



(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)



1-0030987

(51)⁸ C07D 487/04; A61K 31/519; A61P
31/12

(13) B

(21) 1-2018-03803

(22) 04/02/2017

(86) PCT/CN2017/072894 04/02/2017

(87) WO2017/133687 10/08/2017

(30) 201610081899.3 05/02/2016 CN

(45) 25/02/2022 407

(43) 25/12/2018 369A

(73) CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD. (CN)

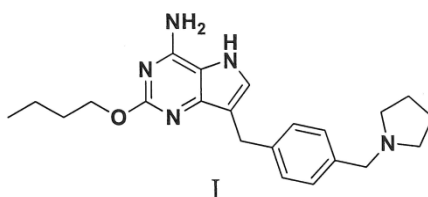
No. 369 Yuzhou South Rd., Haizhou District, Lianyungang, Jiangsu 222062, China

(72) DING, Zhaozhong (US); SUN, Fei (CN); HU, Yinghu (CN); ZHOU, Yilong (CN);
WANG, Zheng (CN); ZHAO, Rui (CN); YANG, Ling (CN).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) MUỐI TRIFLOAXETAT CỦA CHẤT CHỦ VẬN THỤ THỂ KIỂU TOLL (TLR7),
MUỐI NÀY Ở DẠNG TINH THỂ B, QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ, HỖN HỢP VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA MUỐI NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến muối trifloaxetat của chất chủ vận thụ thể kiểu Toll (TLR7) 2-butoxy-7-(4-(pyrrolidin-1-ylmethyl)benzyl)-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin (formula I), muối trifloaxetat ở dạng tinh thể B, và quy trình điều chế muối trifloaxetat và dạng tinh thể B.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

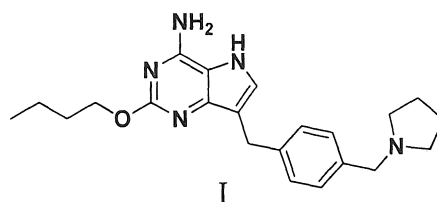
Sáng chế đề cập đến lĩnh vực hoá dược, và cụ thể đề cập đến muối trifloaxetat của chất chủ vận thụ thể kiểu Toll (TLR7) (2-butoxy-7-(4-(pyrrolidin-1-ylmethyl)-benzyl)-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin), quy trình điều chế nó, và dược phẩm chứa nó. Sáng chế còn đề cập đến muối này ở dạng tinh thể B, quá trình điều chế, hỗn hợp tinh thể bao gồm các dạng tinh thể B này, và dược phẩm chứa dạng tinh thể B hoặc hỗn hợp tinh thể.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thụ thể TLR được biểu thị bằng nhiều loại tế bào miễn dịch và nhận thấy các kiểu cấu trúc được bảo toàn cao: Mầm bệnh liên quan đến mô hình phân tử (Pathogen Associated Molecular Pattern-PAMP) được biểu hiện bởi mầm bệnh vi sinh vật hoặc cơ chế đáp ứng với các sản phẩm phá hủy (Damage Associated Molecular Patterns-DAMP) được giải phóng bởi các tế bào chết. PAMP hoặc DAMP kích thích thụ thể TLR kích hoạt dòng thác tín hiệu mà nó gây ra việc hoạt hoá các yếu tố phiên mã như AP-1, NF- κ B và chất điều hoà interferon (chức năng đáp ứng xung). Nó gây ra một số đáp ứng của tế bào, bao gồm sản xuất interferon, xytokin tiền viêm và xytokin cảm ứng, nhờ đó tạo ra đáp ứng miễn dịch. Cho đến nay, đã phát hiện được 13 loại thụ thể TLR ở động vật có vú. Thụ thể TLR 1, 2, 4, 5 và 6 chủ yếu được biểu hiện trên bề mặt tế bào trong khi thụ thể TLR 3, 7, 8 và 9 được biểu hiện trong nội thể. Các thụ thể TLR khác nhau nhận biết các phối tử từ các mầm bệnh khác nhau. Thụ thể TLR 7 (TLR7) chủ yếu được biểu hiện bởi tế bào tua u tương bào (pDC), và được nhận biết nhờ phối tử gây ra việc tiết interferon α (IFN- α). Thụ thể TLR 7 (TLR7) và thụ thể TLR 8 (TLR8) tương đồng ở mức cao và do đó, phối tử của TLR7 trong phần lớn các trường hợp cũng là phối tử của TLR8. TLR8 chủ yếu kích thích việc tạo ra xytokin như yếu tố hoại tử khối u α (tumor necrosis factor α -TNF- α) và có hoạt tính hoá hướng động. Interferon α là một trong số các thuốc để điều trị bệnh viêm gan B hoặc bệnh viêm gan C mạn tính trong khi TNF- α là xytokin tiền viêm, mà việc tiết quá mức của

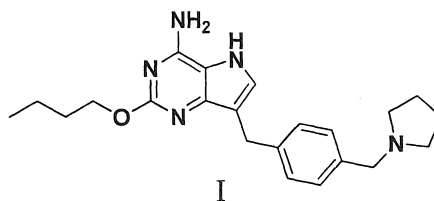
chúng sẽ gây ra tác dụng phụ nghiêm trọng. Đã có báo cáo về một vài chất chủ vận TLR7, như imiquimod (British Journal of Dermatology 2003; 149 (Suppl. 66): 5–8), resiquimod (Antiviral Research 64 (2004) 79–83), GS-9620 (Gastroenterology (2013), 144(7), 1508-1517). Tuy nhiên, vẫn có nhu cầu tìm ra chất chủ vận TLR7 mới có độ chọn lọc, hoạt tính và độ an toàn cao hơn.

Đơn yêu cầu cấp patent Trung Quốc số 201410405136,0 bộc lộ một phân tử nhỏ, nghĩa là 2-butoxy-7-(4-(pyrrolidin-1-ylmethyl)benzyl)-5H-pyrrolo[3,2-d]-pyrimidin-4-amin, có công thức cấu tạo sau:



Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I:



Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất trifloaxetat của hợp chất có công thức I ở dạng tinh thể B, khác biệt ở chỗ, phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột (XRPD) có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta=7,0^\circ\pm0,2^\circ$, $10,2^\circ\pm0,2^\circ$, $11,7^\circ\pm0,2^\circ$, $14,0^\circ\pm0,2^\circ$, $18,6^\circ\pm0,2^\circ$, $19,1^\circ\pm0,2^\circ$, $20,2^\circ\pm0,2^\circ$, $22,2^\circ\pm0,2^\circ$, $23,5^\circ\pm0,2^\circ$.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa trifloaxetat của hợp chất có công thức I, dạng tinh thể B hoặc hỗn hợp tinh thể theo sáng chế với lượng hữu hiệu. Dược phẩm này còn có thể tùy ý chứa thêm chất mang, tá dược và/hoặc môi trường dược dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế trifloaxetat của hợp chất có công thức I ở dạng tinh thể B, bao gồm các bước sau:

1) hoà tan muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I trong dung môi kết tinh hoá, mà tốt hơn là được gia nhiệt để thúc đẩy việc hoà tan; và

2) làm mát để kết tinh, rửa và sấy khô để thu được dạng tinh thể B.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến TLR7, bao gồm cho đối tượng cần điều trị dùng trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo sáng chế, dạng tinh thể B hoặc hỗn hợp tinh thể của nó hoặc được phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu. Tốt hơn nếu, bệnh này là bệnh nhiễm virus.

Phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo sáng chế, dạng tinh thể B hoặc hỗn hợp tinh thể của nó hoặc được phẩm theo sáng chế để bào chế thuốc để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến TLR7. Tốt hơn nếu, bệnh này là bệnh nhiễm virus.

Cũng theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo sáng chế, dạng tinh thể B hoặc hỗn hợp tinh thể của nó hoặc được phẩm theo sáng chế dùng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến TLR7. Tốt hơn nếu, bệnh này là bệnh nhiễm virus.

Theo một phương án của sáng chế, bệnh nhiễm virus là nhiễm virus viêm gan, đặc biệt là nhiễm virus viêm gan B hoặc nhiễm virus viêm gan C.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Phổ XRPD của trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I.

Fig. 2: Phổ DSC của trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa chung và thuật ngữ

Trừ khi có quy định khác, các thuật ngữ và cụm từ được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa sau. Một thuật ngữ hoặc cụm từ cụ thể không nên được cho là không rõ ràng hoặc không xác định khi nó không được định nghĩa cụ thể. Nó nên được hiểu theo nghĩa chung. Tên thương mại được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ sản phẩm hoặc thành phần hoạt tính tương ứng.

Trừ khi có quy định khác, trong bản mô tả này, tỷ phần (bao gồm tỷ lệ phần trăm) hoặc phần được tính theo khối lượng.

