



(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)



1-0052294

(51)^{2020.01} A61P 31/00; C07D 519/00; C07D
471/04; A61K 31/519; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2022-02303

(22) 29/09/2020

(86) PCT/US2020/053190 29/09/2020

(87) WO 2021/067217 08/04/2021

(30) 62/908,317 30/09/2019 US

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/10/2022 415A

(73) INCYTE CORPORATION (US)

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

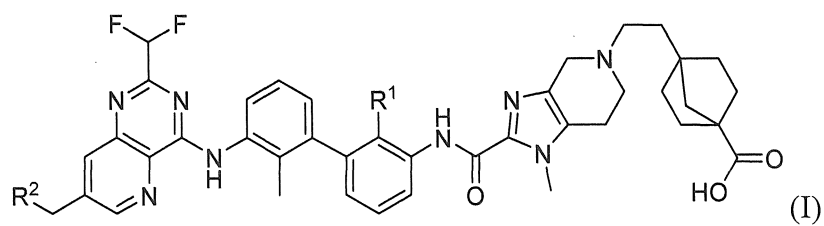
(72) LI, Jingwei (CN); WU, Liangxing (CN); YAO, Wenqing (US).

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

(54) HỢP CHẤT PYRIDO[3,2-D]PYRIMIDIN DÙNG LÀM CHẤT ĐIỀU HÒA MIỄN
DỊCH VÀ CHẾ PHẨM DƯỢC CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2022-02303

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



mà điều hòa tương tác protein/protein PD-1/PD-L1, và chế phẩm dược chứa hợp chất này.

Yêu cầu hưởng quyền ưu tiên

Đơn này yêu cầu quyền lợi của đơn tạm thời Hoa Kỳ số 62/908,317, được nộp vào ngày 30 tháng 9 năm 2019, mà được đưa toàn bộ vào đây bằng cách tham chiếu.

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế

Đơn này đề cập đến hợp chất pyrido[3,2-d]pyrimidin mà điều hòa tương tác protein/protein PD-1/PD-L1 và hữu dụng để điều trị các bệnh khác nhau bao gồm các bệnh truyền nhiễm và ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hệ miễn dịch đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát và loại trừ các bệnh như ung thư. Tuy nhiên, các tế bào ung thư thường phát triển các chiến lược để tránh hoặc ngăn chặn hệ thống miễn dịch nhằm tạo thuận lợi cho sự phát triển của các tế bào ung thư này. Một cơ chế như vậy đang làm thay đổi sự biểu hiện của các phân tử đồng kích thích và đồng ức chế được biểu hiện trên các tế bào miễn dịch (Postow và đồng tác giả, *J. Clinical Oncology* 2015, 1-9). Việc phong bế quá trình truyền tín hiệu của điểm kiểm soát ức chế miễn dịch, chẳng hạn như PD-1, đã được chứng minh là một phương thức điều trị đầy hứa hẹn và có hiệu quả.

Thụ thể gây chết tế bào theo chương trình-1 (PD-1), còn được gọi là CD279, là một thụ thể bề mặt tế bào được biểu hiện trên các tế bào T được hoạt hóa, các tế bào T giết chết tự nhiên, tế bào B và đại thực bào (Greenwald và đồng tác giả, *Annu. Rev. Immunol.* 2005, 23:515–548; Okazaki và Honjo, *Trends Immunol* 2006, (4):195-201). Thụ thể này hoạt động như một hệ thống phản hồi tiêu cực bên trong nhằm ngăn chặn sự hoạt hóa của các tế bào T, từ đó làm giảm khả năng tự miễn dịch và thúc đẩy khả năng tự dung nạp. Ngoài ra, PD-1 còn được biết là đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn sự đáp ứng của tế bào T đặc hiệu kháng nguyên trong các bệnh như ung thư và truyền nhiễm virus (Sharpe và đồng tác giả, *Nat. Immunol.* 2007 8, 239–245; Postow và đồng tác giả, *J. Clinical Oncol.* 2015, 1-9).

Cấu trúc của PD-1 bao gồm vùng chức năng tương tự vùng biến đổi globulin miễn

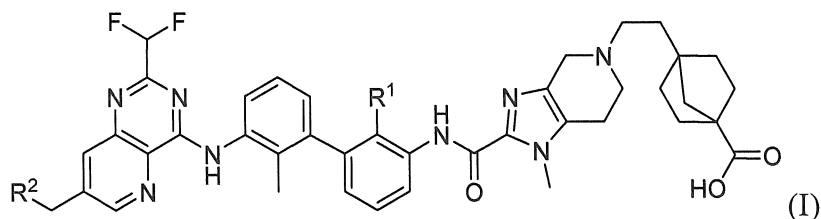
dịch ngoại bào tiếp theo là vùng xuyên màng và vùng nội bào (Parry và đồng tác giả, *Mol. Cell Biol.* 2005, 9543–9553). Vùng nội bào chứa hai vị trí phosphoryl hóa nằm trong một motif ức chế trên cơ sở tyrosin của thụ thể miễn dịch và một motif chuyển đổi trên cơ sở tyrosin của thụ thể miễn dịch, cho thấy rằng PD-1 điều hòa chống lại các tín hiệu do thụ thể tế bào T tạo ra. PD-1 có hai phối tử, PD-L1 và PD-L2 (Parry và đồng tác giả, *Mol. Cell Biol.* 2005, 9543–9553; Latchman và đồng tác giả, *Nat. Immunol.* 2001, 2, 261–268), và chúng khác nhau về kiểu biểu hiện của chúng. Protein PD-L1 được tăng cường điều chỉnh trên các đại thực bào và tế bào đuôi gai để đáp ứng với lipopolysaccharit và liệu pháp GM-CSF, và trên các tế bào T và các tế bào B trên cơ sở truyền tín hiệu của thụ thể tế bào T và thụ thể tế bào B. PD-L1 cũng được biểu hiện ở mức cao ở hầu hết các tế bào khối u, và sự biểu hiện này còn được tăng thêm nữa sau khi điều trị bằng IFN- γ (Iwai và đồng tác giả, *PNAS* 2002, 99(19):12293-7; Blank và đồng tác giả, *Cancer Res.* 2004, 64(3):1140-5). Trong thực tế, tình trạng biểu hiện của PD-L1 ở khối u đã được chứng minh là tiên lượng được trong nhiều loại khối u (Wang và đồng tác giả, *Eur. J. Surg. Oncol.* 2015; Huang và đồng tác giả, *Oncol. Rep.* 2015; Sabatier và đồng tác giả, *Oncotarget* 2015, 6(7): 5449–5464). Sự biểu hiện của PD-L2, ngược lại, bị hạn chế hơn và được biểu hiện chủ yếu bởi các tế bào đuôi gai (Nakae và đồng tác giả, *J. Immunol.* 2006, 177:566-73). Việc liên kết PD-1 với các phối tử PD-L1 và PD-L2 trên các tế bào T tạo ra một tín hiệu ức chế quá trình tổng hợp IL-2 và IFN- γ , cũng như quá trình tăng sinh tế bào do sự hoạt hóa thụ thể tế bào T gây ra (Carter và đồng tác giả, *Eur. J. Immunol.* 2002, 32(3):634-43; Freeman và đồng tác giả, *J. Exp. Med.* 2000, 192(7):1027-34). Cơ chế này liên quan đến việc thu gom các phosphatase SHP-1 hoặc SHP-2 để ức chế quá trình truyền tín hiệu của thụ thể tế bào T như sự phosphoryl hóa Syk và Lck (Sharpe và đồng tác giả, *Nat. Immunol.* 2007, 8, 239–245). Sự hoạt hóa trực tiếp tín hiệu PD-1 cũng làm giảm quá trình phosphoryl hóa vòng lặp hoạt hóa PKC- θ , quá trình này là cần thiết cho việc hoạt hóa con đường NF- κ B và AP1, và để sản xuất cytokin như IL-2, IFN- γ và TNF (Sharpe và đồng tác giả, *Nat. Immunol.* 2007, 8, 239–245; Carter và đồng tác giả, *Eur. J. Immunol.* 2002, 32(3):634-43; Freeman và đồng tác giả, *J. Exp. Med.* 2000, 192(7):1027-34).

Một số nguồn chứng minh từ các nghiên cứu tiền lâm sàng trên động vật cho thấy rằng PD-1 và các phối tử của nó điều hòa chống lại các đáp ứng miễn dịch. Chuột bị thiếu hụt PD-1 đã được chứng minh là phát triển bệnh viêm cầu thận tương tự bệnh luput và bệnh cơ tim giãn nở (Nishimura và đồng tác giả, *Immunity* 1999, 11:141–151; Nishimura

và đồng tác giả, Science 2001, 291:319–322). Sử dụng mô hình LCMV về bệnh truyền nhiễm mạn tính, đã chứng minh được rằng mức độ tương tác PD-1/PD-L1 ức chế sự hoạt hóa, sự mở rộng và thu nhận các chức năng tác động của các tế bào T CD8 đặc hiệu với virut (Barber và đồng tác giả, Nature 2006, 439, 682-7). Cũng vậy, những dữ liệu này giúp phát triển một phương pháp điều trị để phong bế tăng tín hiệu ức chế do PD-1 gây ra để tăng thêm hoặc "giải cứu" đáp ứng tế bào T. Theo đó, có nhu cầu về các hợp chất mới mà phong bế sự tương tác protein/protein PD-1/PD-L1.

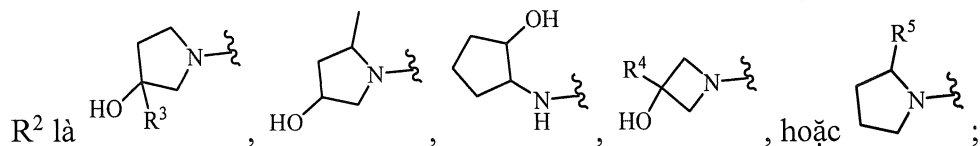
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

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



hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

R^1 là CH_3 hoặc Cl ;



R^3 là H hoặc CH_3 ;

R^4 là H hoặc CH_3 ; và

R^5 là H hoặc CH_3 .

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm dược chứa hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của nó, và một hoặc nhiều tá dược hoặc chất mang được dụng.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp ức chế sự tương tác PD-1/PD-L1, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến việc ức chế sự tương tác PD-1/PD-L1, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp tăng cường, kích thích và/hoặc làm tăng đáp ứng miễn dịch ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm bước cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của nó.

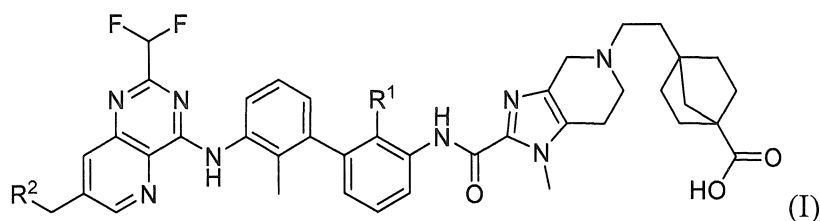
Sáng chế đề xuất hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của nó, để điều chế dược phẩm để sử dụng theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này.

Mô tả chi tiết sáng chế

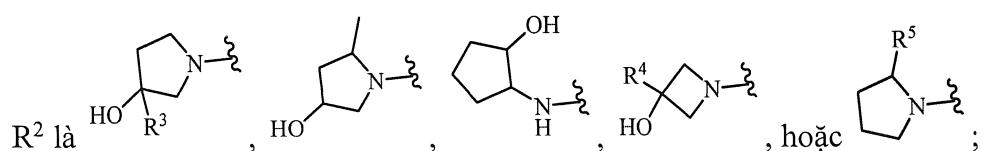
I. Hợp chất

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất, ngoài các yếu tố khác, hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

R^1 là CH_3 hoặc Cl ;



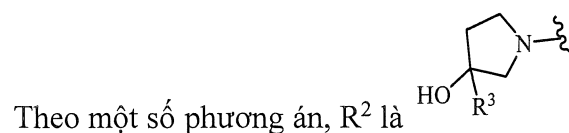
R^3 là H hoặc CH_3 ;

R^4 là H hoặc CH_3 ; và

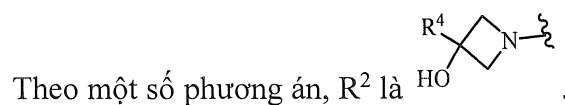
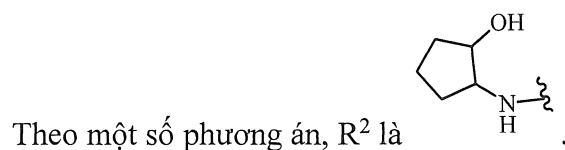
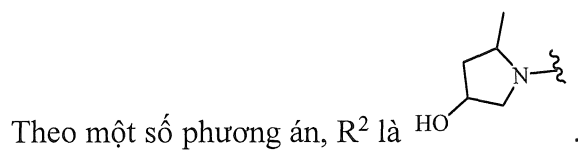
R^5 là H hoặc CH_3 .

Theo một số phương án, R^1 là CH_3 .

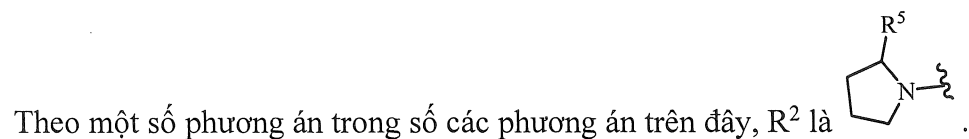
Theo một số phương án, R^1 là Cl .



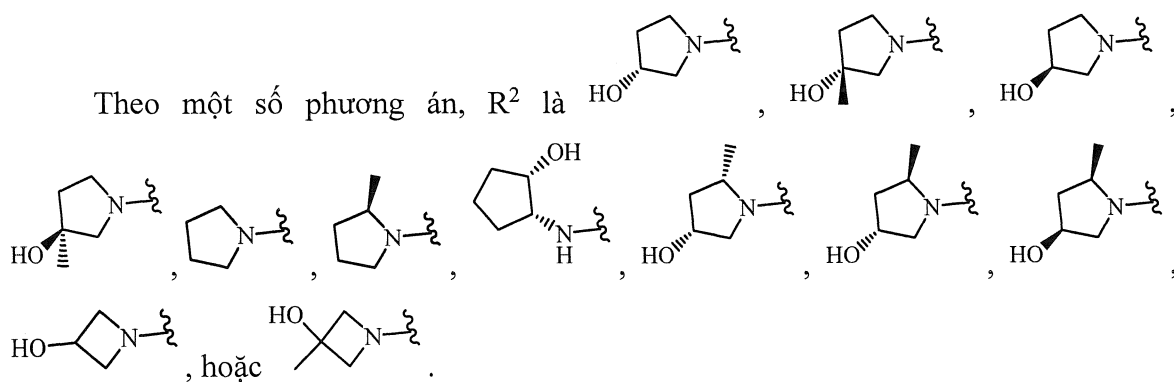
Theo một số phương án trong số các phương án trên đây, R^3 là H. Ngoài ra, theo một số phương án, R^3 là CH_3 .



Theo một số phương án trong số các phương án trên đây, R^4 là H. Ngoài ra, theo một số phương án, R^4 là CH_3 .

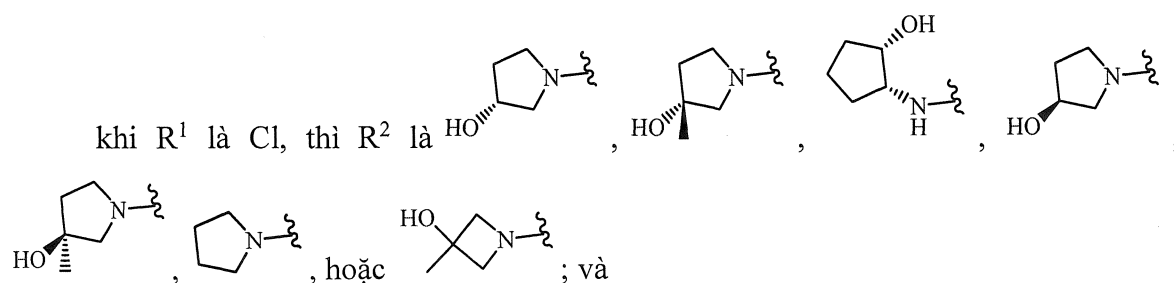


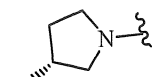
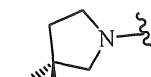
Theo một số phương án trong số các phương án trên đây, R^5 là H. Ngoài ra, theo một số phương án, R^5 là CH_3 .

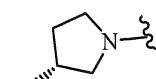
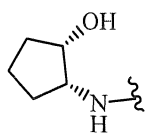
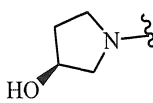
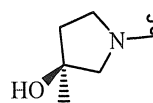
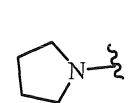
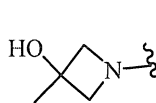


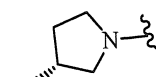
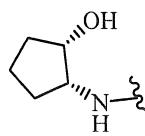
Theo một số phương án:

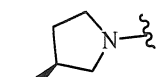
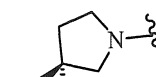
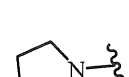
R^1 là CH_3 hoặc Cl;

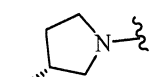


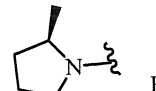
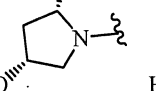
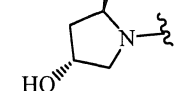
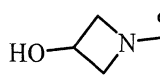
khi R^1 là CH_3 , thì R^2 là  hoặc .

Theo một số phương án, R^1 là Cl ; và R^2 là , , hoặc , , , , hoặc .

Theo một số phương án, R^1 là Cl ; và R^2 là , , hoặc .

Theo một số phương án, R^1 là Cl ; và R^2 là , , , hoặc .

Theo một số phương án, R^1 là CH_3 ; và R^2 là , hoặc .

Theo một số phương án, R^1 là Cl ; và R^2 là , , , hoặc .

Theo một số phương án, hợp chất này là hợp chất được chọn từ các hợp chất của ví dụ 1-16, hoặc muối được dùng của nó.

Cần phải đánh giá thêm được rằng các đặc điểm nhất định của sáng chế, mà để cho rõ ràng, được mô tả trong ngữ cảnh các phương án riêng biệt, có thể cũng được đề xuất ở dạng kết hợp trong một phương án duy nhất (trong khi các phương án này được dự định sẽ được kết hợp như thể được viết ở dạng nhiều đặc điểm phụ thuộc). Ngược lại, các đặc điểm khác nhau của sáng chế, để rút gọn, được mô tả theo ngữ cảnh một phương án duy nhất, cũng có thể được đề xuất theo cách riêng biệt hoặc ở dạng kết hợp nhánh phụ phù hợp bất

kỳ. Như vậy các đặc điểm được dự định sẽ được mô tả dưới dạng các phương án của các hợp chất có Công thức (I) có thể được kết hợp theo cách kết hợp thích hợp bất kỳ.

Ở nhiều đoạn khác nhau trong bản mô tả này, các đặc điểm nhất định của các hợp chất được mô tả dưới dạng các nhóm và các khoảng. Sáng chế đặc biệt được dự kiến bao gồm mỗi và mọi dạng kết hợp nhỏ riêng lẻ của các thành phần thuộc các nhóm và khoảng như vậy.

Các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này có thể các hợp chất bất đối xứng (ví dụ, có một hoặc nhiều tâm lập thể). Tất cả các chất đồng phân lập thể, như các chất đồng phân đối ảnh và các chất đồng phân không đối quang, được dự định thuộc sáng chế trừ khi có quy định khác. Các hợp chất theo sáng chế mà chứa nguyên tử cacbon được thể bất đối xứng có thể được tách dưới các dạng raxemic hoặc quang hoạt. Các phương pháp để điều chế các dạng quang hoạt từ các vật liệu ban đầu bất hoạt quang học là được biết trong lĩnh vực này, như bằng kỹ thuật tách các hỗn hợp raxemic hoặc bằng cách tổng hợp lập thể chọn lọc. Nhiều chất đồng phân dị hình của olefin, các liên kết đôi C=N và các liên kết tương tự cũng có thể có mặt trong các hợp chất được mô tả ở đây, và tất cả các chất đồng phân bền như vậy được dự định thuộc sáng chế. Các chất đồng phân dị hình *cis* và *trans* của các hợp chất theo sáng chế được mô tả và có thể được tách dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc dưới dạng các dạng đồng phân đã được tách.

Kỹ thuật tách các hỗn hợp raxemic của các hợp chất có thể được thực hiện bằng phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp được biết trong lĩnh vực này. Một phương pháp bao gồm tái kết tinh phân đoạn bằng cách sử dụng axit phân giải bất đối mà là axit hữu cơ tạo muối, quang hoạt. Các chất phân giải thích hợp để tái kết tinh phân đoạn là, ví dụ, các axit quang hoạt, như các dạng D và L của axit tartaric, axit diastetyltartaric, axit dibenzoyltartaric, axit mandelic, axit malic, axit lactic hoặc nhiều axit camphorsulfonic quang hoạt khác nhau như axit β -camphorsulfonic. Các chất phân giải khác thích hợp cho các phương pháp kết tinh phân đoạn bao gồm các dạng tinh khiết về mặt đồng phân lập thể của α -metylbenzylamin (ví dụ, các dạng *S* và *R*, hoặc các dạng tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang), 2-phenylglyxinol, norephedrin, ephedrin, *N*-metylephedrin, xyclohexyletylamin, 1,2-diaminoxyclohexan và các chất tương tự.

