ví dụ, người. Xem tài liệu, ví dụ, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism," Trends Pharmacol. Sci. 5(12):524-527 (1984). Hợp chất như vậy được tổng hợp theo các cách đã biết rõ trong lĩnh vực, ví dụ, bằng cách sử dụng các nguyên liệu đầu trong đó một hoặc nhiều hydro đã được thay thế bằng đoteri.

Hợp chất điều trị được thay thế hoặc được đánh dấu đoteri theo sáng chế có thể có các tính chất DMPK (chuyển hóa thuốc và dược động học) có lợi, liên quan

đến sự phân bố, chuyển hóa và bài tiết (ADME). Việc thế bằng chất đồng vị nặng hơn như đoteri có thể mang lại các ưu điểm điều trị nhất định nhờ có độ ổn định chuyển hóa lớn hơn, ví dụ, tăng thời gian bán hủy *in vivo*, giảm yêu cầu về liều lượng và/hoặc cải thiện chỉ số điều trị. Hợp chất được đánh dấu ^{18}F có thể hữu dụng đối với các nghiên cứu PET hoặc SPECT.

Nồng độ của chất đồng vị nặng hơn này, cụ thể là đoteri, có thể được xác định theo hệ số làm giàu đồng vị. Trong hợp chất theo sáng chế, nguyên tử bất kỳ mà không được nêu cụ thể là một chất đồng vị cụ thể đều có nghĩa là thể hiện chất đồng vị ổn định bất kỳ của nguyên tử đó. Trừ khi có quy định khác, khi một vị trí được nêu cụ thể là "H" hoặc "hydro", thì vị trí này được hiểu là có hydro với thành phần đồng vị ở độ giàu tự nhiên của nó. Theo đó, trong hợp chất theo sáng chế, nguyên tử bất kỳ được nêu cụ thể là đoteri (D) có nghĩa là thể hiện đoteri.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế, hoặc hợp chất tiền dược chất của nó, hoặc muối hoặc solvat dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính cùng với chất mang dược dụng.

"Dược phẩm" có nghĩa là một hoặc nhiều thành phần hoạt tính và một hoặc nhiều thành phần trơ tạo thành chất mang, cũng như sản phẩm bất kỳ thu được, trực tiếp hoặc gián tiếp, từ việc kết hợp, tạo phức hoặc kết tập hai hoặc nhiều thành phần bất kỳ trong số các thành phần này, hoặc từ việc phân ly một hoặc nhiều thành phần trong số các thành phần này, hoặc từ các dạng phản ứng hoặc tương tác khác của một hoặc nhiều thành phần trong số các thành phần này. Theo đó, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm chế phẩm bất kỳ được tạo ra bằng cách trộn ít nhất một hợp chất theo sáng chế và chất mang dược dụng.

Trong bản mô tả này, "chất mang dược dụng" bao gồm tá dược hoặc chất như dung môi, chất pha loãng, môi trường phân tán, chất phủ, chất kháng khuẩn và chất kháng nấm, chất đẳng trương và chất làm chậm hấp thụ và chất tương tự mà không gây hại đến hợp chất được đề xuất hoặc việc sử dụng nó. Việc sử dụng chất mang và chất như vậy để bào chế chế phẩm chứa hoạt chất dược đã được biết rõ trong lĩnh vực (xem tài liệu, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Co., Philadelphia, PA 17th Ed. (1985); và Modern Pharmaceutics, Marcel Dekker, Inc. 3rd Ed. (G.S. Banker & C.T. Rhodes, Eds.)).

Các thuật ngữ "lượng có tác dụng điều trị" và "lượng có tác dụng" được sử dụng theo cách thay thế cho nhau và dùng để chỉ lượng hợp chất đủ để thực hiện việc điều trị như được xác định dưới đây, khi được dùng cho bệnh nhân (ví dụ, người) có nhu cầu điều trị ở một hoặc nhiều liều. Lượng có tác dụng điều trị sẽ thay đổi tùy thuộc vào bệnh nhân, bệnh cần điều trị, cân nặng và/hoặc độ tuổi của bệnh nhân, mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc cách dùng theo sự xác định của người kê đơn hoặc người chăm sóc đủ trình độ.

Thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" có nghĩa là cho dùng hợp chất hoặc muối dược dụng có công thức (I) nhằm mục đích: (i) làm chậm sự khởi phát của bệnh, tức là làm cho triệu chứng lâm sàng của bệnh không phát triển hoặc làm chậm sự phát triển của nó; (ii) ức chế bệnh, tức là ngăn chặn sự phát triển của triệu chứng lâm sàng; và/hoặc (iii) làm thuyên giảm bệnh, tức là gây ra sự thoái triển của triệu chứng lâm sàng hoặc mức độ nghiêm trọng của nó.

Danh sách ký hiệu viết tắt và chữ viết tắt

Ký hiệu viết tắt	Nghĩa
(±)-BINAP	(±)-2,2′-bis(diphenylphosphino)-1,1′-binaphtalen
2-MeTHF	2-metyltetrahydrofuran
ACN hoặc MeCN	Axetonitril
aq.	chứa nước
Bn	Benzyl
BOC hoặc Boc	*t*-butyloxycacbonyl
BSA	Albumin huyết thanh bò
BSS	Dung dịch muối cân bằng
Calcd	Theo tính toán
DAST	(Dietylamino) lưu huỳnh triflorua
DCM	Diclometan
DIBAL-H	Diisobutyl nhôm hydrua
DMF	*N,N*-dimetylformamit

DMSO	Dimetylsulfoxit
EA	Etyl axetat
EDTA	Axit etylendiamintetraaxetic
ESI	Ion hóa phun điện tử
Et	Etyl
Et_2O	Dietyl ete
EtOAc	Etyl axetat
FBS	Huyết thanh bào thai bò
h hoặc hr	Giờ
HATU	1-[bis(dimetylamino)metylen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridini 3-oxit hexaflophosphat
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
IPA	Rượu isopropylic
IPTG	Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranosit
LCMS hoặc LC/MS	Sắc ký lỏng - khối phổ
Me	Metyl
MEM	Môi trường thiết yếu tối thiểu
MeOH	Metanol
MSA	Axit metansulfonic
min	Phút
MS	Khối phổ
m/z	Tỷ số giữa khối lượng và điện tích
NADPH	Dihydronicotinamit-adenin dinucleotit phosphat
NMP	*N*-metylpyrolidon
NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
n-BuLi	*n*-butyllithi
PE	Ete dầu mỏ

Vòng/phút	Số vòng trong mỗi phút
RT hoặc rt	Nhiệt độ phòng
sat.	Bão hòa
TBAF	Tetrabutylamoni florua
TBDMS	*tert*-butyldimetylsilyl
TBS	*tert*-butyldimetylsilyl
TEMPO	2,2,6,6-tetrametylpiperidin 1-oxyl
TFA	Axit trifloaxetic
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimetylsilyl
UPLC	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng

Trong bản mô tả này, "chất chủ vận FXR" dùng để chỉ chất bất kỳ có khả năng gắn kết và hoạt hóa thụ thể farnesoid X (FXR), mà có thể được gọi là thụ thể axit mật (BAR) hoặc thụ thể NR1H4 (phân họ thụ thể nhân 1, nhóm H, thành viên 4). Chất chủ vận FXR có thể hoạt động như chất chủ vận hoặc chất chủ vận một phần của FXR. Chất này có thể là hợp chất hóa học hoặc phân tử sinh học (ví dụ, protein hoặc kháng thể). Hoạt tính của chất chủ vận FXR có thể được đo bằng một số phương pháp khác nhau, ví dụ, trong thử nghiệm in vitro bằng cách sử dụng thử nghiệm truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET) không chứa tế bào như được mô tả trong tài liệu Pellicciari, et al. Journal of Medicinal Chemistry, 2002 vol. 15, No. 45:3569-72.

Trong bản mô tả này, "chất ức chế ASK1" có thể là chất bất kỳ có khả năng làm bất hoạt protein kinaza điều hòa tín hiệu chết theo chương trình 1 (ASK1). Chất này có thể là hợp chất hóa học hoặc phân tử sinh học (ví dụ, protein hoặc kháng thể). Hoạt tính của protein ASK1 có thể được đo bằng một số phương pháp khác nhau. Ví dụ, hoạt tính của protein ASK1 có thể được xác định dựa vào khả năng của protein ASK1 trong việc phosphoryl hóa protein cơ chất. Các phương pháp để xác định chất ức chế ASK1 đã được biết đến (xem tài liệu, ví dụ, U.S. 2007/0276050 và U.S. 2011/0009410, cả hai tài liệu này đều được kết hợp vào bản mô tả này bằng

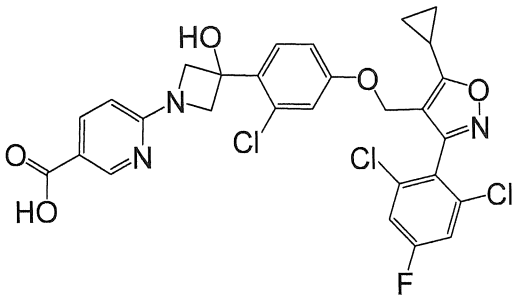
cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng). Protein cơ chất ASK1 tiêu biểu bao gồm MAPKK3, MAPKK4, MAPKK6, MAPKK7, hoặc mảnh của chúng. Hoạt tính của protein ASK1 cũng có thể được đo theo mức độ phosphoryl hóa của protein ASK1, ví dụ, mức độ phosphoryl hóa của gốc threonin trong protein ASK1 tương ứng với threonin 838 (T838) của protein ASK1 có chiều dài đầy đủ của người hoặc threonin 845 (T845) của protein ASK1 có chiều dài đầy đủ của chuột nhắt. Ví dụ, khi protein ASK1 chứa trình tự protein ASK1 có chiều dài đầy đủ của người, thì chất ức chế ASK1 có thể làm suy giảm sự phosphoryl hóa của T838 trong trình tự protein ASK1 có chiều dài đầy đủ của người này. Kháng thể đặc hiệu vị trí kháng ASK1 T838 của người hoặc ASK1 T845 của chuột nhắt có thể được sử dụng để phát hiện mức độ phosphohoryl hóa.

Trong bản mô tả này, "chất ức chế ACC" dùng để chỉ chất bất kỳ có khả năng gắn kết và ức chế axetyl-CoA carboxylaza (ACC). Chất ức chế ACC có thể hoạt động như chất ức chế hoặc chất ức chế một phần của ACC. Chất này có thể là hợp chất hóa học hoặc phân tử sinh học (ví dụ, protein hoặc kháng thể). Hoạt tính của chất ức chế ACC có thể được đo bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực, như các phương pháp được mô tả và được trích dẫn trong patent Mỹ số 8,969,557 và/hoặc trong công bố đơn sáng chế Mỹ số 20160108061.

Trong bản mô tả này, "chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp β" hoặc "chất chủ vận THR β" dùng để chỉ chất bất kỳ có khả năng gắn kết và hoạt hóa thụ thể hormon tuyến giáp beta, mà có thể được gọi là thụ thể NR1A2 (phân họ thụ thể nhân 1, nhóm A, thành viên 2). Chất chủ vận THR β có thể hoạt động như chất chủ vận hoặc chất chủ vận một phần của THR β. Chất này có thể là hợp chất hóa học hoặc phân tử sinh học (ví dụ, protein hoặc kháng thể). Hoạt tính của chất chủ vận THR β có thể được đo bằng các phương pháp đã biết.

Hợp chất

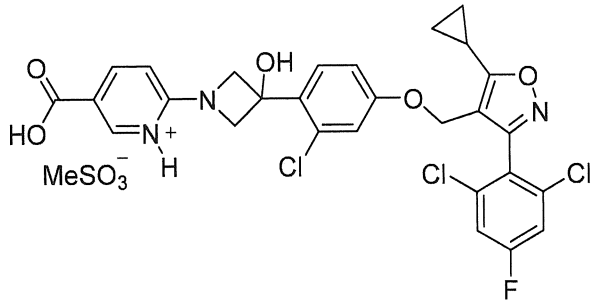
Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) nêu dưới đây:



(I)

hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một số phương án, muối dược dụng là muối mesylat. Ví dụ, hợp chất có công thức nêu dưới đây được đề xuất:



Dạng rắn

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dạng rắn của hợp chất có công thức (I) (còn được gọi là hợp chất có công thức (I) ở dạng rắn) hoặc muối dược dụng của nó. Dạng rắn, như dạng kết tinh, có thể mang lại ưu điểm về độ sinh khả dụng và độ ổn định mà có thể thích hợp để sử dụng làm thành phần hoạt tính trong dược phẩm.

Các biến thể về cấu trúc tinh thể của hoạt chất thuốc hoặc thành phần dược tính có thể ảnh hưởng đến tốc độ phân ly (mà có thể ảnh hưởng đến độ sinh khả dụng, v.v.), khả năng sản xuất (ví dụ, tính dễ xử lý, khả năng bào chế đồng nhất các liều với nồng độ đã biết), và độ ổn định (ví dụ, độ ổn định nhiệt, thời hạn sử dụng, v.v.) của sản phẩm thuốc hoặc thành phần dược tính. Các biến thể này có thể ảnh hưởng đến việc điều chế hoặc bào chế dược phẩm ở các dạng liều lượng hoặc các dạng phân phối khác nhau, như dung dịch hoặc dạng liều rắn dùng qua đường miệng bao gồm viên nén và viên nang. So với các dạng khác như dạng không kết tinh hoặc dạng vô định hình, dạng kết tinh có thể tạo ra độ hút ẩm, khả năng kiểm

soát kích thước hạt, tốc độ phân ly, độ tan, độ tinh khiết, độ ổn định vật lý và hóa học, khả năng sản xuất, hiệu suất và/hoặc khả năng kiểm soát quy trình mong muốn hoặc thích hợp.

Theo một số phương án, dạng rắn ổn định của hợp chất có công thức (I) (còn được gọi là hợp chất có công thức (I) ở dạng rắn ổn định) được đề xuất. Ví dụ, muối mesylat của hợp chất có công thức (I) có thể được tạo ra ở dạng kết tinh ổn định mà không chuyển hóa thành các dạng đa hình khác và/hoặc được tạo ra ở cùng một dạng đa hình trong các điều kiện sản xuất khác nhau.

Do đó, dạng kết tinh của hợp chất có công thức (I) có thể mang lại các ưu điểm như cải thiện: quy trình sản xuất hợp chất, độ ổn định hoặc khả năng bảo quản của dạng sản phẩm thuốc của hợp chất, độ ổn định hoặc khả năng bảo quản của chất làm thuốc của hợp chất và/hoặc độ sinh khả dụng và/hoặc độ ổn định của hợp chất với vai trò là hoạt chất.

Theo một số phương án, dạng rắn là mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I).

Mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có thể được đặc trưng bởi giản đồ nhiễu xạ bột tia X trong đó hợp chất dạng rắn này thể hiện đồ thị nhiễu xạ bột tia X (XRPD) về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.4. Mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có thể thể hiện giản đồ phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC) về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.5. Mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có thể thể hiện giản đồ nhiệt phân tích nhiệt trọng trường (TGA) về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.6.

Theo một số phương án của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I), ít nhất một, ít nhất hai hoặc tất cả các tính chất trong số (a)-(c) nêu dưới đây được áp dụng: (a) mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có đồ thị XRPD về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.4; (b) mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có giản đồ nhiệt DSC về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.5; (c) mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có giản đồ nhiệt TGA về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.6.

Theo một số phương án, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có ít nhất một, ít nhất hai hoặc ít nhất ba trong số các tính chất nêu dưới đây:

(a) đồ thị XRPD về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.4

(b) giản đồ nhiệt DSC về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.5

(c) giản đồ nhiệt TGA về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.6.

Theo một số phương án, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có đồ thị XRPD thể hiện ít nhất hai, ít nhất ba, ít nhất bốn, ít nhất năm, ít nhất sáu, ít nhất bảy, ít nhất tám hoặc ít nhất chín trong số các giá trị phản xạ °2θ với cường độ lớn nhất như đồ thị XRPD về cơ bản như được thể hiện trên Fig.4.

Theo các phương án nhất định, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có đồ thị XRPD chứa các giá trị phản xạ °2θ (± 0,2 °2θ) ở 9,6, 19,3 và 22,6 độ. Theo một số phương án, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có đồ thị XRPD chứa các giá trị phản xạ °2θ (± 0,2 °2θ) ở 9,6, 19,3 và 22,6 độ và một, hai hoặc ba trong số các giá trị phản xạ °2θ (± 0,2 °2θ) ở 3,2, 6,4 và 12,8 độ. Theo một số phương án, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có đồ thị XRPD chứa các giá trị phản xạ °2θ (± 0,2 °2θ) ở 9,6, 19,3 và 22,6 độ và một, hai hoặc ba trong số các giá trị phản xạ °2θ (± 0,2 °2θ) ở 22,1, 25,8 và 29,1 độ. Theo một số phương án, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có đồ thị XRPD chứa các giá trị phản xạ °2θ (± 0,2 °2θ) ở 9,6, 19,3, 22,6, 3,2, 6,4, 12,8, 22a, 25,8 và 29,1 độ.

Theo một số phương án, mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) có giản đồ nhiệt phân tích nhiệt lượng quét vi sai chứa đỉnh thu nhiệt có điểm bắt đầu ở khoảng 221°C.

Dược phẩm và cách dùng

Ngoài ra, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế, hoặc hợp chất tiền dược chất của nó, hoặc muối hoặc solvat dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính cùng với chất mang dược dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể còn chứa một hoặc nhiều hợp chất khác làm thành phần hoạt tính, như hợp chất tiền dược chất hoặc các chất điều biến thụ thể nhân khác.

Dược phẩm này thích hợp để dùng qua đường miệng, trực tràng, cục bộ, ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dưới da, trong cơ và trong tĩnh mạch), mắt (cho mắt), phổi (xông hít qua mũi hoặc miệng) hoặc mũi, mặc dù đường dùng thích hợp nhất trong trường hợp nhất định bất kỳ sẽ phụ thuộc vào bản chất và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh cần điều trị và vào bản chất của thành phần hoạt tính. Chúng có thể được bào chế một cách thuận tiện ở dạng liều đơn vị và được bào chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết rõ trong lĩnh vực dược.

Trong ứng dụng thực tế, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp làm thành phần hoạt tính trong hỗn hợp trộn kỹ với chất mang dược dụng theo các kỹ thuật tạo hỗn hợp dược phẩm thông thường. Chất mang có thể có nhiều dạng khác nhau tùy thuộc vào dạng bào chế mong muốn để dùng, ví dụ, qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa (bao gồm trong tĩnh mạch). Khi bào chế chế phẩm ở dạng liều dùng qua đường miệng, môi trường bất kỳ trong số các môi trường dược dụng thông thường có thể được sử dụng, như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu, chất tạo hương, chất bảo quản, chất tạo màu và chất tương tự trong trường hợp của chế phẩm lỏng dùng qua đường miệng, như, ví dụ, hỗn dịch, cồn ngọt và dung dịch; hoặc chất mang như tinh bột, đường, xenluloza vi tinh thể, chất pha loãng, chất tạo hạt, chất làm trơn, chất kết dính, chất gây rã và chất tương tự trong trường hợp của chế phẩm rắn dùng qua đường miệng như, ví dụ, bột, viên nang cứng và mềm và viên nén, trong đó chế phẩm rắn dùng qua đường miệng được ưu tiên hơn so với chế phẩm lỏng.

Do dễ dùng, viên nén và viên nang là dạng đơn vị liều dùng qua đường miệng thuận lợi nhất, trong trường hợp này, các chất mang rắn dược dụng được sử dụng. Nếu muốn, viên nén có thể được bao bằng các kỹ thuật có nước hoặc không có nước tiêu chuẩn. Chế phẩm hoặc dạng bào chế này cần chứa hoạt chất với nồng độ ít nhất là 0,1%. Tất nhiên, tỷ lệ phần trăm của hoạt chất trong chế phẩm này có thể thay đổi và có thể thường nằm trong khoảng từ khoảng 2% đến khoảng 60% khối lượng của dạng đơn vị. Lượng của hoạt chất trong chế phẩm hữu dụng để điều trị này là lượng sao cho đạt được liều có tác dụng. Hoạt chất cũng có thể được dùng trong mũi ở dạng, ví dụ, thuốc xịt hoặc thuốc nhỏ dạng lỏng.

