



(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)



1-0033639

(51)⁸ C07D 401/12; A61P 27/00; A61P 37/00; (13) B
A61P 9/00; A61K 31/4439; A61P 35/00

(21) 1-2018-05152

(22) 25/04/2017

(86) PCT/EP2017/059764 25/04/2017

(87) WO2017/186700 02/11/2017

(30) 16167650.7 29/04/2016 EP; 16167649.9 29/04/2016 EP

(45) 25/10/2022 415

(43) 25/01/2019 370A

(73) BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT (DE)

Müllerstr. 178, 13353 Berlin, Germany

(72) THALER, Tobias (DE); PLATZEK, Johannes (DE); GUIMOND, Nicolas (CA).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HYDRAT CỦA HỢP CHẤT N-[2-(3-HYDROXY-3-METYL BUTYL)-6-(2-HYDROXYPROPAN-2-YL)-2H-INDAZOL-5-YL]-6-(TRIFLOMETYL)PYRIDIN-2-CARBOXAMIT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

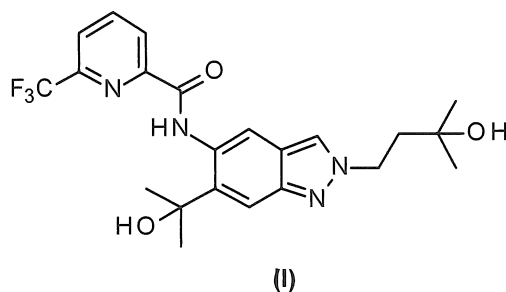
(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit ở dạng tinh thể, các quy trình điều chế chúng, và dược phẩm chứa chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit ở các dạng tinh thể, quy trình điều chế hợp chất ở các dạng tinh thể này, được phẩm chứa chúng, và các hợp chất trung gian.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit tương ứng với hợp chất có công thức (I):



Hợp chất có công thức (I) ở dạng hydrat ức chế men kinaza 4 kết hợp thụ thể interleukin-1 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4: IRAK4).

IRAK4 (kinaza 4 kết hợp thụ thể interleukin-1) của người đóng vai trò chính trong sự hoạt hóa hệ miễn dịch. Do đó, kinaza này là phân tử đích điều trị quan trọng để phát triển các chất ức chế viêm. IRAK4 được biểu hiện bởi nhiều tế bào và làm trung gian dẫn truyền tín hiệu của các thụ thể giống Toll (TLR), ngoại trừ TLR3, và các thụ thể của họ interleukin (IL)-1 β bao gồm IL-1R (thụ thể), IL-18R, IL-33R và IL-36R (Janeway and Medzhitov, Annu. Rev. Immunol., 2002; Dinarello, Annu. Rev. Immunol., 2009; Flannery and Bowie, Biochemical Pharmacology, 2010).

Tế bào chuột đã bất hoạt gen IRAK4 hoặc tế bào người từ bệnh nhân thiếu IRAK4 không phản ứng với kích thích của các TLR (trừ TLR3) và họ IL-1 β (Suzuki, Suzuki, et al., *Nature*, 2002; Davidson, Currie, et al., *The Journal of Immunology*, 2006; Ku, von Bernuth, et al., *JEM*, 2007; Kim, Staschke, et al., *JEM*, 2007).

Sự liên kết của các phối tử TLR hoặc các phối tử của họ IL-1 β với thụ thể tương ứng dẫn đến sự thu thập và liên kết của MyD88 [gen đáp ứng sơ cấp biệt hóa tủy (88)] với thụ thể. Kết quả là, MyD88 tương tác với IRAK4, gây ra sự tạo thành phức hoạt động mà tương tác với và hoạt hóa các kinaza IRAK1 hoặc IRAK2 (Kollewe, Mackensen, et al., *Journal of Biological Chemistry*, 2004; Precious et al., *J. Biol. Chem.*, 2009). Kết quả của việc này là hoạt hóa đường truyền tín hiệu NF (yếu tố nhân)- κ B và đường truyền tín hiệu MAPK (protein kinaza được hoạt hóa bằng mitogen) (Wang, Deng, et al., *Nature*, 2001). Sự hoạt hóa cả đường truyền tín hiệu NF- κ B và đường truyền tín hiệu MAPK dẫn đến các quá trình kết hợp với các quá trình miễn dịch khác nhau. Ví dụ, tăng biểu hiện nhiều phân tử tín hiệu viêm và các enzym khác nhau như các xytokin, các chemokin và COX-2 (xyclooxygenaza-2), và tăng độ ổn định mARN của các gen có liên quan đến viêm, ví dụ COX-2, IL-6, IL-8 (Holtmann, Enninga, et al., *Journal of Biological Chemistry*, 2001; Datta, Novotny, et al., *The Journal of Immunology*, 2004). Hơn nữa, các quy trình này có thể có liên quan đến sự tăng sinh và biệt hóa của các loại tế bào cụ thể, ví dụ bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, tế bào đuôi gai, tế bào T và tế bào B (Wan, Chi, et al., *Nat Immunol*, 2006; McGettrick and J. O'Neill, *British Journal of Haematology*, 2007).

Vai trò trung tâm của IRAK4 trong bệnh lý học của các rối loạn viêm khác nhau đã được chứng minh bằng cách so sánh trực tiếp giữa chuột kiểu hoang dại (WT) với động vật biến đổi gen có dạng IRAK4 bị bất hoạt bởi kinaza (IRAK4 KDKI). Các động vật IRAK4 KDKI có hình ảnh lâm sàng cải thiện trong mẫu động vật bị bệnh đa xơ cứng, xơ vữa động mạch, nhồi máu cơ tim và bệnh Alzheimer (Rekhter, Staschke, et al., *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2008; Maekawa, Mizue, et al., *Circulation*, 2009; Staschke, Dong, et al., *The Journal of Immunology*, 2009; Kim, Febbraio, et al., *The Journal of Immunology*, 2011; Cameron, Tse, et al., *The Journal of Neuroscience*, 2012). Ngoài ra, đã phát hiện ra rằng, việc loại bỏ IRAK4 ở mô hình động vật sẽ bảo vệ chống lại bệnh viêm cơ tim do virus nhờ phản ứng kháng virus được cải

thiện cùng với quá trình viêm hệ thống giảm xuống đồng thời (Valaperti, Nishii, et al., *Circulation*, 2013). Cũng đã chứng minh được rằng, sự biểu hiện IRAK4 tương ứng với mức độ của hội chứng Vogt-Koyanagi-Harada (Sun, Yang, et al., *PLoS ONE*, 2014).

Cũng như vai trò chính của IRAK4 trong miễn dịch bẩm sinh, cũng có dấu hiệu cho thấy rằng, IRAK4 ảnh hưởng đến sự biệt hóa của các tế bào được gọi là các tế bào Th17 T, các thành phần miễn dịch thích ứng. Khi không có hoạt tính IRAK4 kinaza, ít tế bào T sản sinh IL-17 (tế bào T Th17) được tạo thành hơn so với chuột WT. Sự ức chế IRAK4 có khả năng phòng ngừa và/hoặc điều trị xơ vữa động mạch, đái tháo đường typ 1, viêm khớp dạng thấp, viêm cột sống dính khớp, lupus ban đỏ, bệnh vẩy nến, bạch biến, viêm động mạch tế bào khổng lồ, rối loạn viêm ruột mạn tính và các rối loạn do virus, ví dụ HIV (virus suy giảm miễn dịch ở người), virus viêm gan (Staschke, et al., *The Journal of Immunology*, 2009; Zambrano-Zaragoza, et al., *International Journal of Inflammation*, 2014).

Do vai trò trung tâm của IRAK4 trong tăng tín hiệu qua trung gian MyD88 của các TLR (ngoại trừ TLR3) và họ thụ thể IL-1, việc ức chế IRAK4 có thể được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị các rối loạn được trung gian bởi các thụ thể nêu trên. TLR và cả các thành phần của họ thụ thể IL-1 có liên quan đến sinh bệnh học của bệnh viêm khớp dạng thấp, hội chứng chuyển hóa, bệnh tiểu đường, bệnh viêm xương khớp, hội chứng Sjögren và nhiễm trùng huyết (Scanzello, Plaas, et al. *Curr Opin Rheumatol*, 2008; Roger, Froidevaux, et al, *PNAS*, 2009; Gambuzza, Licata, et al., *Journal of Neuroimmunology*, 2011; Fresno, *Archives Of Physiology and Biochemistry*, 2011; Volin and Koch, *J Interferon Cytokine Res*, 2011; Akash, Shen, et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012; Goh and Midwood, *Rheumatology*, 2012; Dasu, Ramirez, et al., *Clinical Science*, 2012; Ramirez and Dasu, *Curr Diabetes Rev*, 2012; Li, Wang, et al., *Pharmacology & Therapeutics*, 2013; Sedimbi, Hagglof, et al., *Cell Mol Life Sci*, 2013; Talabot-Aye, et al., *Cytokine*, 2014). Các bệnh về da như bệnh vẩy nến, viêm da cơ địa, hội chứng Kindler, viêm da tiếp xúc dị ứng, trứng cá đầu đen và trứng cá thông thường có liên quan đến đường truyền tín hiệu TLR qua trung gian IRAK4 (Gilliet, Conrad, et al., *Archives of Dermatology*, 2004; Niebuhr, Langnickel, et al., *Allergy*, 2008; Miller, *Adv Dermatol*, 2008; Terhorst, Kalali, et al., *Am J Clin Dermatol*, 2010; Viguiet, Guigue, et al., *Annals of Internal Medicine*, 2010; Cevikbas,

Steinhoff, J Invest Dermatol, 2012; Minkis, Aksentijevich, et al., Archives of Dermatology, 2012; Dispenza, Wolpert, et al., J Invest Dermatol, 2012; Minkis, Aksentijevich, et al., Archives of Dermatology, 2012; Gresnigt and van de Veerdonk, Seminars in Immunology, 2013; Selway, Kurczab, et al., BMC Dermatology, 2013; Sedimbi, Hagglof, et al., Cell Mol Life Sci, 2013; Wollina, Koch, et al. Indian Dermatol Online, 2013; Foster, Baliwag, et al., The Journal of Immunology, 2014).