Khi được sử dụng với biến số số học, thuật ngữ “xấp xỉ” hoặc “khoảng” thường

dùng để chỉ trị số của biến số và tất cả các trị số của biến số này trong khoảng sai số thử nghiệm (ví dụ, trong khoảng tin cậy trung bình 95%) hoặc trong khoảng $\pm 10\%$ của trị số đã định, hoặc khoảng rộng hơn.

Thuật ngữ “bao gồm” hoặc từ đồng nghĩa của nó “chứa”, “gồm”, “có” hoặc các từ tương tự có nghĩa mở, nghĩa là không loại trừ các yếu tố, các bước hoặc thành phần không được liệt kê khác. Thuật ngữ “cấu thành từ” loại trừ các yếu tố, các bước hoặc thành phần không được liệt kê bất kỳ. Thuật ngữ “chủ yếu cấu thành từ” dùng để chỉ các yếu tố, các bước hoặc thành phần đã định trong khoảng đã cho, cùng với các yếu tố, các bước hoặc thành phần tùy ý không ảnh hưởng đáng kể đến các dấu hiệu mới và có bản của đối tượng yêu cầu bảo hộ. Cần phải hiểu rằng thuật ngữ “bao gồm” bao hàm cả thuật ngữ “chủ yếu cấu thành từ” và “cấu thành từ”.

Thuật ngữ “một cách tùy ý” hoặc “tùy ý” có nghĩa là sự kiện được mô tả sau đó có thể hoặc không thể xảy ra. Thuật ngữ này bao hàm cả các trường hợp sự kiện này có thể hoặc không thể xảy ra.

Thuật ngữ “được phẩm” dùng để chỉ thành phần hoạt tính, mà tùy ý được kết hợp với một hoặc nhiều hợp phần được dụng (ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất mang và/hoặc tá dược). Thành phần hoạt tính được lấy ví dụ ở dạng hợp chất có công thức I hoặc muối của nó, dạng tinh thể theo sáng chế, hoặc hỗn hợp tinh thể theo sáng chế.

Thuật ngữ “chất mang được dụng” dùng để chỉ các chất mang không gây kích thích đáng kể và không tác động đến hoạt tính sinh học và đặc tính của hoạt chất. “Chất mang được dụng” dùng để chỉ các chất trợ mà khi được dùng với thành phần hoạt tính và có lợi khi dùng nó, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất bất kỳ trong số các chất sau đã được Cơ quan Dược phẩm và Thực phẩm Hoa kỳ chấp thuận để dùng cho người hoặc động vật (ví dụ, vật nuôi): tá dược chảy, chất làm ngọt, chất pha loãng, chất bảo quản, thuốc nhuộm/phẩm màu, hương liệu, chất hoạt động bề mặt, chất thấm ướt, chất phân tán, chất gây rã, chất tạo huyền phù, chất làm ổn định, chất đẳng trương, dung môi hoặc chất nhũ hoá. Ví dụ không giới hạn về chất mang bao gồm canxi cacbonat, canxi phosphat, một số loại đường và tinh bột, dẫn xuất xenluloza, gelatin, dầu thực vật và polyetylen glycol hoặc các chất tương tự. Các thông tin khác về chất mang có thể tìm thấy trong Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005), toàn bộ nội dung của chúng được kết

hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Thuật ngữ “tá dược” thường dùng để chỉ chất mang, chất pha loãng và/hoặc môi trường được sử dụng để bào chế dược phẩm hữu hiệu.

Thuật ngữ “dùng” hoặc “việc dùng” hoặc các thuật ngữ tương tự dùng để chỉ phương pháp làm cho hợp chất hoặc dược phẩm được phân phối đến vị trí tác động sinh học mong muốn. Phương pháp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hoá (bao gồm tiêm hoặc truyền trong tĩnh mạch, dưới da, trong màng bụng, trong cơ, trong mạch), khu trú, trong trực tràng hoặc các phương pháp tương tự.

Về hoạt chất dược hoặc dược lý, thuật ngữ “lượng hữu hiệu” dùng để chỉ lượng thuốc hoặc chất không gây độc nhưng đủ để đạt được tác dụng mong muốn. Về chế phẩm dùng qua đường miệng trong bản mô tả này, “lượng hữu hiệu” của hoạt chất trong chế phẩm dùng để chỉ lượng cần để đạt được tác dụng mong muốn khi kết hợp với hoạt chất khác trong chế phẩm. Lượng hữu hiệu có thể be được xác định một cách riêng rẽ và phụ thuộc vào tuổi và tình trạng chung của người nhận cũng như hoạt chất cụ thể. Lượng hữu hiệu trong trường hợp cụ thể có thể chuyên gia trong lĩnh vực này xác định thông qua thử nghiệm thông thường.

Thuật ngữ “thành phần hoạt tính”, “tác nhân trị liệu”, “hoạt chất” hoặc “chất hoạt tính” dùng để chỉ thực thể hoá học hữu ích để điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn, bệnh hoặc tình trạng bệnh đích một cách hữu hiệu. Thuật ngữ được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ, ví dụ, hợp chất có công thức I hoặc muối trifloaxetat của nó, dạng tinh thể theo sáng chế, hoặc hỗn hợp tinh thể theo sáng chế.

Trong phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột (XRPD hoặc XRD), phổ nhiễu xạ thu được từ hợp chất tinh thể thường đặc trưng cho dạng tinh thể cụ thể trong đó cường độ tương đối của dải (đặc biệt ở góc thấp) có thể thay đổi theo ảnh hưởng của hướng vượt trội do sự khác biệt về điều kiện kết tinh, đường kính hạt, và các điều kiện đo khác. Do đó, cường độ tương đối của đỉnh nhiễu xạ không đặc trưng cho dạng tinh thể đã cho. Điều quan trọng hơn cần lưu ý là vị trí tương đối của đỉnh chứ không phải cường độ tương đối của chúng khi xác định liệu dạng tinh thể này có giống với dạng đã biết trong lĩnh vực này. Ngoài ra, có thể có một chút sai số về vị trí của đỉnh với dạng tinh thể đã cho bất kỳ, mà cũng đã biết rõ trong lĩnh vực tinh thể học. Ví dụ, vị trí của đỉnh có thể dịch chuyển do sự thay đổi nhiệt độ, di chuyển mẫu hoặc hiệu chỉnh dụng cụ trong quá trình phân tích mẫu; và sai số đo của trị số 2θ đôi khi có thể là khoảng $\pm 0,2^\circ$,

thường là khoảng $\pm 0,1^\circ$. Do đó, cũng cần phải lưu ý đến sai số này khi xác định cấu trúc tinh thể. Nếu dạng tinh thể theo sáng chế được mô tả chủ yếu như được thể hiện trên hình vẽ, thuật ngữ “chủ yếu” cũng nhằm để bao hàm sự khác biệt này của đỉnh nhiễu xạ.

Trong phổ XRPD, vị trí đỉnh thường được biểu thị bằng góc 2θ hoặc khoảng cách bề mặt tinh thể d và công thức chuyển hoá đơn giản giữa d và θ là $d = \lambda / 2 \sin \theta$, trong đó d là khoảng cách bề mặt tinh thể, λ là bước sóng của tia tới X, và θ là góc nhiễu xạ. Đối với cùng một dạng tinh thể của cùng hợp chất, vị trí đỉnh của phổ XRPD là hoàn toàn tương tự, và sai số cường độ tương đối có thể lớn. Cũng cần phải lưu ý rằng, trong quá trình nhận dạng hỗn hợp, một số đường nhiễu xạ có thể bị mất do các yếu tố như giảm hàm lượng, v.v., và do đó, không cần phải dựa vào toàn bộ các dải quan sát được ở mẫu có độ tinh khiết cao, và thậm chí một dải cũng có thể đặc trưng cho tinh thể đã cho.

Theo sáng chế, phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột được xác định như sau: thiết bị: Nhiễu xạ kế tia X Bruker D8 ADVANCE; phương pháp: đích: Cu: K-Alpha; bước sóng $\lambda = 1,54179 \text{ \AA}$; hiệu điện thế: 40 kV; dòng điện: 40 mA; khoảng quét: $4 \sim 40^\circ$; tốc độ quay mẫu: 15 vòng/phút; tốc độ quét: $10^\circ/\text{phút}$.

Phép đo nhiệt lượng quét vi sai (differential scanning calorimetry-DSC) được sử dụng để đo nhiệt độ chuyển tiếp khi tinh thể hấp thu hoặc giải phóng nhiệt do sự thay đổi cấu trúc tinh thể của nó hoặc nóng chảy tinh thể. Sai số nhiệt độ chuyển hoá nhiệt và điểm nóng chảy thường trong khoảng 5°C , thường là khoảng 3°C trong cùng dạng tinh thể của cùng hợp chất trong quá trình phân tích liên tục. Khi hợp chất được mô tả có đỉnh DSC hoặc điểm nóng chảy đã cho, nó có nghĩa là đỉnh DSC hoặc điểm nóng chảy $\pm 5^\circ\text{C}$. Được đề xuất là phương pháp hỗ trợ bằng DSC để xác định các dạng tinh thể khác nhau. Các dạng tinh thể khác nhau có thể được nhận diện theo đặc điểm nhiệt độ chuyển hoá khác nhau của chúng. Cần lưu ý rằng đỉnh DSC hoặc điểm nóng chảy của hỗn hợp có thể thay đổi trong khoảng rộng. Ngoài ra, nhiệt độ nóng chảy thường kết hợp với tỷ lệ tăng nhiệt độ do sự phân huỷ trong quá trình nóng chảy của chất này.

Phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) trong bản mô tả này được đo bằng phương pháp sau: thiết bị: Nhiệt lượng kế quét vi sai TA Q2000; phương pháp: mẫu ($\sim 1 \text{ mg}$) được cho vào chảo nhôm DSC, phương pháp: $25^\circ\text{C} \sim 300^\circ\text{C}$, tốc độ gia nhiệt

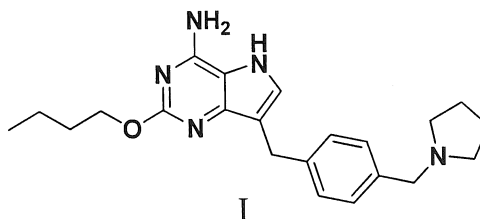
10°C/phút.

Thuật ngữ “hỗn hợp tinh thể” dùng để chỉ dạng chất rắn, bao gồm dạng tinh thể B theo sáng chế. Lượng của dạng tinh thể B trong hỗn hợp tinh thể có thể là 50% hoặc lớn hơn, 80% hoặc lớn hơn, 90% hoặc lớn hơn, hoặc 95% hoặc lớn hơn. Ngoài dạng tinh thể theo sáng chế, hỗn hợp tinh thể cũng có thể tùy ý bao gồm các tinh thể hoặc dạng vô định hình khác của hợp chất có công thức I hoặc muối của nó (như trifloaxetat) hoặc các tạp chất khác không phải các chất này. Chuyên gia trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng tổng lượng của các hợp phần trong hỗn hợp tinh thể cần phải là 100%.

Các chữ viết tắt dưới đây được sử dụng trong bản mô tả này: SEM-Cl: 2-(trimetylsilyl)etoxymetyl clorua; SEM: 2-(trimetylsilyl)etoxymetyl; DIPEA: diisopropyletylaminamin; TFA: axit trifloaxetic; DMF: N,N-dimetylformamit; *n*-BuOH: *n*-butanol; $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$: dung dịch nước amoniac; Na: natri; XRPD: phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột; DSC: phân tích nhiệt lượng kế quét vi sai.

Muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I

Sáng chế đề xuất muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I:



Theo một phương án, trong muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I, tỷ lệ mol của hợp chất có công thức I với axit trifloaxetat là 1:0,5~2, tốt hơn là 1:1.

Muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I có thể được điều chế theo quy trình điều chế trifloaxetat thông thường, ví dụ, muối trifloaxetat có thể thu được bằng cách trộn hợp chất có công thức I với axit trifloaxetic hoặc điều chế hợp chất có công thức I mà không cần tách axit trifloaxetic.

Dạng tinh thể B

Sáng chế đề xuất muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I, có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta=7,0^\circ\pm 0,2^\circ$, $10,2^\circ\pm 0,2^\circ$, $11,7^\circ\pm 0,2^\circ$, $14,0^\circ\pm 0,2^\circ$, $18,6^\circ\pm 0,2^\circ$, $19,1^\circ\pm 0,2^\circ$, $20,2^\circ\pm 0,2^\circ$, $22,2^\circ\pm 0,2^\circ$, $23,5^\circ\pm 0,2^\circ$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột (XRPD).

Theo phương án cụ thể, dạng tinh thể B có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta=7,0^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $10,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $11,7^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $12,4^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $14,0^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $14,9^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $16,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $16,6^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $18,6^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $19,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $20,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $21,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $21,8^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $22,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $23,5^{\circ}\pm0,2^{\circ}$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột (XRPD).

Theo phương án cụ thể hơn, dạng tinh thể B có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta=7,0^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $10,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $11,7^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $12,4^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $13,3^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $14,0^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $14,9^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $16,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $16,6^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $17,3^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $18,6^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $19,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $20,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $21,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $21,8^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $22,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $23,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $23,5^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $24,4^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $24,7^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $26,1^{\circ}\pm0,2^{\circ}$, $28,2^{\circ}\pm0,2^{\circ}$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột (XRPD).

Theo phương án đặc biệt, đỉnh nhiễu xạ của trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I có đặc điểm sau:

Số	$2\theta \pm 0,2(^{\circ})$	Cường độ tương đối (%)	Số	$2\theta \pm 0,2(^{\circ})$	Cường độ tương đối (%)
1	7,0	100,0	15	19,6	6,8
2	10,2	42,4	16	20,2	39,4
3	11,7	32,0	17	21,1	16,6
4	12,4	21,3	18	21,8	23,9
5	13,3	7,1	19	22,2	31,0
6	14,0	40,1	20	23,1	9,6
7	14,9	16,2	21	23,5	37,6
8	16,1	18,1	22	24,4	13,0
9	16,6	19,9	23	24,7	11,5
10	16,9	8,3	24	26,1	9,5
11	17,3	10,2	25	26,4	5,8
12	17,6	6,2	26	28,2	7,3
13	18,6	34,4	27	32,3	4,1
14	19,1	41,7			

Theo một phương án, phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột của trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I được thể hiện về cơ bản trên Fig. 1.

Muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I còn có thể được

xác định đặc điểm bằng DSC, với nhiệt độ ban đầu là $171,4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ và nhiệt độ đỉnh là $173,4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$.

Phổ DSC của muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I được thể hiện về cơ bản trên Fig. 2.

Theo phương án khác, trong dạng tinh thể B, tỷ lệ mol của hợp chất có công thức I với axit trifloaxetic là 1:0,5~2, tốt hơn là 1:1.

Sáng chế còn đề xuất hỗn hợp tinh, bao gồm muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I. Theo một phương án, tính theo khối lượng của hỗn hợp tinh thể, hàm lượng của dạng tinh thể B là 50% hoặc lớn hơn, tốt hơn là 80% hoặc lớn hơn, tốt hơn nữa là 90% hoặc lớn hơn, và tốt nhất là 95% hoặc lớn hơn. Hỗn hợp tinh thể, ngoài dạng tinh thể B, còn có thể bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối của nó (như trifloaxetat) ở dạng tinh thể hoặc vô định hình khác, hoặc các tạp chất khác không phải các chất này.

Quy trình điều chế

Sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I theo sáng chế, bao gồm bước kết tủa trifloaxetat của hợp chất có công thức I từ dung môi.

Theo một phương án, quy trình này bao gồm các bước sau:

- 1) hoà tan muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I trong dung môi kết tinh hoá, mà tốt hơn là được gia nhiệt để thúc đẩy việc hoà tan; và
- 2) làm mát để kết tinh, rửa và sấy khô để thu được dạng tinh thể B.

Ở bước 1), dung môi kết tinh hoá được chọn từ nhóm bao gồm metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, butanol bậc ba, axeton, etyl axetat, nước và hỗn hợp dung môi của nó; tốt hơn là etanol.

Ở bước 1), lượng dung môi được bổ sung trên mỗi 1 g trifloaxetat của hợp chất có công thức I nằm trong khoảng từ 1 đến 5 ml, tốt hơn là từ 2 đến 3 ml.

Ở bước 1), sử dụng việc gia nhiệt để tạo ra hệ đồng nhất của trifloaxetat của hợp chất có công thức I và dung môi kết tinh.

Dược phẩm và cách dùng

Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa trifloaxetat của hợp chất có công thức I;

dạng tinh thể B hoặc hỗn hợp tinh thể bao gồm dạng tinh thể B với lượng hữu hiệu. Ngoài ra, dược phẩm còn có thể hoặc không chứa chất mang, tá dược và/hoặc môi trường dược dụng.

Hợp chất theo sáng chế được dùng ở dạng tinh khiết hoặc ở dạng dược phẩm thích hợp, mà có thể được tiến hành qua đường dùng bất kỳ chấp nhận được của hợp chất có ứng dụng tương tự. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách kết hợp hợp chất theo sáng chế với chất mang hoặc tá dược pha loãng dược dụng thích hợp, và nó có thể được bào chế thành chế phẩm rắn, bán rắn, lỏng hoặc khí, như viên nén, viên tròn, viên nang, bột, hạt, thuốc mỡ, nhũ tương, hỗn dịch, dung dịch, thuốc đạn, thuốc tiêm, thuốc xông, gel, vi cầu, sol khí hoặc các dạng tương tự.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế theo các quy trình đã biết rõ trong lĩnh vực này, như thông thường trộn, hoà tan, tạo hạt, bọc đường, nghiền mịn, nhũ tương, đông khô nhanh hoặc các quy trình tương tự.