Viên nén, viên tròn, viên nang và dạng tương tự có thể còn chứa chất kết dính như gôm tragacan, acacia, tinh bột ngô hoặc gelatin; tá dược như dicanxi phosphat; chất gây rã như tinh bột ngô, tinh bột khoai tây, axit alginic; chất làm trơn như magie stearat; và chất tạo ngọt như sucroza, lactoza hoặc sacarin. Khi dạng đơn vị liều là viên nang, thì nó có thể chứa, ngoài các nguyên liệu thuộc loại nêu trên, chất mang lỏng như dầu béo.

Các nguyên liệu khác có thể có mặt dưới dạng lớp phủ hoặc để làm thay đổi dạng vật lý của dạng đơn vị liều. Ví dụ, viên nén có thể được bao bằng senlac, đường hoặc cả hai. Xi rô hoặc cồn ngọt có thể chứa, ngoài thành phần hoạt tính, sucroza làm chất tạo ngọt, metyl và propylparaben làm chất bảo quản, chất màu và chất tạo hương như hương anh đào hoặc hương cam.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng ở dạng muối với các đối cation khác nhau để tạo ra chế phẩm khả dụng qua đường miệng.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa. Dung dịch hoặc hỗn dịch chứa hoạt chất này có thể được bào chế trong nước được trộn thích hợp với chất hoạt động bề mặt như hydroxy-propylxenluloza. Thể phân tán cũng có thể được bào chế trong glyxerol, polyetylen glycol lỏng và hỗn hợp của chúng trong dầu. Trong điều kiện bảo quản và sử dụng thông thường, chế phẩm này chứa chất bảo quản để ngăn chặn sự phát triển của vi sinh vật.

Dạng dược phẩm thích hợp để tiêm bao gồm thể phân tán hoặc dung dịch nước vô trùng và bột vô trùng dùng để tạo ra thể phân tán hoặc dung dịch tiêm vô trùng ngay lúc dùng. Trong tất cả các trường hợp, dạng này phải vô trùng và phải lỏng đến mức dễ tiêm. Dạng này phải ổn định trong điều kiện sản xuất và bảo quản và phải được bảo quản chống lại tác động gây nhiễm tạp của vi sinh vật như vi khuẩn và nấm. Chất mang có thể là dung môi hoặc môi trường phân tán chứa, ví dụ, nước, etanol, polyol (ví dụ, glyxerol, propylen glycol và polyetylen glycol lỏng), hỗn hợp thích hợp của chúng, và dầu thực vật.

Đường dùng thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng để cung cấp cho động vật có vú, đặc biệt là người, liều có tác dụng của hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, đường dùng qua đường miệng, trực tràng, cục bộ, ngoài đường tiêu hóa, mắt, phổi, mũi, và

dạng tương tự có thể được sử dụng. Dạng liều bao gồm viên nén, phiến thuốc hình thoi, thể phân tán, hỗn dịch, dung dịch, viên nang, kem, thuốc mỡ, sol khí, và dạng tương tự. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được dùng qua đường miệng.

Bộ kit

Sáng chế cũng đề xuất bộ kit chứa hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất hoặc chất tương tự được đánh dấu đơteri của nó, và bao gói thích hợp. Theo một phương án, bộ kit còn chứa hướng dẫn sử dụng. Theo một khía cạnh, bộ kit chứa hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất hoặc chất tương tự được đánh dấu đơteri của nó, và nhãn và/hoặc hướng dẫn sử dụng hợp chất trong điều trị chỉ định, bao gồm bệnh hoặc tình trạng bệnh, nêu trong bản mô tả này.

Sáng chế cũng đề xuất vật phẩm chứa hợp chất nêu trong bản mô tả này hoặc muối dược dụng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất hoặc chất tương tự được đánh dấu đơteri của nó trong vật chứa thích hợp. Vật chứa này có thể là lọ, ống, ampun, bơm tiêm nạp sẵn và túi truyền tĩnh mạch.

Phương pháp điều trị và sử dụng

"Điều trị" hoặc "việc điều trị" là phương thức để đạt được kết quả có lợi hoặc mong muốn, bao gồm kết quả lâm sàng. Kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn có thể bao gồm một hoặc nhiều kết quả trong số các kết quả nêu dưới đây: (a) ức chế bệnh hoặc tình trạng bệnh (ví dụ, làm giảm một hoặc nhiều triệu chứng gây ra do bệnh hoặc tình trạng bệnh, và/hoặc giảm bớt mức độ của bệnh hoặc tình trạng bệnh); (b) làm chậm hoặc ngăn chặn sự phát triển của một hoặc nhiều triệu chứng lâm sàng liên quan đến bệnh hoặc tình trạng bệnh (ví dụ, làm ổn định bệnh hoặc tình trạng bệnh, ngăn ngừa hoặc làm chậm sự xấu đi hoặc sự tiến triển của bệnh hoặc tình trạng bệnh, và/hoặc ngăn ngừa hoặc làm chậm sự lan ra (ví dụ, di căn) của bệnh hoặc tình trạng bệnh); và/hoặc (c) làm thuyên giảm bệnh, tức là, gây ra sự thoái triển của triệu chứng lâm sàng (ví dụ, cải thiện trạng thái bệnh, làm thuyên giảm một phần hoặc hoàn toàn bệnh hoặc tình trạng bệnh, tăng cường hiệu quả của

thuốc khác, làm chậm sự tiến triển của bệnh, làm tăng chất lượng sống và/hoặc kéo dài sự sống.

"Ngăn ngừa" hoặc "việc ngăn ngừa" có nghĩa là việc điều trị bất kỳ đối với bệnh hoặc tình trạng bệnh mà làm cho triệu chứng lâm sàng của bệnh hoặc tình trạng bệnh này không phát triển. Theo một số phương án, hợp chất có thể được dùng cho đối tượng (bao gồm người) có nguy cơ hoặc có tiền sử gia đình mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh.

"Đối tượng" dùng để chỉ động vật, như động vật có vú (bao gồm người), mà đã hoặc sẽ là đối tượng của việc điều trị, quan sát hoặc thí nghiệm. Phương pháp nêu trong bản mô tả này có thể hữu dụng trong điều trị bệnh cho người và/hoặc các ứng dụng trong thú y. Theo một số phương án, đối tượng là động vật có vú. Theo một phương án, đối tượng là người.

Thuật ngữ "lượng có tác dụng điều trị" hoặc "lượng có tác dụng" của hợp chất nêu trong bản mô tả này hoặc muối dược dụng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất hoặc chất tương tự được đánh dấu đơteri của nó có nghĩa là lượng đủ để thực hiện việc điều trị khi được dùng cho đối tượng, để tạo ra lợi ích điều trị như cải thiện triệu chứng hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh. Ví dụ, lượng có tác dụng điều trị có thể là lượng đủ để làm giảm triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh đáp ứng với sự chủ vận FXR. Lượng có tác dụng điều trị có thể thay đổi tùy thuộc vào đối tượng và bệnh hoặc tình trạng bệnh cần điều trị, cân nặng và độ tuổi của đối tượng, mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc tình trạng bệnh và cách dùng, mà có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất nêu trong bản mô tả này để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh và/hoặc tình trạng bệnh thông qua sự gắn kết của thụ thể nhân đã nêu với hợp chất này. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất nêu trên để bào chế thuốc dùng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh và/hoặc tình trạng bệnh thông qua sự gắn kết của thụ thể nhân đã nêu với hợp chất này.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất theo công thức (I) trong bào chế thuốc dùng để phòng ngừa và/hoặc điều trị tình trạng ứ

mật trong gan mạn tính hoặc một số dạng của tình trạng ứ mật ngoài gan, tình trạng xơ hóa, tình trạng ứ mật trong gan cấp tính, rối loạn viêm tắc nghẽn hoặc mạn tính phát sinh do thành phần mật không phù hợp, tình trạng đường dạ dày-ruột giảm hấp thu chất béo trong chế độ ăn và vitamin tan được trong chất béo trong chế độ ăn, bệnh viêm ruột, rối loạn lipit và lipoprotein, bệnh đái tháo đường typ II và biến chứng lâm sàng của bệnh đái tháo đường typ I và typ II, tình trạng bệnh và bệnh gây ra do sự thoái hóa mỡ và xơ hóa mạn tính của cơ quan do sự tích tụ lipit và đặc biệt là triglyxerit cưỡng bức và sự hoạt hóa quá trình gây xơ hóa sau đó, bệnh béo phì và hội chứng chuyển hóa (tình trạng bệnh kết hợp của rối loạn lipit huyết, bệnh đái tháo đường và chỉ số khối cơ thể cao bất thường), nhồi máu cơ tim cấp tính, đột quỵ cấp tính, chứng huyết khối xảy ra dưới dạng điểm cuối của chứng xơ vữa động mạch tắc nghẽn mạn tính, nhiễm trùng dai dẳng bởi vi khuẩn nội bào hoặc động vật nguyên sinh ký sinh, rối loạn tăng sinh không ác tính, rối loạn tăng sinh ác tính, caxinom tuyến ruột kết và cụ thể là caxinom tế bào gan, bệnh gan nhiễm mỡ và hội chứng liên quan, suy gan hoặc hỏng chức năng gan do hậu quả của bệnh gan mạn tính hoặc phẫu thuật gan, nhiễm viêm gan B, nhiễm viêm gan C và/hoặc hiệu ứng ứ mật và xơ hóa liên quan đến bệnh xơ gan do rượu hoặc đến các dạng viêm gan do virut gây ra.

Thuốc trong bản mô tả này có thể được bào chế bằng các quy trình thông thường, bao gồm tổ hợp của hợp chất theo sáng chế và chất mang dược dụng.

FXR có thể điều biến cả sản lượng tổng hợp axit mật ở gan và sự tái chế nó ở ruột (bằng cách điều hòa protein gắn kết axit mật). FXR có thể tham gia vào việc điều hòa nhiều quá trình sinh lý đa dạng liên quan đến căn nguyên và điều trị đa dạng nhiều loại bệnh như sỏi mật cholesterol, rối loạn chuyển hóa như bệnh đái tháo đường typ II, chứng loạn lipit huyết hoặc bệnh béo phì, bệnh viêm mạn tính như bệnh viêm ruột hoặc các dạng bệnh ứ mật trong gan mạn tính.

FXR điều hòa mô hình phức tạp của các gen đáp ứng ở gan và ở đường dạ dày-ruột. Các sản phẩm gen này có ảnh hưởng đối với các quá trình sinh lý đa dạng. Ví dụ, FXR ngăn chặn sự tạo ra Cyp7A1 thông qua việc điều hòa tăng mARN mã hóa SHP, là một thụ thể nhân khác có khả năng ngăn chặn chiếm ưu thế đối với LRH-1. Vì FXR gắn kết với các axit mật chính, là sản phẩm cuối của quá trình này,

nên đây có thể được xem là một ví dụ về sự ức chế phản hồi đối với mức biểu hiện gen.

Phối tử FXR tạo ra dòng mật và thay đổi thành phần axit mật hướng tới thành phần ưa nước hơn. Với sự phát triển của phối tử FXR tổng hợp đầu tiên GW4064 làm hợp chất công cụ và của phối tử axit mật nhân tạo bán tổng hợp 6-alpha-etyl-CDCA, có thể phân tích các tác động của việc siêu kích thích FXR bởi chất chủ vận có hiệu lực. Cả hai phối tử này đều được cho thấy là tạo ra dòng mật ở động vật bị thắt ống mật. Ngoài ra, ngoài tác dụng lợi mật, tác dụng bảo vệ gan cũng có thể được chứng minh. Tác dụng bảo vệ gan này bao gồm tác dụng chống xơ hóa nhờ ngăn chặn các chất ức chế mô của men tiêu hủy cấu trúc nền 1 và 2 (Tissue Inhibitor of Matrix-Metalloproteinase 1 và 2, hoặc TIMP-1 và 2), tạo ra men tiêu hủy cấu trúc nền 2 (Matrix-Metalloproteinase 2, hoặc MMP-2) phân giải colagen lắng đọng ở tế bào hình sao ở gan, và sau đó làm giảm mARN của alpha-colagen và mARN của yếu tố tăng trưởng chuyển dạng beta (TGF-beta), cả hai đều là yếu tố gây xơ hóa.

Ngoài ra, hoạt tính chống ứ mật cũng được chứng minh ở mô hình động vật bị thắt ống mật, cũng như ở mô hình động vật bị ứ mật do estrogen. Các nghiên cứu di truyền chứng minh rằng ở các dạng di truyền của bệnh ứ mật (bệnh ứ mật trong gan tiến triển có tính chất gia đình = PFIC, typ I-IV), sự định vị ở nhân của chính FXR bị giảm đi do sự đột biến ở gen FIC1 (ở PFIC typ I, còn được gọi là bệnh Byler) (F. Chen et al., Gastroenterology 2004, 126, 756; L. Alvarez et al., Hum. Mol. Genet. 2004, 13, 2451) hoặc mức của gen đích FXR mã hóa bơm tống xuất phospholipit MDR-3 bị giảm đi (ở PFIC typ III). Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy rằng hợp chất gắn kết FXR có thể chứng minh công dụng lâm sàng đáng kể trong phác đồ điều trị tình trạng ứ mật mạn tính như bệnh xơ gan mật nguyên phát (PBC) hoặc bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC).

Chất chủ vận FXR có thể hữu dụng trong việc ngăn ngừa sự hình thành sỏi mật cholesterol hoặc ngăn ngừa sự hình thành lại của sỏi mật sau khi phẫu thuật cắt bỏ hoặc tán sỏi bằng sóng xung kích. Ví dụ, bằng cách sử dụng hợp chất công cụ FXR tổng hợp GW4064, có thể chứng minh được rằng việc hoạt hóa FXR dẫn đến sự cải thiện chỉ số bão hòa cholesterol (CSI) và trực tiếp loại bỏ sự hình thành sỏi

mật ở chuột nhắt mẫn cảm với sỏi mật C57L, trong khi việc điều trị bằng thuốc ở chuột nhắt đã bị loại bỏ (knockout) FXR không thể hiện tác dụng đối với sự hình thành sỏi mật. Do đó, theo một phương án của sáng chế, hợp chất theo công thức (I) và dược phẩm chứa hợp chất này được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị rối loạn viêm tắc nghẽn hoặc mạn tính phát sinh do thành phần mật không phù hợp như bệnh sỏi mật, còn được gọi là sỏi mật cholesterol.

Chất chủ vận FXR có thể hữu dụng trong việc bảo vệ ruột khỏi sự biến đổi tân sinh và khỏi sự phát triển của polyp và sự chuyển đổi của chúng thành caxinom tuyến ở ruột. Sự vắng mặt của FXR làm tăng cao sự hình thành bệnh ung thư biểu mô tế bào gan (HCC), là dạng đáng chú ý nhất của bệnh ung thư gan. Trong khi FXR chức năng ngăn ngừa sự hình thành caxinom tuyến ruột kết và caxinom tế bào gan, thì việc hoạt hóa FXR giúp tái tạo gan sau thủ thuật cắt gan.

Tác dụng bảo vệ gan, chống tân sinh và tái tạo gan kết hợp liên quan đến sự hoạt hóa FXR có thể được khai thác về mặt trị liệu để sử dụng chất chủ vận FXR trong điều trị bệnh gan nghiêm trọng. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này được sử dụng trong điều trị bệnh gan như HCC, kích thích sự tái sinh gan và làm giảm tác dụng phụ liên quan đến đại phẫu gan, xơ gan không phụ thuộc vào căn nguyên, và ngăn ngừa hoặc điều trị chứng thiếu máu cục bộ ở gan trong quá trình ghép gan hoặc đại phẫu gan.

Ngoài ra, FXR có thể là chất điều hòa chính của triglyxerit trong huyết thanh. Sự hoạt hóa FXR bởi chất chủ vận tổng hợp có thể làm giảm đáng kể triglyxerit trong huyết thanh, chủ yếu ở dạng làm giảm VLDL, nhưng cũng làm giảm tổng cholesterol trong huyết thanh. Việc làm giảm triglyxerit trong huyết thanh không phải là một tác dụng riêng lẻ. Việc điều trị chuột nhắt db/db hoặc ob/ob bằng chất chủ vận FXR tổng hợp GW4064 làm giảm rõ rệt và kết hợp triglyxerit trong huyết thanh, tổng cholesterol, axit béo tự do, thể keton như 3-OH butyrat. Ngoài ra, sự hoạt hóa FXR liên quan đến quá trình truyền tín hiệu insulin nội bào ở tế bào gan, làm giảm sản lượng glucoza từ quá trình tạo glucoza ở gan nhưng đồng thời làm tăng glycogen ở gan. Độ nhạy insulin cũng như khả năng dung nạp glucoza chịu ảnh hưởng tích cực bởi việc điều trị bằng FXR. Gần đây, tác dụng đối với việc làm giảm thể trọng cũng được quan sát thấy ở chuột nhắt được cho ăn

quá nhiều với chế độ ăn nhiều lipit. Tác dụng làm giảm thể trọng có thể là do FXR gây ra FGF-19, là một yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi đã được biết là làm giảm trọng lượng và tạo ra kiểu hình khỏe mạnh. Tác dụng của chất chủ vận FXR đối với việc làm giảm thể trọng đã được chứng minh.

Theo đó, chất chủ vận FXR có thể được khai thác theo các cách điều trị khác nhau: hợp chất gắn kết FXR được cho là ứng cử viên tốt cho việc điều trị bệnh đái tháo đường typ II nhờ độ nhạy insulin, tác dụng tạo glycogen và làm giảm lipit của nó.

Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này được sử dụng trong phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh đái tháo đường typ II mà có thể được khắc phục nhờ FXR điều tiết việc điều hòa tăng độ nhạy insulin toàn thân và sự truyền tín hiệu insulin nội bào ở gan, tăng hấp thu và chuyển hóa glucoza ngoại biên, tăng dự trữ glycogen ở gan, giảm sản lượng glucoza đi vào huyết thanh từ quá trình tạo glucoza ở gan.

Theo phương án khác, hợp chất và dược phẩm này được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh ứ mật trong gan mạn tính, như PBC, PSC, bệnh ứ mật trong gan tiến triển có tính chất gia đình (PFIC), bệnh xơ gan do rượu và bệnh ứ mật liên quan, và một số dạng của tình trạng ứ mật ngoài gan, hoặc tình trạng xơ hóa gan.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm chứa hợp chất này để phòng ngừa và/hoặc điều trị tình trạng đường dạ dày-ruột giảm hấp thu chất béo trong chế độ ăn và vitamin tan được trong chất béo trong chế độ ăn mà có thể được khắc phục bằng cách tăng lượng axit mật và phospholipit trong ruột.

Theo phương án khác, hợp chất hoặc dược phẩm này được sử dụng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm rối loạn lipit và lipoprotein như chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng triglyxerit huyết và chứng xơ vữa động mạch như một tình trạng biểu hiện lâm sàng mà có thể được cải thiện nhờ tác dụng có lợi của FXR đối với việc làm giảm tổng cholesterol trong huyết tương, làm giảm triglyxerit trong huyết thanh, làm tăng sự chuyển hóa cholesterol ở gan thành axit mật và làm tăng sự thanh thải và chuyển hóa VLDL và các lipoprotein khác ở gan.

Theo một phương án khác, hợp chất và dược phẩm này được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh trong đó tác dụng làm giảm lipit, chống ứ mật và chống xơ hóa kết hợp của thuốc nhắm đích FXR có thể được khai thác để điều trị bệnh gan nhiễm mỡ và hội chứng liên quan như bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), hoặc để điều trị hiệu ứng ứ mật và xơ hóa liên quan đến bệnh xơ gan do rượu hoặc đến các dạng viêm gan do virut gây ra.

Cùng với tác dụng làm giảm lượng lipit trong máu, đã nhận thấy rằng sự mất FXR chức năng làm tăng chứng xơ vữa động mạch ở chuột nhắt đã bị loại bỏ (knockout) ApoE. Theo đó, chất chủ vận FXR có thể có công dụng lâm sàng làm thuốc chống xơ vữa động mạch và bảo vệ tim. Việc điều hòa giảm endothelin-1 trong tế bào cơ trơn ở mạch cũng có thể góp phần vào các tác dụng điều trị có lợi này.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất theo công thức (I) hoặc dược phẩm chứa hợp chất này để điều trị ngăn ngừa và sau chấn thương đối với rối loạn tim mạch, như nhồi máu cơ tim cấp tính, đột quỵ cấp tính hoặc chứng huyết khối xảy ra dưới dạng điểm cuối của chứng xơ vữa động mạch tắc nghẽn mạn tính.