Các rối loạn về phổi như bệnh xơ hóa phổi, bệnh phổi tắc nghẽn (COPD), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS), tổn thương phổi cấp (ALI), bệnh phổi mô kẽ (ILD), bệnh sacoit và tăng áp phổi cũng thể hiện mối liên quan đến các đường tín hiệu qua trung gian TLR khác nhau. Sinh bệnh học của các rối loạn về phổi có thể do các quá trình trung gian theo kiểu nhiễm trùng hoặc trung gian theo kiểu không nhiễm trùng (Ramirez Cruz, Maldonado Bernal, et al., Rev Alerg Mex, 2004; Jeyaseelan, Chu, et al., Infection and Immunity, 2005; Seki, Tasaka, et al., Inflammation Research, 2010; Xiang, Fan, et al., Mediators of Inflammation, 2010; Margaritopoulos, Antoniou, et al., Fibrogenesis & Tissue Repair, 2010; Hilberath, Carlo, et al., The FASEB Journal, 2011; Nadigel, Prefontaine, et al., Respiratory Research, 2011; Kovach and Standiford, International Immunopharmacology, 2011; Bauer, Shapiro, et al., Mol Med, 2012; Deng, Yang, et al., PLoS One, 2013; Freeman, Martinez, et al., Respiratory Research, 2013; Dubaniewicz, A., Human Immunology, 2013). Các TLR và các thành viên thuộc họ IL-1R cũng có liên quan đến sinh bệnh học của các rối loạn viêm khác như bệnh Behçet, gút, lupus ban đỏ, bệnh Still khởi phát ở người lớn, và bệnh viêm ruột mạn tính như viêm loét đại tràng và bệnh Crohn, và thải loại mảnh ghép, và do đó sự ức chế IRAK4 ở đây là cách tiếp cận thích hợp để điều trị (Liu-Bryan, Scott, et al., Arthritis & Rheumatism, 2005; Christensen, Shupe, et al., Immunity, 2006; Cario, Inflammatory Bowel Diseases, 2010; Nickerson, Christensen, et al., The Journal of Immunology, 2010; Rakoff-Nahoum, Hao, et al., Immunity, 2006; Heimesaat, Fischer, et al., PLoS ONE, 2007; Kobori, Yagi, et al., J Gastroenterol, 2010; Shi, Mucsi, et al., Immunological Reviews, 2010; Leventhal và Schroppel, Kidney Int, 2012; Chen, Lin, et al., Arthritis Res Ther, 2013; Hao, Liu, et al., Curr Opin Gastroenterol, 2013; Kreisel and Goldstein, Transplant International, 2013; Li, Wang, et al., Pharmacology & Therapeutics, 2013; Walsh, Carthy, et al., Cytokine & Growth Factor Reviews, 2013;

Zhu, Jiang, et al., *Autoimmunity*, 2013; Yap and Lai, *Nephrology*, 2013). Nhờ cơ chế tác động của hợp chất có công thức (I), chúng còn thích hợp trong sử dụng phòng ngừa và/hoặc điều trị các rối loạn trung gian bởi TLR và họ IL-1R như lạc nội mạc tử cung và chứng xơ vữa động mạch (Akoum, Lawson, et al., *Human Reproduction*, 2007; Allhorn, Boing, et al., *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2008; Lawson, Bourcier, et al., *Journal of Reproductive Immunology*, 2008; Seneviratne, Sivagurunathan, et al., *Clinica Chimica Acta*, 2012; Sikora, Mielczarek-Palacz, et al., *American Journal of Reproductive Immunology*, 2012; Falck-Hansen, Kassiteridi, et al., *International Journal of Molecular Sciences*, 2013; Khan, Kitajima, et al., *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2013; Santulli, Borghese, et al., *Human Reproduction*, 2013; Sedimbi, Hagglof, et al., *Cell Mol Life Sci*, 2013).

Ngoài các rối loạn đã nêu, các quá trình TLR trung gian bởi IRAK4 đã được mô tả trong sinh bệnh học của các rối loạn về mắt như thiếu máu võng mạc, bệnh viêm giác mạc, bệnh viêm kết mạc dị ứng, bệnh viêm kết giác mạc khô, thoái hóa điểm vàng và viêm màng mạch nhỏ (Kaarniranta and Salminen, *J Mol Med (Berl)*, 2009; Sun and Pearlman, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2009; Redfern and McDermott, *Experimental Eye Research*, 2010; Kezic, Taylor, et al., *J Leukoc Biol*, 2011; Chang, McCluskey, et al., *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 2012; Guo, Gao, et al., *Immunol Cell Biol*, 2012; Lee, Hattori, et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2012; Qi, Zhao, et al., *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2014).

Nhờ vai trò trung tâm của IRAK4 trong các quá trình qua trung gian TLR, việc ức chế IRAK4 cũng dẫn đến khả năng điều trị và/hoặc ngăn ngừa các rối loạn tim mạch và thần kinh, ví dụ thương tổn tái tưới máu cơ tim, nhồi máu cơ tim, cao huyết áp (Oyama, Blais, et al., *Circulation*, 2004; Timmers, Sluijter, et al., *Circulation Research*, 2008; Fang and Hu, *Med Sci Monit*, 2011; Bijani, *International Reviews of Immunology*, 2012; Bomfim, Dos Santos, et al., *Clin Sci (Lond)*, 2012; Christia and Frangogiannis, *European Journal of Clinical Investigation*, 2013; Thompson and Webb, *Clin Sci (Lond)*, 2013, và cả bệnh Alzheimer, đột quỵ, chấn thương sọ não và bệnh Parkinson (Brough, Tyrrell, et al., *Trends in Pharmacological Sciences*, 2011; Carty and Bowie, *Biochemical Pharmacology*, 2011; Denes, Kitazawa, Cheng, et al., *The Journal*

of Immunology, 2011; Lim, Kou, et al., The American Journal of Pathology, 2011; Béraud and Maguire-Zeiss, Parkinsonism & Related Disorders, 2012; Denes, Wilkinson, et al., Disease Models & Mechanisms, 2013; Noelker, Morel, et al., Sci. Rep., 2013; Wang, Wang, et al., Stroke, 2013).

Vì có sự liên quan giữa tín hiệu TLR và tín hiệu được trung gian thụ thể IL-1 nhờ IRAK4 trong trường hợp ngứa và đau, ví dụ, đau do ung thư, đau sau phẫu thuật, đau do viêm và đau mãn tính, có thể giả thiết việc ức chế IRAK4 cũng có tác dụng điều trị các bệnh nêu trên (Wolf, Livshits, et al., Brain, Behavior, và Immunity, 2008; Kim, Lee, et al., Toll-like Receptors: Roles in Infection and Neuropathology, 2009; del Rey, Apkarian, et al., Annals of the New York Academy of Sciences, 2012; Guerrero, Cunha, et al., European Journal of Pharmacology, 2012; Kwok, Hutchinson, et al., PLoS ONE, 2012; Nicotra, Loram, et al., Experimental Neurology, 2012; Chopra and Cooper, J Neuroimmune Pharmacol, 2013; David, Ratnayake, et al., Neurobiology of Disease, 2013; Han, Zhao, et al., Neuroscience, 2013; Liu và Ji, Pflugers Arch., 2013; Stokes, Cheung, et al., Journal of Neuroinflammation, 2013; Zhao, Zhang, et al., Neuroscience, 2013; Liu, Y. Zhang, et al., Cell Research, 2014).

Quan điểm này cũng áp dụng cho một số rối loạn ung thư. Cụ thể là u lympho, ví dụ lympho tế bào B lớn lan toả (ABC-DLBCL - activated B-cell diffuse large-cell B-cell u lympho), u lymphom tế bào áo và bệnh Waldenström, và cả bệnh bạch cầu lympho mạn tính, u hắc tố, và carcinom tế bào gan, đặc trưng bởi các đột biến trong MyD88 hoặc các thay đổi về hoạt tính MyD88 mà có thể điều trị được bằng chất ức chế IRAK4 (Ngo, Young, et al., Nature, 2011; Puente, Pinyol, et al., Nature, 2011; Srivastava, Geng, et al., Cancer Research, 2012; Treon, Xu, et al., New England Journal of Medicine, 2012; Choi, Kim, et al., Human Pathology, 2013; (Liang, Chen, et al., Clinical Cancer Research, 2013). Ngoài ra, MyD88 đóng vai trò quan trọng trong các khối u phụ thuộc ras, và như vậy các chất ức chế IRAK4 cũng thích hợp để điều trị các khối u này (Kfoury, A., K. L. Corf, et al., Journal of the National Cancer Institute, 2013).

Các rối loạn viêm như các hội chứng định kì liên quan đến cryopyrin (CAPS - cryopyrin-associated periodic syndromes) bao gồm cả hội chứng tự viêm do lạnh mang tính gia đình (FCAS - familial cold autoinflammatory syndrome), hội chứng MWS