Kỹ thuật giải các hỗn hợp raxemic cũng có thể được thực hiện bằng cách rửa giải trên cột được nhồi chất phân giải quang hoạt (ví dụ, dinitrobenzoylphenylglyxin). Thành

phần dung môi rửa giải thích hợp có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế có cấu hình (*R*). Theo các phương án khác, hợp chất này có cấu hình (*S*). Trong các hợp chất có nhiều hơn một tâm bất đối xứng, mỗi trong số các tâm bất đối xứng trong hợp chất này độc lập có thể là dạng (*R*) hoặc dạng (*S*), trừ khi có quy định khác. Các hợp chất theo sáng chế cũng bao gồm các dạng tautome. Các dạng tautome là do sự hoán đổi của liên kết đơn với liên kết đôi liên kề cùng với sự di chuyển đồng thời của proton. Các dạng tautome bao gồm các tautome dị biến proton mà là các trạng thái proton hóa đồng phân có tổng điện tích và công thức thực nghiệm giống nhau. Ví dụ các tautome dị biến proton bao gồm các cặp keton – enol, các cặp amit – axit imidic, các cặp lactam – lactim, các cặp enamín – imin, và các dạng vòng trong đó proton có thể chiếm đóng hai hoặc nhiều vị trí của hệ dị vòng, ví dụ, 1*H*- và 3*H*-imidazol, 1*H*-, 2*H*- và 4*H*- 1,2,4-triazol, 1*H*- và 2*H*- isoindol và 1*H*- và 2*H*-pyrazol. Các dạng tautome có thể ở trạng thái cân bằng hoặc bị chặn không gian ở trong một dạng bằng cách thế thích hợp.

Theo một số phương án, hợp chất được mô tả trong bản mô tả này có một hoặc nhiều nguyên tử hydro mà được thay thế bằng đơteri, hoặc muối được dụng của nó.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể bao gồm tất cả các dạng đồng vị của các nguyên tử có trong các chất trung gian hoặc các sản phẩm cuối. Các dạng đồng vị bao gồm các đồng vị mà các nguyên tử của chúng có nguyên tử số giống nhau nhưng khác nhau về khối lượng nguyên tử. Ví dụ, các nguyên tử đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri. Một hoặc nhiều nguyên tử cấu thành các hợp chất theo sáng chế có thể được thay thế hoặc được thế bằng các nguyên tử đồng vị của các nguyên tử xuất hiện phong phú trong tự nhiên hoặc không tự nhiên. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm ít nhất một nguyên tử đơteri. Ví dụ, một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong hợp chất theo sáng chế có thể được thay thế hoặc được thế bằng đơteri. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm hai hoặc nhiều nguyên tử đơteri. Theo một số phương án, hợp chất này bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 hoặc 12 nguyên tử đơteri. Các phương pháp tổng hợp để đưa các đồng vị vào các hợp chất hữu cơ là được biết trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ, "hợp chất," như được sử dụng ở đây có nghĩa bao gồm tất cả các tautome và các đồng vị của các cấu trúc được mô tả. Thuật ngữ này cũng có nghĩa là chỉ các hợp chất theo sáng chế, bất kể chúng được điều chế như thế nào, ví dụ, bằng cách tổng hợp,

qua các quy trình sinh học (ví dụ, trao đổi chất hoặc chuyển hóa enzym), hoặc hoặc kết hợp các phương pháp này.

Tất cả các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, có thể được phát hiện cùng với các chất khác như nước và dung môi (ví dụ, các hydrat và solvat) hoặc có thể được tách. Khi ở trạng thái rắn, các hợp chất được mô tả ở đây và các muối của nó có thể xuất hiện ở nhiều dạng khác nhau và có thể, ví dụ, có dạng solvat, bao gồm hydrat. Các hợp chất này có thể ở dạng trạng thái rắn, như đa hình hoặc solvat, ngoại trừ có chỉ dẫn rõ ràng khác, chỉ dẫn trong bản mô tả này về các hợp chất và muối của chúng cũng được hiểu là bao hàm dạng trạng thái rắn bất kỳ của hợp chất này.

Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế, hoặc các muối của chúng, về cơ bản được tách. Thuật ngữ "về cơ bản được tách" có nghĩa là hợp chất này được tách ít nhất một phần hoặc đáng kể khỏi môi trường trong đó nó được tạo ra hoặc được phát hiện. Tách một phần có thể bao gồm, ví dụ, các thành phần được làm giàu trong các hợp chất theo sáng chế. Tách đáng kể có thể bao gồm các thành phần chứa ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% theo khối lượng các hợp chất theo sáng chế, hoặc muối của chúng.

Theo một số phương án, thuật ngữ "khoảng" có nghĩa là $\pm 10\%$. Theo một số phương án, thuật ngữ "khoảng" có nghĩa là $\pm 5\%$.

Cụm từ "được dụng" được sử dụng ở đây để chỉ các hợp chất, vật liệu, các chế phẩm này và/hoặc các dạng liều, trong phạm vi đánh giá y khoa hợp lý, thích hợp để sử dụng trong việc tiếp xúc với các mô của loại người hoặc động vật có vú không gây phản ứng độc tính, kích ứng, dị ứng quá mức, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Các thuật ngữ, "nhiệt độ môi trường" và "nhiệt độ trong phòng," như được sử dụng ở đây, được hiểu trong lĩnh vực này, và nói chung chỉ nhiệt độ, ví dụ, nhiệt độ phản ứng, mà là khoảng nhiệt độ của phòng trong đó phản ứng được tiến hành, ví dụ, nhiệt độ khoảng từ 20 °C đến khoảng 30 °C.

Sáng chế cũng bao gồm các muối được dụng của các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này. Thuật ngữ "các muối được dụng" chỉ các dẫn xuất của các hợp chất được bộc lộ trong đó hợp chất gốc được mô tả bằng cách chuyển hóa gốc axit hoặc bazơ sẵn có thành dạng muối của nó. Các ví dụ về các muối được dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở,

các muối axit khoáng và hữu cơ của các gốc bazơ như amin; các muối hữu cơ hoặc kiềm của các gốc axit như axit carboxylic; và các dạng tương tự. Các muối được dụng theo sáng chế bao gồm các muối không độc của hợp chất gốc được tạo thành, ví dụ, từ các axit vô cơ hoặc hữu cơ không độc. Các muối được dụng theo sáng chế có thể được tổng hợp từ hợp chất gốc chứa gốc axit hoặc bazơ bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nói chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng theo hệ số tỷ lệ lượng của axit hoặc bazơ thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn hợp của cả nước và dung môi hữu cơ; nói chung, môi trường không nước như ete, etyl axetat, rượu (ví dụ, metanol, etanol, isopropanol hoặc butanol) hoặc axetonitril (MeCN) là được ưu tiên. Danh sách các muối thích hợp tìm được trong tài liệu: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, xuất bản lần thứ 17, (Mack Publishing Company, Easton, 1985), trang 1418, Berge và đồng tác giả., *J. Pharm. Sci.*, **1977**, *66*(1), 1-19 và trong tài liệu: Stahl và đồng tác giả., *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Wiley, 2002). Theo một số phương án, các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này bao gồm các dạng N-oxit.

II. Tổng hợp

Hợp chất theo sáng chế, bao gồm muối của nó, có thể được điều chế bằng các con đường tổng hợp được mô tả trong các ví dụ 1-16 sau đây.

Các phản ứng để điều chế các hợp chất theo sáng chế có thể được tiến hành trong các dung môi thích hợp mà có thể được chọn dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các dung môi thích hợp về cơ bản có thể không phản ứng với các vật liệu ban đầu (các chất phản ứng), các chất trung gian hoặc các sản phẩm ở nhiệt độ mà các phản ứng được tiến hành, ví dụ, nhiệt độ có thể nằm trong khoảng từ nhiệt độ kết đông của dung môi đến nhiệt độ sôi của dung môi. Phản ứng đã cho có thể được tiến hành trong một dung môi hoặc một hỗn hợp của nhiều hơn một dung môi. Tùy thuộc vào bước phản ứng cụ thể, các dung môi thích hợp cho bước phản ứng cụ thể có thể được chọn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Việc điều chế các hợp chất theo sáng chế có thể bao gồm việc bảo vệ và khử bảo vệ các nhóm hóa học khác nhau. Sự cần thiết của việc bảo vệ và khử bảo vệ, và việc lựa chọn các nhóm bảo vệ thích hợp, có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này xác định một cách dễ dàng. Hóa học về các nhóm bảo vệ được mô tả ví dụ trong các tài

liệu: Kocienski, *Protecting Groups*, (Thieme, 2007); Robertson, *Protecting Group Chemistry*, (Oxford University Press, 2000); Smith và đồng tác giả., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, xuất bản lần thứ 6. (Wiley, 2007); Petursson và đồng tác giả., "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry," *J. Chem. Educ.*, 1997, 74(11), 1297; và Wuts và đồng tác giả., *Protective Groups in Organic Synthesis*, xuất bản lần thứ 4, (Wiley, 2006).

Các phản ứng có thể được kiểm tra bằng phương pháp thích hợp bất kỳ được biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, sự tạo thành sản phẩm có thể được kiểm tra bằng các phương tiện quang phổ, như phổ cộng hưởng từ hạt nhân (ví dụ, ^1H hoặc ^{13}C), phổ hồng ngoại, quang phổ (ví dụ, UV-khả kiến), phổ khối hoặc bằng các phương pháp sắc ký như sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) hoặc sắc ký lớp mỏng (TLC).

III. Sử dụng các hợp chất

Các hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng của nó, có thể ức chế hoạt tính tương tác protein/protein PD-1/PD-L1 và, vì vậy, là hữu ích trong việc điều trị các bệnh và các rối loạn liên quan đến hoạt tính của PD-1 và các bệnh và các rối loạn liên quan đến PD-L1 bao gồm mức độ tương tác của nó với các protein khác như PD-1 và B7-1 (CD80). Theo một số phương án nhất định, các hợp chất theo sáng chế, hoặc các muối được dụng của chúng, là hữu ích để sử dụng trong việc điều trị nhằm làm tăng cường, kích thích và/hoặc làm tăng khả năng miễn dịch ở bệnh ung thư, nhiễm trùng mạn tính hoặc nhiễm trùng máu, bao gồm sự tăng cường đáp ứng với tiêm chủng. Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến phương pháp ức chế sự tương tác protein/protein PD-1/PD-L1. Phương pháp này bao gồm việc cho cá nhân hoặc bệnh nhân sử dụng hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của chúng. Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng một mình, kết hợp với các tác nhân hoặc các liệu pháp khác hoặc là chất phụ trợ hoặc tiền phụ trợ trị liệu để điều trị các bệnh và các rối loạn, bao gồm bệnh ung thư và các bệnh truyền nhiễm. Đối với các cách sử dụng được mô tả trong bản mô tả này, hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế, bao gồm cả phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, có thể được sử dụng.

Hợp chất theo sáng chế ức chế tương tác protein/protein PD-1/PD-L1, dẫn đến phong bế con đường PD-1. Sự phong bế PD-1 có thể tăng cường đáp ứng miễn dịch đối với các tế bào ung thư và các bệnh truyền nhiễm ở động vật có vú, bao gồm con người.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất việc điều trị cho cá thể hoặc bệnh nhân *in vivo* bằng cách sử dụng hợp chất được mô tả trong bản mô tả này hoặc muối của nó sao cho sự phát triển các khối ung thư bị ức chế. Hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó, có thể được sử dụng để ức chế sự phát triển của khối ung thư. Ngoài ra, hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó, có thể được sử dụng kết hợp với các tác nhân khác hoặc các quá trình điều trị ung thư chuẩn, như được mô tả dưới đây. Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế sự phát triển của tế bào khối u *in vitro*. Phương pháp này bao gồm cho tế bào khối u tiếp xúc *in vitro* với hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế sự phát triển của tế bào khối u ở cá thể hoặc bệnh nhân. Phương pháp này bao gồm cho cá thể hoặc bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị ung thư. Phương pháp này bao gồm cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng, lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó. Ví dụ về các bệnh ung thư bao gồm các bệnh mà sự phát triển của nó có thể bị ức chế bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế và ung thư thường đáp ứng với trị liệu miễn dịch.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp tăng cường, kích thích và/hoặc làm tăng đáp ứng miễn dịch ở bệnh nhân. Phương pháp này bao gồm cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó.

Ví dụ về các bệnh ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ung thư xương, ung thư tụy, ung thư da, ung thư đầu và cổ, u hắc sắc tố da hoặc trong mắt, ung thư tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư trực tràng, ung thư vùng hậu môn, ung thư dạ dày, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư biểu mô ống dẫn trứng, ung thư biểu mô nội mạc tử cung, ung thư nội mạc tử cung, ung thư biểu mô cổ tử cung, ung thư biểu mô âm đạo, ung thư biểu mô âm hộ, bệnh Hodgkin, u lympho không phải dạng Hodgkin, ung thư thực quản, ung thư ruột non, ung thư hệ nội tiết, ung thư tuyến giáp, ung thư cận tuyến giáp, ung thư tuyến thượng thận, sarcoma mô mềm, ung thư niệu đạo, ung thư dương vật, bệnh bạch cầu cấp và mạn tính bao gồm bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính, bệnh bạch cầu bạch huyết bào cấp tính, khối u rắn thời thiếu niên, u lympho bào, ung thư bàng quang, ung thư thận hoặc niệu đạo, ung

thư biểu mô bề thận, khối u hệ thần kinh trung ương (CNS), u lympho CNS tiên phát, tạo mạch khối u, khối u cột sống, u thần kinh đệm thân não, u tuyến yên, sacom Kaposi, ung thư biểu bì, ung thư tế bào vảy, u lympho tế bào T, các bệnh ung thư do môi trường gây ra bao gồm các bệnh do aminăng gây ra, và các dạng kết hợp của các bệnh ung thư nêu trên. Hợp chất theo sáng chế cũng hữu hiệu để điều trị các bệnh ung thư di căn, đặc biệt là các bệnh ung thư di căn mà biểu hiện PD-L1.

Theo một số phương án, ung thư bao gồm u hắc sắc tố (ví dụ, u hắc sắc tố ác tính di căn, u hắc sắc tố da), ung thư thận (ví dụ, ung thư biểu mô tế bào sáng), ung thư tuyến tiền liệt (ví dụ, ung thư biểu mô tuyến tiền liệt kháng hormon), ung thư vú (ví dụ, ung thư biểu mô vú xâm lấn), ung thư ruột kết, ung thư phổi (ví dụ, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào nhỏ), ung thư đầu và cổ tế bào vảy (ví dụ, ung thư biểu mô tế bào vảy của đầu và cổ), ung thư biểu mô đường tiết niệu (ví dụ, ung thư bàng quang, ung thư bàng quang không xâm lấn cơ (NMIBC)) và ung thư có độ ổn định vi vệ tinh cao (MSI^{cao}). Ngoài ra, sáng chế bao gồm các u ác tính kháng điều trị hoặc tái phát mà sự phát triển của nó có thể bị ức chế bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế.

Theo một số phương án, ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, khối u rắn (ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư ruột kết, ung thư thực quản, ung thư nội mạc tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư tử cung, ung thư thận, ung thư gan, ung thư tụy, ung thư dạ dày, ung thư vú, ung thư phổi, ung thư đầu và cổ, ung thư tuyến giáp, u nguyên bào đệm, sacom, ung thư bàng quang, v.v), ung thư huyết học (ví dụ, u lympho, bệnh bạch cầu chằng hạn bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương cấp tính (AML), bệnh bạch cầu bạch huyết bào cấp tính (CLL), bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương mạn tính (CML), DLBCL, u lympho tế bào vò, u u lympho không phải Hodgkin (bao gồm NHL kháng điều trị hoặc tái phát và u nang tái phát), u u lypho Hodgkin hoặc bệnh đa u tủy) và các dạng kết hợp của các bệnh ung thư nêu trên.

Theo một số phương án, ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ung thư biểu mô đường mật, ung thư ống mật, ung thư đường mật, ung thư vú bộ ba âm tính, sacom cơ vân, ung thư phổi tế bào nhỏ, sacom cơ trơn, ung thư biểu mô tế bào gan, sacom Ewing, ung thư não, u não, u bào hình sao, u nguyên bào thần kinh, u xơ thần kinh, ung thư biểu mô tế bào đáy, sacom sụn, sacom biểu mô, ung thư mắt, ung thư ống dẫn trứng, ung thư dạ dày-ruột, khối u đệm dạ dày-ruột, bệnh bạch cầu tế bào lông tóc, ung thư đường ruột, ung thư tế bào tiểu đảo, ung thư miệng, ung thư khoang miệng, ung thư vòm họng, ung thư

thanh quản, ung thư môi, u trung biểu mô, ung thư cổ, ung thư khoang mũi, ung thư mắt, u hắc sắc tố mắt, ung thư vùng chậu, ung thư trực tràng, ung thư biểu mô tế bào thận, ung thư tuyến nước bọt, ung thư xoang, ung thư cột sống, ung thư lưỡi, ung thư biểu mô hình ống, ung thư niệu đạo, và ung thư niệu quản.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh tế bào hình liềm và bệnh thiếu máu tế bào hình liềm.

Theo một số phương án, bệnh và chỉ định có thể điều trị bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở ung thư huyết học, sacom, ung thư phổi, ung thư dạ dày-ruột, ung thư đường sinh dục, ung thư gan, ung thư xương, ung thư hệ thần kinh, ung thư phụ khoa, và ung thư da.

Ung thư huyết học ví dụ bao gồm u lympho và bệnh bạch cầu chẳng hạn bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương cấp tính (AML), bệnh bạch cầu cấp tính dòng tiền tủy bào (APL), bệnh bạch cầu bạch huyết bào cấp tính (CLL), bệnh bạch cầu phát sinh từ tủy xương mạn tính (CML), u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), u lympho tế bào vò, u lympho không phải Hodgkin (bao gồm NHL kháng điều trị hoặc tái phát và u nang tái phát), u lympho Hodgkin, bệnh tăng sinh tủy (ví dụ, xơ tủy nguyên phát (PMF), bệnh đa hồng cầu (PV), và chứng tăng tiểu cầu tiên phát (ET)), hội chứng loạn sản tủy (MDS), u nguyên bào lympho tế bào T cấp tính (T-ALL) và bệnh đa u tủy (MM).

Sacom ví dụ bao gồm sacom sụn, sacom Ewing, sacom xương, sacom cơ vân, sacom mạch máu, sacom xơ, sacom mỡ, u niêm, u cơ vân, sacom cơ vân, u xơ, u mỡ, u mô thừa, và u quái.

Ung thư phổi ví dụ bao gồm ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC) (ví dụ, NSCLC tế bào vảy), ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư biểu mô phế quản (tế bào vảy, tế bào nhỏ không biệt hóa, tế bào lớn không biệt hóa, ung thư biểu mô tuyến), ung thư biểu mô túi phổi (nhánh cuống phổi nhỏ), u tuyến phế quản, u mô thừa ở sụn, và u trung biểu mô.

Ung thư dạ dày-ruột ví dụ bao gồm ung thư thực quản (ung thư biểu mô, ung thư biểu mô tế bào vảy, ung thư biểu mô tuyến, sacom cơ trơn, u lympho), dạ dày (ung thư biểu mô, u lympho, sacom cơ trơn, ung thư biểu mô tuyến), tuyến tụy (ung thư biểu mô ống tụy, u đảo tụy, u tụy glucagon, u tụy tăng tiết gastrin, khối u ưa bạc, u tăng tiết VIP), ruột non (ung thư biểu mô tuyến, u lympho, khối u ưa bạc, sacom Kaposi, u mềm cơ trơn, u mạch, u mỡ, u xơ thần kinh, u xơ), ruột già (ung thư biểu mô tuyến, u tuyến ống, u tuyến

nhưng, u mô thừa, u mềm cơ trơn), và ung thư đại trực tràng (ví dụ, ung thư biểu mô tuyến đại trực tràng).

Ung thư đường sinh dục ví dụ bao gồm ung thư thận (ung thư biểu mô tuyến, u Wilm [u nguyên bào thận]), bàng quang và niệu đạo (ung thư biểu mô tế bào vảy, ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp, ung thư biểu mô tuyến), tuyến tiền liệt (ung thư biểu mô tuyến, sacom), và tinh hoàn (u tinh, u quái, ung thư biểu mô phôi, u quái ác tính, u nguyên bào nuôi, sacom, ung thư biểu mô tế bào kẽ, u xơ, u sợi tuyến, khối u tuyến, u mỡ). Theo một số phương án, ung thư này là ung thư tiết niệu (ví dụ, ung thư biểu mô thận nhú, ung thư tế bào mầm tinh hoàn, ung thư biểu mô tế bào thận kỵ màu, ung thư biểu mô thận tế bào sáng, hoặc ung thư biểu mô tuyến tiền liệt).