Ngoài việc kiểm soát sự tạo thành polyp ở ruột và ruột kết, FXR dường như được biểu hiện ở các dòng tế bào và mô ung thư vú, nhưng không ở mô vú khỏe mạnh và dường như tương tác với thụ thể estrogen ở tế bào ung thư vú ER dương tính. Do đó, FXR có thể là đích tiềm năng để điều trị bệnh tăng sinh, đặc biệt là các dạng bệnh ung thư di căn mà biểu hiện dạng đáp ứng phân tử nhỏ của FXR.

Theo phương án khác, hợp chất và dược phẩm này được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị rối loạn tăng sinh ác tính như các dạng bệnh ung thư khác nhau, cụ thể là một số dạng bệnh ung thư vú, gan hoặc ruột kết mà sự can thiệp bằng phối tử FXR sẽ có tác động có lợi.

FXR có thể tham gia vào việc kiểm soát bảo vệ kháng khuẩn ở ruột. Chất chủ vận FXR có thể có tác động có lợi trong điều trị rối loạn viêm ruột (IBD). Ví dụ, ở dạng IBD trong đó phần ruột trên (ruột hồi) bị ảnh hưởng (ví dụ, bệnh Crohn ruột hồi), chất chủ vận FXR có thể có tác dụng có lợi thông qua việc FXR điều tiết việc kiểm soát sự sinh trưởng của vi khuẩn. Ở IBD, sự giải mẫn cảm của đáp ứng miễn dịch thích ứng bị suy giảm theo cách nào đó trong hệ miễn dịch đường ruột.

Sự sinh trưởng quá mức của vi khuẩn sau đó có thể là nguyên nhân gây ra đáp ứng viêm mạn tính. Do đó, việc ngăn chặn sự sinh trưởng của vi khuẩn theo cơ chế bắt nguồn từ FXR có thể là cơ chế quan trọng để ngăn ngừa các đợt viêm cấp tính.

Do đó, sáng chế cũng đề cập đến hợp chất theo công thức (I) hoặc dược phẩm chứa hợp chất này để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh liên quan đến bệnh viêm ruột, như bệnh Crohn hoặc bệnh viêm ruột kết mạn loét. Sự phục hồi chức năng rào cản của ruột và làm giảm tải lượng vi khuẩn không hội sinh, được điều tiết bởi FXR, được cho là hữu dụng trong việc làm giảm sự tiếp xúc của kháng nguyên vi khuẩn với hệ miễn dịch đường ruột, và do đó có thể làm giảm đáp ứng viêm.

Sáng chế còn đề cập đến hợp chất hoặc dược phẩm để phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh béo phì và rối loạn liên quan như hội chứng chuyển hóa (tình trạng bệnh kết hợp của chứng loạn lipit huyết, bệnh đái tháo đường và chỉ số khối cơ thể cao bất thường) mà có thể được khắc phục nhờ FXR điều tiết việc làm giảm triglyxerit trong huyết thanh, glucoza trong máu và làm tăng độ nhạy insulin và giảm trọng lượng.

Theo phương án khác, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế hữu dụng trong việc ngăn ngừa và/hoặc điều trị biến chứng lâm sàng của bệnh đái tháo đường typ I và typ II. Ví dụ về biến chứng này bao gồm bệnh thận đái tháo đường, bệnh võng mạc đái tháo đường, bệnh thần kinh đái tháo đường hoặc bệnh tắc động mạch ngoại vi (PAOD). Các biến chứng lâm sàng khác của bệnh đái tháo đường cũng được bao gồm theo sáng chế.

Ngoài ra, tình trạng bệnh và bệnh gây ra do sự thoái hóa mỡ và xơ hóa mạn tính của cơ quan do sự tích tụ lipit và đặc biệt là triglyxerit cưỡng bức và sự hoạt hóa quá trình gây xơ hóa sau đó cũng có thể được ngăn ngừa và/hoặc điều trị bằng cách dùng hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế. Tình trạng bệnh và bệnh như vậy bao gồm NASH và tình trạng ứ mật mạn tính ở gan, chứng xơ cứng tiểu cầu thận và bệnh thận đái tháo đường ở thận, bệnh thoái hóa điểm vàng và bệnh võng mạc đái tháo đường ở mắt và bệnh thoái hóa thần kinh, như bệnh Alzheimer ở não, hoặc bệnh thần kinh đái tháo đường ở hệ thần kinh ngoại biên.

Theo phương án khác, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế hữu dụng trong việc ngăn ngừa và/hoặc điều trị tình trạng xơ hóa gan bẩm sinh.

Liều lượng

Liều có tác dụng của thành phần hoạt tính được sử dụng có thể thay đổi tùy thuộc vào hợp chất cụ thể được sử dụng, cách dùng, tình trạng bệnh được điều trị và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh được điều trị. Liều này có thể được xác định một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật.

Khi điều trị hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh được điều tiết bởi FXR mà được chỉ định dùng hợp chất theo sáng chế, thì thu được kết quả nhìn chung là đạt yêu cầu khi hợp chất theo sáng chế được dùng với liều hằng ngày nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 mg đến khoảng 300 mg tính theo mỗi kg thể trọng của động vật. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được dùng dưới dạng một liều hằng ngày đơn lẻ hoặc theo các liều chia nhỏ từ hai đến sáu lần một ngày, hoặc ở dạng giải phóng duy trì liên tục. Đối với hầu hết các loài động vật có vú cỡ lớn, tổng liều hằng ngày nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg đến khoảng 1000 mg, hoặc từ khoảng 1 mg đến khoảng 50 mg. Trong trường hợp của người trưởng thành nặng 70 kg, tổng liều hằng ngày thường nằm trong khoảng từ khoảng 7 mg đến khoảng 350 mg. Chế độ liều này có thể được điều chỉnh để tạo ra đáp ứng điều trị tối ưu. Theo một số phương án, tổng liều hằng ngày nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg đến khoảng 900 mg, từ khoảng 10 mg đến khoảng 800 mg, từ khoảng 20 mg đến khoảng 700 mg, từ khoảng 30 mg đến khoảng 600 mg, từ khoảng 40 mg đến khoảng 550 mg, từ khoảng 50 mg đến khoảng 400 mg, từ khoảng 50 mg đến khoảng 300 mg, hoặc từ khoảng 50 mg đến khoảng 200 mg.

Hợp chất theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa nó có thể được dùng một lần, hai lần, ba lần hoặc bốn lần mỗi ngày, bằng cách sử dụng cách thức thích hợp bất kỳ nêu trên. Ngoài ra, việc dùng hoặc điều trị bằng hợp chất có thể được tiếp diễn trong một số ngày; ví dụ, thông thường việc điều trị sẽ tiếp tục trong ít nhất 7 ngày, 14 ngày hoặc 28 ngày đối với một chu kỳ điều trị. Chu kỳ điều trị đã được biết rõ trong liệu pháp hóa trị ung thư, và thường được xen kẽ với thời gian nghỉ khoảng 1 đến 28 ngày, thường là khoảng 7 ngày hoặc khoảng 14 ngày, giữa các chu kỳ. Theo các phương án khác, chu kỳ điều trị cũng có thể là liên tục.

Theo một phương án cụ thể, phương pháp nêu trong bản mô tả này bao gồm bước dùng cho đối tượng liều hằng ngày ban đầu nằm trong khoảng từ khoảng 1

đến 800 mg hợp chất nêu trong bản mô tả này và tăng liều này theo gia lượng cho đến khi đạt được hiệu quả lâm sàng. Gia lượng bằng khoảng 5, 10, 25, 50 hoặc 100 mg có thể được sử dụng để tăng liều. Liều có thể được tăng lên hằng ngày, hai ngày một lần, hai lần một tuần hoặc một lần một tuần.

Chế phẩm kết hợp

Theo một số phương án, hợp chất nêu trong bản mô tả này được dùng kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh nêu trong bản mô tả này. Theo một số phương án, một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung này là chất ức chế ACE, chất ức chế axetyl CoA carboxylaza, chất chủ vận thụ thể adenosin A3, chất chủ vận thụ thể adiponectin, chất ức chế kinaza protein AKT, kinaza protein được hoạt hóa bởi AMP (AMPK), chất chủ vận thụ thể amylin, chất đối kháng thụ thể angiotensin II AT-1, chất ức chế autotaxin, lipit có hoạt tính sinh học, chất chủ vận calcitonin, chất ức chế caspaza, chất kích thích caspaza-3, chất ức chế cathepsin, chất ức chế caveolin 1, chất đối kháng CCR2 chemokin, chất đối kháng CCR3 chemokin, chất đối kháng CCR5 chemokin, chất kích thích kênh clorua, chất ức chế CNR1, chất ức chế cyclin D1, chất ức chế sắc tố tế bào P450 7A1, chất ức chế DGAT1/2, chất ức chế dipeptidyl peptidaza IV, chất điều biến endosialin, chất ức chế phối tử eotaxin, chất điều biến protein nền ngoại bào, chất chủ vận thụ thể farnesoid X, chất ức chế syntaza axit béo, chất chủ vận thụ thể FGF1, phối tử yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (FGF-15, FGF-19, FGF-21), chất ức chế galectin-3, chất chủ vận thụ thể glucagon, chất chủ vận peptit giống glucagon 1, chất chủ vận thụ thể axit mật cộng hợp protein G 1, chất điều biến Hedgehog (Hh), chất ức chế proteaza virut viêm gan C NS3, chất điều biến yếu tố nhân tế bào gan 4 alpha (HNF4A), chất điều biến yếu tố tăng trưởng tế bào gan, chất ức chế HMG CoA reductaza, chất chủ vận IL-10, chất đối kháng IL-17, chất ức chế yếu tố vận chuyển đồng thời natri axit mật ở ruột hồi, chất nhạy insulin, chất điều biến integrin, chất ức chế kinaza gắn kết với thụ thể interleukin-1 4 (IRAK4), chất ức chế Jak2 tyrosin kinaza, chất ức chế ketohexokinaza, chất kích thích klotho beta, chất ức chế 5-lipoxyaza, chất ức chế lipoprotein lipaza, thụ thể X ở gan, chất kích thích gen LPL, chất đối kháng thụ thể lysophosphatidat-1, chất ức chế thể tương đồng lysyl oxidaza 2, chất ức chế men tiêu hủy cấu trúc nền (MMP: matrix

metalloproteinase), chất ức chế kinaza protein MEKK-5, chất ức chế amin oxidaza đồng ở màng (VAP-1), chất ức chế methionin aminopeptidaza-2, chất điều biến protein gắn kết metyl CpG 2, chất ức chế microARN-21 (miR-21), chất tách cặp ty thể, chất kích thích MBP (myelin basic protein), chất ức chế protein miền NACHT LRR PYD 3 (NLRP3), chất kích thích deaxetylaza sirtuin phụ thuộc NAD, chất ức chế NADPH oxidaza (NOX), chất chủ vận thụ thể axit nicotinic 1, chất kích thích thụ thể purinergic (purinoceptor) P2Y13, chất ức chế PDE 3, chất ức chế PDE 4, chất ức chế PDE 5, chất điều biến thụ thể PDGF beta, chất ức chế phospholipaza C, chất chủ vận PPAR alpha, chất chủ vận PPAR delta, chất chủ vận PPAR gamma, chất điều biến PPAR gamma, chất đối kháng thụ thể được hoạt hóa bởi proteaza 2, chất điều biến kinaza protein, chất ức chế kinaza protein gắn kết với Rho, chất ức chế yếu tố vận chuyển natri glucoza 2, chất ức chế yếu tố phiên mã SREBP, chất ức chế STAT-1, chất ức chế stearoyl CoA desaturaza-1, chất ức chế yếu tố kích thích xytokin truyền tín hiệu 1, chất ức chế yếu tố kích thích xytokin truyền tín hiệu 3, yếu tố tăng trưởng chuyển dạng β (TGF-β), kinaza được hoạt hóa bởi yếu tố tăng trưởng chuyển dạng β 1 (TAK1), chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp beta, chất đối kháng TLR-4, chất ức chế transglutaminaza, chất điều biến thụ thể tyrosin kinaza, chất điều biến GPCR, chất điều biến thụ thể hormon nhân, chất điều biến WNT hoặc chất điều biến YAP/TAZ.

Ví dụ không nhằm giới hạn sáng chế về một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung bao gồm:

chất ức chế ACE, như enalapril;

chất ức chế axetyl CoA carboxylaza (ACC), như DRM-01, gemcabene, PF-05175157 và QLT-091382;

chất chủ vận thụ thể adenosin, như CF-102, CF-101, CF-502 và CGS21680;

chất chủ vận thụ thể adiponectin, như ADP-355;

chất chủ vận thụ thể amylin/calcitonin, như KBP-042;

chất kích thích kinaza protein được hoạt hóa bởi AMP, như O-304;

chất đối kháng thụ thể angiotensin II AT-1, như irbesartan;

chất ức chế autotaxin, như PAT-505, PAT-048, GLPG-1690, X-165, PF-8380 và AM-063;

lipit có hoạt tính sinh học, như DS-102;

chất ức chế thụ thể cannabinoid typ 1 (CNR1), như namacizumab và GWP-42004;

chất ức chế caspaza, như emricasan;

chất ức chế pan-cathepsin B, như VBY-376;

chất ức chế pan-cathepsin, như VBY-825;

chất đối kháng CCR2/CCR5 chemokin, như cenicriviroc;

chất đối kháng CCR2 chemokin, như propagermanium;

chất đối kháng CCR3 chemokin, như bertilimumab;

chất kích thích kênh clorua, như cobiprostone;

chất ức chế diglyxerit axyltransferaza 2 (DGAT2), như IONIS-DGAT2Rx;

chất ức chế dipeptidyl peptidaza IV, như linagliptin;

chất ức chế phối tử eotaxin, như bertilimumab;

chất điều biến protein nền ngoại bào, như CNX-024;

chất ức chế syntaza axit béo, như TVB-2640;

chất ức chế yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 19 (rhFGF19)/sắc tố tế bào P450 (CYP)7A1, như NGM-282;

phối tử yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 21 (FGF-21), như BMS-986171,

BMS-986036;

chất chủ vận yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 21 (FGF-21)/peptit giống glucagon 1 (GLP-1), như YH-25723;

chất ức chế galectin-3, như GR-MD-02;

chất chủ vận peptit giống glucagon 1 (GLP1R), như AC-3174, liraglutide, semaglutide;

chất chủ vận thụ thể axit mật cộng hợp protein G 1 (TGR5), như RDX-009, INT-777;

chất ức chế protein sốc nhiệt 47 (HSP47), như ND-L02-s0201;

chất ức chế HMG CoA reductaza, như atorvastatin, fluvastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin và simvastatin;

chất chủ vận IL-10, như peg-ilodecakin;

chất ức chế yếu tố vận chuyển đồng thời natri axit mật ở ruột hồi, như A-4250, volixibat kali etanolat hydrat (SHP-262) và GSK2330672;

chất nhạy insulin, như KBP-042, MSDC-0602K, Px-102, RG-125 (AZD4076) và VVP-100X;

chất ức chế ketohexokinaza, như PF-06835919;

chất chủ vận beta Klotho (KLB)-FGF1c, như NGM-313;

chất ức chế 5-lipoxyaza, như tipelukast (MN-001);

chất ức chế lipoprotein lipaza, như CAT-2003;

chất kích thích gen LPL, như alipogene tiparvovec;

chất điều biến thụ thể X ở gan (LXR), như PX-L603, PX-L493, BMS-852927, T-0901317, GW-3965 và SR-9238;

chất đối kháng thụ thể lysophosphatidat-1, như BMT-053011, UD-009, AR-479, ITMN-10534, BMS-986020 và KI-16198;

chất ức chế thể tương đồng lysyl oxidaza 2, như simtuzumab;

chất ức chế amin oxidaza nhạy semicarbazide/protein kết dính mạch 1 (SSAO/VAP-1), như PXS-4728A;

chất ức chế methionin aminopeptidaza-2, như ZGN-839;

chất điều biến protein gắn kết metyl CpG 2, như mercaptamin;

chất tách cặp ty thể, như 2,4-dinitrophenol;

chất kích thích MBP (myelin basic protein), như olesoxim;

chất ức chế NADPH oxidaza 1/4, như GKT-831;

chất chủ vận thụ thể axit nicotinic 1, như ARI-3037MO;

nitazoxinide;

chất ức chế protein miền NACHT LRR PYD 3 (NLRP3), như KDDF-201406-03 và NBC-6;

chất điều biến thụ thể nhân, như DUR-928;

chất kích thích thụ thể purinergic (purinoceptor) P2Y13, như CER-209;

chất ức chế PDE 3/4, như tipelukast (MN-001);

chất ức chế PDE 5, như sildenafil;

chất điều biến thụ thể PDGF beta, như BOT-191, BOT-509;

chất chủ vận PPAR, như elafibranor (GFT-505), MBX-8025, chất đồng phân đối ảnh dạng R của pioglitazone được đánh dấu đơteri, pioglitazone, DRX-065, saroglitazar và IVA-337;

chất đối kháng thụ thể được hoạt hóa bởi proteaza 2, như PZ-235;

chất điều biến kinaza protein, như CNX-014;

chất ức chế kinaza protein gắn kết với Rho (ROCK), như KD-025;

chất ức chế yếu tố vận chuyển natri glucoza 2 (SGLT2), như ipragliflozin, remogliflozin etabonat, ertugliflozin, dapagliflozin và sotagliflozin;

chất ức chế yếu tố phiên mã SREBP, như CAT-2003 và MDV-4463;

chất ức chế stearoyl CoA desaturaza-1, như aramchol;

chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp (THR) beta, như MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;

chất đối kháng TLR-4, như JKB-121;

chất điều biến thụ thể tyrosin kinaza, như CNX-025;

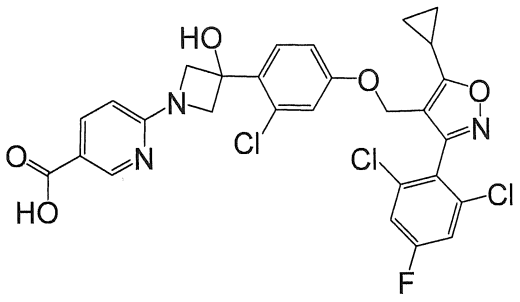
chất điều biến GPCR, như CNX-023; và

chất điều biến thụ thể hormon nhân, như Px-102.

Theo các phương án cụ thể nhất định, một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung được chọn từ A-4250, AC-3174, axit axetylsalixylic, AK-20, AKN-083, alipogene

tiparvovec, aramchol, ARI-3037MO, ASP-8232, atorvastatin, bertilimumab, betain khan, BAR-704, BI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, BWD-100, BWL-200, CAT-2003, cenicriviroc, CER-209, CF-102, CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, cobiprostone, colesevelam, dapagliflozin, 16-dehydro-pregnenolone, chất đồng phân đối ảnh dạng R của pioglitazone được đánh dấu đoteri, 2,4-dinitrophenol, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, elafibranor (GFT-505), emricasan, enalapril, EP-024297, ertugliflozin, evogliptin, EYP-001, F-351, fexaramin, GKT-831, GNF-5120, GR-MD-02, hydroclothiazit, icosapent etyl este, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, INV-33, ipragliflozin, Irbesarta, propagermanium, IVA-337, JKB-121, KB-GE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, metformin, sildenafil, LC-280126, linagliptin, liraglutide, LJN-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, mercaptamin, MET-409, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, namacizumab, NC-101, ND-L02-s0201, NFX-21, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, NTX-023-1, axit norursodeoxycholic, O-304, axit obeticholic, 25HC3S, olesoxim, PAT-505, PAT-048, peg-ilodecakin, pioglitazone, pirfenidone, PRI-724, PX20606, Px-102, PX-L603, PX-L493, PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, RDX-023, remogliflozin etabonat, tricaprilin tái sử dụng với mục đích khác, RG-125 (AZD4076), saroglitazar, semaglutide, simtuzumab, SIPI-7623, solithromycin, sotagliflozin, statin (atorvastatin, fluvastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin, simvastatin), TCM-606F, TERN-101, TEV-45478, tipelukast (MN-001), TLY-012, tropifexor, TRX-318, TVB-2640, UD-009, axit ursodeoxycholic, VBY-376, VBY-825, VK-2809, vismodegib, volixibat kali etanolat hydrat (SHP-626), VVP-100X, WAV-301, WNT-974 và ZGN-839.