(Muckle-Wells syndrome), bệnh viêm đa hệ thống khởi phát ở trẻ sơ sinh (NOMID - neonatal-onset multisystem inflammatory disease) và hội chứng thần kinh, da và khớp mãn tính ở trẻ em (CONCA - chronic infantile, neurological, cutaneous, and articular); sốt địa trung hải mang tính gia đình (FMF - familial mediterranean fever), hội chứng tăng IgD (HIDS - hyper-IgD syndrome), hội chứng định kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1 (TRAPS - tumour necrosis factor receptor 1-associated periodic syndrom), viêm khớp tự phát thiếu niên, bệnh Still khởi phát ở người lớn, bệnh Adamantiades-Behçet, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm xương khớp, bệnh viêm kết giác mạc khô và hội chứng Sjögren được điều trị bằng cách phong bế đường tín hiệu IL-1; do đó ở đây, chất ức chế IRAK4 cũng thích hợp để điều trị các bệnh đã nêu (Narayanan, Corrales, et al., Cornea, 2008; Henderson and Goldbach-Mansky, Clinical Immunology, 2010; Dinarello, European Journal of Immunology, 2011; Gul, Tugal-Tutkun, et al., Ann Rheum Dis, 2012; Pettersson, Annals of MedicinePettersson, 2012; Ruperto, Brunner, et al., New England Journal of Medicine, 2012; Nordström, Knight, et al., The Journal of Rheumatology, 2012; Vijmasi, Chen, et al., Mol Vis, 2013; Yamada, Arakaki, et al., Opinion on Therapeutic Targets, 2013). Phổi tử của IL-33R, IL-33, đặc biệt có liên quan đến sinh bệnh học của bệnh suy thận cấp, và do đó việc ức chế IRAK4 để phòng ngừa và/hoặc điều trị là cách điều trị thích hợp (Akçay, Nguyen, et al., Journal of the American Society of Nephrology, 2011). Các thành phần của họ thụ thể IL-1 có liên quan đến nhồi máu cơ tim, các rối loạn khác nhau ở phổi như hen, COPD, viêm phổi mô kẽ vô căn, viêm mũi dị ứng, xơ hóa phổi và hội chứng suy hô hấp cấp (acute respiratory distress syndrome - ARDS), và do đó tác dụng phòng ngừa và/hoặc điều trị có thể được mong đợi đối với các bệnh đã nêu nhờ việc ức chế IRAK4 (Kang, Homer, et al., The Journal of Immunology, 2007; Imaoka, Hoshino, et al., European Respiratory Journal, 2008; Couillin, Vasseur, et al., The Journal of Immunology, 2009; Abbate, Kontos, et al., The American Journal of Cardiology, 2010; Lloyd, Current Opinion in Immunology, 2010; Pauwels, Bracke, et al., European Respiratory Journal, 2011; Haenueken, Matsushita, et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2012; Yin, Li, et al., Clinical & Experimental Immunology, 2012; Abbate, Van Tassell, et al., The American Journal of Cardiology, 2013; Alexander-Brett, et al., The Journal of Clinical Investigation, 2013; Bunting, Shadie, et al., BioMed Research

International, 2013; Byers, Alexander-Brett, et al., The Journal of Clinical Investigation, 2013; Kawayama, Okamoto, et al., J Interferon Cytokine Res, 2013; Martínez-González, Roca, et al., American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2013; Nakanishi, Yamaguchi, et al., PLoS ONE, 2013; Qiu, Li, et al., Immunology, 2013; Li, Guabiraba, et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2014; Saluja, Ketelaar, et al., Molecular Immunology, 2014).

Giải pháp kỹ thuật đã biết bộc lộ nhiều loại chất ức chế IRAK4 khác nhau (xem, ví dụ, Annual Reports in Medicinal Chemistry (2014), 49, 117 – 133).

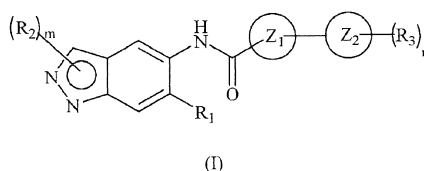
US8293923 và US20130274241 bộc lộ các chất ức chế IRAK4 có cấu trúc indazol được thế ở vị trí số 3.

WO2013106254 và WO2011153588 bộc lộ các dẫn xuất indazol được thế hai lần ở vị trí 2, 3.

WO2007091107 mô tả các dẫn xuất indazol được thế ở vị trí số 2 để điều trị bệnh loạn dưỡng cơ Duchenne. Các hợp chất được bộc lộ không có nhóm thế 6-hydroxyalkyl.

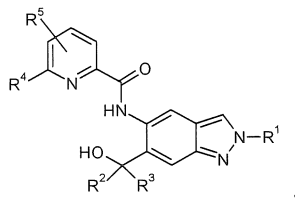
WO2015/091426 mô tả hợp chất indazol, nhóm alkyl của nó được thế ở vị trí 2 bằng cấu trúc carboxamit.

Tài liệu WO2015/104662 bộc lộ hợp chất indazol có công thức (I),



hợp chất này hữu ích trong điều trị ở dạng chất ức chế kinaza, đặc biệt là chất ức chế IRAK4, và muối được dụng hoặc chất đồng phân lập thể của nó mà hữu ích trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc tình trạng, đặc biệt sử dụng chúng trong các bệnh hoặc tình trạng được trung gian bởi enzym kinaza, đặc biệt là enzym IRAK4.

Tài liệu WO2016/083433, được công bố sau ngày ưu tiên của đơn này, mô tả hợp chất indazol được thế mới có công thức sau



quy trình điều chế chúng, việc sử dụng chúng riêng rẽ hoặc kết hợp để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh, và việc sử dụng chúng trong sản xuất thuốc để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh, đặc biệt là để điều trị và/hoặc phòng ngừa lạc nội mạc tử cung và đau liên quan đến lạc nội mạc tử cung và các triệu chứng liên quan đến lạc nội mạc tử cung như đau bụng kinh, đau giao hợp, tiểu buốt và đau khi đại tiện, u lympho, viêm khớp dạng thấp, viêm cột sống dính khớp (đặc biệt là viêm cột sống dính khớp vảy nến và bệnh Bekhterev), lupus ban đỏ, đa xơ cứng, thoái hóa điểm vàng, COPD, gút, các rối loạn gan nhiễm mỡ, kháng insulin, các rối loạn khối u và bệnh vảy nến.

Do đó, vẫn có nhu cầu về các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (I) với các đặc tính hóa lý thích hợp mà có thể được sử dụng thuận lợi trong gia công dược phẩm và dược phẩm.

Chất ức chế IRAK4 mới đặc biệt thích hợp để điều trị và phòng ngừa các rối loạn tăng sinh và rối loạn viêm đặc trưng bởi hệ miễn dịch phản ứng quá mức. Các rối loạn cụ thể có thể được kể ra ở đây là các rối loạn viêm da, các rối loạn tim mạch, các rối loạn về phổi, các rối loạn về mắt, các rối loạn tự miễn, các rối loạn phụ khoa, đặc biệt bệnh lạc nội mạc tử cung, và ung thư.

Quy trình được công bố cho phép sản xuất indazol (I) trên quy mô kỹ thuật với việc tập trung đặc biệt vào các yêu cầu sau:

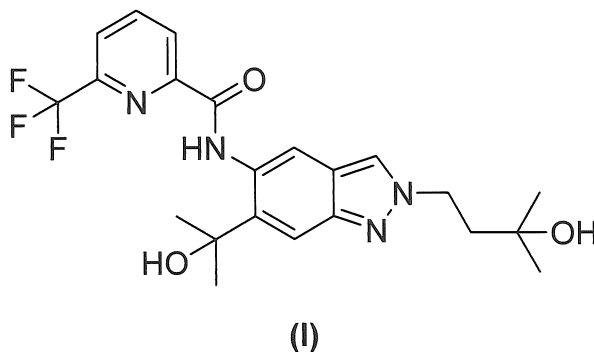
- Sự mở rộng/khả năng mở rộng của quy trình sản xuất
- Khả năng chọn lọc theo vùng cao trong phản ứng N2-alkyl hóa
- Độ an toàn trong xử lý
- Tốc độ sản xuất
- Khả năng có sẵn của nguyên liệu khởi đầu trên thị trường
- Tránh được các bước tách và tinh chế bằng sắc ký

- Xử lý cuối cùng bằng phương pháp kết tinh hoá
- Việc điều chỉnh cuối cùng của sự biến đổi đa hình sử dụng các dung môi loại 3 (theo hướng dẫn của FDA)

Đáng chú ý là, quy trình có thể được bộc lộ đáp ứng được tất cả các yêu cầu nêu trên.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất các dạng tinh thể sau đây của hợp chất có công thức (I), các dạng này là hydrat, anhydrat và formamit solvat. Ngoài ra, dạng vô định hình tồn tại. Tất cả các dạng đa hình, dạng giả đa hình và dạng vô định hình đều là các dạng rắn khác nhau của hợp chất có công thức (I).



Hydrat của hợp chất có công thức (I) thể hiện các đặc tính có lợi so với các dạng rắn khác của hợp chất có công thức (I), các đặc tính có lợi này là, ví dụ nhưng không bị giới hạn bởi, độ ổn định (ví dụ, độ ổn định nhiệt động học, độ ổn định cơ học, độ ổn định hóa học, và/ hoặc độ ổn định bảo quản), khả năng tương thích với các thành phần khác, độ tinh khiết, độ hút ẩm, độ hòa tan (nhiệt động học và/ hoặc động lực), các đặc tính kết tinh, ngoại dạng, sinh khả dụng, tác dụng phụ, tính chất dược động học, hiệu lực, các đặc tính có lợi trong quá trình tổng hợp hóa học (ví dụ, liên quan đến việc xử lý hoặc tách mà có thể, ví dụ, được cải thiện về khả năng lọc) và/ hoặc các đặc tính có lợi trong quá trình sản xuất dược phẩm.

Do đó, hydrat thích hợp để sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm, đặc biệt thích hợp trong sản xuất dược phẩm, ví dụ sản xuất viên nén chứa hydrat của hợp chất có công thức (I).

Hợp chất có công thức (I) ở dạng hydrat có thể được tách bằng cách làm bay hơi dung dịch của hợp chất có công thức (I) trong Pyridin, THF, Picolin, Axetonitril, Metanol, Etanol, 1-Propanol, Axeton, etylaxetat, và 2-Picolin.

Ngoài hydrat, anhydrat và formamit solvat của hợp chất có công thức I xuất hiện trong các thực nghiệm kết tinh.

Hợp chất có công thức (I) ở dạng anhydrat có thể được tách bằng cách làm bay hơi dung dịch của hợp chất có công thức (I) trong isobutanol, 1-butanol, tetrahydrofuran/nước (95/5% khối lượng).

Hợp chất có công thức (I) ở dạng formamit solvat có thể được tách bằng cách khuấy trong formamit.

Các phương án theo sáng chế không chỉ là hợp chất có công thức (I) ở mỗi dạng tinh thể đơn của mà là hydrat, anhydrat và formamit solvat của hợp chất có công thức (I), mà còn là hợp chất có công thức (I) ở dạng hỗn hợp bao gồm hai hoặc ba dạng tinh thể nêu trên.

Dược phẩm theo sáng chế chứa hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể được lựa chọn từ nhóm gồm hydrat của nó, anhydrat của nó, formamit solvat của nó, và hỗn hợp của nó và cả các tá dược được dùng.