Ung thư gan ví dụ bao gồm u gan (ung thư biểu mô tế bào gan), ung thư biểu mô đường mật, u nguyên bào gan, sacom mạch máu, u nguyên bào gan, và u mạch.

Ung thư xương ví dụ bao gồm, ví dụ, sacom tạo xương (sacom xương), sacom xơ, u mô bào sợi ác tính, sacom sụn, sacom Ewing, u lympho ác tính (sacom tế bào lưới), bệnh đa u tủy, u sụn tế bào khổng lồ ác tính, u xương sụn (các chồi xương sụn), u sụn lành tính, u nguyên bào sụn, u xơ niêm sụn, u xương mô tiền cốt, và khối u tế bào khổng lồ.

Ung thư hệ thần kinh ví dụ bao gồm ung thư hộp sọ (u xương, u mạch, u hạt, u vàng, viêm xương biến dạng), màng não (u màng não, sacom màng não, u nguyên bào thần kinh đệm), não (u bào hình sao, u nguyên bào tủy, u thần kinh đệm, u màng não thất, u tế bào mầm tinh (u tuyến tủy), u nguyên bào đệm, u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng, u thần kinh đệm ít nhánh, u tế bào schwann, u nguyên bào võng mạc, các khối u bẩm sinh), và tủy sống (u xơ thần kinh, u màng não, u thần kinh đệm, sacom), cũng như u nguyên bào thần kinh và bệnh Lhermitte-Duclos.

Ung thư phụ khoa ví dụ bao gồm ung thư tử cung (ung thư biểu mô nội mạc tử cung), cổ tử cung (ung thư biểu mô cổ tử cung, loạn sản cổ tử cung tiền khối u), buồng trứng (ung thư biểu mô buồng trứng (ung thư biểu mô tế bào huyết thanh, ung thư biểu mô tuyến huyết thanh, ung thư biểu mô tuyến nhầy, ung thư biểu mô chưa phân loại), u tế bào vỏ hạt, u tế bào Sertoli-Leydig, u nghịch mầm, u quái ác tính), âm hộ (ung thư biểu mô tế bào vảy, ung thư trong biểu mô, ung thư biểu mô tuyến, sacom xơ, u hắc sắc tố), âm đạo (ung thư biểu mô tế bào sáng, ung thư biểu mô tế bào vảy, sacom phôi (sacom cơ vân phôi), và ống dẫn trứng (ung thư biểu mô).

Ung thư da ví dụ bao gồm u hắc sắc tố, ung thư biểu mô tế bào đáy, ung thư biểu

mô tế bào vảy (ví dụ, ung thư biểu mô tế bào vảy ở da), sacom Kaposi, nốt ruồi loạn sản, u mỡ, u mạch, u xơ da, và sẹo lồi. Theo một số phương án, bệnh và chỉ định có thể điều trị bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh tế bào hình liềm (ví dụ, bệnh thiếu máu tế bào hình liềm), ung thư vú bộ ba âm tính (TNBC), hội chứng loạn sản tủy, ung thư tinh hoàn, ung thư ống mật, ung thư thực quản, và ung thư biểu mô đường niệu.

Việc phong bế con đường PD-1 bằng các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để điều trị các bệnh truyền nhiễm như nhiễm virus, vi khuẩn, nấm và ký sinh trùng. Sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị các bệnh truyền nhiễm như nhiễm virus. Phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng, lượng hữu hiệu điều trị bệnh của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của chúng. Các ví dụ về các bệnh truyền nhiễm virus có thể điều trị được bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, virus gây suy giảm miễn dịch ở người, papillomavirus người, các virus gây cúm, virus viêm gan A, B, C hoặc D, adenovirus, poxvirus, virus herpes đơn dạng, cytomegalovirus ở người, virus gây hội chứng hô hấp cấp tính nghiêm trọng, virus ebola, và virus sởi. Theo một số phương án, các bệnh truyền nhiễm virus có thể điều trị được bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, virus viêm gan (A, B, hoặc C), virus herpes (ví dụ, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II, và CMV, virus Epstein Barr), adenovirus, virus cúm, flavivirus, echovirus, rhinovirus, virus coxsackie, coronavirus, virus đồng bộ hô hấp, virus mumps, rotavirus, virus sởi, virus rubella, parvovirus, virus bệnh đậu bò, virus HTLV, virus sốt xuất huyết, papillomavirus, virus molluscum, poliovirus, virus bệnh dại, virus JC, virus lao và viêm não arbovirus.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị tình trạng nhiễm trùng do vi khuẩn. Phương pháp này bao gồm cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng, lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó. Các ví dụ không giới hạn sáng chế về các tình trạng nhiễm trùng do vi khuẩn gây bệnh có thể được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm vi khuẩn chlamydia, vi khuẩn rickettsial, mycobacteria, staphylococci (tụ cầu khuẩn), streptococci (liên cầu khuẩn), pneumococci (phế cầu khuẩn), meningococci và cầu khuẩn, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionella, vi khuẩn bạch hầu, salmonella, trực khuẩn, vi khuẩn tả, vi khuẩn uốn ván, botulism (vi khuẩn ngộ độc thịt), vi khuẩn than, vi khuẩn dịch hạch, vi khuẩn leptospira và vi khuẩn gây bệnh Lyme.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị tình trạng nhiễm nấm. Phương pháp này bao gồm cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng, lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó. Các ví dụ không giới hạn sáng chế về các tình trạng nhiễm nấm gây bệnh có thể được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm bệnh do *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, v.v.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, v.v.), Genus *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizophus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* và *Histoplasma capsulatum*.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị tình trạng nhiễm ký sinh trùng. Phương pháp này bao gồm cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng, lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó. Các ví dụ không giới hạn sáng chế về các tình trạng nhiễm ký sinh trùng gây bệnh có thể được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm bệnh do *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, và *Nippostrongylus brasiliensis*.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn thoái hóa thần kinh. Phương pháp này bao gồm cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị sử dụng, lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối của nó. Các ví dụ không giới hạn về bệnh hoặc rối loạn thoái hóa thần kinh bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, bệnh prion, bệnh thần kinh vận động, bệnh mất điều hòa tiểu cầu và bệnh teo cơ tủy sống.

Có căn cứ cho rằng hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, có thể có hồ sơ dược lý thỏa đáng và các đặc tính dược sinh học triển vọng, chẳng hạn như hồ sơ độc tính, tính chất chuyển hóa và dược động học, tính hòa tan và tính thấm. Điều này sẽ được hiểu rằng việc xác định các đặc tính của dược phẩm sinh học thích hợp nằm trong tầm hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ, xác định độc tính tế bào trong tế bào hoặc việc ức chế các mục tiêu hoặc kênh nhất định để xác định độc tính tiềm tàng.

Các thuật ngữ "cá thể" hoặc "bệnh nhân," có thể được sử dụng hoán đổi cho nhau, dùng để chỉ loài động vật bất kỳ, bao gồm động vật có vú, tốt hơn là chuột nhắt, chuột cống, các loài gặm nhấm khác, thỏ, chó, mèo, lợn, gia súc, cừu, ngựa hoặc động vật linh trưởng và tốt nhất là con người.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu điều trị bệnh" dùng để chỉ lượng hợp chất hoạt tính hoặc được chất tạo ra phản ứng sinh học và y học trong mô, toàn thân, động vật, cá nhân hoặc người mà được nhà nghiên cứu, bác sỹ thú y, bác sỹ y khoa hoặc bác sỹ lâm sàng khác tìm kiếm.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" dùng để chỉ một hoặc nhiều tác dụng (1) ức chế bệnh; ví dụ, ức chế bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở cá nhân bị hoặc có biểu hiện bệnh lý hoặc có triệu chứng bệnh, tình trạng hoặc rối loạn (tức là, ngăn cản sự phát triển thêm của bệnh lý và/hoặc triệu chứng bệnh); và (2) cải thiện bệnh; ví dụ, làm thuyên giảm bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở cá nhân bị hoặc có biểu hiện bệnh lý hoặc có triệu chứng bệnh, tình trạng hoặc rối loạn (tức là, đảo ngược tình trạng bệnh lý và/hoặc triệu chứng bệnh) như làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh.

Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế rất hữu ích trong việc ngăn ngừa hoặc giảm nguy cơ phát triển các bệnh bất kỳ được đề cập đến trong bản mô tả này; ví dụ, ngăn ngừa hoặc giảm nguy cơ phát triển bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở cá nhân có khả năng mắc bệnh, tình trạng hoặc rối loạn nhưng chưa trải qua hoặc có biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng bệnh.

Liệu pháp kết hợp

Liệu pháp điểm kiểm soát miễn dịch

Các hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng của chúng, có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch để điều trị bệnh, chẳng hạn như ung thư hoặc các tình trạng nhiễm. Các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch lấy làm ví dụ bao gồm các chất ức chế các phân tử điểm kiểm soát miễn dịch như CBL-B, CD20, CD122, CD96, CD73, CD47, CSF1R, JAK, PI3K delta, PI3K gama, TAM, arginaza, HPK1, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, TIGIT, CD112R, VISTA, PD-1, PD-L1 và PD-L2. Theo một số phương án, phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là phân tử kích thích điểm kiểm soát được chọn từ CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR và CD137 (4-1BB). Theo một số phương án, phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là phân tử ức chế điểm kiểm soát được chọn từ A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3, TIGIT, và VISTA. Theo một số phương án, các hợp chất được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất được

chọn từ các chất ức chế KIR, các chất ức chế TIGIT, các chất ức chế LAIR1, các chất ức chế CD160, các chất ức chế 2B4 và các chất ức chế beta TGF.

Theo một số phương án, hợp chất được đề xuất trong bản mô tả này có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch, ví dụ, OX40, CD27, GITR, và CD137 (còn được gọi là 4-1BB).

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của OX40, CD27, CD28, GITR, ICOS, CD40, TLR7/8, và CD137 (còn được gọi là 4-1BB).

Theo một số phương án, chất chủ vận của CD137 là urelumab. Theo một số phương án, chất chủ vận của CD137 là utomilumab.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của CD40. Theo một số phương án, chất chủ vận của CD40 là CP-870893, ADC-1013, CDX-1140, SEA-CD40, RO7009789, JNJ-64457107, APX-005M, hoặc Chi Lob 7/4.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của ICOS. Theo một số phương án, chất chủ vận của ICOS là GSK-3359609, JTX-2011, hoặc MEDI-570.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của CD28. Theo một số phương án, chất chủ vận của CD28 là theralizumab.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của CD27. Theo một số phương án, chất chủ vận của CD27 là varlilumab.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của TLR7/8. Theo một số phương án, chất chủ vận của TLR7/8 là MEDI9197.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là kháng thể kháng PD-1, kháng thể kháng PD-L1, hoặc kháng thể kháng CTLA-4.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của PD-1, ví dụ, kháng thể đơn dòng kháng PD-1. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng kháng PD-1 là nivolumab, pembrolizumab (còn được gọi là MK-3475), pidilizumab, cemiplimab, spartalizumab, camrelizumab, cetrelimab, toripalimab, sintilimab, SHR-1210, PDR001, MGA012, PDR001, AB122, AMP-224, JTX-4014, BGB-108, BCD-100, BAT1306, LZM009, AK105, HLX10, hoặc TSR-042. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng kháng PD-1 là nivolumab hoặc pembrolizumab. Theo một số

phương án, kháng thể kháng PD-1 là pembrolizumab. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng kháng PD-1 là MGA012. Theo một số phương án, kháng thể kháng PD-1 là SHR-1210. (Các) chất chống ung thư khác bao gồm liệu pháp trị liệu kháng thể chẳng hạn 4-1BB (ví dụ, urelumab, utomilumab).

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của PD-L1, ví dụ, kháng thể đơn dòng kháng PD-L1. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng kháng PD-L1 là BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (còn được gọi là RG7446), durvalumab (Imfinzi®), atezolizumab (Tecentriq®), Avelumab (Bavencio®), MSB0010718C, tislelizumab, FAZ053, KN035, CS1001, SHR-1316, CBT-502, A167, STI-A101, CK-301, BGB-A333, MSB-2311, HLX20, hoặc LY3300054. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng kháng PD-L1 là MPDL3280A hoặc MEDI4736.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của PD-1 và PD-L1, ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép kháng PD-1/PD-L1. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép kháng PD-1/PD-L1 là MCLA-136.

Theo một số phương án, chất ức chế là MCLA-145.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của CTLA-4, ví dụ, kháng thể kháng CTLA-4. Theo một số phương án, kháng thể kháng CTLA-4 là ipilimumab, tremelimumab, AGEN1884, hoặc CP-675,206.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của PD-1 và CTLA-4, ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép kháng PD-1/CTLA-4. Theo một số phương án, kháng thể kháng PD-1/CTLA-4 là AK104.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của LAG3, ví dụ, kháng thể kháng LAG3. Theo một số phương án, kháng thể kháng LAG3 là BMS-986016, LAG525, INCAGN2385, hoặc efitlagimod alpha (IMP321).

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của CD73. Theo một số phương án, chất ức chế của CD73 là oleclumab. Theo một số phương án, chất ức chế của CD73 là MEDI9447.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của TIGIT. Theo một số phương án, chất ức chế của TIGIT là OMP-31M32.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của VISTA. Theo một số phương án, chất ức chế của VISTA là JNJ-61610588 hoặc CA-170.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của B7-H3. Theo một số phương án, chất ức chế của B7-H3 là enoblituzumab, MGD009, hoặc 8H9.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của KIR. Theo một số phương án, chất ức chế của KIR là lirilumab hoặc IPH4102.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của A2aR. Theo một số phương án, chất ức chế của A2aR là CPI-444.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của TGF-beta. Theo một số phương án, chất ức chế của TGF-beta là trabedersen, galusertinib, hoặc M7824.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của PI3K-gama. Theo một số phương án, chất ức chế của PI3K-gama là IPI-549.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của CD47. Theo một số phương án, chất ức chế của CD47 là Hu5F9-G4 hoặc TTI-621.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của CD70. Theo một số phương án, chất ức chế của CD70 là cusatuzumab hoặc BMS-936561.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của TIM3, ví dụ, kháng thể kháng TIM3. Theo một số phương án, kháng thể kháng TIM3 là INCAGN2390, MBG453, hoặc TSR-022.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của GITR, ví dụ, kháng thể kháng GITR. Theo một số phương án, chất chủ vận là TRX518, MK-4166, INCAGN1876, MK-1248, AMG228, BMS-986156, GWN323, MEDI1873, hoặc MEDI6469.

Theo một số phương án, chất chủ vận của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất chủ vận của OX40, ví dụ, kháng thể chủ vận OX40 hoặc protein dung hợp OX40L. Theo một số phương án, kháng thể kháng OX40 là MEDI0562, MOXR-0916, PF-04518600, GSK3174998, BMS-986178, hoặc 9B12. Theo một số phương án, protein dung hợp OX40L là MEDI6383.

Theo một số phương án, chất ức chế của phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là chất ức chế của CD20, ví dụ, kháng thể kháng CD20. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD20 là obinutuzumab hoặc rituximab.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, một trong số các miền kháng thể đặc hiệu kép hướng đích thụ thể PD-1, PD-L1, CTLA-4, GITR, OX40, TIM3, LAG3, CD137, ICOS, CD3 hoặc TGFβ. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-1 và PD-L1. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-1 và PD-L1 là MCLA-136. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-L1 và CTLA-4. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-L1 và CTLA-4 là AK104.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế enzym chuyển hóa. Theo một số phương án, chất ức chế enzym chuyển hóa là chất ức chế của IDO1, TDO, hoặc arginaza. Ví dụ về chất ức chế IDO1 bao gồm epacadostat, NLG919, BMS-986205, PF-06840003, IOM2983, RG-70099 và LY338196.

Như đã đề cập xuyên suốt bản mô tả, các hợp chất, chất ức chế, tác nhân khác, v.v. có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế ở dạng liều đơn lẻ hoặc liên tục, hoặc chúng có thể được sử dụng đồng thời hoặc tuần tự dưới dạng các dạng liều riêng biệt.

Liệu pháp điều trị ung thư

Sự phát triển và tồn tại của tế bào ung thư có thể bị ảnh hưởng bởi sự rối loạn chức năng trong nhiều con đường sinh học. Do đó, có thể hữu ích khi kết hợp các chất ức chế theo các cơ chế khác nhau, chẳng hạn như chất ức chế enzym, chất ức chế dẫn truyền tín hiệu, chất ức chế động lực nhiễm sắc hoặc chất điều biến đáp ứng miễn dịch, để điều trị các tình trạng như vậy. Nhắm mục tiêu vào nhiều hơn một con đường truyền tín hiệu (hoặc nhiều hơn một phân tử sinh học liên quan đến con đường truyền tín hiệu nhất định) có thể làm giảm khả năng kháng thuốc trong quần thể tế bào hoặc giảm độc tính của việc điều trị.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều liệu pháp khác để điều trị các bệnh, chẳng hạn như ung thư hoặc tình trạng nhiễm trùng. Ví dụ về các bệnh và chỉ định có thể điều trị bằng liệu pháp kết hợp bao gồm những bệnh như được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ về bệnh ung thư bao gồm khối u rắn và khối u không rắn,

chẳng hạn như khối u lỏng, ung thư máu. Ví dụ về tình trạng nhiễm trùng bao gồm tình trạng nhiễm virus, nhiễm vi khuẩn, nhiễm nấm hoặc nhiễm ký sinh trùng. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế kinaza sau đây để điều trị ung thư: Akt1, Akt2, Akt3, BCL2, CDK, TGF- β R, PKA, PKG, PKC, CaM-kinaza, phosphorylaza kinaza, MEKK, ERK, MAPK, mTOR, EGFR, HER2, HER3, HER4, INS-R, IDH2, IGF-1R, IR-R, PDGF α R, PDGF β R, PI3K (alpha, beta, gama, delta, và dạng bội hoặc chọn lọc), CSF1R, KIT, FLK-II, KDR/FLK-1, FLK-4, flt-1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, c-Met, PARP, Ron, Sea, TRKA, TRKB, TRKC, TAM kinaza (Axl, Mer, Tyro3), FLT3, VEGFR/Flt2, Flt4, EphA1, EphA2, EphA3, EphB2, EphB4, Tie2, Src, Fyn, Lck, Fgr, Btk, Fak, SYK, FRK, JAK, ABL, ALK và B-Raf. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế sau đây để điều trị ung thư hoặc tình trạng nhiễm trùng. Các ví dụ không giới hạn về chất ức chế mà có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế để điều trị ung thư và tình trạng nhiễm trùng bao gồm chất ức chế FGFR (FGFR1, FGFR2, FGFR3 hoặc FGFR4, ví dụ, pemigatinib (INCY54828), INCB62079), chất ức chế EGFR (còn được gọi là Erb-1 hoặc HER-1) (ví dụ, erlotinib, gefitinib, vandetanib, orsimertinib, cetuximab, necitumumab, hoặc panitumumab), chất ức chế VEGFR hoặc chất phong bế con đường (ví dụ, bevacizumab, pazopanib, sunitinib, sorafenib, axitinib, regorafenib, ponatinib, cabozantinib, vandetanib, ramucirumab, lenvatinib, ziv-aflibercept), chất ức chế PARP (ví dụ, olaparib, rucaparib, veliparib hoặc niraparib), chất ức chế JAK (JAK1 và/hoặc JAK2, ví dụ, ruxolitinib, baricitinib hoặc itacitinib (INCB39110)), chất ức chế IDO (ví dụ, epacadostat, NLG919, hoặc BMS-986205, MK7162), chất ức chế LSD1 (ví dụ, INCB59872 và INCB60003), chất ức chế TDO, chất ức chế PI3K-delta (ví dụ, Parsaclisib (INCB50465) và INCB50797), chất ức chế PI3K-gama chẳng hạn chất ức chế chọn lọc PI3K-gama, chất ức chế Pim (ví dụ, INCB53914), chất ức chế EGFR (còn được gọi là Erb-1 hoặc HER-1; ví dụ, erlotinib, gefitinib, vandetanib, orsimertinib, cetuximab, necitumumab, hoặc panitumumab), chất ức chế VEGFR hoặc chất phong bế con đường (ví dụ, bevacizumab, pazopanib, sunitinib, sorafenib, axitinib, regorafenib, ponatinib, cabozantinib, vandetanib, ramucirumab, lenvatinib, ziv-aflibercept), chất ức chế PARP (ví dụ, olaparib, rucaparib, veliparib, talazoparib, hoặc niraparib), chất ức chế CSF1R, tyrosin kinaza thụ thể TAM (Tyro-3, Axl, và Mer), tác nhân đối kháng thụ thể adenosin (ví dụ, tác nhân đối kháng thụ thể A2a/A2b), chất ức chế HPK1, chất ức chế thụ thể chemokin (ví dụ, chất ức chế CCR2 hoặc CCR5),

chất ức chế SHP1/2 phosphatase, chất ức chế histon deacetylase (HDAC) chẳng hạn chất ức chế HDAC8, chất ức chế tạo mạch, chất ức chế thụ thể interleukin, chất ức chế thành viên hệ đầu cùng bromo và extra (ví dụ, chất ức chế bromodomain hoặc chất ức chế BET chẳng hạn INCB54329 và INCB57643), chất ức chế arginase (INCB001158), chất ức chế PARP (chẳng hạn rucaparib hoặc olaparib), sitravatinib, dạng kết hợp chất ức chế B-Raf-chất ức chế MEK (chẳng hạn encorafenib cộng binimetinib, dabrafenib cộng trametinib, hoặc cobimetinib cộng vemurafenib), và tác nhân đối kháng thụ thể adenosin hoặc các dạng kết hợp của chúng.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với chất chủ vận TLR7 (ví dụ, imiquimod).