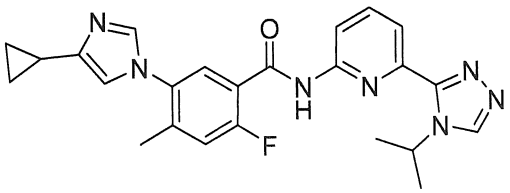
Theo một số phương án, phương pháp và dược phẩm bao gồm lượng có tác dụng điều trị của chất ức chế kinaza điều hòa tín hiệu chết theo chương trình 1 (ASK1) và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

Theo các phương án nhất định của phương pháp và dược phẩm nêu trong bản mô tả này, chất ức chế ASK1 là hợp chất có công thức (II):

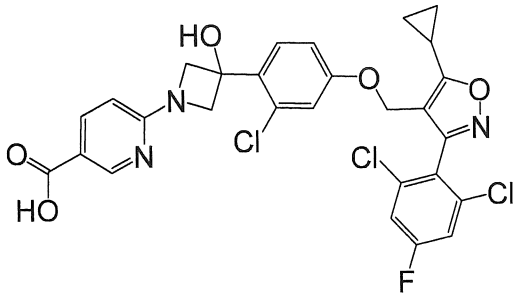


(II)

hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

Chất ức chế ASK1, như hợp chất có công thức (II), có thể được tổng hợp và được xác định đặc điểm bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật, như các phương pháp được mô tả trong U.S. 2007/0276050, U.S. 2011/0009410 và U.S. 2013/0197037.

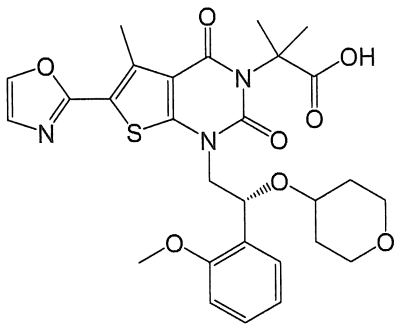
Theo một số phương án, phương pháp và dược phẩm bao gồm lượng có tác dụng điều trị của chất ức chế axetyl CoA carboxylaza (ACC) và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

Theo các phương án nhất định của phương pháp và dược phẩm nêu trong bản mô tả này, chất ức chế ACC là hợp chất có công thức (III):

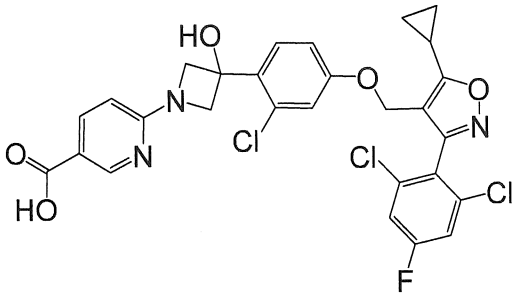


(III)

hoặc muối dược dụng của nó.

Chất ức chế ACC, như hợp chất có công thức (III), có thể được tổng hợp và được xác định đặc điểm bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật, như các phương pháp được mô tả trong công bố đơn quốc tế PCT số WO 2013/071169.

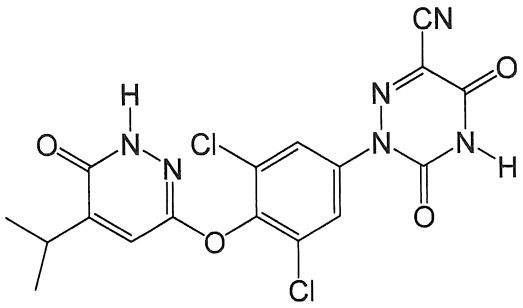
Theo một số phương án, phương pháp và dược phẩm bao gồm lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp (THR) β kết hợp với lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

Theo các phương án nhất định của phương pháp và dược phẩm nêu trong bản mô tả này, chất chủ vận THR β là hợp chất có công thức (IV):



(IV)

hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

Chất chủ vận THR β, như hợp chất có công thức (IV), có thể được tổng hợp và được xác định đặc điểm bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ nêu dưới đây được đưa ra để chứng minh cho các phương án cụ thể của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật cần hiểu rằng các kỹ thuật được mô tả trong các ví dụ dưới đây đại diện cho các kỹ thuật hoạt động tốt trong việc thực hiện sáng chế, và do đó có thể được xem là cấu thành các cách thức cụ thể để thực hiện sáng chế. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật cần hiểu rằng các ví dụ nêu trong bản mô tả này chỉ mang tính minh họa và không bao gồm toàn bộ các khía cạnh. Nhiều thay đổi có thể được thực

hiện với các phương án cụ thể được bộc lộ và vẫn thu được kết quả giống hoặc tương tự mà không tách rời khỏi bản chất và phạm vi của sáng chế.

Hợp chất nêu trong bản mô tả này có thể được điều chế theo các quy trình nêu trong các sơ đồ và các ví dụ nêu dưới đây, bằng cách sử dụng nguyên liệu thích hợp và được minh họa thêm bằng các ví dụ cụ thể nêu dưới đây. Ngoài ra, bằng cách sử dụng các quy trình nêu trong bản mô tả này, kết hợp với các kỹ năng thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật, các hợp chất bổ sung theo sáng chế được đề xuất trong bản mô tả này có thể được điều chế dễ dàng. Các ví dụ minh họa chi tiết thêm về việc điều chế các hợp chất theo sáng chế. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật dễ dàng hiểu rằng các thay đổi đã biết đối với các điều kiện và các bước của các quy trình điều chế nêu dưới đây có thể được sử dụng để điều chế các hợp chất này. Để tổng hợp các hợp chất mà là các phương án nêu trong bản mô tả này, việc kiểm tra cấu trúc của hợp chất cần được tổng hợp sẽ cung cấp đặc điểm của từng nhóm thế. Trong một số trường hợp, đặc điểm của sản phẩm cuối có thể cho thấy rõ đặc điểm của nguyên liệu đầu cần thiết nhờ quy trình kiểm tra, dựa vào các ví dụ nêu trong bản mô tả này. Các hợp chất có thể được phân tách ở dạng muối dược dụng của chúng, như các chất được mô tả ở trên. Các hợp chất nêu trong bản mô tả này thường ổn định và có thể phân tách ở nhiệt độ và áp suất trong phòng.

Minh họa về việc điều chế các hợp chất nêu trong bản mô tả này được thể hiện dưới đây. Trừ khi có quy định khác, các giá trị biến đổi có nghĩa giống như nêu trên. Các ví dụ được thể hiện dưới đây nhằm mục đích minh họa các phương án cụ thể của sáng chế. Các nguyên liệu đầu, khối tạo cấu trúc và chất phản ứng được sử dụng trong quá trình tổng hợp như được mô tả dưới đây có bán sẵn trên thị trường từ Sigma-Aldrich hoặc Acros Organics, ví dụ, hoặc có thể được điều chế theo cách thông thường theo các quy trình được mô tả trong tài liệu kỹ thuật, ví dụ, trong tài liệu "March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 5th Edition; John Wiley & Sons or T. Eicher, S. Hauptmann "The Chemistry of Heterocycles; Structures, Reactions, Synthesis and Application", 2nd edition, Wiley-VCH 2003; Fieser et al. “Fiesers´ Reagents for Organic Synthesis” John Wiley & Sons 2000.

Phương pháp

Nhiễu xạ bột tia X (XRPD)

Các đồ thị XRPD được thu trên thiết bị đo nhiễu xạ PANanalytical XPERT-PRO ở điều kiện môi trường xung quanh với các thiết đặt thí nghiệm sau đây: 45 KV, 40 mA, Kα1=1,5406 Å, phạm vi quét: 2 đến 40 °2θ, kích thước bước: 0,0084 hoặc 0,0167 °2θ, thời gian đo: 5 phút.

Phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC)

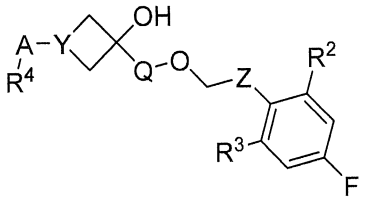
Các giản đồ nhiệt DSC được thu trên hệ thống TA Instruments Q2000 có trang bị bộ lấy mẫu tự động có 50 vị trí. Việc hiệu chuẩn năng lượng và nhiệt độ được thực hiện bằng cách sử dụng indi đã được chứng nhận. Thông thường, 1-5 mg của mỗi mẫu, trong chảo nhôm có lỗ đinh ghim, được làm nóng với tốc độ 10°C/phút từ khoảng 25°C đến khoảng 300°C. Việc sục nitơ khô với tốc độ 50 mL/phút được duy trì trên mẫu trong suốt quá trình đo. Điểm bắt đầu của quá trình thu nhiệt nóng chảy được báo cáo là điểm nóng chảy.

Phân tích nhiệt trọng trường (TGA)

Các giản đồ nhiệt TGA được thu trên hệ thống TA Instruments Q5000 có trang bị bộ lấy mẫu tự động có 25 vị trí. Khoảng 1-5 mg của mỗi mẫu được nạp vào chảo nhôm đã được cân bì từ trước và được làm nóng với tốc độ 10°C/phút từ khoảng 25°C đến khoảng 350°C. Việc sục nitơ với tốc độ 25 mL/phút được duy trì trên mẫu trong suốt quá trình đo.

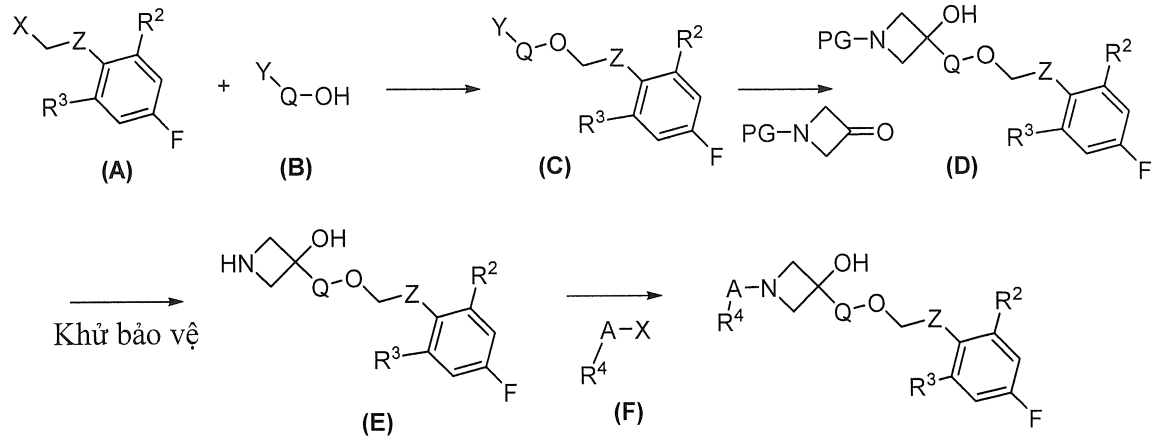
Sơ đồ tổng hợp tổng quát

Hợp chất có công thức (Ia) trong đó Y là N có thể được tổng hợp theo các sơ đồ tổng hợp tổng quát nêu dưới đây.

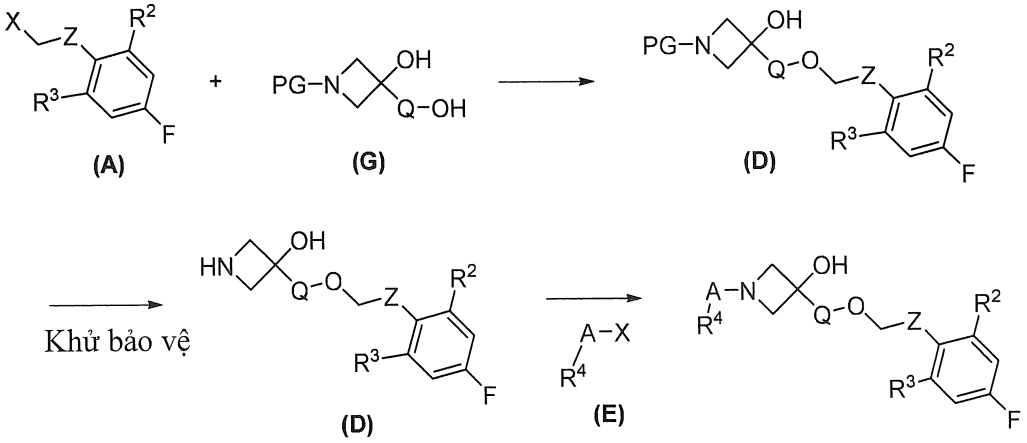


(Ia)

I



II



Trong các sơ đồ tổng hợp tổng quát nêu trên, A là pyridylen hoặc phenylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen, C_{1-4}-alkoxy, halo-C_{1-4}-alkoxy, C_{1-4}-alkyl và halo-C_{1-4}-alkyl; Q là phenylen hoặc pyridylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, C_{1-4}-alkoxy, halo-C_{1-4}-alkoxy, $-CH_2F$, $-CHF_2$ và $-CF_3$; X là nhóm rời chuyển, Y là nhóm như halogen mà có thể được sử dụng để tạo ra gốc hữu cơ-kim loại như chất phản ứng Grignard, Z là isoxazol được thế bằng R^1 hoặc pyrazol được thế bằng C_{1-4}-alkyl hoặc C_{3-6}-xycloalkyl, R^2 và R^3 độc lập được chọn từ hydro, halogen, metoxy, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-OCH_2F$, $-OCHF_2$, $-OCF_3$ và metyl; R^4 là $-CO_2R^5$ hoặc $-C(O)NR^5R^6$; R^5 là hydro, C_{1-6}-alkyl hoặc halo-C_{1-6}-alkyl; và R^6 là hydro hoặc C_{1-6}-alkyl, trong đó C_{1-6}-alkyl này tùy ý được thế bằng 1 đến 6 phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, $-SO_3H$ và $-CO_2H$. PG là nhóm bảo vệ, và các giá trị biến đổi còn lại là như được nêu trong bản mô tả này. Hợp chất có công thức (C) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (A) phản ứng với hợp chất có công thức (B) trong điều kiện có mặt bazơ. Hợp chất có công thức

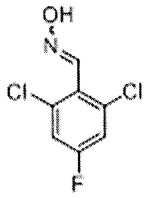
(D) được tạo ra từ hợp chất có công thức (C) thông qua việc tạo ra gốc hữu cơ-kim loại như chất phản ứng Grignard, sau đó được ngưng tụ với 3-ketoazetidin được bảo vệ một cách thích hợp. Hợp chất có công thức (E) được tạo ra từ hợp chất có công thức (D) trong điều kiện khử bảo vệ thích hợp. Hợp chất có công thức (E) có thể được kết hợp với hợp chất có công thức (F) trong điều kiện có mặt bazơ để tạo ra hợp chất có công thức (Ia).

Theo cách khác, hợp chất có công thức (D) có thể được tạo ra bằng cách cho hợp chất có công thức (A) phản ứng với hợp chất có công thức (G) trong điều kiện có mặt bazơ.

Các hợp chất có công thức (A) và (B) thích hợp có thể được điều chế theo các phương pháp được mô tả trong các ví dụ nêu dưới đây hoặc theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, X có thể là halogen (ví dụ, flo, brom, clo và/hoặc iot) và PG có thể là nhóm bảo vệ *tert*-butylcacbonyl (BOC).

Ví dụ 1: Điều chế công thức (I)

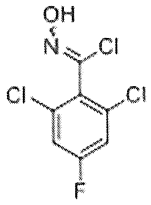
Bước 1: Điều chế 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt oxim



Huyền phù chứa 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt (20 g, 100 mmol), hydroxylamin hydroclorua (14 g, 210 mmol) và natri cacbonat (27 g, 260 mmol) trong etanol/nước (5:1, 170 mL) được nghiền bằng sóng âm trong khoảng 10 phút và sau đó được để khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng.

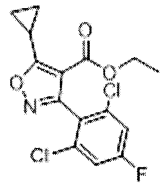
Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và etyl axetat. Pha nước được chiết hai lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên magie sulfat khan, được lọc và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_7H_5Cl_2FNO$: 207,97; phát hiện được: 207,99.

Bước 2: Điều chế 2,6-diclo-4-flo-*N*-hydroxybenzimidoyl clorua



Dung dịch chứa 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt oxim (21 g, 99 mmol) trong *N*,*N*-dimetylformamit (200 mL) được xử lý bằng một phần *N*-closuxinimit (1,5 g, 11 mmol). Hơi hydro clorua (khoảng 40 mL, được lấy từ khoảng không bên trên của chai axit clohydric đặc) được sục vào hỗn hợp này. Sau khi thêm một phần *N*-closuxinimit khác (1,5 g, 90 mmol), hai thể tích khí hydro clorua nữa (40 mL × 2) được thêm vào. *N*-closuxinimit bổ sung (12 g, 11 mmol) được thêm vào theo các phần nhỏ. Khi quan sát thấy sự tỏa nhiệt đến 25°C, hỗn hợp này được làm mát trong bể nước ở nhiệt độ phòng. Nhiệt độ được để giảm xuống khoảng 23°C và phần còn lại của *N*-closuxinimit được thêm vào theo từng phần. Tại thời điểm kết thúc việc thêm, phân tích LC/MS cho thấy vẫn còn nguyên liệu oxim ban đầu, vì vậy, phần *N*-closuxinimit cuối cùng (1,2 g, 9,0 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp này được để khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng và được chuyển tiếp sang bước tổng hợp tiếp theo mà không cần xử lý. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_7H_4Cl_3FNO$: 241,93; phát hiện được: 242,20.

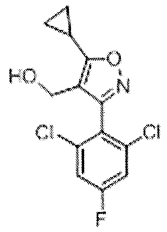
Bước 3: Điều chế etyl 5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4 carboxylat



Dung dịch chứa etyl xyclopropyl-3-oxopropanoat (19 g, 120 mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran ở nhiệt độ phòng được xử lý thông qua bơm tiêm bằng trietylamin (55 mL, 400 mmol). Sau khi khuấy 30 phút, hỗn hợp phản ứng chứa 2,6-diclo-4-flo-*N*-hydroxybenzimidoyl clorua (24 g, 99 mmol) được thêm vào theo từng giọt thông qua bơm tiêm. Tại thời điểm kết thúc việc thêm, hỗn hợp này được làm nóng ở khoảng 60°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm. Cặn được pha loãng bằng etyl axetat và dung dịch axit clohydric 10%. Pha nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các chiết phẩm hữu cơ gộp lại được rửa một lần bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên magie sulfat khan và

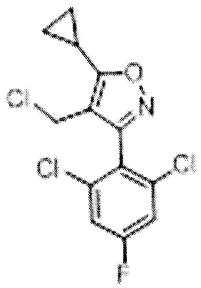
được cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh (silicagel) để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{15}H_{13}Cl_2FNO_3$: 344,02; phát hiện được: 344,03.

Bước 4: Điều chế (5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metanol



Dung dịch chứa (etyl 5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-carboxylat (15 g, 44 mmol) được hấp thụ trong 2-metyltetrahydrofuran (220 mL) và được làm lạnh trong điều kiện khuấy từ trong bể nước đá/axeton ướt có nhiệt độ khoảng -12 đến -10°C. Dung dịch lithi nhôm hydrua (2,0 M trong tetrahydrofuran, 53 mmol) được thêm vào theo từng giọt. Sau khi khuấy 30 phút trong bể, hỗn hợp, được làm lạnh trong bể nước đá-nước, được làm dừng liên tiếp bằng nước (2,0 mL, theo từng giọt rất cẩn thận), dung dịch nước natri hydroxit 15% (2,0 mL) và nước (6,0 mL). Huyền phù này được để khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút trước khi thêm magie sulfat khan, sau đó khuấy thêm 1 giờ nữa. Huyền phù đặc này được lọc; bánh lọc được rửa bằng etyl axetat, và dịch lọc được cô đến khô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh (silicagel) để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{13}H_{11}Cl_2FNO_2$: 302,01; phát hiện được: 302,51.