Dược phẩm theo sáng chế tốt hơn chỉ chứa hợp chất có công thức (I) ở duy nhất một trong số các dạng tinh thể được lựa chọn từ nhóm gồm hydrat, anhydrat và formamit solvat của hợp chất có công thức (I) chủ yếu và không có phần đáng kể nào của dạng khác của hợp chất có công thức (I). Tốt hơn nữa, dược phẩm chứa nhiều hơn 85% khối lượng, tốt hơn nữa nhiều hơn 90% khối lượng, tốt nhất nhiều hơn 95% khối lượng, của hydrat của hợp chất có công thức (I) so với tổng lượng của tất cả các dạng của hợp chất có công thức (I) có mặt trong chế phẩm.

Dược ưu tiên là dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) ở dạng hydrat chủ yếu và không có bất kỳ phần đáng kể nào của dạng rắn khác của hợp chất có công thức (I), ví dụ của dạng đa hình hoặc giả đa hình khác của hợp chất có công thức (I). Dược phẩm tốt hơn chứa nhiều hơn 85% khối lượng, tốt hơn nữa nhiều hơn 90% khối lượng, tốt hơn

nửa nhiều hơn 95% khối lượng, của hợp chất có công thức (I) ở dạng hydrat so với tổng lượng của tất cả các dạng của hợp chất có công thức (I) có mặt trong chế phẩm.

Được ưu tiên hơn là được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) ở dạng anhydrat chủ yếu và không có bất kỳ phần đáng kể nào của dạng rắn khác của hợp chất có công thức (I), ví dụ của dạng đa hình hoặc giả đa hình khác của hợp chất có công thức (I). Được phẩm tốt hơn chứa nhiều hơn 85% khối lượng, tốt hơn nữa nhiều hơn 90% khối lượng, tốt hơn nữa nhiều hơn 95% khối lượng, của hợp chất có công thức (I) ở dạng anhydrat so với tổng lượng của tất cả các dạng của hợp chất có công thức (I) có mặt trong chế phẩm.

Được ưu tiên hơn là được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) ở dạng formamit solvat chủ yếu và không có bất kỳ phần đáng kể nào của dạng rắn khác của hợp chất có công thức (I), ví dụ của dạng đa hình hoặc giả đa hình khác của hợp chất có công thức (I). Được phẩm tốt hơn chứa nhiều hơn 85% khối lượng, tốt hơn nữa nhiều hơn 90% khối lượng, tốt hơn nữa nhiều hơn 95% khối lượng, của hợp chất có công thức (I) ở dạng formamit solvat so với tổng lượng của tất cả các dạng của hợp chất có công thức (I) có mặt trong chế phẩm.

Các dạng khác nhau của hợp chất có công thức (I) có thể được phân biệt bằng nhiễu xạ bột tia X, phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC), phép đo phổ IR, Raman, NIR, FIR và phổ ^{13}C -NMR ở trạng thái rắn.

Các dạng khác nhau của hợp chất có công thức (I) đã được mô tả đặc trưng bằng nhiễu xạ bột tia X, nhiệt độ DSC và TGA.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Phổ nhiễu xạ bột tia X của hydrat của hợp chất (I)

Fig. 2: Phổ nhiễu xạ bột tia X của anhydrat của hợp chất (I)

Fig. 3: Phổ nhiễu xạ bột tia X của formamit solvat của hợp chất (I)

Fig. 4: Nhiệt độ DSC và TGA của hydrat của hợp chất (I)

Fig. 5: Nhiệt độ DSC và TGA của anhydrat của hợp chất (I)

Fig. 6: Nhiệt độ DSC và TGA của formamit solvat

Mô tả chi tiết sáng chế

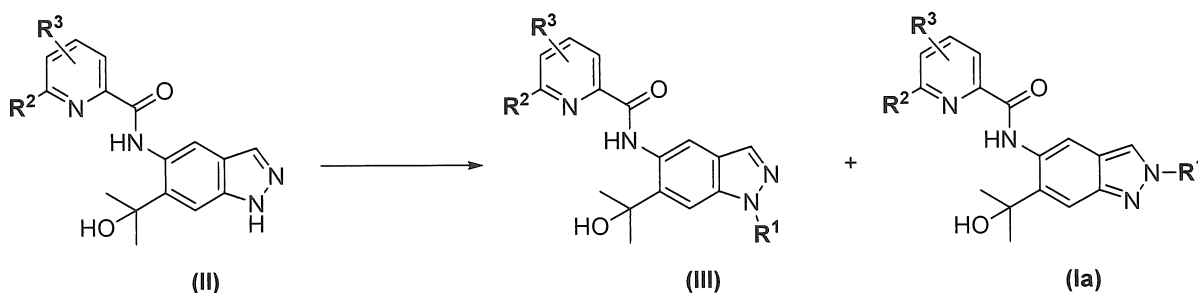
Hydrat của hợp chất có công thức (I) có thể được mô tả đặc trưng một cách rõ ràng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ) mà thể hiện ít nhất các góc phản xạ sau: 9,4, 10,8, 15,0, tốt hơn ít nhất các góc phản xạ sau: 9,4, 10,8, 15,0, 16,0, 17,0, tốt hơn nữa ít nhất các góc phản xạ sau: 9,4, 10,8, 15,0, 16,0, 17,0, 20,1, 22,9, tốt nhất ít nhất các góc phản xạ sau: 9,4, 10,8, 15,0, 16,0, 17,0, 20,1, 22,9, 24,3, 26,6, 29,8, mỗi một giá trị được nêu là $2\theta \pm 0,2^\circ$. Hydrat của hợp chất có công thức (I) cũng có thể được mô tả đặc trưng một cách rõ ràng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ) như được thể hiện trong Fig. 1.

Anhydrat của hợp chất có công thức (I) có thể được mô tả đặc trưng một cách rõ ràng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ) mà thể hiện ít nhất các góc phản xạ sau: 8,6, 10,3, 14,6, tốt hơn ít nhất các góc phản xạ sau: 8,6, 10,3, 14,6, 17,3, 19,8, tốt hơn nữa ít nhất các góc phản xạ sau: 8,6, 10,3, 14,6, 17,3, 19,8, 22,2, 23,7, tốt nhất ít nhất các góc phản xạ sau: 8,6, 10,3, 14,6, 17,3, 19,8, 22,2, 23,7, 24,5, 25,9, 29,3, mỗi một giá trị được nêu là $2\theta \pm 0,2^\circ$. Anhydrat của hợp chất có công thức (I) cũng có thể được mô tả đặc trưng một cách rõ ràng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ) như được thể hiện trong Fig. 2.

Formamit solvat của hợp chất có công thức (I) có thể được mô tả đặc trưng một cách rõ ràng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ) mà thể hiện ít nhất các góc phản xạ sau: 5,5, 10,0, 11,5, tốt hơn ít nhất các góc phản xạ sau 5,5, 10,0, 11,5, 11,7, 20,7, 21,3, tốt hơn nữa ít nhất các góc phản xạ sau: 5,5, 10,0, 11,5, 11,7, 20,7, 21,3, 23,6, 24,6, tốt nhất ít nhất các góc phản xạ sau: 5,5, 10,0, 11,5, 11,7, 20,7, 21,3, 23,6, 24,6, 26,6, mỗi một giá trị được nêu là $2\theta \pm 0,2^\circ$. Formamit solvat của hợp chất có công thức (I) cũng có thể được mô tả đặc trưng một cách rõ ràng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ) như được thể hiện trong Fig. 3.

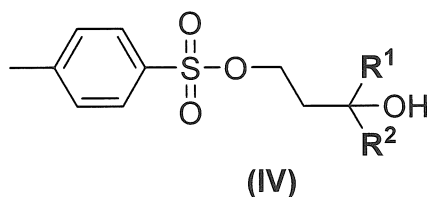
Quy trình điều chế:

Việc điều chế các indazol được thế tại N2 đã được mô tả trong tài liệu, ví dụ, M.-H. Lin, H.-J. Liu, W.-C. Lin, C.-K. Kuo, T.-H. Chuang, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 11376. Tuy nhiên, các quy trình này được cho là bất lợi khiến cho chúng không thích hợp cho quy mô kỹ thuật. Có thể điều chế một cách chọn lọc hợp chất indazol được thế tại N2 bằng một chuỗi các bước tổng hợp phức tạp, mà không liên quan đến bước alkyl hoá trực tiếp. Tuy nhiên, các chuỗi này kéo dài và tẻ nhạt và kèm theo sự hao hụt đáng kể, cuối cùng dẫn đến tổng hiệu suất thấp. Do đó, các quy trình tổng hợp cho phép điều chế trực tiếp hợp chất indazol được thế tại N2 từ tiền chất 1H-indazol bằng cách alkyl hoá chọn lọc và trực tiếp tại N2 là được quan tâm nhất. Với nỗ lực để alkyl hóa trực tiếp tiền chất 1H-indazol có công thức chung (II), thông thường thu được hỗn hợp tạo ra từ các chất đồng phân vị trí alkyl hóa tại N1 (III) và N2 (Ia).



Indazol và các dẫn xuất của nó, loại điển hình của N-dị vòng thơm, được quan tâm đặc biệt trong tổng hợp và hoá dược vì hoạt tính sinh học đa dạng của chúng. Ngoài ra, cấu trúc dị vòng đa dạng có thể truy cập được từ carben dị vòng N có nguồn gốc từ indazol. Trong số indazol, hợp chất indazol được thế ở N1/N2 được sử dụng rộng rãi làm thuốc chống ung thư, chống viêm, chống HIV, và chống vi khuẩn. Thông thường, quy trình tổng hợp hợp chất indazol được thế tại N2 bao gồm các quy trình tạo vòng từ nhiều loại nguyên liệu ban đầu hỗn tạp. Đáng tiếc là, các phương pháp chung vẫn còn hiếm trong các tài liệu chuyên ngành. Trong các phương pháp này, chỉ thu được hiệu suất vừa phải.

Về tình trạng kỹ thuật hiện tại của, một vài công bố đã được biết đến và sẽ được thảo luận trong phần sau. Không có quy trình nào trong số các quy trình đã công bố mô tả về các điều kiện phản ứng mà dẫn đến quá trình alkyl hóa chọn lọc N2 trực tiếp sử dụng indazol có khả năng tạo nhóm chức cao thuộc typ (II) cùng với alkyl tosylat hoặc halogenua mang nhóm rượu thuộc typ (IV) làm chất alkyl hóa.