Đường dùng thông thường của hợp chất theo sáng chế hoặc dược phẩm của nó bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng qua đường miệng, trong trực tràng, trong màng nhày, trong ruột hoặc dùng khu trú, qua da, xông, ngoài đường tiêu hoá, dưới lưỡi, trong âm đạo, trong mũi, trong mắt, trong màng bụng, trong cơ, dưới da, trong tĩnh mạch.

Theo phương án được ưu tiên, dược phẩm ở dạng dùng qua đường miệng. Để dùng qua đường miệng, hoạt chất có thể được trộn với chất mang, tá dược và/hoặc môi trường dược dụng đã biết rõ trong lĩnh vực này để bào chế dược phẩm. Chất mang, tá dược và/hoặc môi trường có thể được sử dụng để bào chế hợp chất theo sáng chế thành viên nén, viên tròn, viên dẹt, viên bao đường, viên nang, thuốc lỏng, gel, bột nhão, hỗn dịch hoặc các dạng tương tự hữu ích để dùng qua đường miệng cho bệnh nhân.

Chế phẩm dạng rắn dùng qua đường miệng có thể được bào chế theo các quy trình trộn, nhồi hoặc nén thông thường, ví dụ, bằng các quy trình sau: trộn hoạt chất với tá dược rắn, tùy ý nghiền hỗn hợp thu được, bổ sung chất bổ trợ thích hợp khác, nếu cần, và tiếp theo, xử lý hỗn hợp này thành hạt để thu được lõi của viên nén hoặc viên bao đường. Tá dược thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất độn, như đường, bao gồm lactoza, sucroza, manitol hoặc sorbitol; chế phẩm xenluloza như xenluloza vi tinh thể, tinh bột ngô, tinh bột lúa mỳ, tinh bột gạo và tinh bột khoai tây; và các chất khác, như silica gel, gelatin, tragacanth, metylxenluloza,

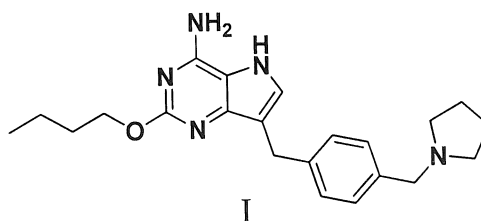
hydroxypropylmetyl xenluloza, carboxymetyl xenluloza natri và/hoặc polyvinylpyrrolidon; chất gây rã, như carboxymetyl tinh bột natri, croscarmelloza natri, polyvinylpyrrolidon liên kết ngang, aga hoặc axit alginic. Muối như alginat natri cũng có thể được sử dụng. Lõi của viên bao đường có thể tùy ý được bao bằng các quy trình đã biết rõ trong lĩnh vực được thông thường, đặc biệt bằng quy trình bao tan trong ruột.

Tác dụng có lợi

Muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I theo sáng chế có các ưu điểm là độ tinh khiết cao, độ kết tinh cao và độ bền tốt. Đồng thời, quy trình điều chế dạng tinh thể B theo sáng chế là đơn giản, dung môi rẻ tiền và dễ mua, điều kiện kết tinh đơn giản, và quy trình này thích hợp để sản xuất trên quy mô công nghiệp.

Giải pháp kỹ thuật của sáng chế được minh họa theo các đoạn từ [1] đến [16] sau:

[1] Muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I,



[2] Muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo đoạn [1], khác biệt ở chỗ, tỷ lệ mol của hợp chất có công thức I với axit trifloaxetat là 1:0,5~2, tốt hơn là 1:1.

[3] Dược phẩm, bao gồm muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo đoạn [1] hoặc [2] với lượng hữu hiệu.

[4] Muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I, khác biệt ở chỗ, nó có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta = 7,0^\circ \pm 0,2^\circ$, $10,2^\circ \pm 0,2^\circ$, $11,7^\circ \pm 0,2^\circ$, $14,0^\circ \pm 0,2^\circ$, $18,6^\circ \pm 0,2^\circ$, $19,1^\circ \pm 0,2^\circ$, $20,2^\circ \pm 0,2^\circ$, $22,2^\circ \pm 0,2^\circ$, $23,5^\circ \pm 0,2^\circ$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột.

[5] Muối trifloaxetat dạng tinh thể B theo đoạn [4], khác biệt ở chỗ, nó có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta = 10,2^\circ \pm 0,2^\circ, 11,7^\circ \pm 0,2^\circ, 12,4^\circ \pm 0,2^\circ, 14,0^\circ \pm 0,2^\circ, 14,9^\circ \pm 0,2^\circ, 16,1^\circ \pm 0,2^\circ, 16,6^\circ \pm 0,2^\circ, 18,6^\circ \pm 0,2^\circ, 19,1^\circ \pm 0,2^\circ, 20,2^\circ \pm 0,2^\circ, 21,1^\circ \pm 0,2^\circ, 24,2^\circ \pm 0,2^\circ, 21,8^\circ \pm 0,2^\circ, 22,2^\circ \pm 0,2^\circ, 23,5^\circ \pm 0,2^\circ$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột.

[6] Dạng tinh thể B theo đoạn [5], khác biệt ở chỗ, nó có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta = 7,0^\circ \pm 0,2^\circ, 10,2^\circ \pm 0,2^\circ, 11,7^\circ \pm 0,2^\circ, 12,4^\circ \pm 0,2^\circ, 13,3^\circ \pm 0,2^\circ, 14,0^\circ \pm 0,2^\circ, 14,9^\circ \pm 0,2^\circ, 16,1^\circ \pm 0,2^\circ, 16,6^\circ \pm 0,2^\circ, 17,3^\circ \pm 0,2^\circ, 18,6^\circ \pm 0,2^\circ, 19,1^\circ \pm 0,2^\circ, 20,2^\circ \pm 0,2^\circ, 21,1^\circ \pm 0,2^\circ, 21,8^\circ \pm 0,2^\circ, 22,2^\circ \pm 0,2^\circ, 23,1^\circ \pm 0,2^\circ, 23,5^\circ \pm 0,2^\circ, 24,4^\circ \pm 0,2^\circ, 24,7^\circ \pm 0,2^\circ, 26,1^\circ \pm 0,2^\circ, 28,2^\circ \pm 0,2^\circ$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột.

[7] Dạng tinh thể B theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [4]-[6], khác biệt ở chỗ, nó có phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột cơ bản được thể hiện trên Fig. 1.

[8] Dạng tinh thể B theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [4]-[7], khác biệt ở chỗ, khi được xác định đặc điểm bằng DSC, nhiệt độ ban đầu là $171,4^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ và nhiệt độ đỉnh là $173,4^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$.

[9] Quy trình điều chế dạng tinh thể B theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [4]-[8], bao gồm các bước sau:

- 1) hoà tan muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I trong dung môi kết tinh hoá, mà tốt hơn là được gia nhiệt để thúc đẩy việc hoà tan;
- 2) làm mát để kết tinh, rửa, sấy khô để thu được dạng tinh thể B.

[10] Quy trình điều chế theo đoạn [9], khác biệt ở chỗ, dung môi kết tinh hoá ở bước 1) được chọn từ nhóm bao gồm metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, butanol bậc ba, axeton, etyl axetat và hỗn hợp dung môi của nó, hoặc nước.

[11] Quy trình điều chế theo đoạn [10], khác biệt ở chỗ, dung môi kết tinh hoá là etanol.

[12] Quy trình điều chế theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [9] đến [11], khác biệt ở

chỗ, ở bước 1), lượng dung môi được bổ sung trên mỗi 1 g trifloaxetat của hợp chất có công thức I nằm trong khoảng từ 1 đến 5 ml.

[13] Quy trình điều chế theo đoạn [12], khác biệt ở chỗ, lượng dung môi kết tinh được bổ sung trên mỗi 1 g trifloaxetat của hợp chất có công thức I nằm trong khoảng từ 2 đến 3 ml.

[14] Quy trình điều chế theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [9] đến [13], khác biệt ở chỗ, ở bước 1), sử dụng việc gia nhiệt để tạo ra hệ đồng nhất của trifloaxetat của hợp chất có công thức I và dung môi kết tinh.

[15] Hỗn hợp tinh thể, khác biệt ở chỗ, tính theo khối lượng của hỗn hợp tinh thể, dạng tinh thể B theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [4]-[8] chiếm 50% hoặc lớn hơn, tốt hơn là 80% hoặc lớn hơn, tốt hơn nữa là 90% hoặc lớn hơn, và tốt nhất là 95% hoặc lớn hơn.

[16] Dược phẩm, bao gồm muối trifloaxetat dạng tinh thể B theo đoạn bất kỳ trong số các đoạn từ [4]-[8] hoặc hỗn hợp tinh thể theo đoạn [15] với lượng hữu hiệu.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các dung môi được sử dụng trong bản mô tả này là có bán trên thị trường và có thể được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Các phản ứng tổng hợp trong các ví dụ điều chế thường được tiến hành trong môi trường nitơ trơ trong dung môi khan.