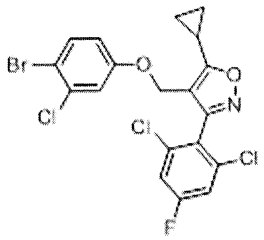
Bước 5: Điều chế 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol



Thionyl clorua (6,6 mL, 90 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm (5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metanol (9,1 g, 30 mmol) trong diclometan (150 mL) ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp này được làm nóng ở

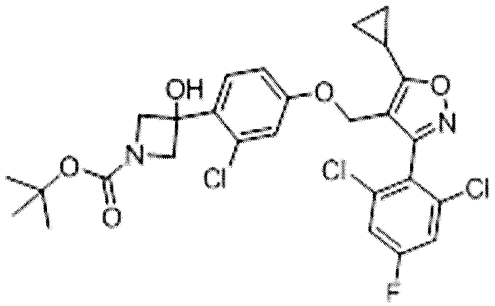
khoảng 45°C trong 45 phút. Hỗn hợp này được cô dưới áp suất giảm. Cặn được hấp thụ trong dietyl ete và được cô lại. Việc này được lặp lại hai lần nữa để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn, chất này được chuyển tiếp mà không cần tinh chế thêm. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{13}H_{10}Cl_3FNO$: 319,97; phát hiện được: 320,50.

Bước 6: Điều chế 4-((4-bromo-3-clophenoxy)metyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol



Dung dịch chứa 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol thô (4,2 g, 13 mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (50 mL) được xử lý bằng 4-bromo-3-clophenol (2,7 g, 13 mmol), natri iodua (3,3 g, 22 mmol) và kali cacbonat khan (3,6 g, 26 mmol). Hỗn hợp này được làm nóng ở khoảng 60°C trong 25 phút. Sau khi làm mát, hỗn hợp này được lọc, và dịch lọc được cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh (silicagel) để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{19}H_{13}BrCl_3FNO_2$: 489,91; phát hiện được: 490,10.

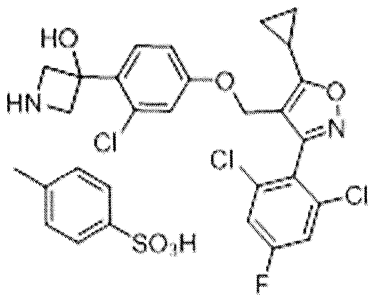
Bước 7: Điều chế tert-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat



Trong môi trường khí argon, dung dịch chứa 4-((4-bromo-3-clophenoxy)metyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol (5,1 g, 10 mmol) trong tetrahydrofuran (27 mL) được xử lý bằng dung dịch isopropylmagie

clorua/lithi clorua (1,3 M, 12 mL, 15 mmol) thông qua bơm tiêm. Hỗn hợp thu được được khuấy trong 1 giờ trước khi cho thêm một thể tích dung dịch isopropylmagie clorua/lithi clorua vào (1,3 M, 4,0 mL, 5,2 mmol). Sau khi khuấy 45 phút, một phần khác của dung dịch isopropylmagie clorua/lithi clorua (1,3 M, 1,0 mL, 1,3 mmol) được thêm vào. Sau khi khuấy 1 giờ, tert-butyl 3-oxoazetidin-1-carboxylat (3,8 g, 22 mmol) được thêm theo một phần vào hỗn hợp Grignard đang được làm lạnh trong bể nước đá/axeton ướt. Sau khi khuấy 30 phút, một phần bổ sung của tert-butyl 3-oxoazetidin-1-carboxylat (0,80 g, 4,7 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp này được làm dừng bằng dung dịch nước axit xitric 10% (50 mL). Pha nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các chất hữu cơ gộp lại được rửa một lần bằng nước và dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên magie sulfat khan, được lọc và được cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh (silicagel) để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{27}H_{27}Cl_3FN_2O_5$: 584,86; phát hiện được: 483,19.

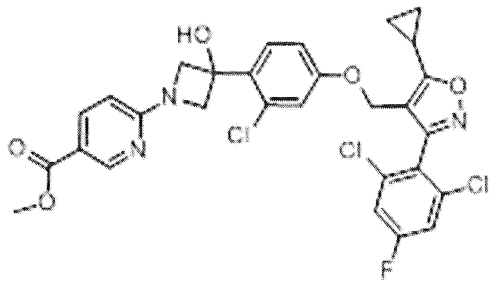
Bước 8: Điều chế muối 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol tosylat



Axit p-toluensulfonic monohydrat (3,5 g, 18 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (5,3 g, 9,1 mmol) và isopropanol (21 mL). Hỗn hợp này được làm nóng qua đêm ở khoảng 50°C và sau đó được làm lạnh trong bể nước đá/axeton ướt trong điều kiện khuấy từ. Huyền phù thu được được làm nóng gần như trở lại đồng nhất ở khoảng 50°C. Sau khi hỗn hợp đã nguội, hexan được thêm vào và huyền phù thu được được nghiền bằng sóng âm và sau đó được làm ấm đến khoảng 50°C. Chất rắn được thu bằng cách lọc hút, được rửa bằng hexan và được làm khô trong lò chân không khoảng 75°C để tạo ra

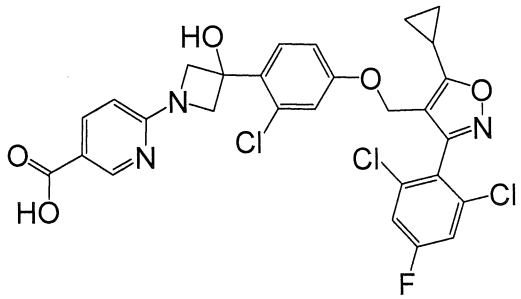
muối tosylat của hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{22}H_{19}Cl_3FN_2O_3$: 483,04; phát hiện được: 483,19.

Bước 9: Điều chế metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinat



Hỗn hợp gồm 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol tosylat (0,47 g, 0,71 mmol), metyl 6-clonicotinat (0,15 g, 0,90 mmol) và kali cacbonat (0,49 g, 3,6 mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (4 mL) được làm nóng qua đêm ở 80°C. Hỗn hợp này được chia tách giữa etyl axetat và nước. Pha nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các chiết phẩm gộp lại được rửa liên tiếp bằng nước và dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên magie sulfat khan, được lọc và được cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh (silicagel) để tạo ra hợp chất trung gian mong muốn. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{29}H_{24}Cl_3FN_3O_5$: 618,07; phát hiện được: 618,41.

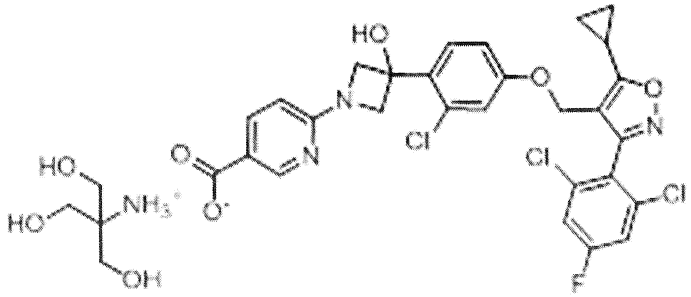
Bước 10: Điều chế axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinic



Hỗn hợp gồm metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinat (0,32 g, 0,51 mmol) và lithi hydroxit monohydrat (43 mg, 1,0 mmol) trong tetrahydrofuran/nước (1:1, 10 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm.

Hỗn hợp này được cô dưới áp suất giảm để loại bỏ hầu hết các chất dễ bay hơi. Hỗn hợp nước thu được được pha loãng tiếp bằng nước và được xử lý bằng axit axetic, sau đó là dung dịch nước axit clohydric 10%. Chất kết tủa tạo thành được thu bằng cách lọc hút, được rửa bằng nước và được làm khô trong lò chân không khoảng 50°C để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng axit tự do. LCMS-ESI+ (*m/z*): [M+H]+ theo tính toán đối với $C_{28}H_{22}Cl_3FN_3O_5$: 604,05; phát hiện được: 604,41.

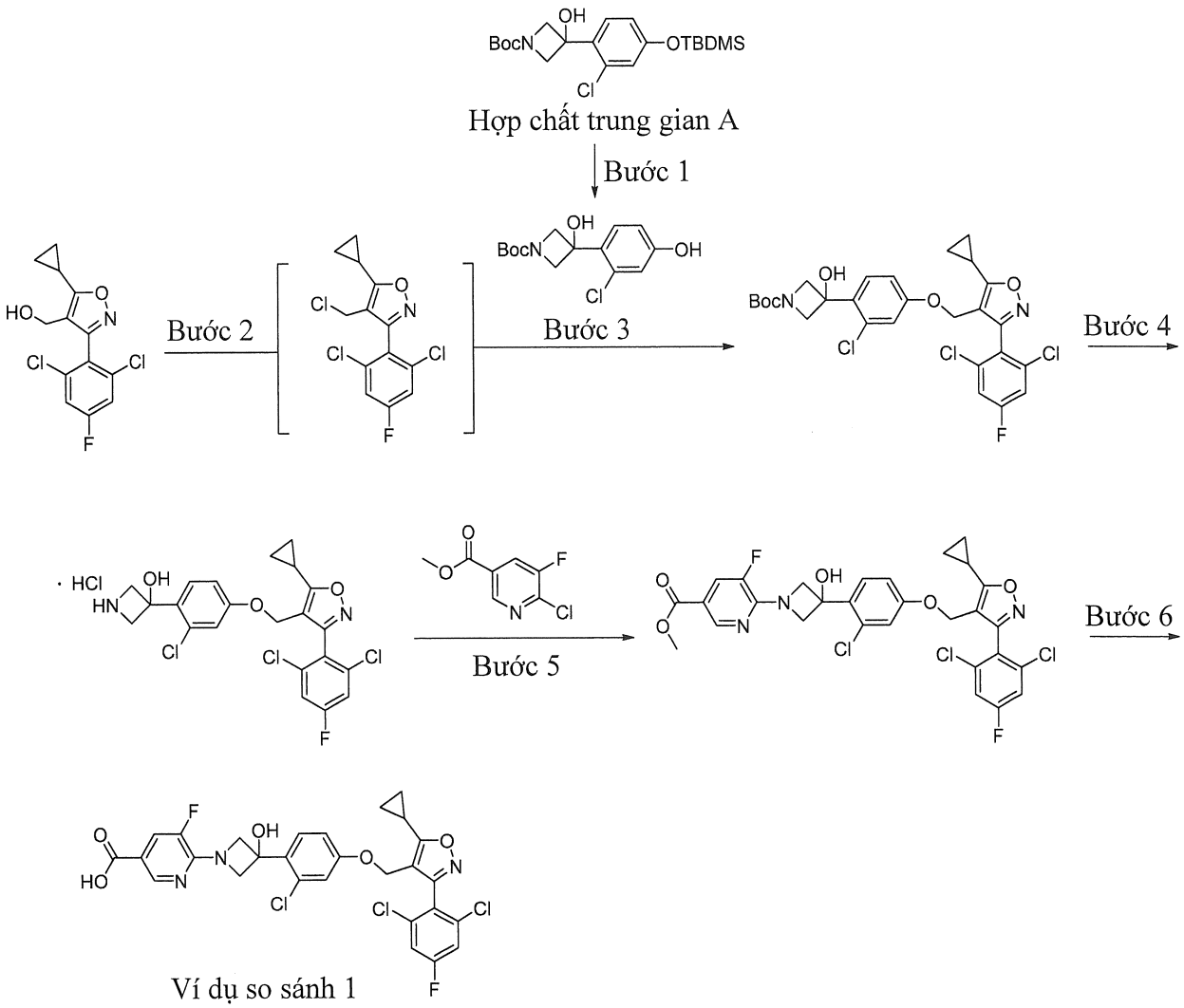
Bước 11: Điều chế axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinic, muối tris



Axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinic (0,29 g, 0,48 mmol) được hấp thụ ở dạng huyền phù trong MeOH/nước (95:5, 2 mL), được xử lý bằng trometamin (58 mg, 0,48 mmol), được làm nóng ở 55°C và được cô để tạo ra axit mong muốn dưới dạng muối trometamin. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-*d*4) δ 8,65 (dd, J = 2,2, 0,8 Hz, 1H), 8,05 (dd, J = 8,7, 2,2 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,35 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 6,78 (dd, J = 8,6, 2,6 Hz, 1H), 6,42 (dd, J = 8,8, 0,8 Hz, 1H), 4,92 (s, 2H), 4,57 (dd, J = 9,3, 1,1 Hz, 2H), 4,29 (dd, J = 9,2, 1,1 Hz, 2H), 3,63 (s, 7H), 2,32 (tt, J = 8,0, 5,5 Hz, 1H), 1,25 - 1,11 (m, 4H).

Ví dụ 2: Tổng hợp hợp chất ví dụ so sánh 1

Axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic



Tổng hợp hợp chất trung gian A:

n-BuLi (2,5 M, 75 mL) được thêm theo từng giọt vào dung dịch chứa (4-bromo-3-clophenoxy)(*tert*-butyl)dimetylsilan (60 g, 187 mmol) trong THF (500 mL) ở khoảng -78°C trong N_2. Phản ứng được khuấy ở khoảng -78°C trong 1 giờ. Tiếp theo, dung dịch chứa *tert*-butyl 3-oxoazetidin-1-carboxylat (27 g, 155 mmol) trong THF (500 mL) được thêm theo từng giọt vào hỗn hợp ở -78°C. Sau đó, phản ứng được khuấy ở khoảng 20°C trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào H_2O (1 L) và được chiết bằng EtOAc (2 L) ba lần. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước (1 L), được làm khô trên Na_2SO_4, được lọc và được cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký silicagel được rửa giải bằng ete dầu mỏ:EtOAc 10:1 để tạo ra 3-(4-((tert butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)azetidin-3-ol (hợp chất trung gian A).

Bước 1: *tert*-butyl 3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat

TBAF 1 M trong THF (3,68 mL, 3,68 mmol) được thêm theo từng giọt vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(4-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (hợp chất trung gian A, 1,27 g, 3,07 mmol) trong THF (50,0 mL) ở khoảng -10°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ và được cô để thu được *tert*-butyl 3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Bước 2: 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol

Dung dịch chứa (5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metanol (45 mg, 2,80 mmol) trong DCM (28,0 mL) được làm lạnh đến khoảng 0°C. Thionyl clorua (1,02 mL, 14,0 mmol) được thêm vào và dung dịch này được làm nóng ở khoảng 45°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đến khô và được sử dụng mà không cần tinh chế trong bước tiếp theo.

Bước 3: *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat

Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (922 mg, 3,07 mmol) trong DMF (28,0 mL) được thêm vào 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol thô, sau đó thêm kali cacbonat (773 mg, 5,60 mmol). Hỗn hợp này được làm nóng ở khoảng 60°C trong 8 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc (3x). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô trên $MgSO_4$, được lọc và được cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký silicagel (DCM/Et_2O/MeOH) để thu được *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat. LCMS-ESI$^+$ (*m/z*): $[(M+H)-BOC]^+$ theo tính toán: 483,04; phát hiện được: 483,04.

Bước 4: 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol

HCl 4 N trong 1,4-dioxan (26,0 mL, 104 mmol) được thêm vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-

yl)metoxy) phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (1,52 g, 2,60 mmol) trong DCM (130 mL). Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ và được cô đến khô để thu được 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy) phenyl)azetidin-3-ol dưới dạng muối hydroclorua, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. LCMS-ESI$^+$ (*m/z*): $[M+H]^+$ theo tính toán: 483,04; phát hiện được: 483,03.

Bước 5: metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat

Hỗn hợp gồm metyl 6-clo-5-flopyridin (235 mg, 1,24 mmol), 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol dưới dạng muối hydroclorua (495 mg, 0,952 mmol) và kali cacbonat (1,05 g, 7,61 mmol) trong DMF (30,0 mL) được làm nóng ở khoảng 60°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc (3x). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô trên $MgSO_4$, được lọc và được cô. Hỗn hợp thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký silicagel (DCM / Et_2O / MeOH) để thu được metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat. LCMS-ESI$^+$ (*m/z*): $[M+H]^+$ theo tính toán: 636,07; phát hiện được: 635,96.

Bước 6: Axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (hợp chất ví dụ so sánh 1)

Lithi hydroxit monohydrat (41,3 mg, 0,984 mmol) được thêm vào dung dịch chứa metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (364 mg, 0,571 mmol) trong THF / nước (1:1, 20,0 mL). Dung dịch này được khuấy trong 18 giờ, được cô để loại bỏ THF và được pha loãng bằng nước (10,0 mL). Độ pH được điều chỉnh đến 3 bằng cách sử dụng HCl 1 N. Các chất rắn được lọc, được rửa bằng nước, được hòa tan trong ACN / nước và được làm đông khô để thu được axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (hợp chất ví dụ so sánh 1). LCMS-ESI$^+$ (*m/z*): $[M+H]^+$ theo tính toán: 622,05; phát hiện được: 622,12. ^{1}H NMR (400 MHz,

DMSO-d_6) δ 12,84 (bs, 1H), 8,44 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,79 - 7,63 (m, 3H), 7,39 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 8,6, 2,6 Hz, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,70 (d, J = 9,8 Hz, 2H), 4,34 (d, J = 9,5 Hz, 2H), 2,50 - 2,43 (m, 1H), 1,22 - 1,08 (m, 4H).

Ví dụ 3: Thử nghiệm hoạt tính FRET

Việc xác định sự tương tác đồng yếu tố - peptit được điều tiết bởi phối tử để định lượng sự gắn kết của phối tử với thụ thể nhân FXR được thực hiện như sau.

Chuẩn bị miền gắn kết phối tử (LBD: ligand binding domain) của FXR alpha của người: LBD của FXR alpha của người được biểu hiện ở chủng *E. coli* BL21 (DE3) dưới dạng protein dung hợp được gắn đuôi GST ở đầu N. ADN mã hóa miền gắn kết phối tử của FXR được tách dòng vào vectơ pDEST15 (Invitrogen). Sự biểu hiện được kiểm soát bởi vùng khởi đầu T7 cảm ứng IPTG. Các ranh giới axit amin của miền gắn kết phối tử này là các axit amin 187-472 thuộc mục cơ sở dữ liệu NM_005123 (RefSeq). Biểu hiện và tinh chế FXR-LBD: Giống cấy được chuẩn bị trước qua đêm của một chủng *E.coli* biến nạp được pha loãng 1:20 trong môi trường LB-Ampicillin và được cho sinh trưởng ở 30°C đến mật độ quang OD_{600}= 0,4-0,6. Sau đó, sự biểu hiện gen được gây ra bằng cách thêm IPTG 0,5 mM. Các tế bào được ủ trong 6 giờ nữa ở 30°C, 180 vòng/phút. Các tế bào được thu bằng cách ly tâm (7000 x g, 7 phút, nhiệt độ phòng). Đối với mỗi lít giống cấy tế bào ban đầu, các tế bào được tạo huyền phù lại trong 10 mL đệm ly giải (glucoza 50 mM, Tris 50 mM pH=7,9, EDTA 1 mM và lysozym 4 mg/mL) và được để trên nước đá trong 30 phút. Sau đó, các tế bào được nghiền bằng sóng âm và mảnh vụn tế bào được loại bỏ bằng cách ly tâm (22000 x g, 30 phút, 4°C). 0,5 mL huyền phù đặc glutathion 4B sepharoza đã được rửa trước (Qiagen) được thêm vào mỗi 10 mL dịch nổi bề mặt và huyền phù này được giữ quay chậm trong 1 giờ ở 4°C. Các hạt glutathion 4B sepharoza được làm lắng kết bằng cách ly tâm (2000 x g, 15 giây, 4°C) và được rửa hai lần trong đệm rửa (Tris 25 mM, KCl 50 mM, $MgCl_2$ 4 mM và NaCl 1 M). Lớp lắng kết được tạo huyền phù lại trong 3 mL đệm rửa giải đối với mỗi lít giống cấy ban đầu (đệm rửa giải: Tris 20 mM, KCl 60 mM, $MgCl_2$ 5 mM và glutathion 80 mM được thêm vào ngay trước khi sử dụng dưới dạng bột). Huyền phù này được để quay trong 15 phút ở 4°C, các hạt được làm lắng kết và được rửa giải lần nữa bằng

một nửa thể tích đệm rửa giải so với lần thứ nhất. Các chất rửa giải được gom lại và được thẩm tách qua đêm trong đệm Hepes 20 mM (pH=7,5) chứa KCl 60 mM, $MgCl_2$ 5 mM cũng như dithiothreitol 1 mM và glyxerol 10% (theo thể tích). Protein được phân tích bằng SDS-Page.