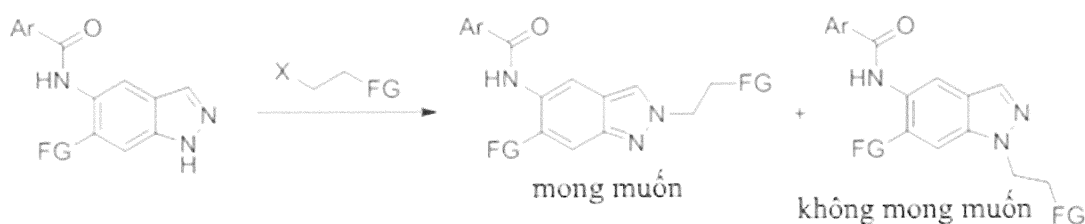


Độ chọn lọc và/hoặc hiệu suất là thấp. Vấn đề của các quy trình trước đây là ở sự dung nạp nhóm chức giới hạn. Do đó, chỉ những chất alkyl hóa tương đối đơn giản không mang các nhóm chức không bền và/hoặc nhóm chức phản ứng ngoài nhóm rời chuyển ra được sử dụng. Các chất này hầu hết được gắn vào 1H-indazol tương ứng bằng sự thay thế ái nhân của các halogenua, triflat, tosylat, hoặc mesylat của chúng. Khi nhiều gốc chức được sử dụng, hiệu suất và độ chọn lọc giảm một cách đáng kể. Trong phần sau sẽ trình bày lý do tại sao các quy trình của tình trạng kỹ thuật không thể áp dụng cho thách thức trước mặt:

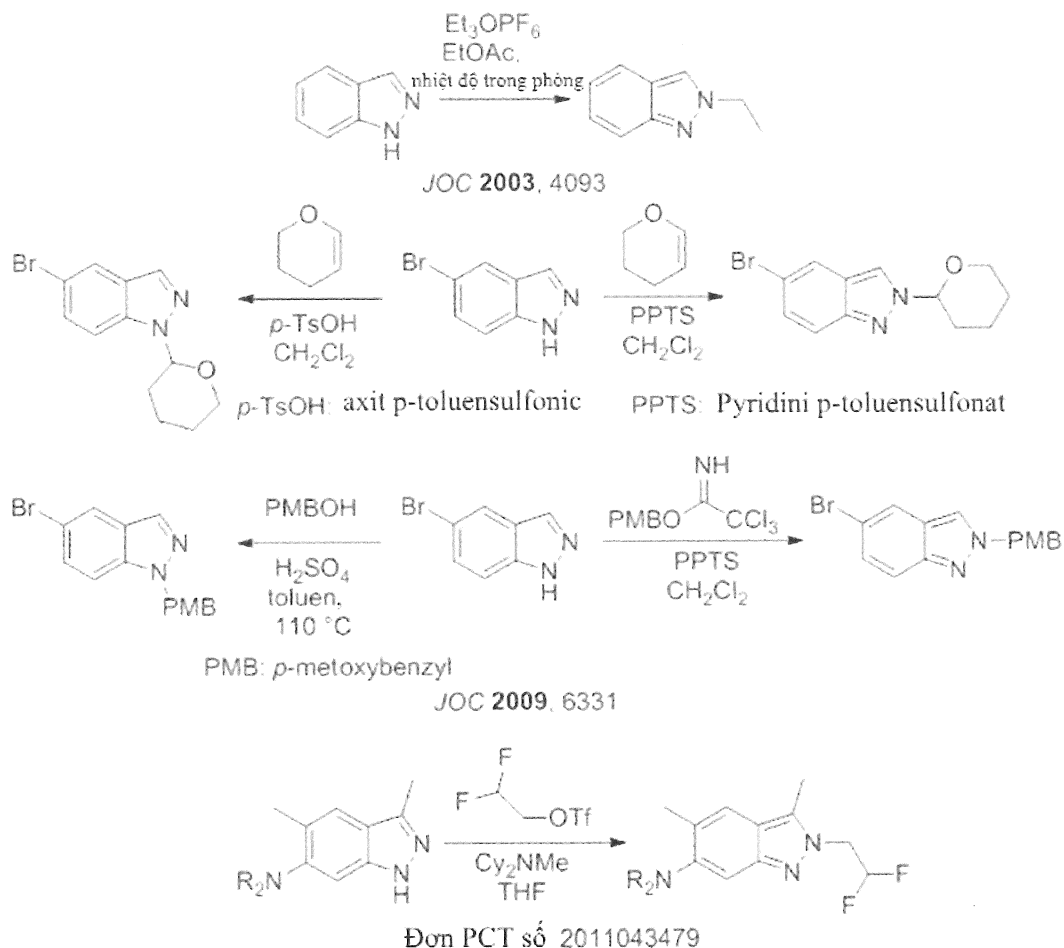
1. WO 2011/043479: Các phản ứng được thực hiện trong THF ở nhiệt độ hồi lưu. Phản ứng này không thực hiện đối với trường hợp trước mắt (chất alkyl hóa thuộc typ (IV)). Việc điều chế triflat tương ứng từ, ví dụ, rượu là không thể, do việc phân hủy của nó xảy ra ngay lập tức. Ngoài ra, chỉ chất nền đơn giản không chứa nhóm chức trong mạch bên được sử dụng.
2. S. R. Baddam, N. U. Kumar, A. P. Reddy, R. Bandichhor, *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 1661: Chỉ các indazol đơn giản không chứa các nhóm chức được sử dụng trong phản ứng. Chỉ methyl tricloaxetimidat được sử dụng làm chất alkyl hoá. Nỗ lực để chuyển các điều kiện có xúc tác axit sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công. Quy trình này không thể dễ dàng tăng quy mô.
3. Q. Tian, Z. Cheng, H. H. Yajima, S. J. Savage, K. L. Green, T. Humphries, M. E. Reynolds, S. Babu, F. Gosselin, D. Askin, *Org. Process Res. Dev.* **2013**, 17, 97: Việc điều chế THP-ete với việc ưu tiên đối với N2 của indazol được trình bày. Phản ứng này diễn ra theo cơ chế khác biệt và không đại diện làm phương pháp chung, do sản phẩm THP-ete không thể dễ dàng được chuyển hoá tiếp. Ngoài ra, phương

pháp bảo vệ chọn lọc indazol sử dụng các dẫn xuất p-metoxybenzyl trong điều kiện axit được trình bày. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

4. D. J. Slade, N. F. Pelz, W. Bodnar, J. W. Lampe, P. S. Watson, *J. Org. Chem.* 2009, 74, 6331: THP-ete và sự bảo vệ PMB sử dụng các điều kiện axit (PPTS: pyridini para-toluensulfonat); nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công..
5. M. Cheung, A. Bloor, J. A. Stafford, *J. Org. Chem.* 2003, 68, 4093: Muối Meerwein hoạt tính mạnh và có khả năng sinh ung thư cao được sử dụng làm các chất alkyl hóa. Phương pháp này chỉ bao gồm muối Meerwein etyl và metyl không được tạo nhóm chức đơn giản. Phản ứng này diễn ra trong etyl axetat phân cực ở nhiệt độ môi trường. Các điều kiện này không thể chuyển được sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol.



Sơ đồ 1: N-alkyl hoá 1H-indazol



Sơ đồ 2: Phương pháp N-alkyl hoá indazol là đã biết đến trong lĩnh vực

6. M.-H. Lin, H.-J. Liu, W.-C. Lin, C.-K. Kuo, T.-H. Chuang, *Org. Biomol. Chem.* 2015, 13, 11376: Quy trình này là chọn lọc N2, tuy nhiên, quy trình này không thể được gia tăng quy mô bằng kim loại Ga và Al được sử dụng với lượng theo tỷ lệ. Trong các điều kiện phản ứng đã mô tả, axit Brønsted được tạo thành sẽ phản ứng với các kim loại tương ứng để tạo ra khí hydro. Chỉ các cơ chất tương đối đơn giản được sử dụng làm chất alkyl hoá. Khi nhiều cơ chất tạo nhóm chức được sử dụng, quan sát thấy hiệu suất bị giảm đáng kể. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

7. G. Luo, L. Chen, G. Dubowchick, *J. Org. Chem.* 2006, 71, 5392: 2-(Trimethylsilyl)etoxymetyl clorua (SEM-Cl) trong THF được sử dụng để thế trên N2 của indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công. Các sản phẩm tương ứng mô tả trong công bố này là ete và không liên quan đến phân tử đích của sáng chế. Việc sử dụng 2-(trimethylsilyl)etoxymetyl clorua (SEM-Cl) sinh ung thư mạnh cũng như benzyloxymetyl clorua (BOM-Cl) không phải là lựa chọn tối ưu để thu được hợp chất đích.
8. A. E. Shumeiko, A. A. Afon'kin, N. G. Pazumova, M. L. Kostrikin, *Russ. J. Org. Chem.* 2006, 42, 294: Chỉ các cơ chất rất đơn giản được sử dụng trong phương pháp này. Không có độ chọn lọc đáng kể được báo cáo. Quan sát thấy một chút ưu tiên đối với việc alkyl hoá N1 ở indazol.
9. G. A. Jaffari, A. J. Nunn, *J. Chem. Soc. Perkin 1* 1973, 2371: Các cơ chất rất đơn giản và duy nhất chất metyl hoá được sử dụng. Cơ chất phức tạp hơn, ví dụ, tổ hợp gồm formaldehyt với metanol proton hoá chỉ tạo ra sản phẩm được thế N1 (ete).
10. V. G. Tsylin et al., *Russ. J. Org. Chem.* 2002, 38, 90: Phản ứng này diễn ra trong axit sulfuric và cloroform. Các điều kiện này không thể chuyển được sang các indazol được thế tại vị trí 2. Chỉ việc chuyển hoá của indazol đơn giản với rượu adamantylic làm chất alkyl hoá duy nhất được mô tả.
11. S. K. Jains et al. *RSC Advances* 2012, 2, 8929: Tài liệu công bố này bao gồm ví dụ về N-benzyl hoá của indazol với độ chọn lọc thấp hướng đến việc thay thế N1. Phương pháp có xúc tác Kf-/alumin này không thể được áp dụng đối với các indazol được thế tại vị trí 2. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
12. L. Gavara et al. *Tetrahedron* 2011, 67, 1633 : Chỉ các cơ chất tương đối đơn giản được sử dụng. Việc tạo thành THP-ete axit đã mô tả và benzyl hoá trong hồi lưu THF là không áp dụng được cho cơ chất của tác giả sáng chế. Nỗ lực để chuyển các

điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

13. M. Chakrabarty et al. *Tetrahedron* 2008, 64, 6711: Quan sát thấy quá trình N2-alkyl hóa nhưng chủ yếu thu được sản phẩm N1-alkyl hóa. Các điều kiện sử dụng natri hydroxit nước và chất xúc tác chuyển pha trong THF đã mô tả là không thích hợp để đạt được quá trình alkyl hóa chọn lọc tại vị trí 2 của 1H-indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang hệ (IV)/(II) của tác giả sáng chế đã không thành công.
14. M. T. Reddy et al. *Der Pharma Chemica* 2014, 6, 411: Phản ứng này diễn ra trong chất alkyl hoá tương ứng làm dung môi. Đã có thông báo chỉ sử dụng ethyl bromoacetat có tính phản ứng cao làm chất alkyl hoá. Không có dữ liệu về độ chọn lọc. Các điều kiện này là không áp dụng được cho hợp chất ở dạng 2-indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
15. S. N. Haydar et al. *J. Med. Chem.* 2010, 53, 2521: Chỉ các nhóm alkyl không được tạo nhóm chức đơn giản được mô tả (metyl, isopropyl, isobutyl). Xesi cacbonat được sử dụng làm bazơ và phản ứng này tạo ra hỗn hợp của các sản phẩm alkyl hoá N1 và N2. Các điều kiện này là không thích hợp để đạt được quá trình alkyl hóa chọn lọc tại vị trí 2 của 1H-indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
16. Zh. V. Chirkova et al. *Russ. J. Org. Chem.* 2012, 48, 1557: Trong phương pháp này, các cơ chất tương đối đơn giản được chuyển hoá với kali cacbonat làm bazơ trong DMF. Thu được hỗn hợp của các sản phẩm alkyl hoá N1 và N2. Các điều kiện này là không thích hợp để đạt được quá trình alkyl hóa chọn lọc tại vị trí 2 của 1H-indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

17. C. Marminon et al. *Tetrahedron* 2007, 63, 735 : Phản tử thể *ortho* R ở vị trí 7 trên indazol hướng vào việc alkyl hoá theo hướng N2 bằng cách che chắn N1 khỏi sự tấn công ái điện tử. Các điều kiện, natri hydrua làm bazơ trong THF, không thích hợp để đạt được quá trình alkyl hóa tại vị trí 2 của 1H-indazol và tốt hơn dẫn đến quá trình alkyl hóa tại N1 khi không có sự thể tại vị trí 7 của indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

18. D. A. Nicewicz et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 6198: Chỉ các cơ chất đơn giản được sử dụng. Phương pháp này mô tả phản ứng quang hóa mà không thể dễ dàng gia tăng quy mô và không áp dụng được cho quá trình alkyl hóa chọn lọc chung trực tiếp của 1H-indazol tại vị trí 2. Các dẫn xuất styren rất đặc trưng được sử dụng trong các điều kiện phản ứng gốc. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

19. Togni et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011, 50, 1059: Tài liệu công bố này chỉ mô tả loại phản tử thể đặc biệt (iot hoá trị cao làm chất phản ứng triflometyl hoá kết hợp với axetonitril). Trường hợp đặc trưng này không phải là thông thường và không thể được áp dụng cho quá trình tổng hợp các các indazol alkyl hóa tại N2 thuộc loại (Ia) hoặc (Va).

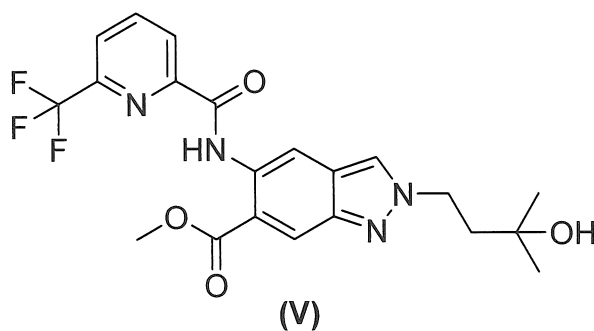
20. L. Salerno et al. *European J. Med. Chem.* 2012, 49, 118: Tài liệu công bố này mô tả quá trình chuyển hóa indazol trong α -bromoketon nóng chảy. Các điều kiện phản ứng này không thể được chuyển sang quá trình tổng hợp chọn lọc hợp chất indazol ankyl hoá tại N2 thuộc loại (I). Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

21. K. W. Hunt, D. A. Moreno, N. Suiter, C. T. Clark, G. Kim, *Org. Lett.* 2009, 11, 5054: Tài liệu công bố này chủ yếu mô tả phương pháp alkyl hoá chọn lọc N1 có bổ sung các bazơ khác nhau. Chỉ các cơ chất đơn giản được sử dụng. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm

chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

22. J. Yang et al. *Synthesis* 2016, 48, 1139: Tài liệu công bố này mô tả phản ứng aza-Michael có xúc tác bazơ chọn lọc N1. Không quan sát thấy việc thay thế tại N2. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
23. P. R. Kym et al. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 2339: Về cơ bản, quy trình alkyl hoá N1 được mô tả. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
24. A. J. Souers et al. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 1318: Tài liệu công bố này mô tả việc sử dụng kali cacbonat làm bazơ. Phương pháp này tiến hành chủ yếu ưu tiên việc thế tại N1 và do đó, không thích hợp để đạt được quá trình alkyl hóa chọn lọc tại vị trí 2 của 1H-indazol. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
25. P. Bethanamudi et al. *E-Journal of Chemistry* 2012, 9, 1676: Việc sử dụng dung dịch ion cùng với kali cacbonat làm bazơ tạo ra hỗn hợp của các indazol alkyl hoá N1 và N2 với hiệu suất thấp. Độ chọn lọc cho thấy xu hướng hướng đến việc thay thế ở N1. Việc sử dụng dung dịch ion không thể được chuyển hoá thành hệ của tác giả sáng chế. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.
26. S. Palit et al. *Synthesis* 2015, 3371 : Phản ứng được mô tả trong bản mô tả này hầu như không chọn lọc với sự ưu tiên rất ít đối với việc thay thế tại N1 của indazol. Chỉ các nhóm alkyl không được tạo nhóm chức, đơn giản được sử dụng. Natri hydrua và bazơ mạnh tương tự được sử dụng. Nỗ lực để chuyển các điều kiện này sang quá trình alkyl hóa chọn lọc sử dụng chất alkyl hóa tạo nhóm chức rượu như được mô tả bằng (IV) tại vị trí 2 của cấu trúc lõi indazol đã không thành công.

Đã chứng minh được rằng, hợp chất có công thức (I) cũng như tiền chất của nó (V) có thể được tổng hợp tương tự như các phương pháp đã công bố trước đây trong tài liệu chuyên ngành, ví dụ, thông qua quá trình alkyl hóa trực tiếp với 4-bromo-2-metylbutan-2-ol sử dụng kali carbonat làm bazơ cùng với kali iodua trong DMF.



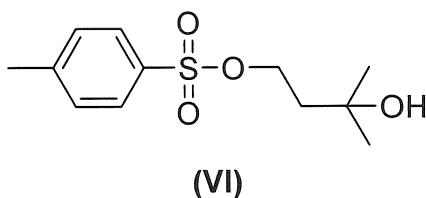
Tuy nhiên, hỗn hợp của các sản phẩm alkyl hóa N1 và N2 thu được, ưu tiên đối với chất đồng phân vị trí N1 (N1:N2 = khoảng 2:1). Hợp chất indazol alkyl hóa tại N2 (V) cũng có thể thu được với hiệu suất thấp như được mô tả trong WO2016/083433, công bố sau ngày ưu tiên của đơn sáng chế này, như được mô tả trong quy trình phản ứng sau:

930mg (2,55mmol) methyl 5-([6-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa), 1,06g kali carbonat và 212mg kali iodua đầu tiên được nạp vào trong 9ml DMF và hỗn hợp được khuấy trong 15 phút. Sau đó, 0,62ml 4-bromo-2-metylbutan-2-ol được bổ sung vào đó và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 60°C qua đêm. Hỗn hợp được kết hợp với nước và được chiết hai lần bằng etyl axetat, và dịch chiết được rửa ba lần bằng dung dịch natri clorua bão hòa, lọc và cô đặc. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột trên silicagel (hexane/etyl axetat) thu được 424mg (37%) hợp chất nêu ở đề mục (V).