Dữ liệu phổ cộng hưởng từ proton được ghi bằng quang phổ kế Bruker Avance III 400 (400 MHz), với độ chuyển dịch hóa học được thể hiện theo (ppm) trên nền thấp tetrametylsilan. Phổ khối được xác định trên thiết bị Agilent 1200 plus 6110 (&1956A). LC/MS hoặc Shimadzu MS bao gồm DAD: SPD-M20A(LC) và đầu dò Shimadzu Micromass 2020. Khối phổ kế được lắp với thiết bị ion hóa phun điện tử (ESI) vận hành theo kiểu dương hoặc âm.

Ví dụ điều chế 1:

Điều chế

2-butoxy-7-(4-(pyrrolidin-1-ylmethyl)benzyl)-5H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-amin
trifloaxetat

Hợp chất có Công thức III:

2,4-diclo-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrol[3,2-d]pyrimidin

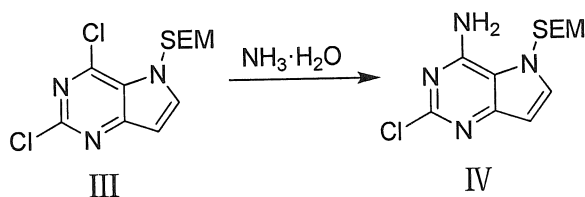


Hợp chất có công thức II (2,4-diclo-5H-pyrol[3,2-d]pyrimidin) (4,00 kg, 21,28 mol) được hoà tan trong DMF (20,00 L), và DIPEA (2,58 kg, 20,00 mol) được bổ sung từng phần ở nhiệt độ trong phòng (25 °C) tiếp theo là khuấy trong 30 min. Dung dịch phản ứng được làm lạnh xuống 0 °C bằng bể nước đá, và tiếp theo, SEM-Cl (4,00 kg, 24,00 mol) được bổ sung nhỏ giọt từ từ trong thời gian 5 h với tốc độ nhỏ giọt từ 1 đến 2 giọt trên mỗi giây. Sau khi bổ sung xong, dung dịch phản ứng được khuấy ở 0 °C trong 4 h. Phản ứng này được theo dõi bằng HPLC. Sau khi kết thúc, dung dịch phản ứng được tôi và pha loãng với 70 l nước và tiếp theo, chiết bằng etyl axetat (15 L×3). Gom pha hữu cơ, rửa liên tục bằng dung dịch nước axit clohydric 1 M (5 L×2) và nước muối bão hoà (7 L×2), và dung môi được tách bằng cách chưng cất dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất có công thức III (6,40 kg, 20,11 mol, hiệu suất 94,50 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,24 - 8,35 (m, 1 H), 6,70 - 6,85 (m, 1 H), 5,77 (s, 2 H), 3,45 - 3,57 (m, 2 H), 0,74 - 0,86 (m, 2 H), 0,00 (s, 9 H).

Hợp chất có Công thức IV:

2-clo-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrol[3,2-d] pyrimidin-4-amin

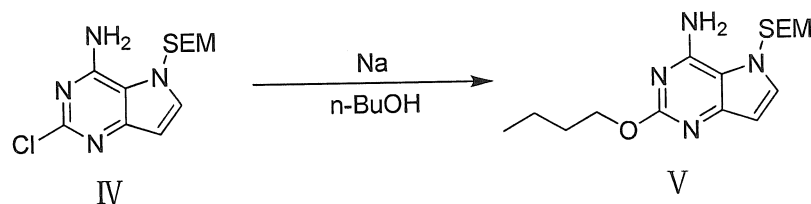


Hợp chất có công thức III (1,60 kg, 5,03 mol) được hoà tan trong isopropanol (1,60 L) trong nồi hấp dung tích 10 l. Dung dịch nước amoniac (4 L) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng (25 °C) vào một lần và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 95 °C trong 7 h. Phản ứng này được theo dõi bằng HPLC. Sau khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được để cho nguội xuống nhiệt độ trong phòng và lọc qua phễu Buchner để tạo ra chất rắn màu nâu sẫm. Chất rắn này được tạo huyền phù liên tiếp với etyl axetat/n-heptan (1/1, 5 L×2) và etyl axetat (4 L) liên tiếp để tạo ra hợp chất có công thức IV dưới dạng chất rắn màu nâu (1,25 kg, 4,18 mol, hiệu suất 83,1 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,61 - 7,77 (m, 1 H), 6,97 - 7,19 (m, 2 H), 6,28 - 6,38 (m, 1 H), 5,54 - 5,67 (m, 2 H), 3,43 - 3,53 (m, 2 H), 0,76 - 0,91 (m, 2 H), 0,07 (s, 9 H).

Hợp chất có Công thức V:

2-butoxy-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin

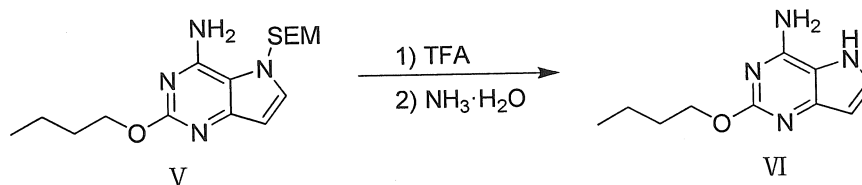


Bổ sung từ từ natri kim loại (525,05 g, 22,84 mol) từng phần trong môi trường nitơ vào n-BuOH (17,0 L). Sau khi bổ sung, nhiệt độ của hệ này tăng lên 60 °C, và tiến hành khuấy liên tục ở nhiệt độ cho đến khi natri kim loại được hoà tan hoàn toàn. Tiếp theo, hệ này được làm lạnh xuống 25 °C, và hợp chất có công thức IV (1,95 kg, 6,53 mol) được bổ sung từng phần. Sau khi được trộn một cách đồng nhất bằng cách khuấy, hỗn hợp phản ứng được khuấy liên tục trong 8 h ở 90 °C. Phản ứng này được theo dõi bằng HPLC. Sau khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được để cho tự nguội xuống 25 °C, và từ từ rót vào 30 l dung dịch nước amoni clorua bão hoà. Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được chiết bằng etyl axetat (15 L×3) và gom các pha hữu cơ, rửa bằng nước muối bão hoà (20 L×2), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, và lọc. Sau khi dung môi được chưng cất trong điều kiện áp suất giảm, cặn được tạo huyền phù trong n-heptan

(4 L). Chất rắn thu được được tách bằng cách lọc và tạo huyền phù trong etyl axetat (5 L) để tạo ra hợp chất có công thức V ở dạng chất rắn màu trắng vàng (1,53 kg, 4,55 mol, 69,7%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,49 - 7,54 (m, 1 H), 6,54 - 6,62 (m, 2 H), 6,15 - 6,20 (m, 1 H), 5,54 (s, 2 H), 4,10 - 4,22 (m, 2 H), 3,42 - 3,55 (m, 2 H), 1,58 - 1,73 (m, 2 H), 1,35 - 1,47 (m, 2 H), 0,90 - 0,96 (m, 3 H), 0,83 - 0,89 (m, 2 H), 0,05 (s, 9 H).

Hợp chất có Công thức VI: 2-butoxy-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin

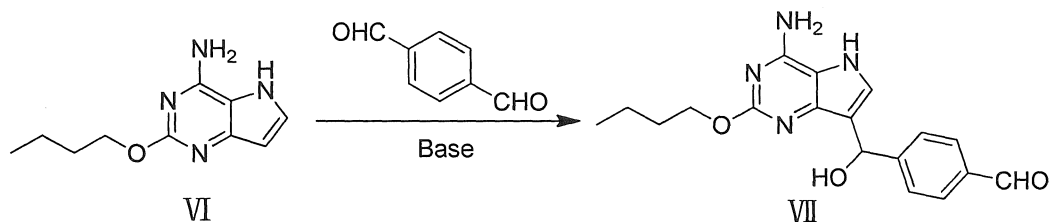


Hợp chất có công thức V (1,10 kg, 3,27 mol) được hoà tan trong TFA (5,50 L) và dung dịch phản ứng được khuấy ở 25 °C trong 16 h. Phản ứng này được theo dõi bằng HPLC. Sau khi kết thúc, TFA được tách bằng cách chưng cất dưới áp suất giảm và cặn được hoà tan trong metanol (1,2 L) và nước đá (1,2 L). Độ pH của hệ này được điều chỉnh đến 12 bằng dung dịch nước amoniac đặc trong khi khuấy đều. Hỗn hợp này được khuấy trong 2 h và chất kết tủa được kết tủa ra khỏi dung dịch liên tục. Sau khi lọc, bánh lọc ở dạng chất rắn màu trắng được tạo huyền phù với dung dịch nước amoniac 15% (1,2 L×3) và etyl axetat (4 L) liên tiếp để tạo ra hợp chất có công thức VI ở dạng chất rắn màu trắng (550,00 g, 2,67 mol, 81,7%).