Phương pháp này đo khả năng của phối tử giả định trong việc điều biến sự tương tác giữa miền gắn kết phối tử (LBD) của FXR được biểu hiện ở vi khuẩn đã được tinh chế và peptit được biotinyl hóa tổng hợp dựa vào các gốc 676-700 của SRC-1 (LCD2, 676-700). Trình tự của peptit được sử dụng là B-CPSSHSSLTERHKILHRLLQEGSPS-COOH (SEQ ID NO: 1) trong đó đầu N được biotinyl hóa (B). Miền gắn kết phối tử (LBD) của FXR được biểu hiện dưới dạng protein dung hợp với GST ở các tế bào BL-21 bằng cách sử dụng vectơ pDEST15. Các tế bào được ly giải bằng cách nghiền bằng sóng âm, và các protein dung hợp được tinh chế qua glutathion sepharoza (Pharmacia) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Để sàng lọc các hợp chất về sự ảnh hưởng của chúng đối với tương tác FXR-peptit, công nghệ LANCE của Perkin Elmer được áp dụng. Phương pháp này dựa vào sự truyền năng lượng phụ thuộc vào sự gắn kết từ chất cho đến nhóm huỳnh quang nhận được gắn vào đối tác gắn kết đang quan tâm. Để dễ xử lý và giảm tín hiệu nền từ sự phát huỳnh quang của hợp chất, công nghệ LANCE sử dụng các chất đánh dấu huỳnh quang chung và các thử nghiệm phát hiện phân giải theo thời gian được thực hiện với thể tích cuối là 25 µL trong đĩa loại 384 lỗ, trong đệm gốc Tris (Tris-HCl 20 mM pH=7,5; KCl 60 mM, $MgCl_2$ 5 mM; BSA 35 ng/µL), chứa FXR-LBD được biểu hiện tái tổ hợp được dung hợp với GST với lượng là 20-60 ng/lỗ, peptit được biotinyl hóa đầu N 200-600 nM, đại diện cho các axit amin SRC1 676-700, thể liên hợp Streptavidin-xlAPC (Prozyme) với lượng là 200 ng/lỗ và Eu W1024 - kháng GST (Perkin Elmer) với lượng là 6-10 ng/lỗ. Nồng độ DMSO của các mẫu được giữ ở 1%. Sau khi tạo ra hỗn hợp thử nghiệm và pha loãng phối tử điều biến FXR tiềm năng, thử nghiệm được làm cân bằng trong 1 giờ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong các đĩa FIA màu đen loại 384 lỗ (Greiner). Tín hiệu LANCE được phát hiện bằng thiết bị đếm đa nhãn (multilabel counter) Perkin Elmer VICTOR2VTM. Kết quả được hiển thị bằng cách vẽ đồ thị tỷ số giữa ánh sáng được phát xạ ở 665 và 615 nm. Mức nền của sự tạo thành FXR-peptit được quan sát thấy trong điều kiện không có phối tử được thêm vào. Các phối tử mà thúc

đẩy sự tạo thành phức hợp gây ra sự tăng phụ thuộc vào nồng độ về tín hiệu huỳnh quang phân giải theo thời gian. Các hợp chất mà gắn kết tốt ngang nhau với cả FXR dạng monome và phức hợp FXR-peptit được dự đoán là không tạo ra sự thay đổi nào về tín hiệu, trong khi các phối tử mà ưu tiên gắn kết với thụ thể dạng monome được dự đoán là gây ra sự giảm phụ thuộc vào nồng độ về tín hiệu quan sát được.

Để đánh giá khả năng chủ vận của các hợp chất này, giá trị EC_{50} được xác định cho các hợp chất ví dụ và được liệt kê dưới đây trong bảng 1 (FRET EC_{50}). Như được thể hiện trong bảng 1, hợp chất ví dụ 1 được đánh giá cùng với hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2 (ví dụ 3 trong công bố đơn patent Mỹ số 2017/0355685), cấu trúc hóa học của chúng được thể hiện trong bảng dưới đây.

Ví dụ 4: Thử nghiệm lai phân tử trong tế bào động vật có vú (M1H: mammalian one hybrid)

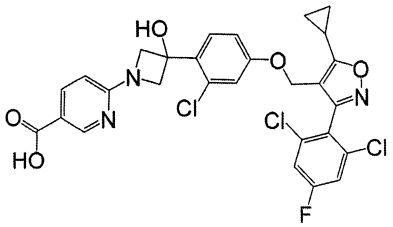
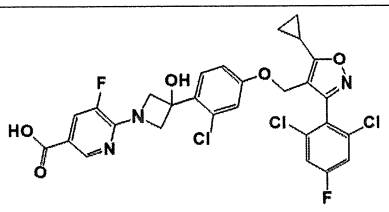
Việc xác định sự hoạt hóa chéo (transactivation) được khởi động bởi vùng khởi đầu Gal4 được điều tiết bởi phối tử để định lượng sự hoạt hóa FXR được điều tiết bởi sự gắn kết phối tử được thực hiện như sau.

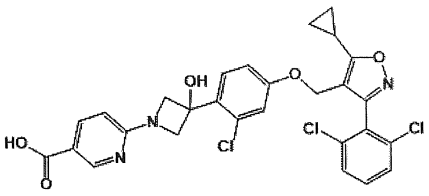
Phần cADN mã hóa miền gắn kết phối tử của FXR được tách dòng vào vectơ pCMV-BD (Stratagene) dưới dạng thể dung hợp với miền gắn kết ADN của GAL4 nấm men dưới sự kiểm soát của vùng khởi đầu CMV. Các ranh giới axit amin của miền gắn kết phối tử này là các axit amin 187-472 thuộc mục cơ sở dữ liệu NM_005123 (RefSeq). Plasmit pFR-Luc (Stratagene) được sử dụng làm plasmit chỉ thị, chứa vùng khởi đầu tổng hợp với năm đoạn lặp lại nối tiếp của các vị trí gắn kết của GAL4 nấm men, thúc đẩy sự biểu hiện của gen luxiferaza của *Photinus pyralis* (đom đóm châu Mỹ) với vai trò làm gen chỉ thị. Để cải thiện độ chính xác của thí nghiệm, plasmit pRL-CMV (Promega) được chuyển nhiễm đồng thời. pRL-CMV chứa vùng khởi đầu CMV cơ định, kiểm soát sự biểu hiện của luxiferaza của *Renilla reniformis*. Tất cả các thử nghiệm gen chỉ thị Gal4 đều được thực hiện ở các tế bào HEK293 (được nhận từ DSMZ, Braunschweig, Đức) được cho sinh trưởng trong MEM chứa L-glutamin và Earle's BSS có bổ sung huyết thanh bào thai bò 10%, axit amin không thiết yếu 0,1 mM, natri pyruvat 1 mM và 100 đơn vị penicilin/streptavidin trong mỗi mL ở khoảng 37°C trong CO_2 5%. Môi trường và chất bổ sung được mua từ Invitrogen. Đối với thử nghiệm này, 5 x 10^5 tế bào được

ria cấy vào mỗi đĩa trong các đĩa loại 96 lỗ trong 100 µL/lỗ MEM không chứa phenol đỏ và L-glutamin và chứa Earle's BSS có bổ sung FBS 10% đã được xử lý bằng than/dextran (HyClone, South Logan, Utah), axit amin không thiết yếu 0,1 mM, glutamin 2 mM, natri pyruvat 1 mM và 100 đơn vị penicilin/streptavidin trong mỗi mL, được ủ ở khoảng 37°C trong CO_2 5%. Ngày tiếp theo, các tế bào hợp lưu > 90%. Môi trường được loại bỏ và các tế bào được chuyển nhiễm tạm thời bằng cách sử dụng 20 µL chất chuyển nhiễm dựa trên cơ sở OptiMEM - polyetylen-imin (OptiMEM, Invitrogen; Polyetylenimin, số catalô Aldrich 40,827-7) bao gồm ba plasmit nêu trên cho mỗi lỗ. MEM có thành phần giống như được sử dụng để ria cấy các tế bào được thêm vào tại thời điểm 2-4 giờ sau khi thêm hỗn hợp chuyển nhiễm. Sau đó, dung dịch hợp chất gốc, được pha loãng trước trong MEM, được thêm vào (nồng độ cuối của môi trường dẫn thuốc không vượt quá 0,1%). Các tế bào được ủ trong 16 giờ nữa trước khi hoạt tính luxiferaza của đom đóm và *Renilla* được đo lần lượt trong cùng chiết phẩm tế bào bằng cách sử dụng hệ thống thử nghiệm luxiferaza ánh sáng kép (dual-light luciferase assay) (Dyer et al., Anal. Biochem. 2000, 282, 158-161). Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện ba lần lặp lại.

Để đánh giá hiệu lực chủ vận FXR của các hợp chất ví dụ, hiệu lực được xác định trong thử nghiệm M1H và được liệt kê dưới đây trong bảng 1 (M1H EC_{50}).

Bảng 1

Ví dụ		FRET EC_{50} (nM)	M1H EC_{50} (nM)
Ví dụ 1		14,2	5,5
Ví dụ so sánh 1		7,5	1,2

Ví dụ so sánh 2		3,4	2

Ví dụ 5: Đánh giá các thông số dược lực in vivo ở khỉ cynomolgus

Các thông số dược lực *in vivo* của hợp chất ví dụ 1 có công thức (I), hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2 được xác định dưới đây.

Sản phẩm thử nghiệm và dạng bào chế

Liều hỗn dịch dùng qua đường miệng

Các liều dung dịch dùng qua đường miệng của hợp chất có công thức (I) (hợp chất ví dụ 1) được bào chế ở nồng độ là 1 mg/mL trong hỗn dịch nước chứa 1% natri lauryl sulfat (SLS), 1% etanol và 98% nước ở độ pH=2. Các liều hỗn dịch dùng qua đường miệng của hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2 được bào chế ở nồng độ là 2,5 mg/mL trong 1% hydyroxypropyl metylxenluloza (HPMC), 0,5% Tween 80 và 98,5% nước.

Liều dùng trong tĩnh mạch

Các liều dùng trong tĩnh mạch của hợp chất có công thức (I) (hợp chất ví dụ 1), hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2 được bào chế ở nồng độ là 0,5 mg/mL trong môi trường dẫn thuốc bao gồm 5% DMSO, 15% NMP, 60% PEG 300 và nước với 1,1 đương lượng NaOH.

Động vật

Mỗi nhóm dùng thuốc bao gồm 3-6 con khỉ cynomolgus đực. Tại thời điểm dùng thuốc, các con khỉ này có cân nặng từ 2,4 đến 4,4 kg.

Dùng thuốc

Các sản phẩm thử nghiệm dùng qua đường miệng được dùng cho các con khỉ bằng ống đưa qua đường miệng với lượng là 2 mL/kg hoặc ống thông mũi - dạ dày với lượng là 5 mL/kg để đạt liều là 5 mg/kg. Các sản phẩm thử nghiệm dùng trong tĩnh mạch được cho dùng dưới dạng truyền khoảng 30 phút qua ống thông tiểu giữ

lưu (indwelling catheter) trong tĩnh mạch hiển hoặc tĩnh mạch đầu với lượng khoảng 2 mL/kg để đạt liều là 1 mg/kg.

Thu mẫu

Các mẫu máu tĩnh mạch được lấy tại các thời điểm xác định sau khi dùng thuốc từ mỗi con vật. Các mẫu máu được thu và được chuyển vào các ống chứa chất chống đông kali (K_2) EDTA.

Xác định nồng độ FGF19 trong huyết tương

Bộ kit thử nghiệm FGF19 ELISA từ BioVendor (số sản phẩm RD191107200R) được sử dụng để xác định nồng độ FGF19 trong các mẫu máu thu được.

Xác định nồng độ thuốc trong huyết tương

Để phân tích trên hệ thống LC/MS/MS API 5000, lượng nhỏ 50 µL của mỗi mẫu huyết tương được xử lý bằng 200 µL axetonitril (ACN) chứa chất chuẩn nội. Dung dịch nêu trên được ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút và 50 µL dịch nổi bề mặt được chuyển sang đĩa loại 96 lỗ sạch, sau đó thêm 200 µL nước. Lượng nhỏ 10 µL được tiêm vào hệ thống LC/MS/MS API 5000.

Để phân tích trên hệ thống LC/MS/MS API 5500 của Applied Biosystems, lượng nhỏ 20 µL của mỗi mẫu huyết tương được xử lý bằng 120 µL axetonitril (ACN) chứa chất chuẩn nội. Dung dịch nêu trên được ly tâm và 100 µL dịch nổi bề mặt được chuyển sang đĩa loại 96 lỗ sạch, sau đó thêm 100 µL nước. Lượng nhỏ 7-10 µL được tiêm vào hệ thống LC/MS/MS API 5500.

Điều kiện HPLC

Cột Zorbax Extend C18 HPLC (50 x 2,1 mm, 3,5 µm) từ Agilent Technologies (Part # 735700-902) (hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2) hoặc cột Waters BEH C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 µm) (hợp chất ví dụ 1) được sử dụng. Đối với cột Zorbax Extend C18 HPLC, pha động A chứa dung dịch nước chứa 1% axetonitril trong amoni format 10 mM được điều chỉnh đến độ pH=3,0 bằng axit formic và pha động B chứa 10% axetonitril trong amoni format 10 mM được điều chỉnh đến độ pH=4,6 bằng axit formic. Đối với cột Waters BEH C18, pha động A chứa 95% nước, 5% axetonitril và 0,1% axit formic, và pha động B chứa

50% metanol, 50% axetonitril và 0,1% axit formic. Bộ đa công (multiplexer) Thermo Aria có hai bơm hai thành phần (P/N G1312A Bin Pump) Agilent 1200 Series giống nhau được sử dụng để rửa giải và tách. Các chương trình rửa giải được sử dụng được thể hiện trong bảng 2 nêu dưới đây đối với cột Zorbax Extend C18 HPLC và trong bảng 3 nêu dưới đây đối với cột Waters BEH C18.

Bảng 2.

Thời gian (giây)	Chú thích bước	Lưu lượng (mL/phút)	Pha động A (%)	Pha động B (%)
30	Nạp mẫu	0,50	85	15
180	Thay đổi kiểu dốc tuyến tính	0,50	50	50
90	Thay đổi kiểu dốc tuyến tính	0,50	99	1
60	Rửa giải	0,50	99	1
120	Tái cân bằng	0,50	85	15

Bảng 3.

Thời gian (giây)	Chú thích bước	Lưu lượng (mL/phút)	Pha động A (%)	Pha động B (%)
0	Nạp mẫu	0,80	45	55
60	Thay đổi kiểu dốc tuyến tính	0,80	35	65
63	Thay đổi kiểu dốc tuyến tính	0,80	5	95
78	Thay đổi kiểu dốc tuyến tính	0,80	5	95
90	Thay đổi kiểu bậc	0,80	45	55

Thiết bị đo khối phổ ba tứ cực API 5000 từ AB Sciex, Foster City, CA được sử dụng ở chế độ theo dõi nhiều phản ứng để định lượng hợp chất. Các thông số đo khối phổ được sử dụng được thể hiện trong bảng 4 nêu dưới đây.

Bảng 4.

Nguồn ion	Điện áp phun (V)	Khí 1 (Arb)	Khí 2 (Arb)	Khí va chạm (Arb)	Nhiệt độ buồng sấy (°C)
Phun ion tuabin	5500	70	50	6	550

(Turbo Ion Spray)

Dùng qua đường miệng (PO) so với dùng trong tĩnh mạch (IV) ở khỉ cynomolgus

Sự hoạt hóa thụ thể farnesoid X ở ruột nhỏ xa tâm cũng như về mặt toàn thân là ở các cơ quan như gan trực tiếp gây ra sự biểu hiện và tiết FGF19. Mức FGF19 trong huyết tương được đánh giá như một dấu chuẩn dược lực của sự hoạt hóa FXR ở các con khỉ cynomolgus đực sau khi dùng qua đường miệng và trong tĩnh mạch các liều của hợp chất ví dụ 1, hợp chất ví dụ so sánh 1 hoặc hợp chất ví dụ so sánh 2. Sự khác biệt giữa mức FGF19 sau khi dùng qua đường miệng (PO) so với dùng trong tĩnh mạch (IV) được sử dụng để so sánh mức độ chủ vận FXR ở ruột (thông qua việc phân tích dữ liệu PO) và mức độ chủ vận FXR toàn thân (thông qua việc phân tích dữ liệu IV) đối với mỗi hợp chất được dùng. Mức trong huyết tương của thuốc và FGF19 được đo tại các thời điểm khác nhau trong khoảng thời gian 24 giờ để tạo ra các đường cong dược động và dược lực.

Fig.1 thể hiện đồ thị của nồng độ FGF19 trong huyết tương theo thời gian ở khỉ cynomolgus sau khi dùng liều hợp chất ví dụ 1.

Fig.2 thể hiện đồ thị của nồng độ FGF19 trong huyết tương theo thời gian ở khỉ cynomolgus sau khi dùng liều hợp chất ví dụ so sánh 1.

Fig.3 thể hiện đồ thị của nồng độ FGF19 trong huyết tương theo thời gian ở khỉ cynomolgus sau khi dùng liều hợp chất ví dụ so sánh 2.

Dữ liệu dược động được nêu tóm tắt trong bảng 5 dưới đây.

Bảng 5.

Ví dụ	Nhóm	FGF19 C_{max} (pg/mL)	FGF19 AUC_{last} (pg/mL.giờ)	GS-AUC_{last} (nM.giờ)	Tỷ số AUC_{last} đối với FG19/GS	PO/IV
Ví dụ 1	IV	432 +/- 100	5144 +/- 2199	3150 +/- 1030	1,6	7,8
	PO	6260 +/- 2194	28153 +/- 11539	2250 +/- 1640	12,5	
Ví dụ so sánh 1	IV	2350 +/- 179	22798 +/- 2387	1630 +/- 323	14	1,37
	PO	3810 +/- 195	32085 +/- 4252	1670 +/- 250	19,2	
Ví dụ so sánh 2	IV	1179 +/- 226	10757 +/- 2551	3140 +/- 167	3,4	8,2
	PO	3186 +/- 856	18193 +/- 7134	643 +/- 216	28	

Như được phản ánh trong kết quả, việc dùng tất cả hợp chất ví dụ 1, hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2 qua đường miệng đều làm tăng FGF19 trong huyết tương trong khoảng thời gian dùng thuốc so với mức cơ sở của FGF19 trước khi dùng thuốc. Điều này cho thấy sự chủ vận thụ thể FXR ở ruột. Việc dùng hợp chất ví dụ 1 trong tĩnh mạch không làm tăng FGF19, chứng tỏ không có sự chủ vận FXR toàn thân. Ngược lại, việc dùng các hợp chất ví dụ so sánh 1 và 2 trong tĩnh mạch làm tăng mức FGF19 so với mức cơ sở của FGF19 trước khi dùng thuốc, chứng tỏ sự chủ vận FXR toàn thân đã xảy ra.

Dữ liệu này cho thấy rằng sự tiếp xúc ở ruột hồi với hợp chất ví dụ 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2 gây ra sự hoạt hóa FXR ở biểu mô ruột. Dữ liệu này còn cho thấy rằng sự tiếp xúc toàn thân với hợp chất ví dụ so sánh 1 và hợp chất ví dụ so sánh 2, thông qua việc dùng trong tĩnh mạch, gây ra sự hoạt hóa FXR toàn thân, không ở ruột lớn hơn so với hợp chất ví dụ 1.

Ví dụ 6: Ức chế UGT1A1

Hợp chất có công thức (I) (hợp chất ví dụ 1) được thử nghiệm về sự ức chế UGT1A1 và được so sánh với hợp chất ví dụ so sánh 1. Để thực hiện thử nghiệm này, hợp chất mẫu được ủ với Supersomes™ biểu hiện UGT1A1 của người (0,25 mg/mL), alamethicin (25 µg/mg) và UDPGA (5 mM) trong điều kiện có mặt của cơ chất dò estradiol (10 µM) trong 30 phút ở 37°C. Chất ức chế UGT1A1 chọn lọc, atazanavir, được sàng lọc cùng với hợp chất thử nghiệm làm đối chứng dương. Các phản ứng được làm dừng bằng cách nhúng một lượng nhỏ vào hai thể tích metanol. Các mẫu được ly tâm với tốc độ 2500 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C, và các lượng nhỏ của dịch nổi bề mặt được pha loãng bằng axit formic trong nước khử ion (nồng độ cuối của axit formic là 0,1%) và chất chuẩn nội. Các điều kiện LC-MS/MS chung của Cyprotex được sử dụng để theo dõi sự tạo thành estradiol 3-glucuronit. Sự giảm tạo thành chất chuyển hóa so với môi trường dẫn thuốc đối chứng được sử dụng để tính toán giá trị IC_{50}.