Hợp chất indazol alkyl hóa tại N2 có công thức (I) thu được với hiệu suất thậm chí thấp hơn nữa từ (IIa), như được mô tả trong quy trình phản ứng sau:

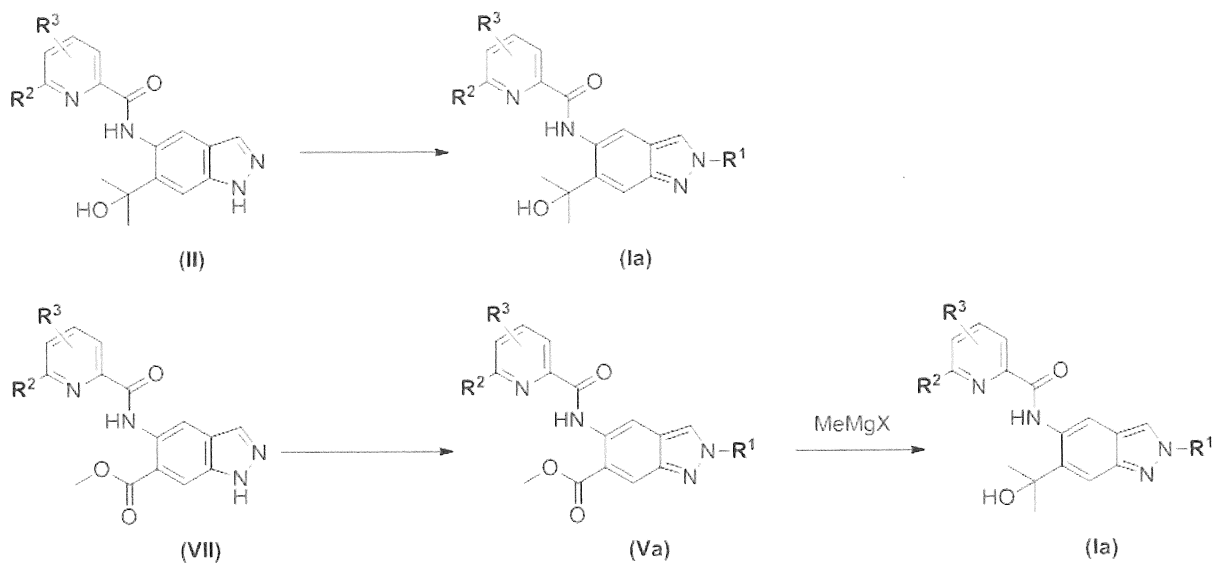
Hỗn hợp của 500mg (1,37mmol) N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa), 569mg kali carbonat và 114mg kali iodua trong 5ml DMF được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Lượng 344mg (1,5 đương lượng) 4-bromo-2-metylbutan-2-ol được bổ sung vào đó và hỗn hợp được gia nhiệt tới 100°C trong 2 giờ. Lượng 0,5 đương lượng khác của 4-bromo-2-metylbutan-2-ol được bổ sung vào đó và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp được kết hợp với nước và được chiết hai lần bằng etyl axetat, và các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa và được lọc qua màng lọc kỵ nước và cô đặc. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp tinh chế sắc ký cột trên silicagel (hexan/etyl axetat). Quy trình này tạo ra 100mg phân đoạn sản phẩm mà được khuấy với dietyl ete. Chất rắn được lọc ra và làm khô. Thu được 60mg hợp chất nêu ở đề mục (I). Tổng sản lượng: 160mg (26%).

HPLC điều chế tiêu thụ chứng tỏ không thể thiếu được việc tách hữu hiệu các chất đồng phân vị trí N1/N2. Quy trình mới theo sáng chế này nhằm để gia tăng hiệu quả tổng hợp trong quy mô lớn và nhằm để tạo thuận lợi cho việc tinh chế (I) và (V) thông qua việc đạt được độ chọn lọc tốt hơn trong các phản ứng alkyl hóa có lợi cho sự thế tại N2 cũng như nhằm để thiết lập một quy trình sản xuất và xử lý an toàn đối với 3-hydroxy-3-metylbutyl 4-metylbenzensulfonat (VI), hợp chất này có xu hướng phân hủy ở nhiệt độ cao hơn và dưới sự tác động của axit và bazơ. Tương tự, các dung môi dễ cháy, như dietyl ete, mà không thích hợp trong điều chế quy mô lớn cần phải tránh.

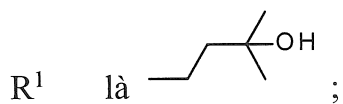


Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế các hợp chất có công thức chung (Ia) từ quá trình alkyl hóa chọn lọc tại N2 trực tiếp của các hợp chất có công thức chung (II) hoặc thông qua quá trình alkyl hóa chọn lọc tại N2 của các hợp chất có công thức chung (VII) dẫn đến các hợp chất trung gian có công thức chung (Va) mà chúng được chuyển

đổi trong bước tổng hợp cuối cùng thành các hợp chất có công thức chung (Ia) bằng việc bổ sung metylmagie halogenua.



trong đó,

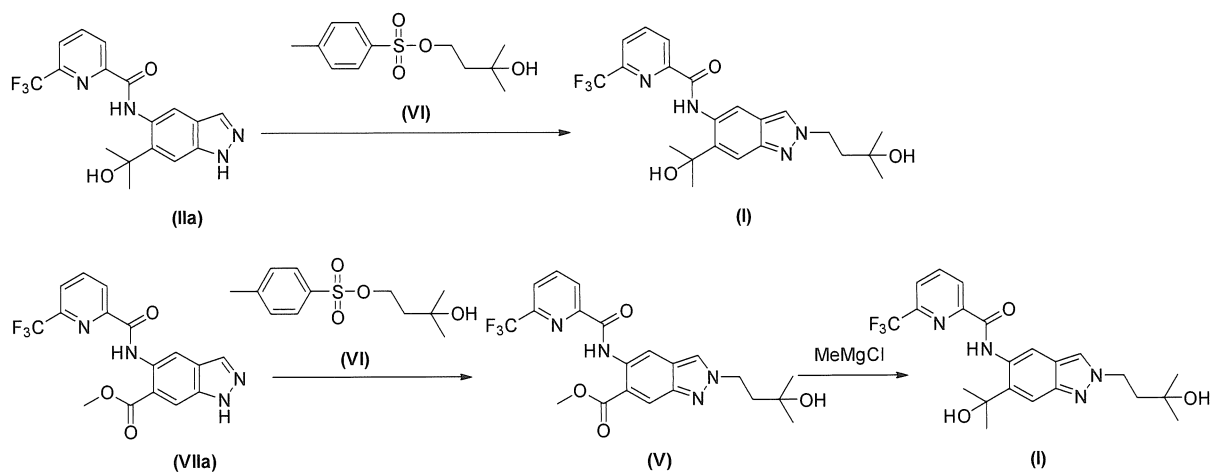


R^2 là diflometyl, triflometyl hoặc metyl; và

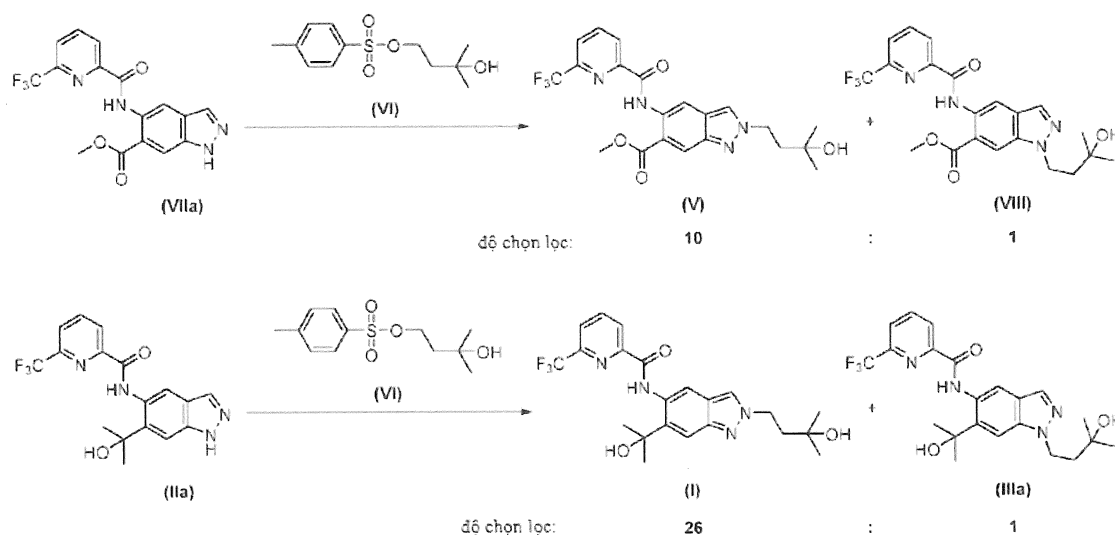
R^3 là hydro, alkyl hoặc flo;

X là F, Cl, Br hoặc I

tốt hơn với R^2 = triflometyl và R^3 = H và X = Cl:



Một cách bất ngờ, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, việc sử dụng 3-hydroxy-3-metylbutyl 4-metylbenzensulfonat (VI) cùng với N,N-diisopropyletylamin làm bazơ trong toluen đã sinh ra các phản ứng alkyl hóa chọn lọc tại N2 rất mạnh đối với các indazol (V) và (IIa). Độ chọn lọc tại N2 trong các phản ứng alkyl hóa này của các indazol tạo nhóm chức phức tạp với alkyl tosylat mang nhóm chức phản ứng là chưa từng xảy ra và do đó, có tính sáng tạo cao. Khi tiến hành phản ứng của các hợp chất có công thức chung (II) hoặc (VII) với 3-hydroxy-3-metylbutyl 4-metylbenzensulfonat (VI) trong dung môi hydrocacbon, như toluen, xylen hoặc clobenzen, với việc bổ sung bazơ hữu cơ, như N,N-diisopropyletylamin hoặc trietylamin, các chất đồng phân N2 (I) và (V) mong muốn thu được với độ chọn lọc rất cao. Một cách ngạc nhiên, độ chọn lọc trong phản ứng alkyl hóa của hợp chất (IIa) với hợp chất (VI) thậm chí còn cao hơn độ chọn lọc quan sát được trong phản ứng alkyl hóa của hợp chất (VIIa).