Các hợp chất theo sáng chế có thể còn được sử dụng kết hợp với các phương pháp khác để điều trị bệnh ung thư, ví dụ bằng hóa trị liệu, xạ trị, liệu pháp nhắm đích khối u, liệu pháp phụ trợ, liệu pháp miễn dịch và phẫu thuật. Các ví dụ về liệu pháp miễn dịch bao gồm liệu pháp điều trị cytokin (ví dụ, liệu pháp interferon, GM-CSF, G-CSF, IL-2), liệu pháp miễn dịch CRS-207, vắc-xin ung thư, kháng thể đơn dòng, kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu, thể liên hợp được chất kháng thể, liệu pháp truyền tế bào T vay mượn, chất chủ vận thụ thể Toll, chất chủ vận STING, chất chủ vận RIG-I, liệu pháp virus ly giải tế bào ung thư và các phân tử nhỏ điều hòa miễn dịch, bao gồm thalidomide hoặc chất ức chế JAK1/2, chất ức chế PI3Kδ và các chất tương tự. Các hợp chất có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều thuốc chống ung thư, như các chất hóa trị liệu. Ví dụ về các thuốc hóa trị bao gồm thuốc bất kỳ trong số các thuốc sau: abarelix, aldesleukin, alemtuzumab, alitretinoin, allopurinol, altretamin, anastrozol, arsenic trioxide, asparaginase, azaxitinib, bevacizumab, bexarotene, barixitinib, bleomycin, bortezomib, busulfan để tiêm tĩnh mạch, busulfan dùng theo đường miệng, calusteron, capecitabine, carboplatin, carmustine, cetuximab, chlorambucil, cisplatin, cladribin, clofarabine, cyclophosphamide, cytarabine, dacarbazine, dactinomycin, dalteparin natri, dasatinib, daunorubicin, dexamethasone, dexrazoxan, docetaxel, doxorubicin, dromostanolone propionate, eculizumab, epirubicin, erlotinib, estramustine, etoposide phosphate, etoposide, exemestane, fentanyl xitrat, filgrastim, floxuridine, fludarabine, flutaxil, fulvestrant, gefitinib, gemcitabine, gemtuzumab, pegademix, goserelin axetat, histrelin axetat, ibritumomab tiuxetan, idarubicin, ifosfamide, imatinib mesylate, interferon alfa 2a, irinotecan, lapatinib ditosylate, lenalidomide, letrozol, leucovorin, leuprolide axetat, levamisole,

lomustin, meclorethamin, megestrol axetat, melphalan, mercaptopurin, methotrexat, methoxsalen, mitomycin C, mitotan, mitoxantron, nandrolon phenpropionat, nelarabin, nofetumomab, oxaliplatin, paclitaxel, pamidronat, panitumumab, pegaspargaza, pegfilgrastim, dinatri được pemetrex hóa, pentostatin, pipobroman, plicamycin, procarbazine, quinacrin, rasburicaza, rituximab, ruxolitinib, sorafenib, streptozoxin, sunitinib, sunitinib maleat, tamoxifen, temozolomit, teniposid, testolacton, thalidomid, thioguanin, thiotepa, topotecan, toremifen, tositumomab, trastuzumab, tretinoin, mù tạc uraxil, valrubicin, vinblastin, vincristin, vinorelbin, vorinostat và zoledronat.

(Các) chất tác nhân ung thư khác bao gồm cả các liệu pháp kháng thể như trastuzumab (Herceptin), các kháng thể với các phân tử đồng kích thích như CTLA-4 (ví dụ, ipilimumab), 4-1BB (ví dụ urelumab, utomilumab), các kháng thể với PD-1 và PD-L1, hoặc các kháng thể với xytokin (IL-10, TGF- β , v.v.). Các ví dụ về các kháng thể với PD-1 và/hoặc PD-L1 mà có thể được kết hợp với các hợp chất theo sáng chế để điều trị các bệnh ung thư hoặc các bệnh truyền nhiễm như các bệnh truyền nhiễm virus, vi khuẩn, nấm và ký sinh trùng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab, avelumab và SHR-1210.

Hợp chất theo sáng chế có thể còn được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất chống viêm, steroid, chất ức chế miễn dịch hoặc kháng thể điều trị.

Hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các muối của chúng có thể được kết hợp với một chất sinh miễn dịch khác, như các tế bào ung thư, các kháng nguyên khối u tinh sạch (bao gồm các phân tử hydrat cacbon, peptit, và protein tái tổ hợp), các tế bào, các tế bào được chuyển nhiễm với các gen mã hóa các xytokin kích thích miễn dịch. Các ví dụ không giới hạn sáng chế về các vắc-xin khối u mà có thể được sử dụng bao gồm các peptit của kháng nguyên u hắc sắc tố, như các peptit gp100, các kháng nguyên MAGE, Trp-2, MARTI và/hoặc tyrosinaza, hoặc các tế bào khối u được chuyển nhiễm để biểu hiện xytokin GM-CSF.

Hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các muối của chúng có thể được sử dụng kết hợp với phác đồ tiêm chủng vắc-xin để điều trị ung thư. Theo một số phương án, các tế bào khối u được tải nạp để biểu hiện GM-CSF. Theo một số phương án, các vắc-xin khối u bao gồm các protein từ các virus liên quan đến bệnh ung thư ở người như virus papilloma ở người (HPV), virus viêm gan (HBV và HCV) và virus gây bệnh herpes sacom thể kaposi (KHSV). Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử

dụng kết hợp với kháng nguyên đặc hiệu với khối u như các protein sốc nhiệt được phân lập từ chính phần mô của khối u. Theo một số phương án, các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các muối của chúng có thể được kết hợp với liệu pháp gây miễn dịch các tế bào đuôi gai để kích hoạt các đáp ứng chống khối u hiệu nghiệm.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các peptit vòng lớn đặc hiệu kép mà nhắm đích các tế bào tác động biểu hiện thụ thể Fe alpha hoặc Fe gama đến các tế bào khối u. Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được kết hợp với các peptit vòng lớn đặc hiệu kép mà kích hoạt sự đáp ứng miễn dịch của chủ thể.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với liệu pháp cấy ghép tủy xương để điều trị nhiều dạng khối u của các tế bào gốc tạo huyết.

Các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các muối của chúng có thể được sử dụng kết hợp với các vắc-xin, để kích thích sự đáp ứng miễn dịch với các mầm bệnh, độc tố hoặc chính các kháng nguyên. Các ví dụ về các mầm bệnh mà phương pháp trị liệu này có thể đặc biệt hữu ích, bao gồm các mầm bệnh mà hiện tại chưa có vắc-xin hiệu quả, hoặc các mầm bệnh mà các vắc-xin thông thường có hiệu quả một cách đầy đủ mức thấp hơn. Các mầm bệnh này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, HIV, viêm gan (A, B, & C), cúm, Herpes, Giardia, sốt rét, Leishmania, Staphylococcus aureus (tụ cầu vàng), Pseudomonas Aeruginosa (trực khuẩn mủ xanh).

Các virus gây ra các bệnh truyền nhiễm có thể điều trị được bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở virus papilloma ở người, virus cúm, virus viêm gan A, B, C hoặc D, adenovirus, poxvirus, virus herpes đơn dạng, virus cytomegalo ở người, virus hội chứng hô hấp cấp tính nghiêm trọng, virus ebola, virus sởi, virus herpes (ví dụ, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II, và CMV, virus Epstein Barr), flavivirus, echovirus, rhinovirus, virus coxsackie, coronavirus, virus đồng bộ hô hấp, mumpsvirus, rotavirus, virus sởi, virus rubella, parvovirus, virus bệnh đậu bò, virus HTLV, virus sốt xuất huyết, papillomavirus, virus molluscum, poliovirus, virus bệnh dại, virus JC và virus viêm não arbovirus.

Các vi khuẩn gây bệnh gây ra các bệnh truyền nhiễm có thể được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vi khuẩn chlamydia, vi khuẩn rickettsial, mycobacteria, staphylococci (tụ cầu khuẩn), streptococci (liên cầu khuẩn), pneumococci (phế cầu khuẩn), meningococci và conococci, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionella, vi khuẩn bạch hầu, salmonella, trực khuẩn (bacillus), vi

khuẩn tả, vi khuẩn uốn ván, botulism (vi khuẩn gây ngộ độc thịt), vi khuẩn than, vi khuẩn dịch hạch (plague), vi khuẩn leptospira và vi khuẩn bệnh Lyme.

Các loài nấm gây ra các bệnh truyền nhiễm có thể được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, v.v.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, v.v.), Genus *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* và *Histoplasma capsulatum*.

Các ký sinh trùng gây ra các bệnh truyền nhiễm có thể được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondi*, và *Nippostrongylus brasiliensis*.

Khi cho bệnh nhân dùng nhiều hơn một dược chất, các dược chất này có thể được sử dụng một cách đồng thời, riêng rẽ, tuần tự, hoặc ở dạng kết hợp (ví dụ, đối với nhiều hơn hai chất).

IV. Công thức chế phẩm, dạng liều và đường sử dụng

Khi được sử dụng làm dược phẩm, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng các chế phẩm dược. Vì vậy sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế, và ít nhất một tá dược hoặc chất mang dược dụng. Các chế phẩm này có thể được điều chế theo cách đã biết rõ trong lĩnh vực dược phẩm, và có thể được sử dụng theo nhiều con đường khác nhau, tùy thuộc vào việc cần phải điều trị khu trú hay toàn thân và tùy thuộc vào vùng cần được điều trị. Đường sử dụng có thể là dùng qua đường tại chỗ (bao gồm qua da, biểu bì, mắt và vào màng nhầy bao gồm cung cấp trong mũi, âm đạo và trực tràng), đường phổi (ví dụ, bằng cách xông hít hoặc bơm thuốc bột hoặc khí dung, bao gồm bằng máy xông khí dung; trong khí quản hoặc trong mũi), đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Việc sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm đường tiêm hoặc truyền vào tĩnh mạch, vào động mạch, dưới da, trong màng bụng, trong cơ; hoặc dùng trong sọ, ví dụ, nội tủy mạc hoặc trong não thất. Việc sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể là ở dạng một liều bolus duy nhất, hoặc có thể là, ví dụ, bằng cách bơm dịch truyền liên

tục. Các chế phẩm được và các công thức chế phẩm để sử dụng tại chỗ có thể bao gồm miếng dán qua da, thuốc mỡ, thuốc nước, thuốc kem, thuốc dạng gel, thuốc nhỏ, thuốc đạn, thuốc xịt, chất lỏng và bột. Các chất mang được phẩm thông thường, chất nền chứa nước, bột hoặc dầu, các chất làm đặc và các chất tương tự có thể cần thiết hoặc mong muốn.

Sáng chế cũng bao gồm các chế phẩm được mà chứa, với vai trò là thành phần hoạt tính, hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của chúng, kết hợp với một hoặc nhiều tá dược hoặc chất mang được dụng. Theo một số phương án, chế phẩm này thích hợp để sử dụng tại chỗ. Để bào chế các chế phẩm theo sáng chế, thành phần hoạt tính thường được trộn với tá dược, được pha loãng với tá dược hoặc được bao kín trong chất mang dưới dạng, ví dụ, viên nang, gói nhỏ, giấy hoặc các vật chứa khác. Khi tá dược được sử dụng làm chất pha loãng, nó có thể là một vật liệu rắn, bán rắn, hoặc lỏng, hoạt động như một chất dẫn thuốc, chất mang hoặc môi trường cho thành phần hoạt tính. Như vậy, các chế phẩm này có thể ở dưới dạng viên nén, viên tròn nhỏ, bột, viên ngậm hình thoi, viên nhện, gói nhỏ, cồn ngọt, hỗn dịch, nhũ dịch, dung dịch, xi-rô, khí dung (dạng chất rắn hoặc trong môi trường lỏng), thuốc mỡ có chứa, ví dụ, tối đa 10% theo khối lượng hợp chất hoạt tính, viên nang gelatin mềm và cứng, thuốc đạn, dung dịch tiêm vô trùng và bột đóng gói vô trùng.

Để điều chế công thức chế phẩm, hợp chất hoạt tính có thể được nghiền để có được kích cỡ hạt thích hợp trước khi kết hợp với các thành phần khác. Nếu hợp chất hoạt tính về cơ bản là không tan, nó có thể được nghiền để có kích cỡ hạt nhỏ hơn cỡ rây 200. Nếu hợp chất hoạt tính về cơ bản là tan trong nước, kích cỡ hạt có thể được điều chỉnh bằng cách nghiền để có được sự phân bố về cơ bản đồng đều trong công thức chế phẩm, ví dụ, khoảng cỡ rây 40.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được nghiền bằng cách sử dụng các quy trình nghiền đã biết như nghiền ướt để có được kích thước hạt thích hợp cho sự tạo viên nén và cho các loại công thức chế phẩm. Các chế phẩm nghiền mịn (hạt cỡ nano) của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các quy trình đã được biết trong lĩnh vực này, xem ví dụ công bố đơn quốc tế số WO 2002/000196.

Một số ví dụ về các tá dược thích hợp bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, tinh bột, gôm acacia, canxi phosphat, alginat, nhựa tragacan, gelatin, canxi silicat, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, xenluloza, nước, si-rô và metyl xenluloza. Các chế phẩm này có thể còn bao gồm: các chất bôi trơn như bột talc, magie stearat và dầu khoáng; chất làm ướt; chất nhũ hoá và chất tạo hỗn dịch; chất bảo quản như metyl- và

propylhydroxy-benzoat; chất làm ngọt; và các chất tạo hương vị. Các chế phẩm theo sáng chế có thể được điều chế để tạo ra sự giải phóng nhanh, chậm hoặc trì hoãn thành phần hoạt tính sau khi cho bệnh nhân dùng bằng cách sử dụng quy trình được biết trong lĩnh vực này.

Theo một số phương án, chế phẩm được chứa xenluloza vi tinh thể được silicat hóa (SMCC) và ít nhất một hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, xenluloza vi tinh thể được silicat hóa này chứa khoảng 98% xenluloza vi tinh thể và khoảng 2% silic dioxit khối lượng/khối lượng (w/w).

Theo một số phương án, dược phẩm này là chế phẩm phóng thích chậm chứa ít nhất một hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một tá dược hoặc chất mang được dụng. Theo một số phương án, dược phẩm này bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một thành phần được chọn từ xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat, hydroxypropyl metylxenluloza và polyetylen oxit. Theo một số phương án, dược phẩm này bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của chúng, và xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat và hydroxypropyl metylxenluloza. Theo một số phương án, dược phẩm này bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng của chúng, và xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat và polyetylen oxit. Theo một số phương án, dược phẩm này còn bao gồm magie stearat hoặc silic dioxit. Theo một số phương án, xenluloza vi tinh thể là Avicel PH102™. Theo một số phương án, lactoza monohydrat là Fast-flo 316™. Theo một số phương án, hydroxypropyl metylxenluloza là hydroxypropyl metylxenluloza 2208 K4M (ví dụ, Methocel K4 M Premier™) và/hoặc hydroxypropyl metylxenluloza 2208 K100LV (ví dụ, Methocel K00LV™). Theo một số phương án, polyetylen oxit là polyetylen oxit WSR 1105 (ví dụ, Polyox WSR 1105™).

Theo một số phương án, quy trình tạo hạt ướt được sử dụng để sản xuất chế phẩm này. Theo một số phương án, quy trình tạo hạt khô được sử dụng để sản xuất chế phẩm này.

Các chế phẩm có thể được tạo công thức ở dạng liều đơn vị, mỗi liều chứa từ khoảng 5 đến khoảng 1.000 mg (1 g), thông thường hơn khoảng 100 mg đến khoảng 500 mg, thành phần hoạt tính. Theo một số phương án, mỗi liều chứa khoảng 10 mg thành phần hoạt tính. Theo một số phương án, mỗi liều chứa khoảng 50 mg thành phần hoạt tính. Theo một số

phương án, mỗi liều chứa khoảng 25 mg thành phần hoạt tính. Thuật ngữ "các dạng liều đơn vị" dùng để chỉ các đơn vị rời rạc về mặt vật lý thích hợp làm các liều lượng đơn vị cho các đối tượng là người và động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa một lượng chất hoạt tính được xác định trước để tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn kết hợp với một tá dược được thích hợp.

Các thành phần được sử dụng để tạo công thức bào chế các chế phẩm được này có độ tinh khiết cao và về cơ bản không chứa các chất ô nhiễm có khả năng gây hại (ví dụ, ít nhất là loại theo tiêu chuẩn Thực phẩm Quốc gia, thông thường ít nhất là loại dùng để phân tích và điển hình hơn ít nhất là loại dùng cho dược phẩm). Cụ thể là loại dùng cho người, dược phẩm này tốt hơn là được sản xuất hoặc tạo công thức bào chế theo các tiêu chuẩn Thực hành Sản xuất Tốt như được xác định trong các quy định hiện hành của Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ. Ví dụ, các chế phẩm thích hợp có thể là vô trùng và/hoặc về cơ bản là đẳng trương và/hoặc tuân thủ đầy đủ tất cả các quy định Thực hành Sản xuất Tốt của Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ.

Hợp chất hoạt tính có thể có hiệu quả trên một khoảng liều rộng và thường được dùng với lượng hữu hiệu điều trị bệnh. Tuy nhiên, cần hiểu rằng lượng hợp chất thực tế được sử dụng thường sẽ được xác định bởi bác sĩ, theo các hoàn cảnh có liên quan, bao gồm tình trạng được điều trị, đường dùng được chọn, hợp chất thực tế được sử dụng, tuổi tác, cân nặng và khả năng đáp ứng của từng bệnh nhân, mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng của bệnh nhân và các yếu tố tương tự.

Liều điều trị của hợp chất theo sáng chế có thể thay đổi theo, ví dụ, mục đích sử dụng cụ thể để thực hiện việc điều trị, phương thức sử dụng hợp chất, sức khỏe và tình trạng của bệnh nhân, và sự đánh giá của bác sĩ kê đơn. Tỷ lệ hoặc nồng độ của hợp chất theo sáng chế trong chế phẩm được này có thể khác nhau tùy thuộc vào một số yếu tố bao gồm liều lượng, các đặc tính hóa học (ví dụ, tính kỵ nước) và đường dùng. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có thể được cung cấp trong dung dịch đệm sinh lý có nước chứa khoảng 0,1 đến khoảng 10% khối lượng/thể tích hợp chất này để dùng ngoài đường tiêu hóa. Một số khoảng liều điển hình là từ khoảng 1 $\mu\text{g/kg}$ đến khoảng 1 g/kg trọng lượng cơ thể một ngày. Theo một số phương án, khoảng liều là từ khoảng 0,01 mg/kg đến khoảng 100 mg/kg trọng lượng cơ thể một ngày. Liều có thể phụ thuộc vào các biến số như loại và mức độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe tổng thể của bệnh nhân cụ thể, hiệu quả sinh học tương đối của hợp chất được lựa chọn, công thức bào chế tá dược và đường

dùng liều này. Liều hiệu quả có thể được ngoại suy từ các đường cong đáp ứng liều có được từ các hệ thử nghiệm mô hình *in vitro* hoặc trên động vật.

Để bào chế các chế phẩm rắn như viên nén, thành phần hoạt tính chính được trộn với tá dược để tạo ra chế phẩm tiền công thức dạng rắn chứa hỗn hợp đồng nhất của hợp chất theo sáng chế. Khi đề cập đến các chế phẩm tiền công thức này, thành phần hoạt tính thường được cho phân tán đồng đều trong toàn bộ chế phẩm để chế phẩm này có thể dễ dàng được chia nhỏ thành các dạng liều đơn vị có hiệu quả như nhau như dạng viên nén, viên tròn nhỏ và viên nang. Sau đó, chế phẩm tiền công thức dạng rắn này được chia nhỏ thành các dạng liều đơn vị của loại được mô tả ở trên chứa từ, ví dụ, khoảng 0,1 đến khoảng 1000 mg thành phần hoạt tính theo sáng chế.