Dữ liệu này cho thấy rằng hợp chất ví dụ 1 thể hiện hiệu lực ức chế UGT1A1 lớn nhất trong số các hợp chất được so sánh. Hợp chất ví dụ 1 có IC_{50} là 0,44 µM.

Ví dụ 7: Ức chế CYP2C8, CYP3A4 và CYP2B6

Hợp chất có công thức (I) (hợp chất ví dụ 1) được đánh giá về khả năng ức chế CYP2C8, CYP3A4 và CYP2B6 và được so sánh với hợp chất ví dụ so sánh 1.

CYP2C8

Sáu nồng độ của hợp chất mẫu (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 µM trong DMSO; nồng độ cuối của DMSO là 0,25%) được ủ với các vi thể gan người (1 mg/mL) và NADPH (1 mM) trong điều kiện có mặt của cơ chất dò tolbutamide (120 µM) trong 60 phút ở 37°C. Chất ức chế CYP2C9 chọn lọc, sulphaphenazol, được sàng lọc cùng với hợp chất thử nghiệm làm đối chứng dương.

CYP3A4

Sáu nồng độ của hợp chất mẫu (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 µM trong DMSO; nồng độ cuối của DMSO là 0,26%) được ủ với các vi thể gan người (0,1 mg/mL) và NADPH (1 mM) trong điều kiện có mặt của cơ chất dò midazolam (2,5 µM) trong 5 phút ở 37°C. Chất ức chế CYP3A4 chọn lọc, ketoconazole, được sàng lọc cùng với hợp chất thử nghiệm làm đối chứng dương. Theo cách khác, sáu nồng độ của hợp chất mẫu (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 µM trong DMSO; nồng độ cuối của DMSO là 0,275%) được ủ với các vi thể gan người (0,5 mg/mL) và NADPH (1 mM) trong điều kiện có mặt của cơ chất dò testosterone (50 µM) trong 5 phút ở 37°C. Chất ức chế CYP3A4 chọn lọc, ketoconazole, được sàng lọc cùng với hợp chất thử nghiệm làm đối chứng dương.

CYP2B6

Sáu nồng độ của hợp chất thử nghiệm (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 µM trong DMSO; nồng độ cuối của DMSO là 0,3%) được ủ với các vi thể gan người (0,1 mg/mL) và NADPH (1 mM) trong điều kiện có mặt của cơ chất dò bupropion (110 µM) trong 5 phút ở 37°C. Chất ức chế CYP2B6 chọn lọc, ticlopidine, được sàng lọc cùng với hợp chất thử nghiệm làm đối chứng dương.

Đối với mỗi trong số các dịch ủ CYP2B6, CYP2C8 và CYP3A4, các phản ứng được làm dừng bằng cách thêm metanol. Sau đó, các mẫu được ly tâm và được phân tích bằng LC-MS/MS. Axit formic trong nước khử ion (nồng độ cuối là 0,1%) chứa chất chuẩn nội được thêm vào mẫu cuối cùng trước khi phân tích. Sự giảm tạo

thành các chất chuyển hóa so với môi trường dẫn thuốc đối chứng được sử dụng để tính toán IC_{50}.

Dữ liệu này cho thấy rằng hợp chất ví dụ 1 không ức chế CYP2B6, trong khi hợp chất ví dụ so sánh 1 ức chế CYP2B6.

Ví dụ 8: Điều chế mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I)

Mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) được điều chế bằng cách kết hợp axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinic (0,050 g, 0,0827 mmol) với axit metansulfonic (8 uL, 0,123 mmol) trong lọ chứa rượu isopropylic (1 mL), tạo ra huyền phù đặc. Huyền phù đặc này được làm nóng đến khoảng 50°C trong khoảng 30 phút, sau đó được để nguội từ từ đến nhiệt độ phòng và tạo huyền phù đặc trong khoảng 16 giờ. Sau đó, huyền phù đặc này được lọc, và các chất rắn phân tách được được đặc trưng bởi XRPD được thể hiện trên Fig.4. Sau đó, các chất rắn được làm khô trong lò chân không ở khoảng 50°C và được đặc trưng bởi XRPD mà tạo ra các giản đồ tương tự. Các đỉnh XRPD của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) bao gồm các đỉnh tại: 3,2, 6,4, 9,6, 12,8, 19,3, 22,1, 22,6, 25,8, 29,1 °2θ. Các đỉnh XRPD thu được được liệt kê trong bảng 1 dưới đây.

Bảng 1.

Số	Vị trí [°2θ]	Cường độ tương đối [%]
1	3,2	55
2	6,4	24
3	8,0	4
4	9,6	78
5	10,6	3
6	12,8	46
7	17,3	4
8	18,2	7
9	19,3	59
10	20,1	2
11	22,1	23

Số	Vị trí [°2θ]	Cường độ tương đối [%]
12	22,6	100
13	23,7	6
14	24,3	10
15	25,8	20
16	26,5	3
17	27,3	5
18	28,1	3
19	29,1	19
20	32,5	12
21	34,4	3
22	35,5	2
23	36,9	9

Các phân tích DSC và TGA được thực hiện. Giản đồ nhiệt DSC của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) cho thấy một sự kiện thu nhiệt ở khoảng 221°C, sau đó là một sự kiện tỏa nhiệt, như được thấy trên Fig.5. Giản đồ nhiệt TGA của mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) cho thấy sự hao hụt khối lượng khoảng 0,6% khi làm nóng đến khoảng 200°C, như được thấy trên Fig.6.

Mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) cũng được tạo ra bằng cách hấp thụ axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinic (3,00 g, 4,96 mmol) ở dạng huyền phù trong MeCN/nước (1,5:1 theo thể tích, 15 mL) và xử lý bằng dung dịch nước natri hydroxit (30% khối lượng, 0,56 mL, 5,95 mmol). Sau đó, dung dịch thu được được nạp trong một vài giờ vào bình thứ hai chứa dung dịch đã khuấy chứa axit metan sulfonic (1,0 mL, 15,9 mmol) trong MeCN (15 mL) được làm nóng trước đến khoảng 50°C. Huyền phù đặc thu được được già hóa ở khoảng 50°C trong một vài giờ và sau đó được làm mát đến khoảng 20°C. Huyền phù đặc này được lọc trong chân không và các chất rắn thu được được làm khô trong chân không ở nhiệt độ cao lên tới khoảng 60°C để tạo ra mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I).

Mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I) cũng được tạo ra bằng cách hấp thụ axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinic (0,5 g, 0,83 mmol) ở dạng huyền phù trong axeton/nước (97:3 theo thể tích, 10 mL) và làm nóng đến khoảng 55°C. Axit metan sulfonic (60 µL, 0,91 mmol) được nạp vào huyền phù đặc và hỗn hợp này được già hóa ở khoảng 55°C trong một vài giờ. Huyền phù đặc này được làm mát đến khoảng 20°C và được lọc trong chân không. Các chất rắn thu được được rửa bằng axeton và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ cao lên tới khoảng 60°C để tạo ra mesylat dạng I của hợp chất có công thức (I).

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế.

Do đó, cần hiểu rằng mặc dù sáng chế đã được mô tả cụ thể bằng các phương án được ưu tiên và các dấu hiệu tùy ý, nhưng các dạng sửa đổi, cải tiến và thay đổi của sáng chế được thể hiện trong bản mô tả này có thể được sử dụng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật, và các dạng sửa đổi, cải tiến và thay đổi như vậy được xem là thuộc phạm vi của sáng chế. Các nguyên liệu, phương pháp và ví dụ được trình bày trong bản mô tả này là đại diện cho các phương án được ưu tiên, mang tính minh họa và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Sáng chế được mô tả theo cách rộng và tổng quát trong bản mô tả này. Mỗi trong số các phạm vi hẹp hơn và các phân nhóm nhỏ thuộc sáng chế được mô tả tổng quát này đều tạo thành một phần của sáng chế. Điều này bao gồm mô tả tổng quát về sáng chế với điều kiện hoặc giới hạn mang tính phủ định (negative limitation) để loại bỏ đối tượng bất kỳ ra khỏi phần mô tả tổng quát, bất kể là dấu hiệu bị loại ra có được nêu cụ thể trong bản mô tả này hay không.

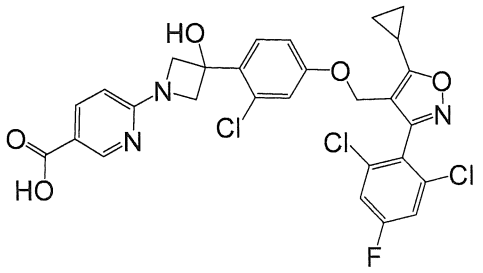
Ngoài ra, khi các dấu hiệu hoặc các khía cạnh của sáng chế được mô tả theo nhóm Markush, thì người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng theo cách đó, sáng chế cũng được mô tả theo thành viên riêng lẻ hoặc phân nhóm thành viên bất kỳ của nhóm Markush này.

Cần hiểu rằng mặc dù sáng chế đã được mô tả với các phương án nêu trên, nhưng phần mô tả và các ví dụ nêu trên chỉ nhằm mục đích minh họa và không làm

giới hạn phạm vi của sáng chế. Các khía cạnh, các ưu điểm và các dạng sửa đổi khác thuộc phạm vi của sáng chế sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế.

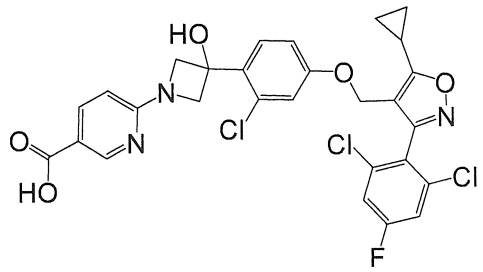
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) nêu dưới đây:



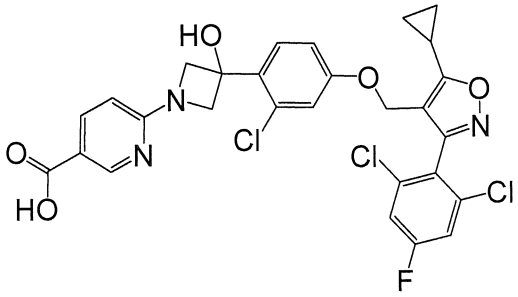
hoặc muối dược dụng của nó.

2. Hợp chất có công thức (I) nêu dưới đây:



hoặc muối dược dụng của nó để sử dụng làm thuốc trong điều trị tình trạng bệnh được điều tiết bởi thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó tình trạng bệnh được điều tiết bởi FXR là bệnh gan, tốt hơn là được chọn từ bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC), bệnh viêm đường mật nguyên phát (PBC), và tình trạng xơ hóa gan.

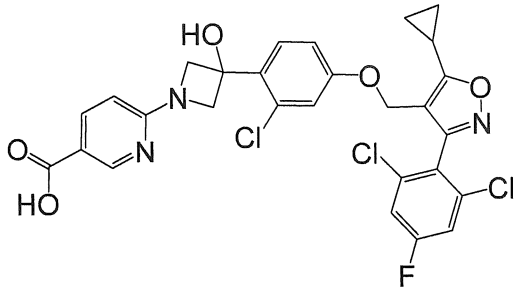
3. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) nêu dưới đây:



hoặc muối dược dụng của nó.

4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó dược phẩm này còn chứa chất mang dược dụng.

5. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) nêu dưới đây:



hoặc muối dược dụng của nó để sử dụng làm thuốc trong việc điều trị bệnh nhân mắc tình trạng bệnh được điều tiết bởi thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó tình trạng bệnh được điều tiết bởi FXR tốt hơn là được chọn từ nhóm bao gồm:

tình trạng ứ mật ngoài gan hoặc trong gan mạn tính;

tình trạng xơ hóa gan;

rối loạn viêm gan mạn tính hoặc tắc nghẽn;

bệnh xơ gan;

bệnh gan nhiễm mỡ hoặc hội chứng liên quan;

hiệu ứng ứ mật hoặc xơ hóa liên quan đến bệnh xơ gan do rượu hoặc liên quan đến dạng viêm gan do virut gây ra;

bệnh suy gan cấp tính hoặc mạn tính;

chứng thiếu máu cục bộ ở gan sau đại phẫu gan;

bệnh viêm gan nhiễm mỡ liên quan đến hóa trị (CASH);

bệnh xơ gan mật nguyên phát (PBC);

bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC);

bệnh tân sinh ở đường dạ dày-ruột hoặc gan; và

bệnh viêm ruột (IBD);

rối loạn lipit hoặc rối loạn lipoprotein;

bệnh đái tháo đường typ I;

bệnh đái tháo đường typ II;

biến chứng lâm sàng của bệnh đái tháo đường typ I và typ II được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thận đái tháo đường, bệnh thần kinh đái tháo đường, bệnh

võng mạc đái tháo đường và các hiệu ứng quan sát được khác của bệnh đái tháo đường biểu hiện lâm sàng kéo dài;

bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD);

bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH);

bệnh béo phì;

hội chứng chuyển hóa được chọn từ nhóm bao gồm tình trạng bệnh kết hợp của rối loạn lipit huyết, bệnh đái tháo đường và chỉ số khối cơ thể cao bất thường;

nhồi máu cơ tim cấp tính;

đột quỵ cấp tính; và

chứng huyết khối xảy ra dưới dạng điểm cuối của chứng xơ vữa động mạch tắc nghẽn mạn tính;

rối loạn tăng sinh không ác tính;

rối loạn tăng sinh ác tính được chọn từ nhóm bao gồm caxinom tế bào gan, u tuyến ruột kết và bệnh polip;

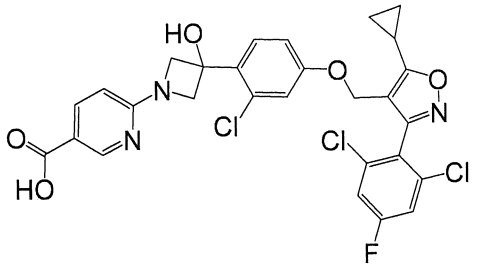
caxinom tuyến ruột kết;

bệnh ung thư vú;

caxinom tuyến tụy; và

bệnh thực quản Barrett.

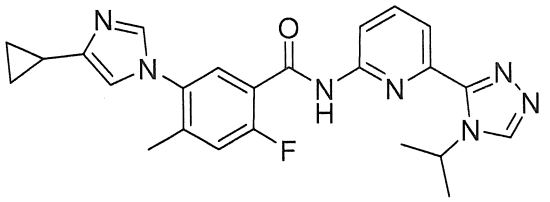
6. Tổ hợp gồm chất ức chế kinaza điều hòa tín hiệu chết theo chương trình 1 (ASK1) và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh gan ở bệnh nhân có nhu cầu, tốt hơn là trong đó bệnh gan là bệnh viêm gan

nhiễm mỡ không do rượu (NASH), hoặc bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC), hoặc bệnh viêm đường mật nguyên phát (PBC).

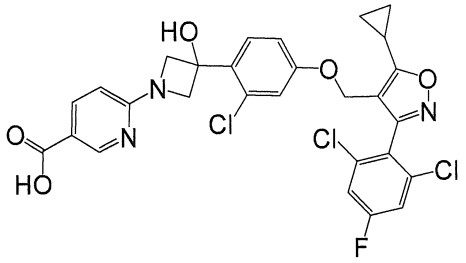
7. Tổ hợp chất ức chế ASK1/chất chủ vận FXR theo điểm 6, trong đó chất ức chế ASK1 là hợp chất có công thức (II):



hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

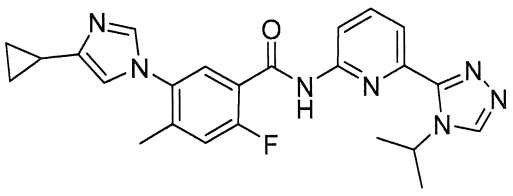
8. Tổ hợp chất ức chế ASK1/chất chủ vận FXR theo điểm 6 hoặc điểm 7, trong đó chất chủ vận FXR và chất ức chế ASK1 được dùng riêng biệt.

9. Dược phẩm chứa lượng có tác dụng điều trị của chất ức chế kinaza điều hòa tín hiệu chết theo chương trình 1 (ASK1) và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó.

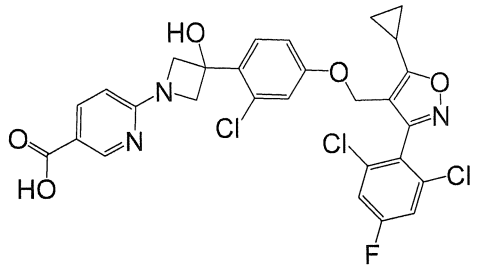
10. Dược phẩm theo điểm 9, trong đó chất ức chế ASK1 là hợp chất có công thức (II):



hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

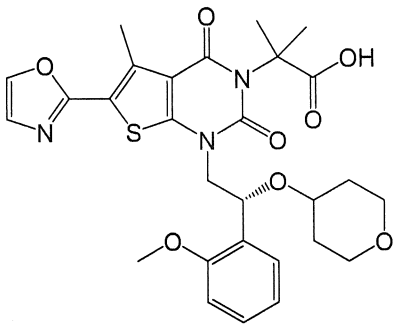
11. Dược phẩm theo điểm 9 hoặc điểm 10, trong đó dược phẩm này còn chứa chất mang dược dụng.

12. Tổ hợp gồm chất ức chế axetyl CoA carboxylaza (ACC) và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh gan ở bệnh nhân có nhu cầu, tốt hơn là trong đó bệnh gan là bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), hoặc bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC), hoặc bệnh viêm đường mật nguyên phát (PBC).

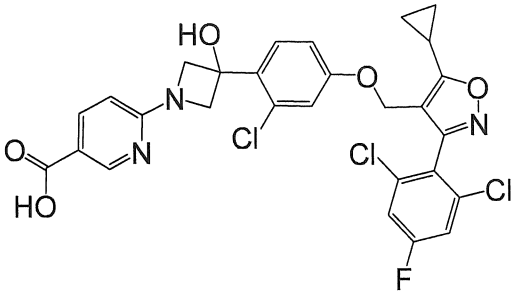
13. Tổ hợp chất ức chế ACC/chất chủ vận FXR theo điểm 12, trong đó chất ức chế ACC là hợp chất có công thức (III):



hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

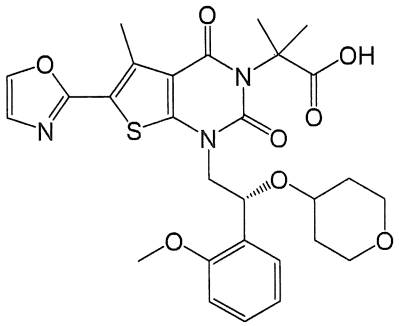
14. Tổ hợp chất ức chế ACC/chất chủ vận FXR theo điểm 12 hoặc điểm 13, trong đó chất ức chế ACC và chất chủ vận FXR được dùng riêng biệt.

15. Dược phẩm chứa lượng có tác dụng điều trị của chất ức chế axetyl CoA carboxylaza (ACC) và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó.

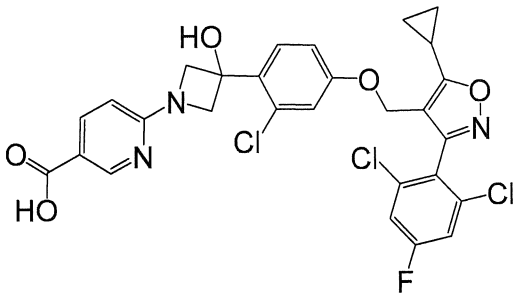
16. Dược phẩm theo điểm 15, trong đó chất ức chế ACC là hợp chất có công thức (III):



hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

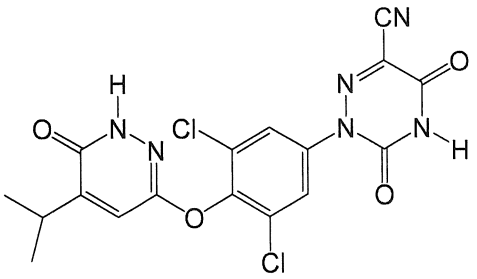
17. Dược phẩm theo điểm 15 hoặc 16, trong đó dược phẩm này còn chứa chất mang dược dụng.