^1H NMR (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,37 (d, $J=2,89$ Hz, 1 H), 6,29 (d, $J=3,01$ Hz, 1 H), 4,27 (t, $J=6,53$ Hz, 2 H), 1,75 (d, $J=7,91$ Hz, 2 H), 1,44 - 1,61 (m, 2 H), 1,00 (t, $J=7,40$ Hz, 3 H).

Hợp chất có Công thức VII:

4-((4-amino-2-butoxy-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-hydroxymetyl)benzaldehyt

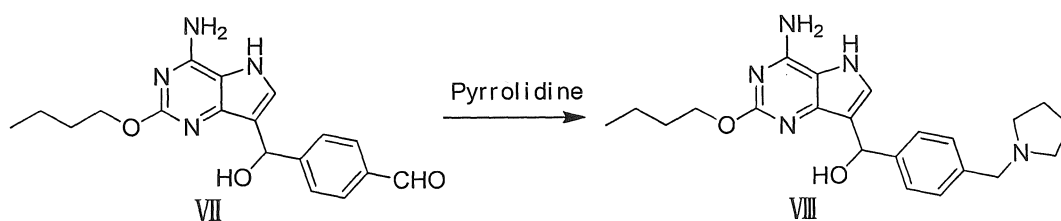


Bổ sung terephthalaldehyt (790,64 mg, 5,82 mmol) và isopropanol (10 mL) vào bình phản ứng ba cổ, 2-butoxy-5H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-amin (1,00 g, 4,85 mmol) được bổ sung bằng cách khuấy, và hệ này được làm lạnh xuống 0 °C và được khuấy trong 10 phút nữa. Bổ sung nước tinh khiết (10 mL) và kali cacbonat (804,17 mg, 5,82 mmol), và cho phản ứng ở 25 °C trong 16 h cho đến khi các chất thô được tiêu thụ hết khi theo dõi bằng LCMS. Chất rắn được kết tủa ra sau khi phản ứng kết thúc. Sau khi lọc, chất rắn thu được được tạo huyền phù bằng 20 ml nước tinh khiết và 30 mL (etyl axetat/n-heptan=1/20), lọc và sấy khô để tạo ra hợp chất có công thức VII dưới dạng chất rắn màu vàng (1,50 g, 4,41 mmol, hiệu suất: 90,9%).

¹H NMR (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 9,94 (s, 1 H), 7,86 (d, *J* = 8,16 Hz, 2 H), 7,72 (d, *J* = 8,16 Hz, 2 H), 7,12 - 7,17 (m, 1 H), 6,19 (s, 1 H), 4,28 (t, *J*=6,53 Hz, 2 H), 1,68 - 1,77 (m, 2 H), 1,44 - 1,54 (m, 2 H), 0,97 (t, *J*=7,34 Hz, 3 H).

Hợp chất có Công thức VIII:

(4-amino-2-butoxy-5H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-7-yl)(4-(pyrrolidin-1-ylmetyl)phenyl)m ethanol



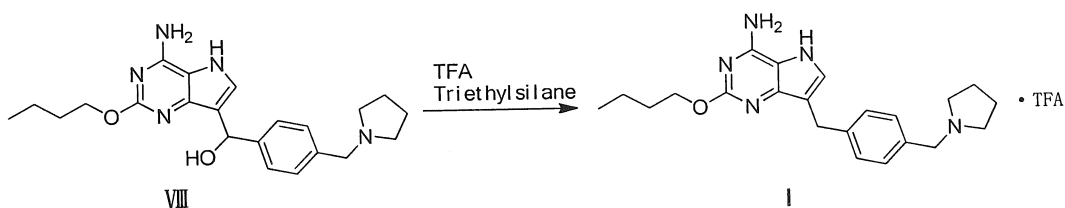
Bổ sung hợp chất có công thức VII (450,0 g, 1,32 mol) và isopropanol (4,5 L) vào nồi hấp dung tích 30 l, và hỗn hợp này được khuấy trong 5 phút. Tiếp theo, axit axetic băng (119,0 g, 1,98 mol) được bổ sung và nhiệt độ được giảm xuống 0-10 °C

trong khi khuấy. Pyrolidin (112,4 g, 1,58 mol) được bổ sung nhỏ giọt, với nhiệt độ dưới 10 °C. Sau khi bổ sung, natri triaxetoxymetaphosphate (420,0 g, 1,98 mol) được bổ sung từng phần và cho phản ứng ở 10-20 °C trong 3 h cho đến khi nguyên liệu thô được tiêu thụ hết khi theo dõi bằng sắc ký lỏng. Sau khi phản ứng kết thúc, 5 l nước tinh khiết được bổ sung và nhiệt độ của dung dịch được giảm xuống khoảng -10 °C, và 12 l dung dịch nước amoniac 15% được bổ sung vào dung dịch này, và nhiệt độ dung dịch ở dưới 0 °C trong khi bổ sung. Chất rắn được kết tủa ra trong khi khuấy. Việc lọc được tiến hành và bánh lọc thu được được tạo huyền phù với 2 l nước và 2 l etyl axetat. Việc lọc được tiến hành và sấy khô được tiến hành dưới áp suất giảm ở 40 °C trong 12 h để tạo ra hợp chất có công thức VIII dưới dạng chất rắn màu vàng (465,0 g, 1,18 mol, hiệu suất 89,4%, độ ẩm 0,9%).

^1H NMR (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,46 (d, $J=7,91$ Hz, 1 H), 7,29 (d, $J=8,03$ Hz, 1 H), 7,09 (s, 1 H), 6,12 (s, 1 H), 4,29 (t, $J=6,53$ Hz, 2 H), 3,60 (s, 2 H), 2,52 (br. s., 4 H), 1,66 - 1,83 (m, 6 H), 1,49 (d, $J=7,53$ Hz, 2 H), 0,98 (t, $J=7,40$ Hz, 3 H).

Hợp chất có Công thức I:

2-butoxy-7-(4-(pyrolidin-1-ylmethyl)benzyl)-5H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-amin



Bổ sung hợp chất có công thức VIII (440,0 g, 1,11mol) và diclometan (7,0 L) vào nồi hấp dung tích 20l, và nhiệt độ của hệ này được giảm xuống dưới -15°C trong khi khuấy. Sau khi triethylsilan (880 mL, 5,55 mol) được bổ sung nhỏ giọt vào hệ này, axit trifloaxetic (880 mL) được bổ sung nhỏ giọt, trong khi nhiệt độ được giữ dưới -10 °C trong khi bổ sung. Sau khi bổ sung xong, phản ứng này được tiến hành ở 0 °C trong 2 h, và theo dõi bằng sắc ký lỏng cho đến khi điểm nguyên liệu thô biến mất. Sau khi kết thúc phản ứng, dung dịch phản ứng được cô đến khô, và 2,2 l etyl axetat được bổ sung vào dung dịch. Việc khuấy được tiến hành để làm giảm nhiệt độ xuống dưới 0 °C. Tiếp theo, dung dịch natri cacbonat bão hòa được bổ sung để điều chỉnh độ

pH của dung dịch này đến 9-10, trong thời gian đó nhiệt độ của hệ này được giữ dưới 10°C. Việc lọc được tiến hành và bánh lọc thu được được tạo huyền phù với 2,2 l nước. Việc lọc được tiến hành và sấy khô được tiến hành dưới áp suất giảm để tạo ra 550 g trifloaxetat của hợp chất có công thức I dưới dạng chất rắn màu trắng, trong đó tỷ lệ mol của hợp chất có công thức I với axit trifloaxetic là 1:1.

^1H NMR (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,27 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,22 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,04 (s, 1H), 4,32 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,99 (s, 2H), 3,60 (s, 2H), 2,55 - 2,52 (m, 4H), 1,85 - 1,71 (m, 6H), 1,55-1,48 (m, 2H), 1,00 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H).

Ví dụ 1: điều chế muối trifloaxetat dạng tinh thể B của 2-butoxy-7-(4-(pyrolidin-1-ylmethyl)benzyl)-5H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-amin

Chất rắn màu trắng thu được trong Ví dụ điều chế 1 (550 g) và etanol (1,4 L) được khuấy và gia nhiệt ở nhiệt độ hồi lưu, cho đến khi chất rắn này hoà tan hoàn toàn. Sau khi lọc, dịch lọc được khuấy để kết tinh để tạo ra chất rắn màu trắng. Quy trình nêu trên được lặp lại và tiến hành việc tái kết tinh một lần nữa để tạo ra 210,0 g chất rắn hơi trắng, nghĩa là trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I, trong đó tỷ lệ mol của hợp chất có công thức I với axit trifloaxetic là 1:1.

Dạng tinh thể thu được có đỉnh nhiễu xạ cơ bản được thể hiện trên Fig. 1.

Ví dụ 2: Thử nghiệm độ bền ở nhiệt độ cao

Dạng tinh thể B được điều chế trong Ví dụ 1 được thử nghiệm trong thử nghiệm gia tốc trong điều kiện nhiệt độ cao về độ bền theo Hướng dẫn về thử nghiệm độ bền của thành phần dược phẩm và dược phẩm (*Guidelines for the Stability Test of Pharmaceutical Ingredients and Pharmaceutical Preparations*) (Dược điển Trung Hoa 2010 phụ lục XIXC - Chinese Pharmacopoeia 2010 Appendix XIXC).