Các viên nén hoặc viên tròn nhỏ theo sáng chế có thể được phủ ngoài hoặc cách khác được pha trộn để đem lại dạng liều cung cấp ưu điểm về tác động kéo dài. Ví dụ, viên nén hoặc viên tròn nhỏ có thể chứa thành phần liều bên trong và thành phần liều bên ngoài, thành phần liều bên ngoài ở dạng vỏ bao ngoài của thành phần liều bên trong. Hai thành phần có thể được tách biệt bằng một lớp tan trong ruột giúp chống lại sự tan trong dạ dày và cho phép thành phần bên trong đi qua một cách nguyên vẹn vào tá tràng hoặc được tri hoãn phóng thích. Nhiều vật liệu khác nhau có thể được sử dụng làm các lớp vỏ bao hoặc lớp tan trong ruột như vậy, các vật liệu này bao gồm một số loại axit polyme và các hỗn hợp axit polyme với các vật liệu như rượu sen-lac, rượu xetyl và xenluloza axetat.

Các dạng lỏng trong đó các hợp chất và các chế phẩm theo sáng chế có thể được kết hợp để sử dụng qua đường miệng hoặc bằng cách tiêm bao gồm các dung dịch chứa nước, xi-rô có hương vị thích hợp, hỗn dịch chứa nước hoặc dầu, và nhũ dịch có hương vị với dầu ăn được như dầu hạt bông, dầu mè, dầu dừa, hoặc dầu lạc, cũng như các loại cồn ngọt và các chất dẫn dùng cho được phẩm tương tự.

Các chế phẩm để xông hít hoặc bơm khí bao gồm các dung dịch và hỗn dịch trong các dung môi hữu cơ hoặc chứa nước được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng, và các loại bột được dụng. Các chế phẩm rắn và lỏng này có thể chứa các tá dược được dụng thích hợp như được mô tả ở trên. Theo một số phương án, các chế phẩm này được sử dụng qua đường miệng hoặc đường hô hấp mũi để có tác dụng khu trú hoặc toàn thân. Các chế phẩm có thể được xông khí dung bằng cách sử dụng các khí trơ. Các dung dịch được xông khí dung có thể được hít trực tiếp từ máy xông khí dung hoặc máy xông khí dung có thể được gắn với mặt nạ, nút gạc, hoặc máy thở áp lực dương liên tục. Các chế phẩm dạng dung dịch, hỗn

dịch hoặc bột có thể được sử dụng theo đường miệng hoặc mũi từ các thiết bị cấp công thức chế phẩm theo cách thích hợp.

Các công thức chế phẩm dùng tại chỗ có thể chứa một hoặc nhiều chất mang thông thường. Theo một số phương án, thuốc mỡ có thể chứa nước và một hoặc nhiều chất mang kỵ nước được chọn từ, ví dụ, parafin lỏng, polyoxyetylen alkyl ete, propylen glycol, vazolin trắng, và các chất tương tự. Các chế phẩm chất mang dạng thuốc kem có thể được tạo nên trên nước kết hợp với glyxerol và một hoặc nhiều thành phần khác, ví dụ, glyxerinmonostearat, PEG-glyxerinmonostearat và rượu xetylstearyl. Các gel có thể được bào chế bằng cách sử dụng rượu isopropyl và nước, kết hợp theo cách thích hợp với thành phần khác ví dụ như, glyxerol, hydroxyetyl xenluloza, và các chất tương tự. Theo một số phương án, các công thức chế phẩm dùng tại chỗ chứa ít nhất khoảng 0,1, ít nhất khoảng 0,25, ít nhất khoảng 0,5, ít nhất khoảng 1, ít nhất khoảng 2 hoặc ít nhất khoảng 5 % theo khối lượng của hợp chất theo sáng chế. Các công thức chế phẩm dùng tại chỗ có thể được đóng gói phù hợp trong ống, ví dụ, 100 g mà tùy ý kèm theo hướng dẫn sử dụng để điều trị theo dấu hiệu lựa chọn, ví dụ, bệnh vảy nến hoặc tình trạng da khác.

Lượng hợp chất hoặc chế phẩm được sử dụng cho bệnh nhân sẽ khác nhau tùy thuộc vào các chất được sử dụng, mục đích sử dụng, chẳng hạn như phòng bệnh hoặc điều trị bệnh, tình trạng của bệnh nhân, phương thức dùng và các yếu tố tương tự. Trong các ứng dụng điều trị, các chế phẩm có thể được sử dụng cho bệnh nhân đã mắc bệnh với một lượng đủ để chữa trị hoặc ít nhất là làm dừng một phần các triệu chứng của bệnh và các biến chứng của bệnh. Liều hiệu quả sẽ phụ thuộc vào tình trạng bệnh đang được điều trị cũng như đánh giá của bác sĩ tham gia điều trị tùy thuộc vào các yếu tố như mức độ nghiêm trọng của bệnh, tuổi tác, cân nặng và tình trạng chung của bệnh nhân và các yếu tố tương tự.

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

Liều lượng điều trị của hợp chất theo sáng chế có thể thay đổi theo, ví dụ, mục đích sử dụng cụ thể mà việc điều trị được thực hiện, phương thức dùng hợp chất, sức khỏe và tình trạng và bệnh nhân, và đánh giá của bác sĩ kê đơn. Tỷ lệ hoặc nồng độ của hợp chất theo sáng chế trong chế phẩm được có thể thay đổi tùy thuộc vào một số yếu tố bao gồm liều lượng, đặc tính hóa học (ví dụ, tính kỵ nước) và đường dùng. Ví dụ, các hợp chất của sáng chế có thể được cung cấp trong dung dịch đệm sinh lý chứa nước chứa khoảng 0,1 đến khoảng 10% khối lượng/thể tích hợp chất này để dùng ngoài đường tiêu hóa. Một số khoảng liều thông thường là từ khoảng 1 $\mu\text{g/kg}$ đến khoảng 1 g/kg trọng lượng cơ thể một ngày. Theo một số phương án, khoảng liều là từ khoảng 0,01 mg/kg đến khoảng 100 mg/kg trọng lượng cơ thể một ngày. Liều có thể phụ thuộc vào các biến số như loại và mức độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe tổng thể của bệnh nhân cụ thể, hiệu quả sinh học tương đối của chất hợp chất được chọn, công thức bào chế của tá dược và đường dùng của nó. Liều hiệu quả có thể được ngoại suy từ các đường cong đáp ứng liều có được từ các hệ thử nghiệm mô hình *in vitro* hoặc trên động vật.

V. Các hợp chất được đánh dấu và phương pháp thử nghiệm

Các hợp chất theo sáng chế có thể còn hữu ích trong các nghiên cứu khảo sát các quá trình sinh học trong các mô bình thường và bất thường. Vì vậy, một khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến các hợp chất được đánh dấu theo sáng chế (được đánh dấu phóng xạ, được đánh dấu huỳnh quang, v.v...) sẽ hữu ích không chỉ trong các kỹ thuật hình ảnh mà còn trong các thử nghiệm, cả *in vitro* và *in vivo*, để xác định vị trí và định lượng protein PD-1 hoặc PD-L1 trong các mẫu mô, bao gồm cả mô người, và để xác định các phối tử PD-L1 bằng cách liên kết ức chế hợp được đánh dấu. Theo đó, sáng chế bao gồm các thử nghiệm liên kết PD-1/PD-L1 mà có chứa các hợp chất được đánh dấu như vậy.

Sáng chế còn bao gồm các hợp chất theo sáng chế được dán nhãn đồng vị. Hợp chất "được dán nhãn đồng vị" hoặc "được dán nhãn phóng xạ" là hợp chất theo sáng chế trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế hoặc được thế bằng một nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường thấy trong tự nhiên (tức là, xuất hiện trong tự nhiên). Các nucleit phóng xạ thích hợp mà có thể được kết hợp vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm nhưng không giới hạn ở ^3H (cũng được viết là T cho triti), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br ,

^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I và ^{131}I . Ví dụ, một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong hợp chất theo sáng chế có thể được thay thế bằng nguyên tử đơteri.

Một hoặc nhiều nguyên tử cấu thành của các hợp chất theo sáng chế có thể được thay thế hoặc thế bằng các đồng vị của các nguyên tử ở dạng phong phú tự nhiên hoặc không tự nhiên. Theo một số phương án, hợp chất bao gồm ít nhất một nguyên tử đơteri. Theo một số phương án, hợp chất bao gồm hai hoặc nhiều nguyên tử đơteri. Theo một số phương án, hợp chất bao gồm 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, hoặc 1-6 nguyên tử đơteri. Theo một số phương án, tất cả các nguyên tử hydro trong hợp chất này có thể được thay thế hoặc thế bằng nguyên tử đơteri.

Các phương pháp tổng hợp để đưa các đồng vị vào hợp chất hữu cơ là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (Deuterium Labeling in Organic Chemistry của Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange của Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey và Jochen Zimmermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling của James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Các hợp chất được dán nhãn đồng vị có thể được sử dụng trong nhiều nghiên cứu khác nhau chẳng hạn quang phổ NMR, các thử nghiệm và/hoặc xét nghiệm chuyển hóa.

Việc thay thế bằng các đồng vị nặng hơn, chẳng hạn đơteri, có thể mang lại những lợi ích điều trị nhất định do sự ổn định chuyển hóa lớn hơn, ví dụ, tăng thời gian bán thải *in vivo* hoặc giảm yêu cầu về liều lượng, và do đó có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. (Xem ví dụ, A. Kerekes và đồng tác giả *J. Med. Chem.* 2011, 54, 201-210; R. Xu và đồng tác giả *J. Label Compd. Radiopharm.* 2015, 58, 308-312). Đặc biệt, việc thay thế tại một hoặc nhiều vị trí chuyển hóa có thể mang lại một hoặc nhiều lợi ích điều trị.

Nucleit phóng xạ mà được kết hợp vào các hợp chất được đánh dấu phóng xạ này sẽ phụ thuộc vào ứng dụng cụ thể của hợp chất được đánh dấu phóng xạ đó. Ví dụ, đối với các thử nghiệm cạnh tranh và đánh dấu protein PD-L1 *in vitro*, các hợp chất mà kết hợp ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S vào hoặc nói chung sẽ là hữu ích nhất. Đối với các ứng dụng hình ảnh phóng xạ ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br hoặc ^{77}Br có thể là hữu dụng.

Cần hiểu rằng “được dán nhãn phóng xạ” hoặc “hợp chất được dán nhãn” là hợp chất được mà được đưa vào ít nhất một nucleit phóng xạ. Theo một số phương án, nucleit phóng xạ được chọn từ nhóm gồm có ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S và ^{82}Br .

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

Hợp chất được dán nhãn theo sáng chế có thể được sử dụng trong thử nghiệm sàng lọc để xác định và/hoặc đánh giá các hợp chất. Ví dụ, hợp chất mới được tổng hợp hoặc xác định (tức là hợp chất thử nghiệm) mà được đánh dấu có thể được đánh giá khả năng liên kết của nó với protein PD-L1 bằng cách theo dõi sự thay đổi nồng độ của nó khi tiếp xúc với protein PD-L1, thông qua việc theo dõi đồng vị đánh dấu. Ví dụ, một hợp chất thử nghiệm (được đánh dấu) có thể được đánh giá về khả năng của nó làm giảm mức liên kết của một hợp chất khác mà được biết là liên kết với protein PD-L1 (nghĩa là hợp chất tiêu chuẩn). Theo đó, khả năng của hợp chất thử nghiệm cạnh tranh với hợp chất chuẩn để liên kết với protein PD-L1 có tương quan trực tiếp với ái lực liên kết của nó. Ngược lại, trong một số thử nghiệm sàng lọc khác, hợp chất tiêu chuẩn được đánh dấu và các hợp chất thử nghiệm không được đánh dấu. Theo đó, nồng độ hợp chất tiêu chuẩn được đánh dấu được theo dõi để đánh giá mức cạnh tranh giữa hợp chất tiêu chuẩn và hợp chất thử nghiệm, và vì vậy ái lực liên kết tương đối của hợp chất thử nghiệm được xác định.

VI. Bộ kit

Sáng chế cũng bao gồm cả bộ kit được phẩm hữu ích, ví dụ, trong việc điều trị và ngăn ngừa các bệnh và các rối loạn liên quan đến hoạt tính của PD-L1 bao gồm mức độ tương tác của nó với các protein khác như PD-1 và B7-1 (CD80), như các bệnh ung thư hoặc các bệnh truyền nhiễm, mà bao gồm một hoặc nhiều vật chứa có chứa chế phẩm được chứa lượng hữu hiệu điều trị bệnh của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này. Các bộ kit như vậy có thể còn bao gồm một hoặc nhiều thành phần của bộ kit được phẩm thông thường khác nhau, ví dụ, các vật chứa với một hoặc nhiều chất mang được dung, vật chứa bổ sung, v.v... như sẽ dễ dàng nhận biết rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Lời chỉ dẫn, hoặc ở dạng các tờ in rời kèm theo hoặc các bản ghi nhãn sản phẩm, cho biết lượng dùng của các thành phần, hướng dẫn sử dụng, và/hoặc hướng dẫn pha trộn các thành phần này, cũng có thể được bao gồm trong bộ kit này.

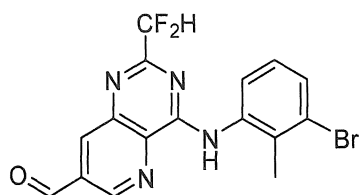
Các từ viết tắt sau đây có thể sử dụng trong bản mô tả này: aq. (trong nước); br (vạch rộng); d (vạch đôi); dd (vạch đôi trong các chùm vạch đôi); DCM (diclometan); DMF (*N, N*-dimetylformamit); DMSO (dimetylsulfoxit); Et (etyl); EtOAc (etyl axetat); g (gam); h (giờ); HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao); Hz (hec); J (hằng số ghép cặp); LCMS (sắc ký lỏng - khối phổ); m (đa vạch); M (mol); MS (Đo khối phổ); Me (metyl); MeCN (axetonitril); MeOH (metanol); mg (miligam); min. (phút); mL (mililit); mmol (milimol); nM (nanomol); NMR (phổ cộng hưởng từ hạt nhân); Ph (phenyl); r.t. (nhiệt độ trong phòng); s (vạch đơn); t (vạch ba hoặc bậc ba); TBS (tert-butyldimetylsilyl); tert (bậc ba); tt (vạch ba trong các chùm vạch ba); TFA (axit trifloaxetic); THF (tetrahydrofuran); μ g (microgam); μ L (microlit); μ M (micromol); wt. % (phần trăm khối lượng).

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ cụ thể. Các ví dụ sau đây được cung cấp nhằm mục đích minh họa và không nhằm giới hạn phạm vi sáng chế theo bất kỳ hình thức nào. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng nhận ra một loạt các thông số không quan trọng có thể được thay đổi hoặc cải biến để có được kết quả về cơ bản là giống nhau. Các hợp chất của phần Ví dụ thực hiện sáng chế đã được thấy là ức chế hoạt tính tương tác protein/protein PD-1/PD-L1 theo ít nhất một thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả này.

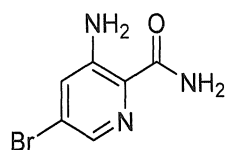
Ví dụ thực hiện sáng chế

Các quy trình thử nghiệm đối với các hợp chất theo sáng chế được cung cấp dưới đây. Quá trình tinh chế LCMS điều chế dùng phần mềm truy cập mở một số hợp chất đã điều chế được thực hiện trên hệ thống chưng cất phân đoạn được điều khiển theo khối lượng Waters. Việc thiết lập thiết bị cơ bản, các giao thức và phần mềm điều khiển cho hoạt động của các hệ thống này đã được mô tả chi tiết trong tài liệu. Ví dụ, xem, Blom, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, *J. Combi. Chem.*, 2002, 4, 295-301; Blom và đồng tác giả, "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", *J. Combi. Chem.*, 2003, 5, 670-83; và Blom và đồng tác giả, "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", *J. Combi. Chem.*, 2004, 6, 874-883.

Chất trung gian 1. 4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(diflometyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-7-carbaldehyt

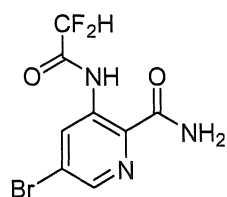


Bước 1: 3-amino-5-bromopicolinamidit



Nạp lần lượt vào bình phản ứng 5-bromo-3-nitropicolonitril (3,0 kg, 13,2 mol), metanol (15,0 L), và $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (356 g, 1,3 mol). Sau đó thêm từng giọt hydrazin monohydrat (2,0 kg, 39,6 mol) vào bình phản ứng. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 70 °C trong 3 giờ. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, lọc hỗn hợp phản ứng qua đệm đất diatomit và rửa bằng metanol (1,0 L). Cô dịch lọc dưới áp suất giảm thu được dầu màu đen, mà được hòa tan lại trong etyl axetat (2,0 L) và nước (2,0 L) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Tách hỗn hợp này và làm khô pha hữu cơ và lọc. Cô dịch lọc thu được chất rắn màu đen (1,8 kg, hiệu suất 63%), mà được sử dụng trực tiếp trong *Bước 2* mà không cần tinh chế thêm.

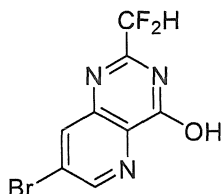
Bước 2: 5-bromo-3-(2,2-difloaxetamido)picolinamidit



Nạp lần lượt 3-amino-5-bromopicolinamidit (2,0 kg, 9,3 mol), DCM (8,0 L), và triethylamin (2,8 kg, 27,8 mol) vào bình phản ứng 1. Làm lạnh hỗn hợp trong bình phản ứng 1 đến 5-10 °C. Sau đó nạp lần lượt axit difloaxetic (2,1 kg, 21,4 mol), DCM (2,0 L), và DMF (50 mL) vào bình phản ứng 2. Thêm từ từ hỗn hợp trong bình phản ứng 1 vào bình phản ứng 2. Kiểm soát nhiệt độ phản ứng dưới 15 °C trong quá trình bổ sung. Sau khi bổ sung, khuấy hỗn hợp phản ứng ở 15-20 °C trong 4 giờ. Sau đó đổ hỗn hợp phản ứng vào nước đá lạnh (5,0 L). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối (2,0 L) và sau đó cô trong chân không thu được chất rắn màu nâu

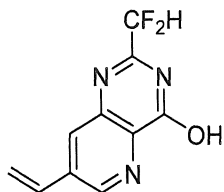
(2,0 kg, hiệu suất 75%), mà được sử dụng trực tiếp trong *Bước 3* mà không cần tinh chế thêm.

Bước 3: 7-bromo-2-(diflometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-ol



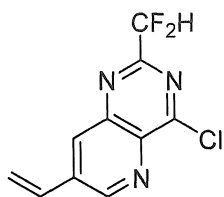
Nạp lần lượt vào bình phản ứng 5-bromo-3-(2,2-difloaxetamido)picolinamit (870 g, 3,0 mol), ethanol (2,0 L), nước (0,5 L), và natri hydroxit (118 g, 3,0 mol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 50-60 °C trong 4 giờ. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, đổ hỗn hợp phản ứng vào nước đá lạnh (2,0 L). Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, lọc huyền phù thu được chất rắn màu nâu (500 g, hiệu suất 60%), mà được làm khô trong không khí và sử dụng trực tiếp trong *Bước 4* mà không cần tinh chế thêm.

Bước 4: 2-(diflometyl)-7-vinylpyrido[3,2-d]pyrimidin-4-ol



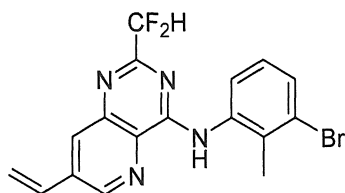
Nạp lần lượt vào bình phản ứng 7-bromo-2-(diflometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-ol (1,3 kg, 4,7 mol), ethanol (6,0 L), nước (6,0 L), kali cacbonat (1,9 kg, 14,1 mol), [1,1'-Bis(diphenylphosphino)feroxen]paladi(II) diclorua (130 g, 10 % khối lượng), và pinacol este của axit vinylboronic (0,9 kg, 6,1 mol). Khuấy hỗn hợp này ở 80-85 °C trong 60-70 giờ. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, lọc hỗn hợp phản ứng qua đệm đất diatomit và rửa bằng etyl axetat (0,5 L). Sau đó điều chỉnh dịch lọc bằng dung dịch HCl đậm đặc đến độ pH 2-3 trước khi chiết bằng etyl axetat ba lần (3x10,0 L). Kết hợp các lớp hữu cơ và rửa bằng nước muối (4,0 L), và cô thu được phần cạn thô. Thêm ete dầu mỏ (2,0 L) vào phần cạn. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Sau đó lọc huyền phù và gom chất rắn ở dạng chất rắn màu vàng (500 g, hiệu suất 50%).

Bước 5: 4-clo-2-(diflometyl)-7-vinylpyrido[3,2-d]pyrimidin



Nạp từ từ lần lượt toluen (1,0 L), 2-(difluorometyl)-7-vinylpyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-ol (200 g, 0,9 mol), và sau đó là phosphoryl clorua (206 g, 1,35 mol) vào bình phản ứng. Sau đó thêm từng giọt *N,N*-dimetylanilin (190 g, 1,35 mol) vào bình phản ứng. Sau đó khuấy hỗn hợp này ở 130 °C trong 2 giờ. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, đổ hỗn hợp phản ứng vào nước đá lạnh (1,0 L). Chiết hỗn hợp này bằng etyl axetat ba lần (1,0 L, 0,5 L, 0,5 L). Kết hợp các lớp hữu cơ, sau đó rửa bằng nước muối (0,5 L) và cô thu được phần cạn thô. Tinh chế phần cạn này bằng sắc ký cột silica gel thu được chất rắn màu vàng (170 g, hiệu suất 80%).