18. Tổ hợp gồm chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp (THR) β và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh gan ở bệnh nhân có nhu cầu, tốt hơn là trong đó bệnh gan là bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), hoặc bệnh viêm xơ chai đường mật nguyên phát (PSC), hoặc bệnh viêm đường mật nguyên phát (PBC).

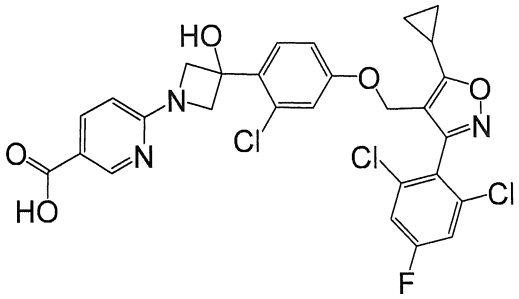
19. Tổ hợp chất chủ vận THR β/chất chủ vận FXR theo điểm 18, trong đó chất chủ vận THR β là hợp chất có công thức (IV):



hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

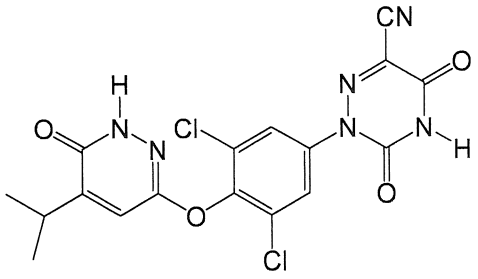
20. Tổ hợp chất chủ vận THR β/chất chủ vận FXR theo điểm 18 hoặc điểm 19, trong đó chất chủ vận THR β và chất chủ vận FXR được dùng riêng biệt.

21. Dược phẩm chứa lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể hormon tuyến giáp (THR) β và lượng có tác dụng điều trị của chất chủ vận thụ thể farnesoid X (FXR), trong đó chất chủ vận FXR là hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó.

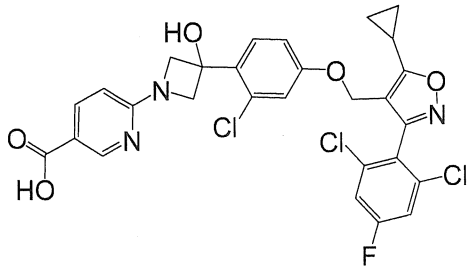
22. Dược phẩm theo điểm 21, trong đó chất chủ vận THR β là hợp chất có công thức (IV):



hoặc muối dược dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó.

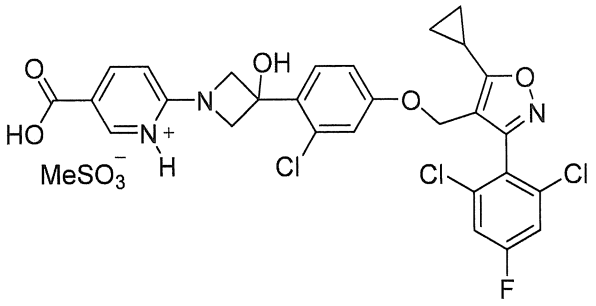
23. Dược phẩm theo điểm 21 hoặc điểm 22, trong đó dược phẩm này còn chứa chất mang dược dụng.

24. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc ức chế UGT1A1 ở bệnh nhân mắc bệnh gan.

25. Hợp chất dạng kết tinh có công thức nêu dưới đây:



26. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm 25, trong đó dạng kết tinh là dạng I.

27. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm 26, trong đó hợp chất dạng kết tinh này được đặc trưng bởi đồ thị nhiễu xạ tia X có các giá trị phản xạ 2θ ở 9,6, 19,3 và 22,6°2θ, cộng hoặc trừ 0,2°2θ.

28. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm 26 hoặc điểm 27, trong đó hợp chất dạng kết tinh này được đặc trưng bởi đồ thị nhiễu xạ tia X còn chứa các giá trị phản xạ 2θ ở 3,2, 6,4 và 12,8°2θ, cộng hoặc trừ 0,2°2θ.

29. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 26 đến 28, trong đó hợp chất dạng kết tinh này được đặc trưng bởi đồ thị nhiễu xạ tia X còn chứa các giá trị phản xạ 2θ ở 22,1, 25,8, 29,1°2θ, cộng hoặc trừ 0,2°2θ.

30. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 26 đến 29, trong đó hợp chất dạng kết tinh này có đồ thị nhiễu xạ tia X về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.4.

31. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 26 đến 30, trong đó hợp chất dạng kết tinh này có giản đồ nhiệt phân tích nhiệt lượng quét vi sai chứa đỉnh thu nhiệt có điểm bắt đầu ở khoảng 221°C.

32. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 26 đến 31, trong đó hợp chất dạng kết tinh này có giản đồ nhiệt phân tích nhiệt lượng quét vi sai về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.5.

33. Hợp chất dạng kết tinh theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 26 đến 32, trong đó hợp chất dạng kết tinh này có giản đồ nhiệt phân tích nhiệt trọng trường về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.6.

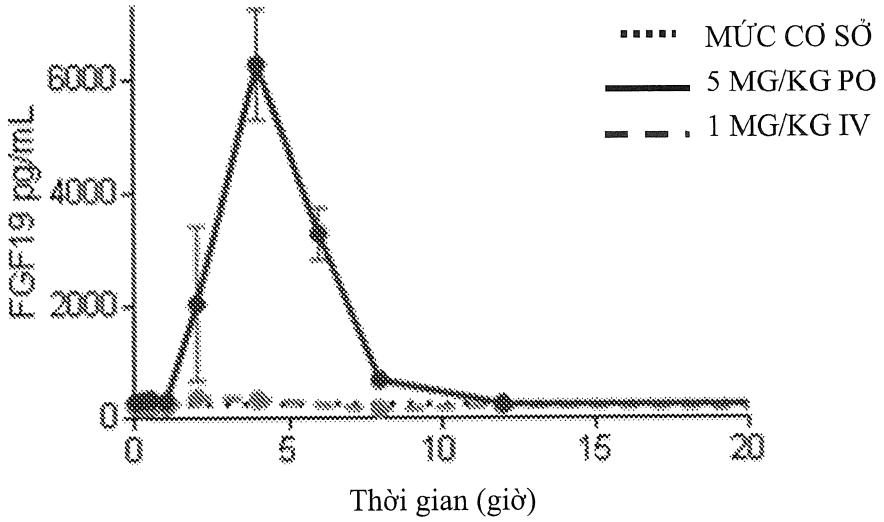

MỨC CƠ SỞ
5 MG/KG PO
1 MG/KG IV
FGF19 pg/mL
6000
4000
2000
0
0
5
10
15
20
Thời gian (giờ)

FIG. 1

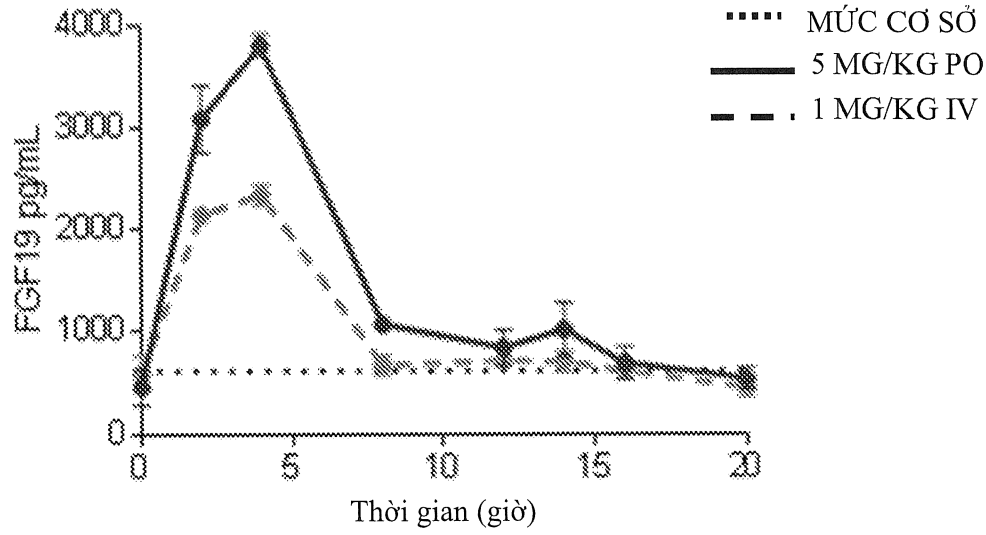

MỨC CƠ SỞ
5 MG/KG PO
1 MG/KG IV
FGF19 pg/mL
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
Thời gian (giờ)

FIG. 2

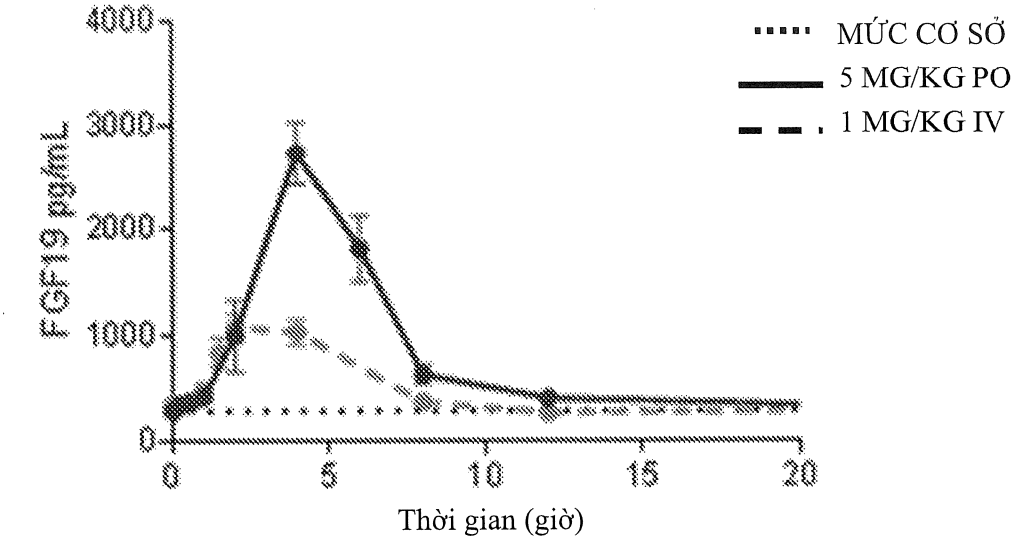

MỨC CƠ SỞ
5 MG/KG PO
1 MG/KG IV
FGF19 pg/mL
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
Thời gian (giờ)

FIG. 3

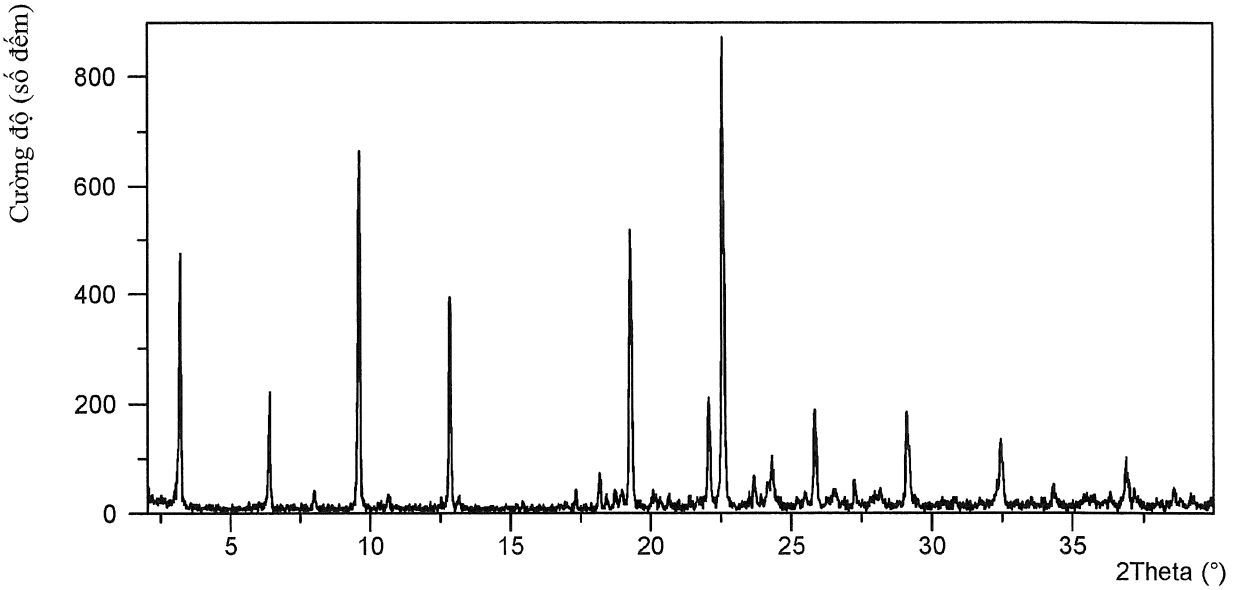


FIG. 4

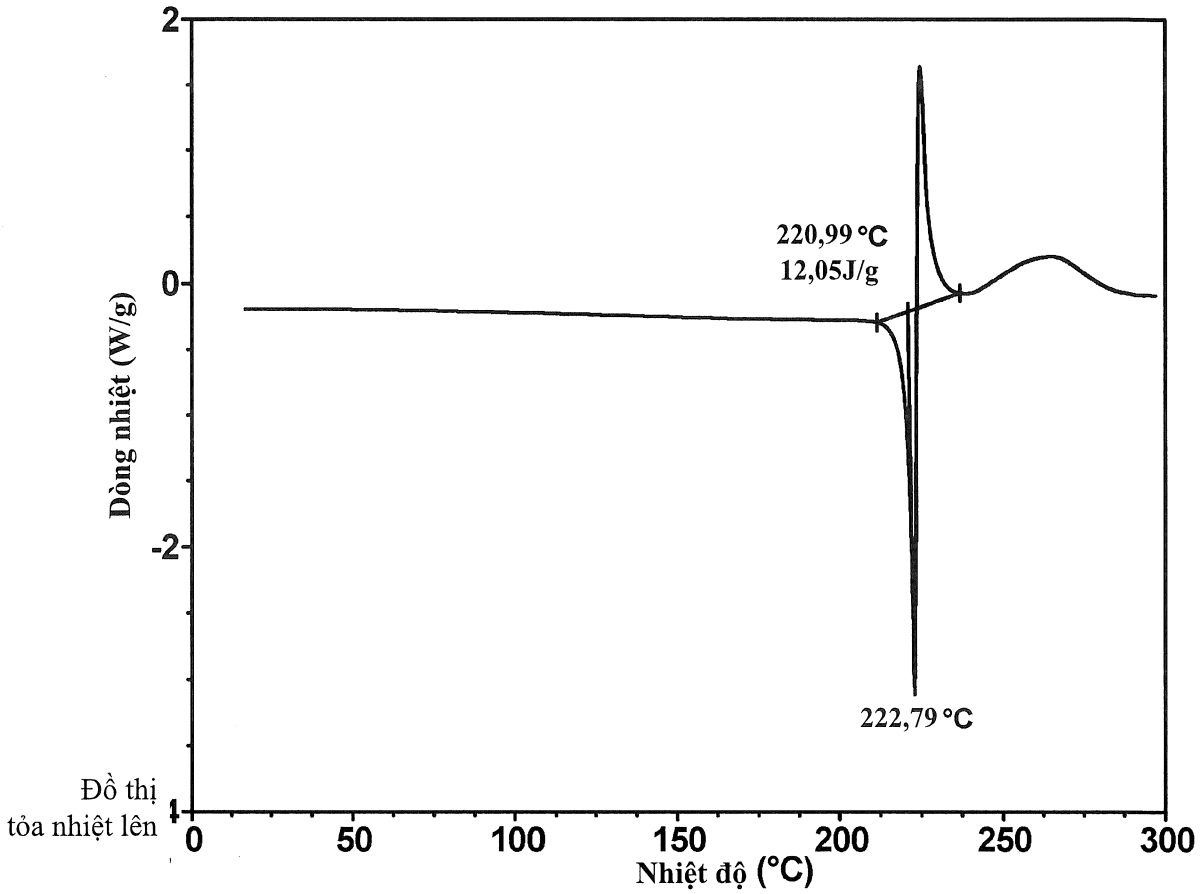

2
0
-2
-4
Dòng nhiệt (W/g)
220,99 °C
12,05J/g
222,79 °C
Đồ thị
tỏa nhiệt lên
0
50
100
150
200
250
300
Nhiệt độ (°C)

FIG. 5

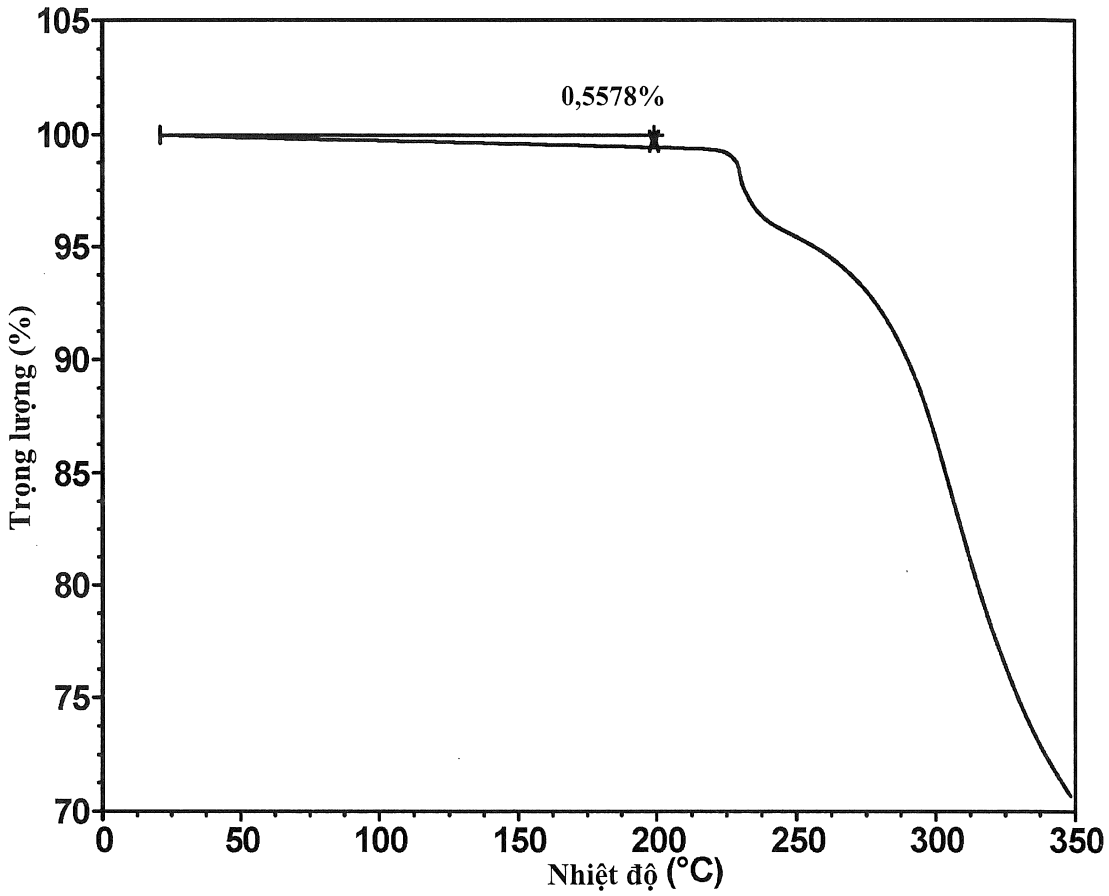

105
100
95
90
85
80
75
70
Trọng lượng (%)
0,5578%
0
50
100
150
200
250
300
350
Nhiệt độ (°C)

FIG. 6

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Gilead Sciences, Inc.

<120> HỢP CHẤT ĐIỀU BIẾN FXR (NR1H4) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> http://1274.PF

<150>

<151> 2018-12-18

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 1

Cys Pro Ser Ser His Ser Ser Leu Thr Glu Arg His Lys Ile Leu His
1 5 10 15

Arg Leu Leu Gln Glu Gly Ser Pro Ser
20 25