Dạng tinh thể B được cho vào đồ chứa sạch, hơ ở 60°C. Các mẫu được lấy để thử nghiệm lần lượt vào các ngày 10, ngày 20 và ngày 30. Kết quả thử nghiệm được so sánh với kết quả thử nghiệm ban đầu vào ngày 0.

Ví dụ 3: Thử nghiệm độ bền ở độ ẩm cao

Dạng tinh thể B được điều chế trong Ví dụ 1 được thử nghiệm trong thử nghiệm gia tốc trong điều kiện độ ẩm cao về độ bền theo Hướng dẫn về thử nghiệm độ bền của thành phần dược phẩm và dược phẩm (*Guidelines for the Stability Test of Pharmaceutical Ingredients and Pharmaceutical Preparations*) (Dược điển Trung Hoa 2010 phụ lục XIXC - Chinese Pharmacopoeia 2010 Appendix XIXC).

Dạng tinh thể B được cho qua thử nghiệm gia tốc trong bình phản ứng có nhiệt độ và độ ẩm không đổi trong điều kiện 40°C/độ ẩm 75% (hở). Các mẫu được lấy để thử nghiệm lần lượt vào các ngày 30, ngày 60 và ngày 90. Kết quả thử nghiệm được so sánh với kết quả thử nghiệm ban đầu vào ngày 0.

Ví dụ 4: Độ bền với ánh sáng

Dạng tinh thể B được điều chế trong Ví dụ 1 được thử nghiệm về độ bền trong điều kiện độ ẩm cao theo Hướng dẫn về thử nghiệm độ bền của thành phần dược phẩm và dược phẩm (*Guidelines for the Stability Test of Pharmaceutical Ingredients and Pharmaceutical Preparations*) (Dược điển Trung Hoa 2010 phụ lục XIXC - Chinese Pharmacopoeia 2010 Appendix XIXC).

Dạng tinh thể B được cho vào môi trường chiếu sáng 5000 Lx $\pm$ 500 Lx. Các mẫu được lấy vào các ngày 5, ngày 10 và ngày 30. Kết quả thử nghiệm được so sánh với kết quả thử nghiệm ban đầu vào ngày 0.

Ví dụ về hoạt tính dược lý

Ví dụ hiệu lực 1: Sàng lọc hoạt tính gắn kết thụ thể *in vitro* của thụ thể TLR 7 và thụ thể TLR 8

Chất phản ứng:

Tế bào HEK-xanh dương hTLR7 và HEK-xanh dương hTLR8 (sẵn có ở InvivoGen)

môi trường DMEM

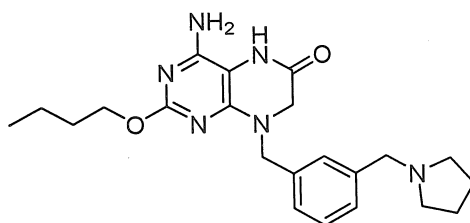
huyết thanh bào thai bê bất hoạt bằng nhiệt

Chất phản ứng kháng Mycoplasma Normocin™

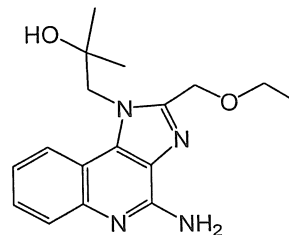
bleomycin

blasticidin

Cấu tạo của GS-9620 và R848 được sử dụng như sau, trong đó việc điều chế GS-9620 có thể tham khảo quy trình được bộc lộ trong US20100143301; R848 có thể mua được từ ABGENT (IMG-2208, mô tả: 0,5 mg).



GS9620



R848/Resiquimod

Sơ đồ:

1. Chuẩn bị đĩa hợp chất 96 lỗ:

Các hợp chất được pha loãng theo dãy với DMSO làm 3 lần sử dụng trạm xử lý chất lỏng POD bắt đầu từ nồng độ 10 mmol/l và 10 điểm pha loãng (cột thứ 2 đến cột thứ 11, và mỗi điểm được làm hai bộ). Ở cột thứ 12, 1 μ l hợp chất R848 dương tính 5 mg/ml được bổ sung làm đối chứng dương tính; và ở cột đầu tiên, 1 μ L DMSO được bổ sung làm đối chứng âm tính. Mỗi lỗ chứa 1 μ l DMSO.

2. Các tế bào trong bình phản ứng nuôi cấy được gom và mật độ tế bào được pha loãng đến 250.000 tế bào/ml.

3. 200 μ l (50.000 tế bào/lỗ) hỗn dịch tế bào được bổ sung vào đĩa hợp chất đã chuẩn bị và nồng độ cuối cùng của DMSO trong mỗi lỗ là 0,5%.

4. Các đĩa nuôi cấy chứa tế bào và hợp chất được ủ trong tủ áp CO₂ trong 24 h ở 37°C, 5%CO₂.

5. Sau khi ủ 24 h, 20 μ l dịch nổi được lấy ra từ mỗi lỗ cho vào đĩa thử nghiệm trong suốt 96 lỗ. Bổ sung 180 μ l chất phản ứng Quanti-Blue vào mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm và đĩa này được ủ trong tủ áp ở 37°C, 5% CO₂ trong 1 h.

6. Sau 1 h, hàm lượng của phosphatase kiềm trong 20 μ l dịch nổi được xác định bằng cách sử dụng đầu đọc Microplate OD650.

7. EC₅₀ của mỗi hợp chất thu được bằng phần mềm Prism.

Kết quả được thể hiện trong Bảng 1:

Bảng 1

Tên hợp chất	EC ₅₀ TLR7 (nM)	EC ₅₀ TLR8 (nM)
GS-9620 ;	517	7867
Hợp chất có công thức I	160	11632

Hợp chất có công thức I theo sáng chế có hoạt tính gắn kết thụ thể in vitro với thụ thể TLR 7 cao hơn đối chứng (chất chủ vận thụ thể TLR 7 GS-9620) và có hoạt tính gắn kết thụ thể in vitro với thụ thể TLR 8 thấp hơn đối chứng (chất chủ vận thụ thể TLR7 GS-9620). Hợp chất theo sáng chế có độ chọn lọc khác biệt rõ ràng với các thụ thể khác nhau, và tác dụng của nó mỹ mãn hơn các giải pháp kỹ thuật đã biết.

Ví dụ hiệu lực 2: Sơ đồ thử nghiệm tế bào đơn nhân máu ngoại biên

Mục đích của ví dụ này là nhằm xác định mức độ biểu hiện của xytokin 24 h sau khi kích thích tế bào đơn nhân máu ngoại biên (PBMC) người bằng hợp chất có công thức I.

Dịch nổi tế bào được thử nghiệm không cần pha loãng và lượng IFN- α được xác định trực tiếp. Đầu tiên, hợp chất có công thức I được điều chế thành dung dịch gốc 20 mM DMSO và được pha loãng theo dãy với môi trường tế bào thành 10 lần với tổng số 11 điểm pha loãng. Bổ sung các hợp chất trong 9 điểm pha loãng (nồng độ cao nhất là 200 μ mol/l) vào đĩa 96 lỗ với lượng 50 μ l mỗi lỗ. Tế bào đơn nhân máu ngoại biên người tươi được cấy, với 150 μ l mỗi lỗ chứa 450.000 tế bào. Đĩa nuôi cấy tế bào được ủ trong tủ áp ở 37°C, 5% CO₂ trong 24 h. Sau khi ủ, đĩa nuôi cấy được ly tâm với tốc độ 1200 vòng/phút trong 5 phút và dịch nổi được gom và bảo quản ở -20°C để xác định. Việc xác định xytokin được tiến hành bằng cách sử dụng Cytometric Bead Array (CBA) của BD-Pharmingen theo phương pháp đếm tế bào dòng chảy. Bằng cách sử dụng phương pháp xác định trên đây, nồng độ thuốc thấp nhất kích thích việc tạo ra 30 pg/mL IFN- α được chỉ định là trị số MEC trong thử nghiệm kích thích xytokin. Kết

quả được thể hiện trong Bảng 2.

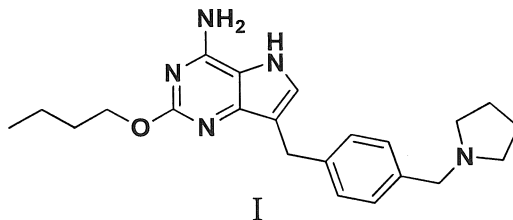
Bảng 2

Tên hợp chất	IFN- α MEC (nM)	TNF- α MEC (nM)
GS-9620	50	500
Hợp chất có công thức I	5	500

So với đối chứng (GS-9620), hợp chất có công thức I theo sáng chế có hoạt tính kích thích IFN- α in vitro của PBMC mạnh hơn và tương đương với hoạt tính kích thích TNF- α .