Bước 6: N-(3-bromo-2-metylphenyl)-2-(difluorometyl)-7-vinylpyrido[3,2-d]pyrimidin-4-amin



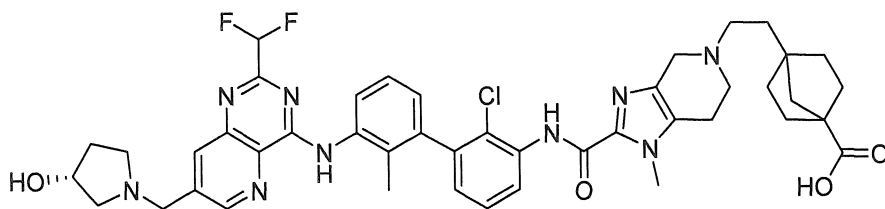
Nạp lần lượt vào bình phản ứng *tert*-butanol (2,5 L), 4-clo-2-(difluorometyl)-7-vinylpyrido[3,2-*d*]pyrimidin (250 g, 1,04 mol) và 3-bromo-2-metylanilin (188 g, 1,25 mol). Khuấy hỗn hợp này ở 50 °C qua đêm. Sau đó làm nguội phản ứng này đến nhiệt độ trong phòng. Lọc huyền phù và gom chất rắn (375 g, hiệu suất 92%) và hợp chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Bước 7: 4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(difluorometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-7-carbaldehyt

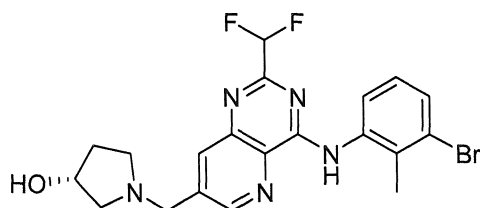
Nạp lần lượt vào bình phản ứng THF (7,0 L) và nước (2,0 L) ở nhiệt độ trong phòng, tiếp sau đó là natri periodat (620 g, 2,8 mol), 2,6-dimetylpyridin (205 g, 1,9 mol) ở 5-10 °C, osimi tetraoxit (2,0 g, 0,09 mol) ở 5-10 °C và *N*-(3-bromo-2-metylphenyl)-2-(difluorometyl)-7-vinylpyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin (370 g, 0,96 mol) ở 5-10 °C. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó cô hỗn hợp này trước khi thêm nước

(2,0 L) vào phần cạn. Sau khi lọc, gom chất rắn và hòa tan lại trong etyl axetat (1,5 L). Khuấy hỗn hợp này ở điều kiện hồi lưu trong 3 giờ. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, lọc huyền phù và gom chất rắn và làm khô trong không khí (325 g, hiệu suất 85%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,75 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 9,35 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 8,78 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,57 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,24 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,74 (m, $J = 54,0$ Hz, 1H), 2,30 (s, 3H). ^{13}C NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 192,5 (s), 159,7 (s), 158,2 (t, $J = 96$ Hz), 149,0 (s), 144,5 (s), 139,2 (s), 137,9 (s), 135,2 (s), 134,6 (s), 134,3 (s), 131,0 (s), 128,0 (s), 126,9 (s), 125,2 (s), 112,8 (t, $J = 960$ Hz), 19,0 (s).

Ví dụ 1. axit (R)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic

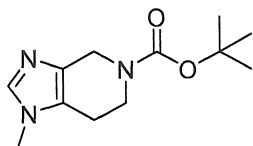


Bước 1: (R)-1-((4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(diflometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-7-yl)metyl)pyrolidin-3-ol



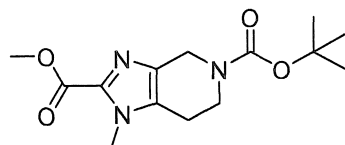
Khuấy hỗn hợp gồm 4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(diflometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-7-carbaldehyt (Chất trung gian 1: 1027 mg), (R)-pyrolidin-3-ol (273 mg) và axit axetic (220 μL) trong DCM (7 mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Sau đó thêm natri triaxetoxymorhydrua (830 mg) vào. Khuấy tiếp hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Dập tắt phản ứng bằng dung dịch $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ trong nước, chiết bằng DCM. Kết hợp pha hữu cơ và làm khô trên MgSO_4 . Sau khi lọc, cô dung dịch DCM đến phần cạn, tinh chế bằng sắc ký nhanh (MeOH 0-12%/DCM). LC-MS được tính cho $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{BrF}_2\text{N}_5\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}^+$): $m/z = 464,1, 466,1$; tìm được 464,0, 466,0.

Bước 2: tert-butyl 1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-carboxylat



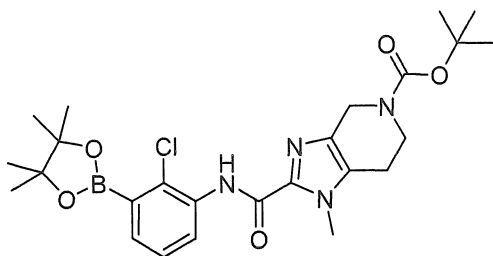
Khuấy dung dịch chứa 1-metyl-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (Accela, cat#SY032476: 2,0 g), (Boc)₂O (3,38 mL) trong diclometan (60 mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Dập tắt phản ứng bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước, và chiết bằng etyl axetat. Rửa lớp hữu cơ được gộp lại bằng nước muối, làm khô trên Na₂SO₄ và lọc. Cô dịch lọc dưới áp suất giảm. sản phẩm thô được sử dụng trong *Bước 3* mà không cần tinh chế thêm. LCMS được tính cho C₁₂H₂₀N₃O₂ (M+H)⁺: m/z = 238,2; tìm được 238,2.

Bước 3: 5-(tert-butyl) 2-metyl 1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-2,5-dicarboxylat



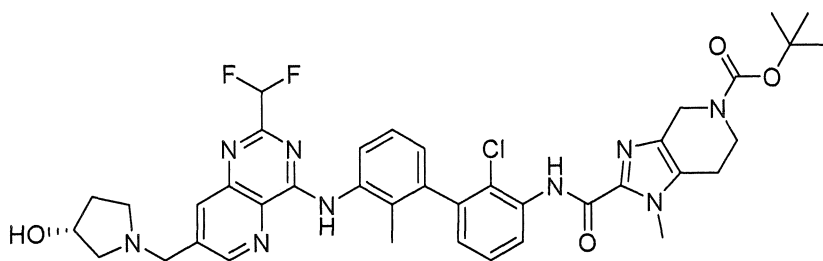
Thêm *n*-butyllithi trong các hexan (2,5 M, 7,00 mL) vào dung dịch lạnh (-78 °C) chứa sản phẩm thô *tert*-butyl 1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-carboxylat từ bước 2 (3,46 g) trong tetrahydrofuran (60,0 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở -78 °C trong 10 phút trước khi bổ sung methyl cloroformat (1,69 mL). Sau khi được khuấy ở -78 °C trong 30 phút, sau đó dập tắt phản ứng bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước, và chiết bằng etyl axetat. Làm khô pha hữu cơ trên Na₂SO₄ và lọc. Cô dịch lọc dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận này bằng sắc ký nhanh trên cột silica gel rửa giải bằng etyl axetat 0 đến 80% trong các hexan thu được sản phẩm mong muốn. LCMS được tính cho C₁₄H₂₂N₃O₄ (M+H)⁺: m/z = 296,2; tìm được 296,3.

Bước 4: tert-butyl 2-((2-clo-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-carboxylat



Thêm dung dịch kali tert-butoxit (1,0 M trong THF, 16,1 mL) vào dung dịch chứa 5-(*tert*-butyl) 2-metyl 1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-2,5-dicarboxylat (2,38 g) và 2-clo-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Ambeed, cat#A719321: 2,04 g) trong THF (53,7 mL). Sau khi được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 0,5 giờ, dập tắt phản ứng bằng cách bổ sung vào hỗn hợp phản ứng nước, và chiết bằng etyl axetat. Rửa lớp hữu cơ được gộp lại bằng nước muối, làm khô trên Na₂SO₄, lọc và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cần này bằng sắc ký nhanh trên cột silica gel bằng etyl axetat trong các hexan (0-50%) thu được sản phẩm. LC-MS được tính cho C₂₅H₃₅BClN₄O₅ (M+H)⁺: m/z = 517,2; tìm được 517,2.

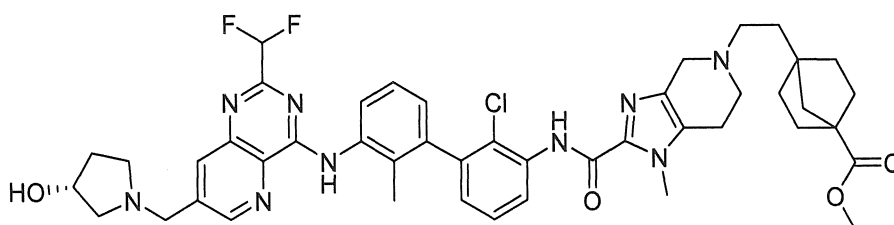
*Bước 5: tert-butyl (R)-2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-carboxylat*



Hỗn hợp gồm (R)-1-((4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(diflometyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-7-yl)metyl)pyrrolidin-3-ol (48 mg), *tert*-butyl 2-((2-clo-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-carboxylat (51,3 mg), kali phosphat (54,9 mg) và clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)] paladi(II) (8,1 mg) trong hỗn hợp gồm nước (0,09 mL) và 1,4-dioxan (0,43 mL), sục bằng khí N₂ và sau đó khuấy ở 100 °C trong 2 giờ. Làm nguội phản ứng này đến nhiệt độ trong phòng. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng diclometan và sau đó rửa bằng H₂O và dung dịch nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄, lọc và cô dịch lọc thu

được phân cận thô, tinh chế bằng sắc ký nhanh trên cột silica gel. LC-MS được tính cho $C_{39}H_{43}ClF_2N_9O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z = 774,3$; tìm được 774,4.

Bước 6: methyl (R)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat

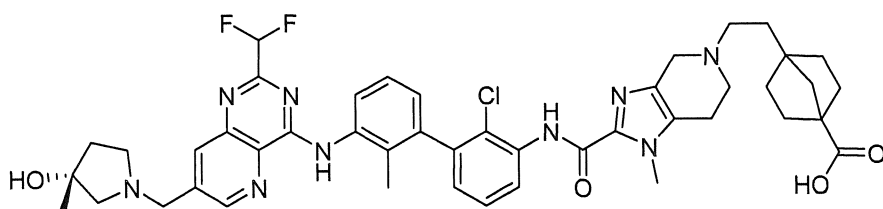


Thêm axit trifloaxetic (130 μ L) vào dung dịch chứa *tert*-butyl (*R*)-2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-carboxylat (15 mg) trong DCM (130 μ L). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 0,5 giờ. Sau đó làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm. Hòa tan lại phần cận trong DCM và trung hòa bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa. Chiết lớp nước bằng DCM ba lần. Làm khô các lớp DCM được gộp lại trên $MgSO_4$ và lọc. Cô dịch lọc thu được sản phẩm thô tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin. Thêm methyl 4-(2-oxoetyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat (PharmaBlock, cat#PB96551: 7,60 mg) tiếp sau đó là natri triaxetoxylborohydrua (10,3 mg) vào vật liệu thô nêu trên trong DCM (130 μ L). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 0,5 giờ. Sau đó pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM và dập tắt phản ứng bằng cách bổ sung dung dịch amoni hydroxit trong nước. Cô lớp DCM thu được sản phẩm thô, mà được sử dụng trực tiếp trong *Bước 7*. LC-MS được tính cho $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ ($M+H$)⁺: $m/z = 854,4$; tìm được 854,5.

Bước 7: axit (R)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic

Thêm LiOH (2,2 mg) vào dung dịch chứa methyl (*R*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1] heptan-1-carboxylat (16 mg) trong dung môi hỗn hợp gồm THF (150 μ L), nước (150 μ L) và MeOH (75 μ L). Khuấy hỗn hợp này ở 40 °C trong 6 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước+TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{44}H_{49}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 840,4; tìm được 840,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,54 (s, 1H), 9,93 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,27 (dd, *J* = 8,2, 1,2 Hz, 1H), 7,66 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,49 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,38 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,16 – 7,14 (m, 2H), 7,13 – 7,12 (m, 1H), 6,87 – 6,62 (m, 1H), 4,84 – 4,63 (m, 2H), 4,57 – 4,39 (m, 3H), 4,32 – 4,20 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,89 – 3,79 (m, 1H), 3,73 – 3,64 (m, 1H), 3,62 – 3,52 (m, 1H), 3,50 – 3,39 (m, 1H), 3,37 – 3,21 (m, 3H), 3,19 – 3,10 (m, 1H), 3,10 – 2,93 (m, 2H), 2,39 – 2,27 (m, 1H), 2,05 – 1,92 (m, 6H), 1,92 – 1,82 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 4H), 1,46 (s, 2H), 1,37 (s, 2H).

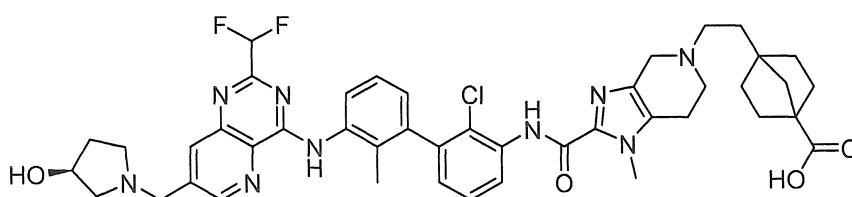
Ví dụ 2. Axit (*R*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



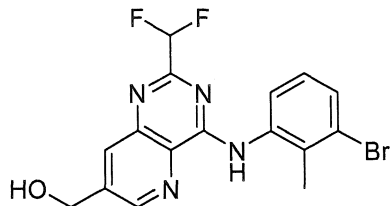
Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 1 bằng (*R*)-3-metylpyrolidin-3-ol thay thế cho (*R*)-pyrolidin-3-ol (Bước 1). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 854,4; tìm được 854,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,54 (s, 1H), 10,23 (s, 1H), 9,94 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,28 (dd, *J* = 8,2, 1,4 Hz, 1H), 7,66 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,50 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,39 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,17 – 7,14 (m, 1H), 7,14 – 7,12 (m, 1H), 6,88 – 6,62 (m, 1H), 4,81 –

4,60 (m, 2H), 4,57 – 4,46 (m, 1H), 4,32 – 4,19 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,90 – 3,78 (m, 1H), 3,73 – 3,59 (m, 1H), 3,54 – 3,37 (m, 2H), 3,35 – 3,14 (m, 4H), 3,11 – 2,94 (m, 2H), 2,19 – 2,07 (m, 1H), 2,03 – 1,94 (m, 6H), 1,93 – 1,84 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 4H), 1,47 (s, 3H), 1,41 – 1,37 (m, 2H), 1,35 (s, 3H).

Ví dụ 3. Axit (S)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic

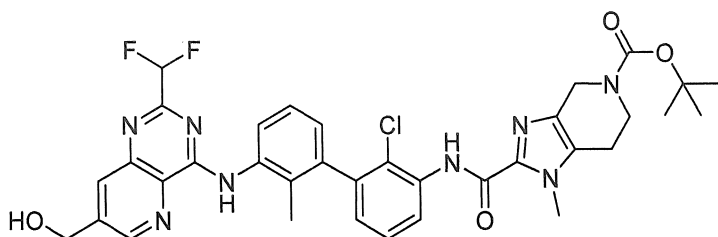


Bước 1: 4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(diflometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-7-yl)metanol



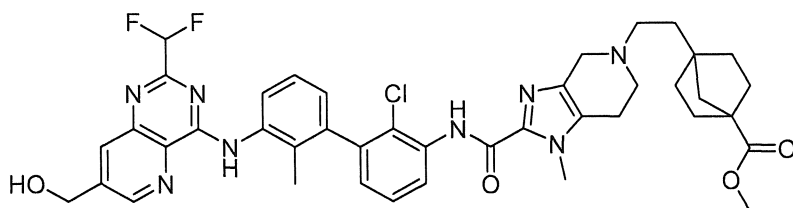
Thêm natri borohydrua (146 mg) vào hỗn hợp gồm 4-((3-bromo-2-metylphenyl)amino)-2-(diflometyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-7-carbaldehyt (Chất trung gian 1: 1513 mg) trong MeOH (19 mL) và CH₂Cl₂ (19 mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau đó dập tắt phản ứng bằng dung dịch HCl 1N trong nước, và chiết bằng DCM ba lần. Kết hợp pha hữu cơ và làm khô trên MgSO₄. Sau khi lọc, cô dịch lọc thu được sản phẩm màu vàng sáng, mà được sử dụng trực tiếp mà không cần tinh chế thêm. LC-MS được tính cho C₁₆H₁₄BrF₂N₄O (M+H)⁺: m/z = 395,0, 397,0; tìm được 395,1, 397,1.

Bước 2: tert-butyl 2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(hydroxymetyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-carboxylat



Sục hỗn hợp gồm (4-((3-bromo-2-methylphenyl)amino)-2-(difluoromethyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-7-yl)metanol (767 mg), *tert*-butyl 2-((2-clo-3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)carbamoyl)-1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-carboxylat (1053 mg), kali cacbonat (671 mg) và clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (153 mg) trong dung môi hỗn hợp gồm nước (3,2 mL) và 1,4-dioxan (16,2 mL) bằng khí N₂ và sau đó khuấy ở 110 °C trong 3 giờ. Làm nguội phản ứng này đến nhiệt độ trong phòng. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng diclometan và sau đó rửa bằng H₂O và dung dịch NaCl bão hòa trong nước. Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄, lọc và cô thu được phần cạn thô, tinh chế bằng sắc ký nhanh trên cột silica gel. LC-MS được tính cho C₃₅H₃₆ClF₂N₈O₄ (M+H)⁺: m/z = 705,2; tìm được 705,2.

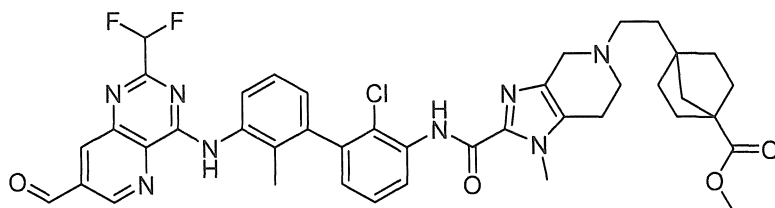
Bước 3: metyl 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(difluoromethyl)-7-(hydroxymethyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-methyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat



Thêm axit trifloaxetic (7 mL) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-((2-clo-3'-((2-(difluoromethyl)-7-(hydroxymethyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-methyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-carboxylat (701 mg) trong DCM (5 mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Sau đó làm bay hơi hỗn hợp này dưới áp suất giảm. Hòa tan lại phần cạn trong DCM và trung hòa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa. Chiết lớp nước bằng DCM ba lần. Làm khô các lớp DCM được gộp lại trên MgSO₄ và lọc. Cô dịch lọc thu được sản phẩm amin thô, mà được sử dụng trực tiếp. Khuấy hỗn hợp gồm amin thô nêu trên và metyl 4-

(2-oxoethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat (PharmaBlock, cat#PB96551: 217 mg) trong DCM (10 mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau đó thêm natri triaxetoxyborohydrua (421 mg) vào. Khuấy tiếp hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong DCM và dập tắt phản ứng bằng NH₄OH. Rửa pha nước bằng DCM và kết hợp pha hữu cơ và làm khô trên MgSO₄. Sau khi lọc, cô dịch lọc và tinh chế phân cận tương ứng bằng sắc ký cột (MeOH 0-16% trong DCM). LC-MS được tính cho C₄₁H₄₄ClF₂N₈O₄ (M+H)⁺: m/z = 785,3; tìm được 785,3.

Bước 4: metyl 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-formylpyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat



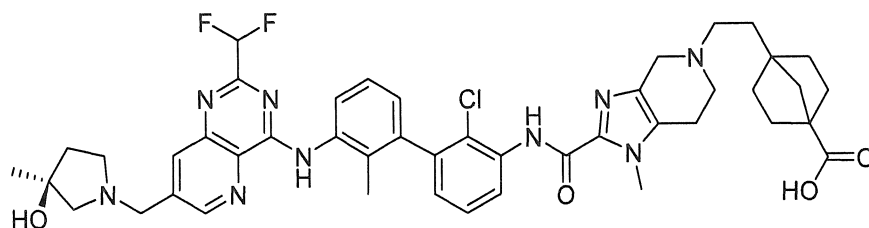
Thêm mangan dioxit (930 mg) vào dung dịch chứa metyl 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(hydroxymetyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat (210 mg) trong DCM (2,7 mL). Khuấy hỗn hợp này ở 40 °C trong 2 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng qua đệm Celite để loại bỏ các chất rắn. Làm bay hơi dịch lọc và sử dụng phần cận trực tiếp trong *Bước 5*. LC-MS được tính cho C₄₁H₄₂ClF₂N₈O₄ (M+H)⁺: m/z = 783,3; tìm được 783,4.

Bước 5: Axit (S)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic

Thêm axit axetic (2,2 µL) vào dung dịch chứa metyl 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-formylpyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylat (15 mg) và (S)-pyrolidin-3-ol (3,4 mg) trong CH₂Cl₂ (0,2 mL). Sau khi khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, thêm

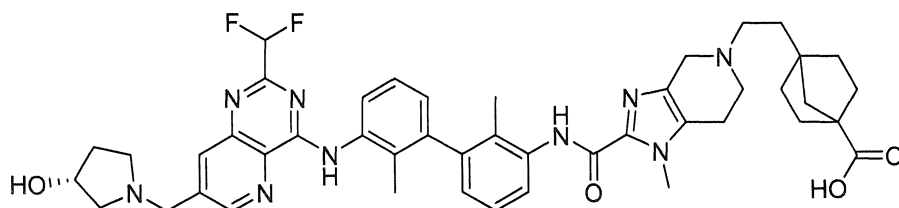
natri triaxetoxymethylborohydrua (8,1 mg) vào hỗn hợp phản ứng và tiếp tục khuấy hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ. Sau đó làm bay hơi hỗn hợp phản ứng. Sử dụng trực tiếp phần cặn. Thêm LiOH (3 mg) vào dung dịch chứa phần cặn trên đây trong dung môi hỗn hợp (150 μ L, THF/ nước/ MeOH = 2/2/1). Khuấy hỗn hợp này ở 40 °C trong 6 giờ. Sau khi hoàn thành, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{44}H_{49}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 840,4; tìm được 840,3.

Ví dụ 4. Axit (S)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 với (S)-3-metylpyrrolidin-3-ol thay thế cho (S)-pyrrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 854,4; tìm được 854,3.

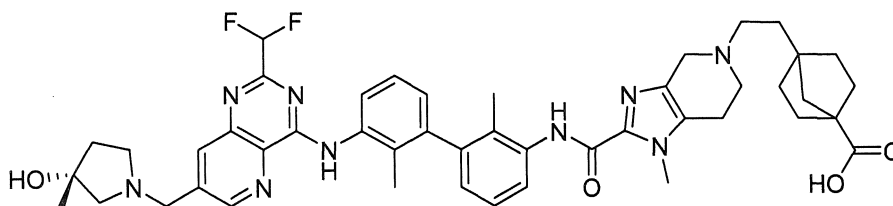
Ví dụ 5. Axit (R)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong

Ví dụ 1 với 2-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Combi-Blocks, cat#PN-9127) thay thế cho 2-clo-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Bước 4). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{45}H_{52}F_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 820,4; tìm được 820,4. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,59 (s, 1H), 10,37 (s, b, 1H), 9,86 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,50 (s, 2H), 7,61 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,35 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,87 – 6,57 (m, 1H), 4,80 – 4,62 (m, 2H), 4,52 – 4,45 (m, 1H), 4,47 – 4,14 (m, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,87 – 3,80 (m, 1H), 3,71 – 3,64 (m, 1H), 3,63 – 3,50 (m, 1H), 3,49 – 3,38 (m, 1H), 3,36 – 3,23 (m, 3H), 3,17 – 3,10 (m, 1H), 3,08 – 2,93 (m, 2H), 2,37 – 1,91 (m, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,99 – 1,94 (m, 2H), 1,92 (s, 3H), 1,90 – 1,85 (m, 2H), 1,59 – 1,49 (m, 4H), 1,46 (s, 2H), 1,42 – 1,34 (m, 2H).

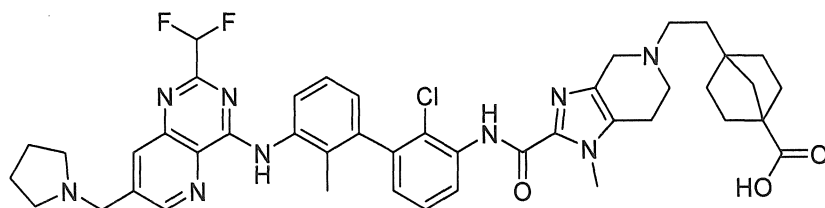
Ví dụ 6. Axit (R)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 1 với 2-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Combi-Blocks, cat#PN-9127) thay thế cho 2-clo-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Bước 4) và (R)-3-metylpyrolidin-3-ol thay thế cho (R)-pyrolidin-3-ol (Bước 1). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{46}H_{54}F_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 834,4; tìm được 834,4. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,57 (s, 1H), 10,16 (s, 1H), 9,84 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,36 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,86 – 6,58 (m, 1H), 4,79 –

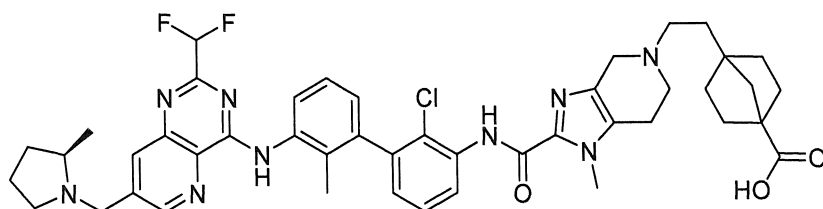
4,60 (m, 2H), 4,53 – 4,41 (m, 1H), 4,32 – 4,16 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,87 – 3,79 (m, 1H), 3,69 – 3,60 (m, 1H), 3,53 – 3,35 (m, 2H), 3,33 – 3,25 (m, 2H), 3,25 – 3,12 (m, 2H), 3,09 – 2,91 (m, 2H), 2,17 – 2,08 (m, 2H), 2,03 – 1,94 (m, 7H), 1,92 (s, 3H), 1,90 – 1,83 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 4H), 1,47 (s, 2H), 1,41 – 1,36 (m, 2H), 1,35 (s, 3H).

Ví dụ 7. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(pyrolidin-1-ylmetyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



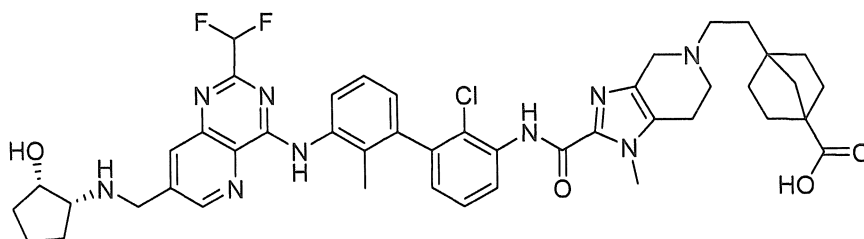
Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 với pyrolidin thay thế cho (*S*)-pyrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{44}H_{49}ClF_2N_9O_3$ ($M+H$)⁺: m/z = 824,4; tìm được 824,3.

Ví dụ 8. Axit (*R*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



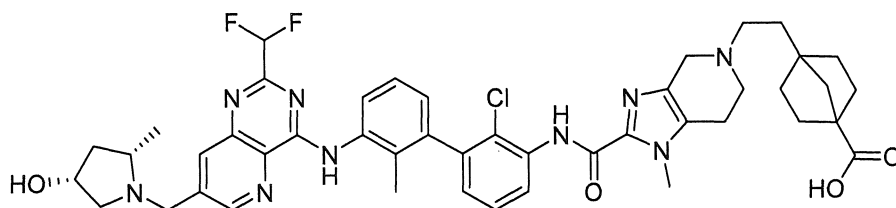
Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 có pyrolidin thay thế cho (*S*)-pyrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{45}H_{51}ClF_2N_9O_3$ ($M+H$)⁺: m/z = 838,4; tìm được 838,3.

Ví dụ 9. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((1*R*,2*S*)-2-hydroxyxyclopentyl)amino)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 có (1*S*,2*R*)-2-aminoxyclopentan-1-ol thay thế cho (*S*)-pyrrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho C₄₅H₅₁ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 854,4; tìm được 854,5.

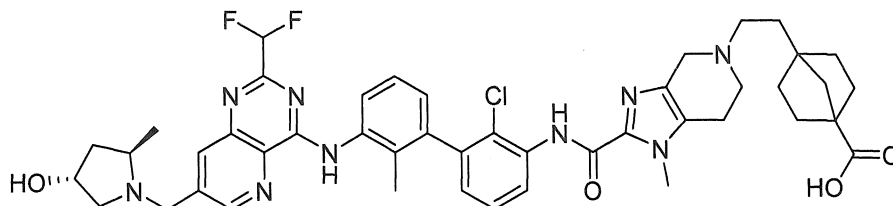
Ví dụ 10. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2*S*,4*R*)-4-hydroxy-2-metylpyrrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 với (3*R*,5*S*)-5-metylpyrrolidin-3-ol thay thế cho (*S*)-pyrrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho C₄₅H₅₁ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 854,4; tìm được 854,3.

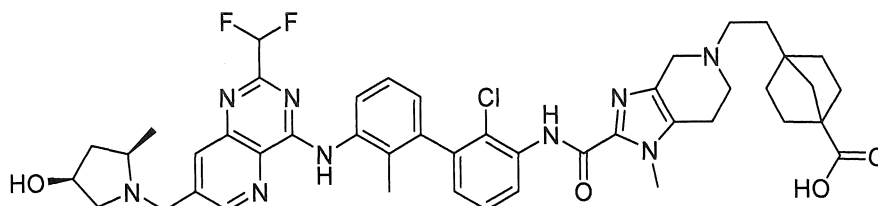
Ví dụ 11. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2*R*,4*R*)-4-hydroxy-2-metylpyrrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-

yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



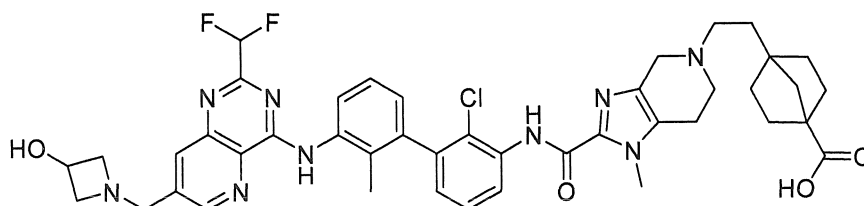
Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 có (3*R*,5*R*)-5-metylpyrrolidin-3-ol thay thế cho (*S*)-pyrrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho C₄₅H₅₁ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 854,4; tìm được 854,3.

Ví dụ 12. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2*R*,4*S*)-4-hydroxy-2-metylpyrrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic

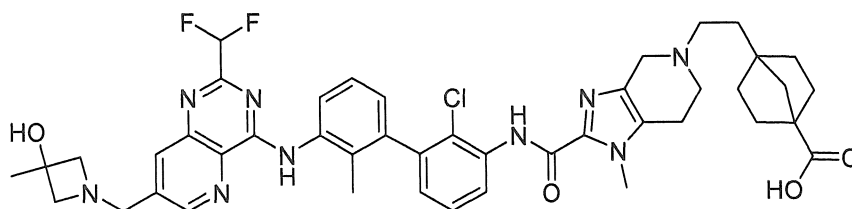


Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 3 với (3*S*,5*R*)-5-metylpyrrolidin-3-ol thay thế cho (*S*)-pyrrolidin-3-ol (Bước 5). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho C₄₅H₅₁ClF₂N₉O₄ (M+H)⁺: m/z = 854,4; tìm được 854,3.

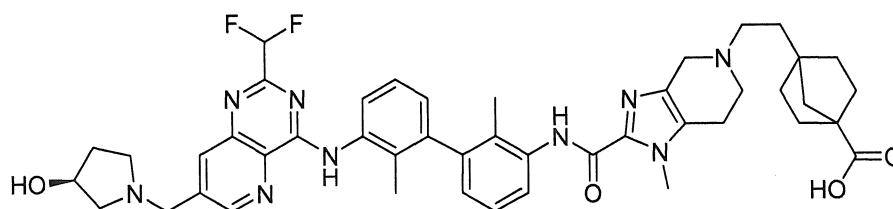
Ví dụ 13. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxyazetidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Ví dụ 14. Axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylazetidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



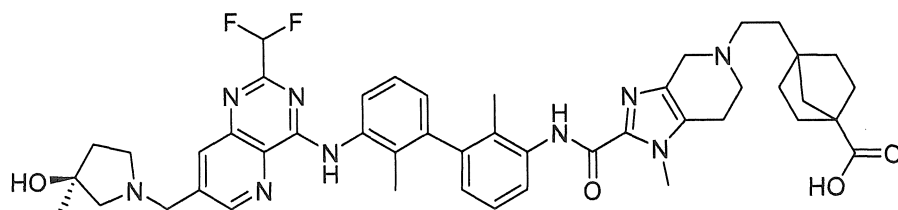
Ví dụ 15. Axit (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



53

phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{45}H_{52}F_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 820,4; tìm được 820,4.

Ví dụ 16. Axit (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic



Điều chế hợp chất này bằng cách sử dụng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 1 với 2-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Combi-Blocks, cat#PN-9127) thay thế cho 2-clo-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)anilin (Bước 4) và (S)-3-metylpyrrolidin-3-ol thay thế cho (R)-pyrrolidin-3-ol (Bước 1). Pha loãng hỗn hợp phản ứng trong bước cuối cùng bằng MeOH và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (pH = 2, axetonitril/nước +TFA) thu được sản phẩm mong muốn ở dạng muối TFA. LC-MS được tính cho $C_{46}H_{54}F_2N_9O_4$ (M+H)⁺: m/z = 834,4; tìm được 834,4.

Ví dụ A. Thử nghiệm liên kết huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất (HTRF) của PD-1/PD-L1

Các thử nghiệm được tiến hành trong đĩa polystyren 384 giếng màu đen tiêu chuẩn với thể tích cuối là 20 μ L. Đầu tiên, các chất ức chế được pha loãng theo dãy trong DMSO và sau đó được thêm vào các giếng của đĩa trước khi bổ sung các thành phần phản ứng khác. Nồng độ cuối cùng của DMSO trong thử nghiệm này là 1%. Các thử nghiệm được tiến hành ở 25 °C trong dung dịch đệm PBS (pH 7,4) với Tween-20 0,05% và BSA 0,1%. Protein PD-L1 tái tổ hợp của người (19-238) với thẻ His ở đầu cùng C được mua từ hãng AcroBiosystems (PD1-H5229). Protein PD-1 tái tổ hợp của người (25-167) với thẻ Fc tại đầu cuối C cũng được mua từ hãng AcroBiosystems (PD1-H5257). Các protein PD-L1 và PD-1 được pha loãng trong chất đệm thử nghiệm và 10 μ L dung dịch được thêm vào các giếng của đĩa. Các đĩa được ly tâm và các protein được ủ trước với các chất ức chế trong

40 phút. Sau khi ủ, thêm 10 μ L chất đệm phát hiện HTRF cùng với kháng thể kháng IgG của người được đánh dấu bằng Europi cryptat (PerkinElmer-AD0212), đặc hiệu đối với kháng thể Fc và kháng thể kháng His được liên hợp với SureLight®-Allophycocyanin (APC, PerkinElmer-AD0059H). Sau khi ly tâm, đĩa được ủ ở 25 °C trong 60 phút trước khi đọc trên đầu đọc đĩa PHERAstar FS (tỷ lệ 665nm/620nm). Nồng độ cuối trong thử nghiệm là PD1 - 3 nM, PD-L1 10 nM, europi kháng thể kháng IgG người 1 nM và kháng thể kháng His-Allophycocyanin 20 nM. Việc xác định IC₅₀ được thực hiện bằng cách chỉnh hợp đường cong của hoạt tính đối chứng theo phần trăm so với logarit của nồng độ chất ức chế bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 5.0.

Ví dụ B. Thử nghiệm phosphatase chứa miền của vùng đồng nhất Src 2 (SHP)

Tế bào U2OS/PD-L1 (DiscoverX Corporation) được giữ trong môi trường McCoy's 5A có bổ sung FBS 10%, puromycin 0,25 μ g/mL. Sau khi loại bỏ môi trường nuôi cấy, môi trường tế bào được thay thế bằng môi trường thử nghiệm (môi trường RPMI1640 có FBS 1%). Tế bào U2OS/PD-L1 sau đó được thêm vào đĩa thử nghiệm đáy màu đen trong suốt có 384 giếng (đĩa nuôi cấy mô CELLCOAT®, Greiner Bio-One) ở mật độ 5000 tế bào trên giếng trong 20 μ L môi trường thử nghiệm. Các hợp chất thử nghiệm được điều chế bằng cách pha loãng nối tiếp trong DMSO và trước tiên 125 nL hợp chất được chuyển vào giếng của đĩa 384 REMP (ThermoFisher) bằng bộ điều khiển chất lỏng ECHO (Labcyte) tiếp theo là bổ sung 27,5 μ L môi trường thử nghiệm vào. Hợp chất trong môi trường thử nghiệm 5 μ L/giếng được chuyển vào đĩa tế bào có DMSO 0,05% trong thử nghiệm cuối cùng ở nồng độ 0,25 μ M. Các tế bào Jurkat-PD-1-SHP (DiscoverX Corporation) được nuôi cấy trong môi trường RPMI1640 được bổ sung FBS 10%, Hygromycin B 250 μ g/mL, G418 500 μ g/mL. Sau khi thay thế môi trường nuôi cấy bằng môi trường thử nghiệm, 5.000 tế bào Jurkat-PD-1-SHP trong 20 μ L được phân tán vào mỗi giếng. Ủ đĩa thử nghiệm ở 37 °C, CO₂ 5% trong 2 giờ trước khi 2,5 μ L thuốc thử PathHunter 1 (DiscoverX Corporation) được thêm vào mỗi giếng. Lắc đĩa thử nghiệm trong 1 phút ở tốc độ 350 vòng trên phút trong bóng tối tiếp theo là bổ sung 10 μ L thuốc thử PathHunter 2 (DiscoverX Corporation) vào. Tín hiệu phát quang hóa học được ghi bằng bộ đọc TopCount (Perkin Elmer) sau khi ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Các giếng có DMSO được sử dụng làm đối chứng dương và các giếng không chứa tế bào được sử dụng làm đối chứng âm. Việc xác định IC₅₀ được thực hiện bằng cách chỉnh hợp đường cong

của hoạt tính đối chứng theo phần trăm so với logarit của nồng độ hợp chất bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 6.0.

Ví dụ C. Thử nghiệm yếu tố hạt nhân của tế bào T được hoạt hóa (NFAT)

Tế bào PD-L1 aAPC/CHO-K1 (Promega) được giữ trong môi trường F-12 có bổ sung FBS 10%, Hygromycin B 200 µg/mL, Geneticin (G418) 250 µg/mL. Tế bào hiệu ứng Jurkat-PD-1-NFAT (Promega) được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 được bổ sung FBS 10%, Hygromycin B 100 µg/mL, G418 500 µg/mL. Môi trường nuôi cấy chứa tế bào PD-L1 aAPC/CHO-K1 trước tiên được thay thế bằng môi trường thử nghiệm (môi trường RPMI1640 có FBS 1%). Sau đó tế bào PD-L1 aAPC/CHO-K1 được thêm vào đĩa thử nghiệm đáy trong suốt màu trắng có 384 giếng (đĩa nuôi cấy mô CELLCOAT®, Greiner Bio-One) ở mật độ 8000 trên mỗi giếng trong 10 µL môi trường thử nghiệm. Các hợp chất thử nghiệm được điều chế bằng cách pha loãng nối tiếp trong DMSO và trước tiên 0,8 µL hợp chất thử nghiệm trong DMSO được chuyển vào giếng của đĩa 384 REMP (Thermofisher) bằng thiết bị PlateMate Plus (Thermofisher) sau đó là bổ sung 50 µL môi trường phủ đĩa vào. 5 µL hợp chất trong môi trường thử nghiệm được chuyển vào các tế bào có DMSO 0,4% trong thử nghiệm cuối cùng ở nồng độ 2 µM. Sau khi loại bỏ môi trường nuôi cấy, 10.000 tế bào hiệu ứng Jurkat-PD-1-NFAT trong 5µL môi trường thử nghiệm được phân tán vào mỗi giếng. Ủ đĩa thử nghiệm ở 37 °C, CO₂ 5% trong 24 giờ. Sau khi để đĩa thử nghiệm cân bằng đến nhiệt độ trong phòng trong 15 phút, thêm thuốc thử Bio-Glo™ (Promega) vào với nồng độ 20µL/giếng. Sau 8 phút ủ ở nhiệt độ trong phòng, độ phát quang được đọc bằng máy đọc vi đĩa Pherastar (BMG Labtech). Số lần cảm ứng (FOI) được tính dựa trên tỷ lệ phát quang được chuẩn hóa đối với các giếng DMSO trong mỗi đĩa thử nghiệm. Phần trăm cảm ứng tối đa được tính trên cơ sở tỷ lệ giữa FOI cao nhất của mỗi hợp chất và FOI tối đa của hợp chất đối chứng trong từng đĩa thử nghiệm. Các giếng có DMSO được cung cấp làm đối chứng âm và các giếng chứa hợp chất đối chứng có FOI cao nhất được sử dụng làm đối chứng dương. Việc xác định EC50 được thực hiện bằng cách chỉnh hợp đường cong của hoạt tính đối chứng theo phần trăm so với logarit của nồng độ hợp chất bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 6.0.