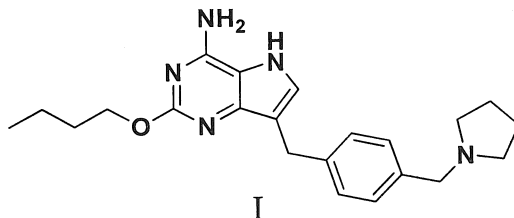
Yêu cầu bảo hộ

1. Muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I;



2. Muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo điểm 1, khác biệt ở chỗ, tỷ lệ mol của hợp chất có công thức I với axit trifloaxetat là 1:0,5~2, tốt hơn là 1:1.

3. Muối trifloaxetat dạng tinh thể B của hợp chất có công thức I, khác biệt ở chỗ, nó có đỉnh nhiễu xạ ở $2\theta=7,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $10,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $11,7^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $14,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $18,6^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $19,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $20,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $22,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$, $23,5^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ trên phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột.



4. Muối trifloaxetat dạng tinh thể B theo điểm 3, khác biệt ở chỗ, khi được xác định đặc điểm bằng DSC, nhiệt độ ban đầu là $171,4^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ và nhiệt độ đỉnh là $173,4^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

5. Hỗn hợp tinh thể, bao gồm muối trifloaxetat dạng tinh thể B theo điểm 3 hoặc 4, khác biệt ở chỗ, tính theo khối lượng của hỗn hợp tinh thể, hàm lượng của dạng tinh thể B là 50% hoặc lớn hơn, tốt hơn là 80% hoặc lớn hơn, tốt hơn nữa là 90% hoặc lớn hơn, và tốt nhất là 95% hoặc lớn hơn.

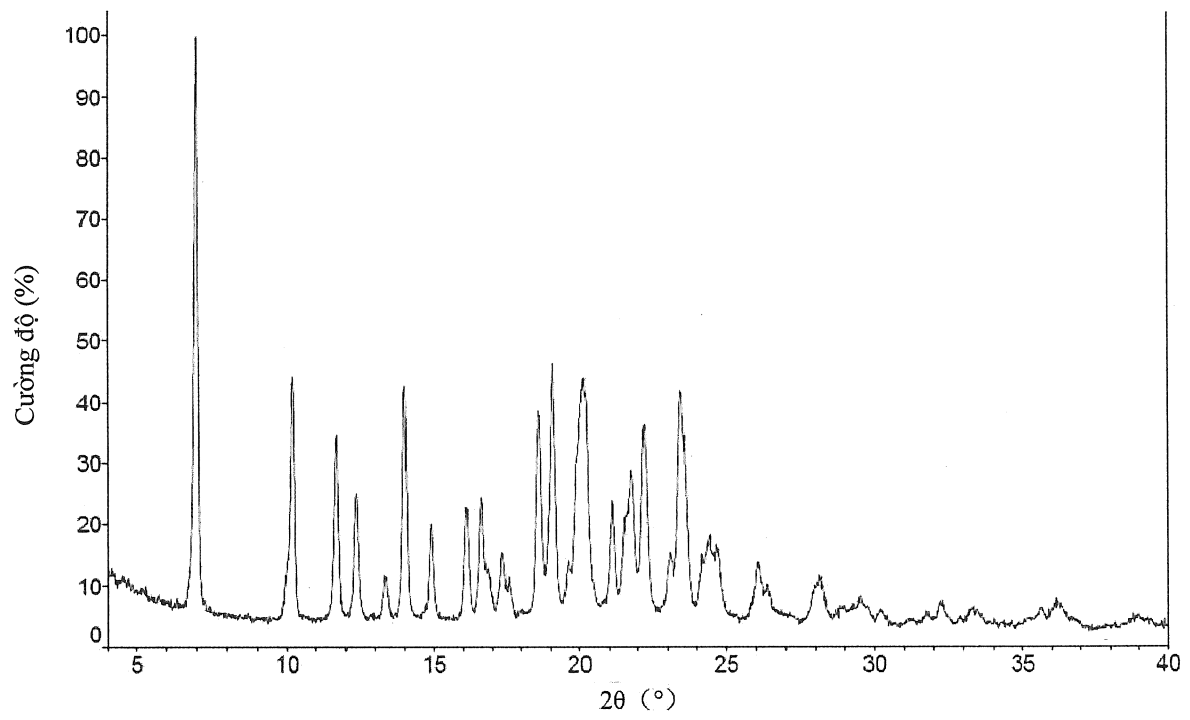
6. Dược phẩm, chứa muối trifloaxetat của hợp chất có công thức I theo điểm 1 hoặc 2, dạng tinh thể B theo điểm 3 hoặc 4, hỗn hợp tinh thể theo điểm 5 hoặc tổ hợp của

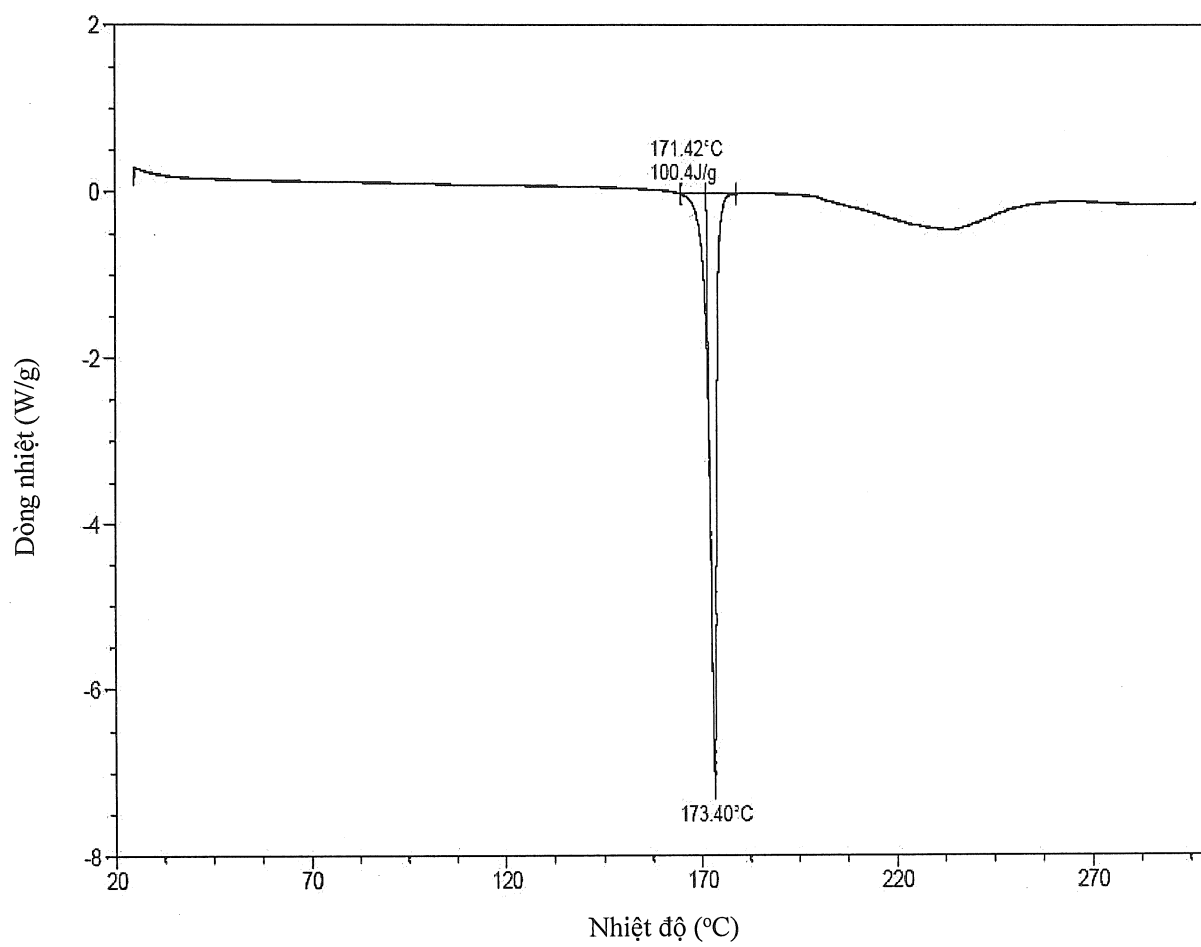
chúng với lượng hữu hiệu.

7. Quy trình điều chế muối trifloaxetat dạng tinh thể B theo điểm 3 hoặc 4, bao gồm các bước sau:

- 1) hoà tan trifloaxetat của hợp chất có công thức I trong dung môi kết tinh;
- 2) làm mát để kết tinh, rửa và sấy khô để thu được dạng tinh thể B.

8. Quy trình điều chế theo điểm 7, khác biệt ở chỗ, dung môi kết tinh được chọn từ nhóm bao gồm metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, butanol bậc ba, axeton, etyl axetat, nước và hỗn hợp dung môi của nó; tốt hơn là etanol.

**Fig. 1**

**Fig. 2**