Ví dụ D. Thử nghiệm nội bào hóa máu toàn phần của PD-L1

Để xác định sự nội bào hóa PD-L1 trong máu toàn phần của người, máu người bình thường (Biological Specialty Corp, Colmar. PA) được ủ khi có mặt hoặc không có mặt khoảng nồng độ của hợp chất thử nghiệm và interferon γ của người 1 ng/mL (R&D Systems Inc. Minn. MN) trong “đĩa thử nghiệm 2mL” 96 giếng (Corning, Corning NY) trong 18-20 giờ ở 37°C. Sau đó nhuộm máu bằng PD-L1 (MIH1, eBioscience; hoặc BD Biosciences San Jose, CA), CD14 (Life Technologies, Carlsbad, CA) trong 30 phút trong bóng tối ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào máu toàn phần/hồng cầu được ly giải/cố định (dung dịch đệm ly giải BD Biosciences) trong 5 phút ở 37°C trong bóng tối và sau đó ly tâm ở tốc độ 1600 vòng trên phút trong 5 phút. Các tế bào được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm màu nhuộm (BD Bioscience, San Jose, CA) và chuyển vào đĩa đáy tròn 96 giếng (Corning). Các tế bào được đóng mở trên CD14+ (BD Biosciences) và sự biểu hiện PD-L1 được xác định bằng cường độ huỳnh quang trung bình (MFI) (BD LSRFortessa™ X-20). Việc xác định IC₅₀ được thực hiện bằng cách chỉnh hợp đường cong của ức chế của hợp chất theo phần trăm so với logarit của nồng độ hợp chất bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 7.0.

Ví dụ E. Dược động học in vivo ở chuột cống và khỉ

Đối với các thử nghiệm dược động học in vivo, các hợp chất thử nghiệm được dùng cho chuột Sprague Dawley giống đực hoặc khỉ *Cynomolgus* giống đực và giống cái trong tĩnh mạch hoặc thông qua đường miệng. Đối với việc định liều trong tĩnh mạch (IV), các hợp chất thử nghiệm được định liều ở 0,5 đến 1 mg/kg bằng cách sử dụng dạng bào chế chứa dimethylacetamid 10% (DMAC) trong nước muối được axit hóa thông qua liều lớn IV đối với chuột và truyền IV 5 phút hoặc 10 phút đối với khỉ. Đối với việc định liều qua đường miệng (PO), các hợp chất thử nghiệm được định liều ở 1,0 đến 3,0 mg/kg bằng cách sử dụng DMAC 5% trong methylxenuloza 0,5% trong dung dịch đệm xitrat (pH 3,5). Các mẫu máu được thu thập trước khi dùng liều và các thời điểm khác nhau lên tới 24 giờ sau khi dùng liều. Tất cả các mẫu máu được thu thập bằng cách sử dụng EDTA làm chất kháng đông và được ly tâm để thu được các mẫu huyết tương. Nồng độ huyết tương của các hợp chất thử nghiệm được xác định bằng phương pháp LC-MS. Nồng độ huyết tương đo được được sử dụng để tính thông số PK bằng phương pháp phân tích không ngăn chuẩn bằng cách sử dụng chương trình phần mềm Phoenix® WinNonlin (phiên bản 7.0, Pharsight Corporation).

Ở chuột và khỉ, việc định liều caxet của các hợp chất thử nghiệm được tiến hành để thu được các thông số PK sơ bộ.

Các thí nghiệm được động học in vivo đối với chó beagle được có thể được thực hiện trong các điều kiện được mô tả ở trên đây.

Các kết quả từ Ví dụ A-E đối với các hợp chất của phần ví dụ thực hiện sáng chế

Các hợp chất của phần ví dụ thực hiện sáng chế được đánh giá trong mỗi thử nghiệm trong số thử nghiệm liên kết HTRF PD-1/PD-L1 (Ví dụ A), thử nghiệm SHP (Ví dụ B), thử nghiệm NFAT (Ví dụ C), và thử nghiệm nội bào hóa máu toàn phần, 24 giờ (Ví dụ D).

Các kết quả đối với các hợp chất của ví dụ 1, 2, và 9 được chỉ ra trong Bảng 1. Các kết quả đối với các hợp chất của ví dụ 3, 4, 7, và 14 được chỉ ra trong Bảng 2. Các kết quả đối với các hợp chất của ví dụ 5 và 6 được chỉ ra trong Bảng 3. Các kết quả đối với các hợp chất của ví dụ 8, 10, 11, và 13 được chỉ ra trong Bảng 4. Các kết quả đối với các hợp chất của ví dụ 12, 15, và 16 được chỉ ra trong Bảng 5. “nt” có nghĩa là không được thử nghiệm.

Bảng 1

Ví dụ	IC ₅₀ liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
1	2,2	2	3	7,9
2	1,5	4	3,9	8
9	1,7	3	4	6,4

Bảng 2

Ví dụ	IC ₅₀ liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
3	1,5	4	2,5	18
4	1,9	4	3,5	17
7	1,5	4	2,2	16
14	1,7	3	3	20

Bảng 3

Ví dụ	IC ₅₀ liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
5	2,1	9,2	4	60
6	nt	8,2	2,2	31

Bảng 4

Ví dụ	IC ₅₀ liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
8	1,5	7	4	33
10	1,5	4	4	35
11	1,5	5	3	27
13	1,8	3	3	24

Bảng 5

Ví dụ	IC ₅₀ liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
12	1,5	41	3	30

15	1,5	9	2,9	57
16	1,7	6	2,4	53

Một số hợp chất trong phần ví dụ thực hiện sáng chế cũng được đánh giá dược động học ở chuột cống hoặc khỉ dưới các điều kiện như được chỉ ra trong Ví dụ E (xem Bảng 6 và 7). Bảng 6 và 7 chỉ ra thể tích phân bố biểu kiến ở trạng thái ổn định (V_{ss}), độ thanh thải biểu kiến trong toàn bộ cơ thể của thuốc từ huyết tương (Cl), thời gian bán thải ($t_{1/2}$), nồng độ tối đa (pic) trong huyết tương (C_{max}), diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương từ thời điểm 0 đến vô cùng (AUC_{0-inf}), và độ sinh khả dụng (F). Trong bảng 6 và Bảng 7, các kết quả từ các nghiên cứu liều caxet: V_{ss} , Cl, và $t_{1/2}$ là trên cơ sở liều IV 1,0 mg/kg và C_{max} , AUC_{0-inf} , và F là trên cơ sở liều PO 3,0 mg/kg.

Bảng 6: Các kết quả dược động học trên chuột cống in vivo

Ví dụ	V_{ss} (L/kg)	Cl (L/giờ/kg)	$t_{1/2}$ (giờ)	C_{max} (nM)	AUC_{0-inf} (nM*giờ)	F (%)
1	1,75	0,369	4,4	166	1400	14
2	2,63	0,471	4,4	111	1070	14
5	1,63	0,416	3,9	241	1650	19
6	2,99	0,764	4,5	182	1430	30

Bảng 7: Các kết quả dược động học trên khỉ Cynomolgus in vivo

Ví dụ	V_{ss} (L/kg)	Cl (L/giờ/kg)	$t_{1/2}$ (giờ)	C_{max} (nM)	AUC_{0-inf} (nM*giờ)	F (%)
1	1,01	0,255	6,35	794	8240	59
2	1,36	0,287	6,23	579	6840	57
5	1,14	0,296	8,48	1300	11100	89

Các hợp chất từ công bố bằng sáng chế Mỹ số 20180179202 ('202) cũng được thử nghiệm trong các thử nghiệm của Ví dụ A, B, C, và D (xem Bảng A1; Số ví dụ tham chiếu đến sáng chế số 202). Một số hợp chất cũng được đánh giá về dược động học ở chuột cống (PO tại liều 3,0 mg/kg) dưới các điều kiện như được chỉ ra trong Ví dụ E (xem Bảng A2).

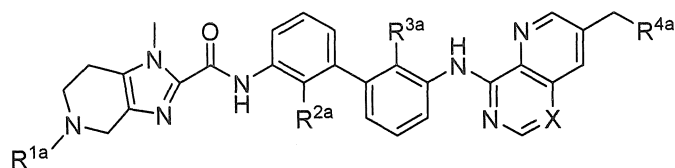
Trong bảng A2, các kết quả từ các nghiên cứu liều caxet: V_{ss} , Cl , và $t_{1/2}$ là trên cơ sở liều IV 1,0 mg/kg và C_{max} , AUC_{0-inf} , và F là trên cơ sở liều PO 3,0 mg/kg.

Các hợp chất từ công bố bằng sáng chế Mỹ số 20180177870 ('870) cũng được thử nghiệm trong các thử nghiệm của Ví dụ A, B, C, và D (xem Bảng A3; Số ví dụ tham chiếu đến sáng chế số 870). Một số hợp chất cũng được đánh giá về dược động học ở chuột cống (PO tại liều 3,0 mg/kg) dưới các điều kiện như được chỉ ra trong Ví dụ E (xem Bảng A4). Trong bảng A4, các kết quả từ các nghiên cứu liều caxet: V_{ss} , Cl , và $t_{1/2}$ là trên cơ sở liều IV 1,0 mg/kg và C_{max} , AUC_{0-inf} , và F là trên cơ sở liều PO 3,0 mg/kg.

Các hợp chất từ công bố bằng sáng chế Mỹ số 20180179197 ('197) cũng được thử nghiệm trong các thử nghiệm của Ví dụ A, B, C, và D (xem Bảng A5; Số ví dụ tham chiếu đến sáng chế số 197). Một số hợp chất cũng được đánh giá về dược động học ở chuột cống (PO tại liều 3,0 mg/kg) dưới các điều kiện như được chỉ ra trong Ví dụ E (xem Bảng A6). Trong bảng A6, các kết quả từ các nghiên cứu liều caxet: V_{ss} , Cl , và $t_{1/2}$ là trên cơ sở liều IV 1,0 mg/kg và C_{max} , AUC_{0-inf} , và F là trên cơ sở liều PO 3,0 mg/kg.

Phần mô tả của công bố bằng sáng chế Mỹ số 20180179202, 20180177870, và 20180179197 được đưa toàn bộ vào đây bằng cách tham chiếu.

Bảng A1

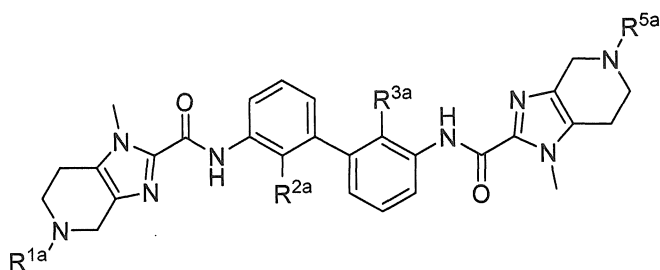


Ví dụ	X	R ^{1a}	R ^{2a}	R ^{3a}	R ^{4a}	IC ₅₀ liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
47	CH		Cl	Me		1,7	45	6,2	149
48	CH		Cl	Me		2	18	5,6	85
49	CH		Cl	Me		1,5	43	5,5	196
51	CH		Cl	Me		1,5	138	5,4	471
52	CH		Cl	Me		2,7	15	5,1	67
53	CH		Cl	Me		2,5	26	6,9	92
55	CH		Cl	Me		2,1	35	14	93
56	CH		Cl	Me		1,8	21	6,7	65
61	CH		Cl	Me		2,2	24	6	90
63	CH		Me	Me		2,5	27	5,3	116
65	CH		Cl	Cl		1,8	18	6,7	98
66	CH		Me	Cl		<1,5	23	5,7	84
69	N		Cl	Me		2,5	37	2,5	169

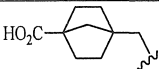
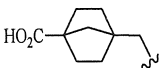
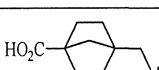
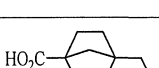
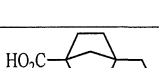
Bảng A2

Ví dụ	V _{ss} (L/kg)	Cl (L/giờ/kg)	t _{1/2} (giờ)	C _{max} (nM)	AUC _{0-inf} (nM*giờ)	F (%)
47	8,99	2,47	5,79	38	309	20
48	3,73	1,39	2,78	61	412	14
52	3,82	1,50	2,55	29	205	7

Bảng A3



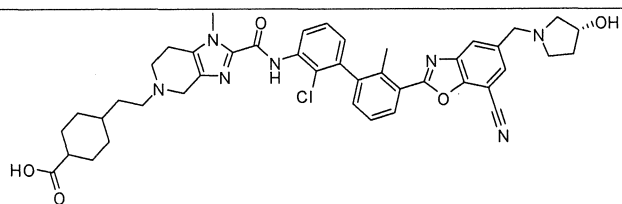
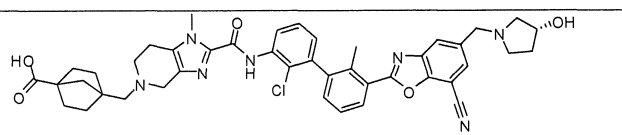
Ví dụ	R ^{1a}	R ^{2a}	R ^{3a}	R ^{5a}	IC ₅₀ Liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
84		Cl	Cl	Me	8,3	47	6,9	97
102		Me	Cl	Me	2,4	76	4,9	149
119		Cl	Me	Me	3,4	82	4,9	178
176		Cl	Cl	Et	2,9	122	17	732
177		Cl	Cl	iPr	1,5	31	5,7	185
178		Cl	Cl		1,9	82	13	587

179		Cl	Cl		18	709	61	nt
180		Cl	Cl	$^-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	1,5	30	4,4	166
181		Cl	Cl		1,6	41	6,1	161
182		Cl	Cl		1,7	30	4,4	92
183		Cl	Cl		1,8	18	5,6	49

Bảng A4

Ví dụ	V _{ss} (L/kg)	Cl (L/giờ/kg)	t _{1/2} (giờ)	C _{max} (nM)	AUC _{0-inf} (nM*giờ)	F (%)
84	2,45	0,99	3,47	234	1200	28
102	1,96	1,14	1,90	398	1500	39
180	2,48	1,57	2,21	231	956	38

Bảng A5

Ví dụ	Cấu trúc	IC ₅₀ Liên kết HTRF (nM)	EC ₅₀ NFAT (nM)	IC ₅₀ SHP (nM)	IC ₅₀ máu toàn phần (nM)
265		2,3	15	4,9	62
267		2,3	39	7,8	121

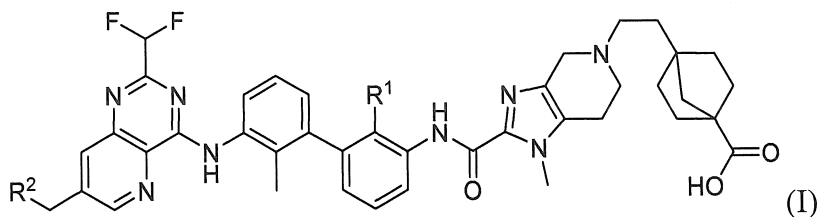
Bảng A6

Ví dụ	V_{ss} (L/kg)	Cl (L/giờ/kg)	$t_{1/2}$ (giờ)	C_{max} (nM)	AUC_{0-inf} (nM*giờ)	F (%)
265	4,45	3,82	-	57	398	8
267	2,22	-	3,28	108	687	12

Các cải biến khác nhau của sáng chế, ngoài những cải biến được mô tả trong bản mô tả này, sẽ được thấy rõ đối với những người có kỹ năng trong lĩnh vực kỹ thuật này từ phần mô tả trên đây. Những cải biến như vậy cũng được dự định là nằm trong phạm vi của các yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mỗi tài liệu tham khảo, bao gồm nhưng không giới hạn tất cả bằng sáng chế, đơn đăng ký sáng chế và công bố, được trích dẫn trong đơn sáng chế này được đưa vào đây toàn bộ bằng cách tham chiếu.

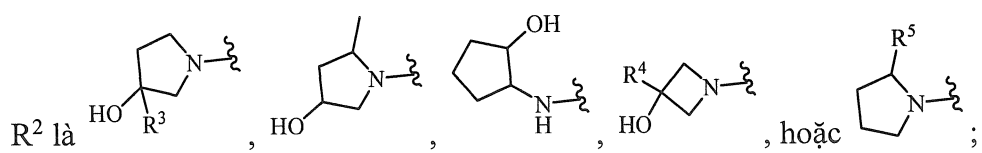
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

R^1 là CH_3 hoặc Cl ;



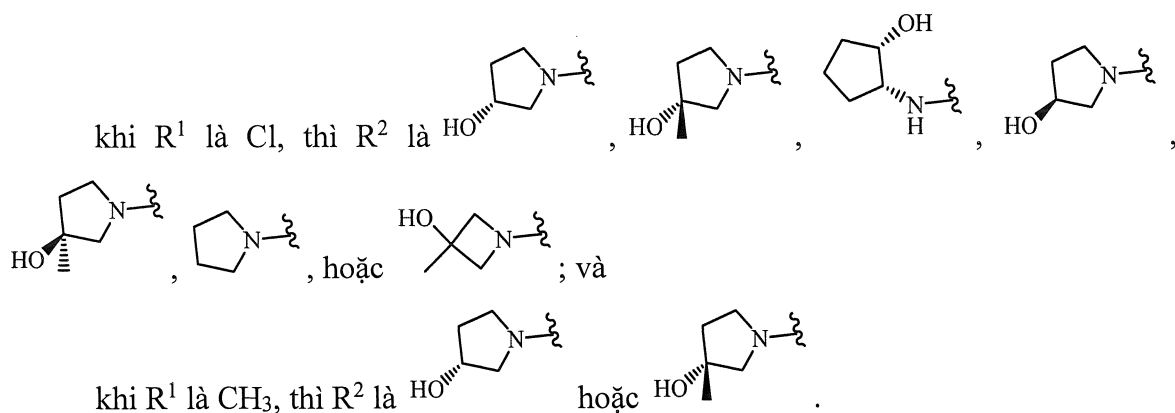
R^3 là H hoặc CH_3 ;

R^4 là H hoặc CH_3 ; và

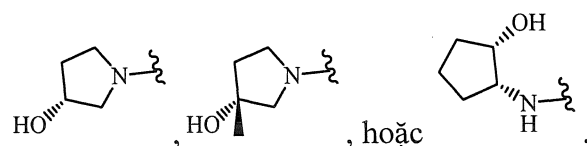
R^5 là H hoặc CH_3 .

2. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

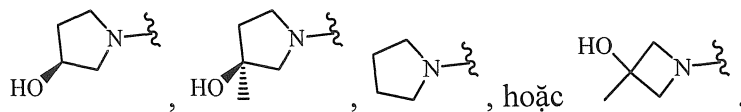
R^1 là CH_3 hoặc Cl ;



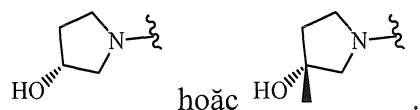
3. Hợp chất theo điểm 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 là Cl ; và R^2 là



4. Hợp chất theo điểm 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 là Cl; và R^2 là



5. Hợp chất theo điểm 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 là CH_3 ; và R^2 là



6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:

axit (R)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (R)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (S)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (S)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (R)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (R)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-

yl)carbamoyl)-1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(pyrolidin-1-ylmetyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (R)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((1R,2S)-2-hydroxyxyclopentyl)amino)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2S,4R)-4-hydroxy-2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2R,4R)-4-hydroxy-2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2R,4S)-4-hydroxy-2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxyazetidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylazetidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

axit (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic; và

axit (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic;

hoặc muối được dụng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit (*R*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

8. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit (*R*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

9. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit (*S*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

10. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit (*S*)-4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-

imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

11. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit (*R*)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

12. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit (*R*)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

13. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-*clo*-3'-((2-(diflometyl)-7-(pyrolidin-1-ylmetyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

14. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là (*R*)-4-(2-(2-((2-*clo*-3'-((2-(diflometyl)-7-((2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

15. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-*clo*-3'-((2-(diflometyl)-7-((((1*R*,2*S*)-2-hydroxyxyclopentyl)amino)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-*c*]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

16. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-*clo*-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2*S*,4*R*)-4-hydroxy-2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-

4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

17. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2R,4R)-4-hydroxy-2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

18. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-(((2R,4S)-4-hydroxy-2-metylpyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

19. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxyazetidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

20. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này là axit 4-(2-(2-((2-clo-3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxy-3-metylazetidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2'-metyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

21. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là axit (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(diflometyl)-7-((3-hydroxypyrolidin-1-yl)metyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-metyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etyl)bixyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.

22. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là axit (S)-4-(2-(2-((3'-((2-(difluoromethyl)-7-((3-hydroxy-3-methylpyrrolidin-1-yl)methyl)pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-yl)amino)-2,2'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)carbamoyl)-1-methyl-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)bicyclo[2.2.1]heptan-1-carboxylic, hoặc muối được dụng của nó.
23. Chế phẩm dược chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 22, hoặc muối được dụng của nó, và tá dược hoặc chất mang được dụng.