Đáng chú ý, sự chuyển đổi indazol khởi đầu thành sản phẩm alkyl hóa N2 mong muốn của hợp chất (IIa) cao hơn nhiều so với hợp chất (VIIa). Do đó, tỷ lệ HPLC của sản phẩm alkyl hóa N2 thành indazol khởi đầu khi kết thúc phản ứng chỉ nhỏ hơn 3 : 1 đối với (V) : (VIIa) và 30 : 1 đối với (I) : (IIa) (HPLC). Thú vị là, các tác giả sáng chế

đã phát hiện ra rằng, phản ứng có thể được tiến hành một cách thích hợp thông qua việc bổ sung đồng thời từ từ bazơ hữu cơ và dung dịch của chất alkyl hóa trong dung môi hydrocacbon không phân cực, như toluen, xylene hoặc clobenzen. Đã chứng minh là có lợi khi có lượng dư (ít) bazơ tại mỗi một thời điểm trong khi phản ứng. Phương pháp khác hoạt động thông qua việc bổ sung từ từ dung dịch của chất alkyl hóa trong dung môi không phân cực, như toluen, xylen hoặc clobenzen, vào hỗn hợp của 1H-indazol khởi đầu và lượng dư bazơ hữu cơ (N,N-dicyclohexylamin hoặc trietylamin, tốt hơn N,N-diisopropyletylamin) trong dung môi nêu trên (toluen hoặc xylen) ở nhiệt độ cao ($>100^{\circ}\text{C}$). Phản ứng của hợp chất (VIIa) thành hợp chất (V) tiến hành tốt nhất khi 21 đương lượng của bazơ (N,N-dicyclohexylamin hoặc trietylamin, tốt hơn N,N-diisopropyletylamin) được sử dụng. Hỗn hợp của indazol (VIIa) và bazơ trong toluen (6,5 thể tích) được gia nhiệt tới $100 - 110^{\circ}\text{C}$. Để bảo đảm quy trình an toàn, 5 đương lượng của 3-hydroxy-3-metylbutyl 4-metylbenzensulfonat (VI) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở dạng dung dịch trong 1 thể tích toluen trong thời gian 10 giờ. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, phản ứng được khuấy trong 12 – 18 giờ nữa, (tốt hơn 15 giờ) ở nhiệt độ $100 - 110^{\circ}\text{C}$. Theo cách tùy ý, thời gian khuấy có thể là 14 - 24 giờ (tốt hơn 18 giờ) ở nhiệt độ $100 - 110^{\circ}\text{C}$. Tốt hơn, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ 110°C . Đối với phản ứng của hợp chất (VIIa) thành hợp chất (V), sự chuyển đổi tiến hành ở tỷ lệ trung bình của indazol khởi đầu trên sản phẩm alkyl hóa N2 là 2,8 : 1 (tỷ lệ của % diện tích HPLC). Do đó, cũng để thu hồi indazol khởi đầu chưa chuyển đổi (VIIa), phương pháp sắc ký cột tốt nhất được tiến hành để tinh chế hợp chất (V). Đáng chú ý, phương pháp sắc ký cột có thể được phát hiện là cho phép tinh chế hiệu quả hợp chất (V) tới 99,5% diện tích HPLC và tách làm sạch hợp chất (VIIa) trên phạm vi kg. Hợp chất (V) thu được với tổng sản lượng bao gồm alkyl hóa và bảo đảm bước sắc ký nằm trong khoảng từ 45 đến 47%. Quy trình này được tiến hành trên quy mô kg.

Trong trường hợp chuyển hóa hợp chất (IIa) thành hợp chất (I), các tác giả phát hiện ra rằng, sự chuyển hóa cao đạt được khi 4,0 đương lượng của dung dịch 15-35% khối lượng của 3-hydroxy-3-metylbutyl 4-metylbenzensulfonat (VI) trong toluen được định liều trong thời gian 5 đến 15 giờ (tốt hơn 10 giờ) vào huyền phù của hợp chất (IIa), 4,8 đương lượng của bazơ hữu cơ (tốt hơn N,N-diisopropyletylamin) và toluen ở nhiệt độ hồi lưu của toluen (nhiệt độ bên trong $\geq 110^{\circ}\text{C}$) trong điều kiện áp suất môi trường.

Sau khi hoàn thành việc bổ sung, phản ứng được khuấy trong thời gian 15 giờ đến 24 giờ (tốt hơn 18 giờ) nhằm để giảm thiểu lượng (VI) còn lại trong hỗn hợp.

Hợp chất (V) được chuyển đổi thành hợp chất đích (I) thông qua việc bổ sung methyl magie halogenua. Quy trình sử dụng trong quá trình tổng hợp nghiên cứu về hợp chất (I) được bộc lộ trong tài liệu WO2016/083433, công bố sau ngày ưu tiên của đơn sáng chế này và được mô tả ở đây:

705mg (1,57mmol) methyl 2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-5-({[6-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl]carbonyl}amino)-2H-indazol-6-carboxylat (V) đầu tiên được nạp vào trong 10ml THF và được làm lạnh trong bể làm lạnh bằng nước đá. 2,6ml (5,0 đương lượng) của dung dịch methylmagie bromua 3M trong diethyl ete được bổ sung vào đó và hỗn hợp được để khuấy trong khi làm lạnh bằng bể nước đá trong 1 giờ và ở nhiệt độ trong phòng trong 4,5 giờ. Lượng 1 đương lượng nữa của dung dịch methylmagie bromua được bổ sung vào đó và hỗn hợp được cho khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20,5 giờ. Lượng 1 đương lượng nữa của dung dịch methylmagie bromua được bổ sung vào đó và hỗn hợp được để khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 22 giờ. Hỗn hợp phản ứng được kết hợp với dung dịch nước amoni clorua bão hòa, khuấy và chiết ba lần bằng ethyl axetat. Các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch natri clorua, lọc qua bộ lọc kị nước và cô đặc. Quy trình này tạo ra 790mg phần cặn mà được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế. Quy trình này tạo ra 234mg hợp chất nêu ở đề mục và 164mg phần đoạn sản phẩm mà được khuấy với diethyl ete. Sau khi lọc bằng cách hút tiếp theo là làm khô, thu được thêm 146mg hợp chất nêu ở đề mục.

Tổng sản lượng: 398mg (56%)

Quy trình này không thích hợp trong sản xuất quy mô lớn do bởi các lý do sau:

- Việc sử dụng diethylete cần phải tránh vì điểm cháy của nó thấp và khả năng cháy nổ của nó cao.
- Methylmagie bromua tương đối đắt được sử dụng thay cho methylmagie clorua phổ biến hơn, là chất dễ kiếm được hơn.
- Tổng thời gian phản ứng là rất dài (47 giờ!)
- Phản ứng được kèm theo bằng sự hình thành nhiều sản phẩm phụ không mong muốn, do đó HPLC điều chế cần phải được sử dụng để tinh chế.

- Nên tránh việc tách bằng sắc ký trên quy mô kỹ thuật, vì việc tách này thường đòi hỏi tiêu thụ các dung môi hữu cơ không kinh tế.
- Không có quy trình kết tinh nào được mô tả. Theo thực tiễn thông thường trong phòng thí nghiệm nghiên cứu, hợp chất có công thức (V) được làm bay hơi cho đến trạng thái khô. Quy trình này không khả thi trên quy mô kỹ thuật.

Một cách bất ngờ, các tác giả phát hiện ra rằng, hợp chất (V) có thể được điều chế với hiệu suất cao hơn đáng kể khi metylmagie clorua trong THF được sử dụng thay thế. Phản ứng diễn ra với ít sản phẩm phụ hơn mà, sử dụng phương pháp nghiên cứu như được bộc lộ trong tài liệu WO2016/083433, các sản phẩm phụ này cần phải được loại bỏ thông qua HPLC điều chế. Phản ứng được phát hiện xảy ra tốt nhất với dung môi là THF. 6 đương lượng metylmagie clorua (khoảng 3M trong THF) được khuấy và duy trì ở nhiệt độ từ -10 đến -15°C. Trong thời gian 1 đến 2 giờ (tốt hơn 1,75 giờ), hợp chất (V) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp ở dạng dung dịch trong THF. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ xác định. Hỗn hợp phản ứng lạnh sau đó được là dừng bằng cách định lượng vào trong dung dịch nước của axit xitric. Khuấy mạnh hỗn hợp thu được. Tách riêng các pha. Pha nước được chiết bằng etyl axetat. Các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước. Tiến hành thay đổi dung môi sang etanol. Làm ấm dung dịch thu được đến nhiệt độ 31 – 32°C và khuấy. Sản phẩm thô được kết tinh bằng cách bổ sung nước trong thời gian 1 giờ. Sau đó, làm mát huyền phù thu được xuống nhiệt độ 20°C trong 1 giờ và sản phẩm thô được phân tách bằng cách lọc và rửa bằng hỗn hợp của etanol và nước. Làm khô sản phẩm thô.

Để tinh chế, sản phẩm được cho tinh chế thêm sử dụng hỗn hợp của axeton/toluen 1:9. Nguyên liệu thô được hòa tan trong hỗn hợp này ở nhiệt độ khoảng 80°C. Dung dịch được làm mát xuống nhiệt độ 55°C. Đã chứng minh là có lợi khi bổ sung các tinh thể mầm ở nhiệt độ này. Làm lạnh thêm huyền phù tạo ra xuống nhiệt độ 20°C trong 2 giờ, sản phẩm được lọc ra, rửa bằng hỗn hợp của axeton/toluen 1:9 và toluen và làm khô.

Để thu được dạng tinh thể xác định, sản phẩm được cho kết tinh với etanol và nước tương tự như quy trình mô tả ở trên. Sử dụng quy trình này, hợp chất mong muốn

(I) thu được có độ tinh khiết cao ($>97\%$ diện tích HPLC; $>96\%$ hàm lượng) và hiệu suất tốt (55 - 77%). Đáng chú ý, hiệu suất cao hơn (72 và 77 %) khi phản ứng thực hiện trên quy mô lớn hơn (kg).

Đáng chú ý, các tác giả phát hiện ra rằng, phản ứng alkyl hóa của hợp chất (IIa) thành hợp chất (I) thu được kết quả tốt nhất khi chỉ 4,5 đến 6 đương lượng bazơ (N,N-dicyclohexylamin hoặc triethylamin, tốt hơn N,N-diisopropyletylamin) được sử dụng. Các tác giả cũng đã phát hiện ra rằng, việc bổ sung đồng thời và từ từ dung dịch của hợp chất (VI) trong toluen (15-40% khối lượng; tốt hơn 25% khối lượng) được chứng minh là có lợi. Khi việc bổ sung được tiến hành một cách đồng thời, lượng dư nhỏ của bazơ cần phải có mặt trong hỗn hợp phản ứng để quá trình alkyl hóa tiến hành tốt nhất. Cũng có thể bổ sung một cách từ từ dung dịch của hợp chất (VI) trong dung môi hydrocacbon không phân cực, đặc biệt là toluen, vào hỗn hợp của hợp chất (IIa) và bazơ hữu cơ trong cùng dung môi hydrocacbon không phân cực. Đối với phản ứng này, dung dịch toluen của hợp chất (VI) đã được điều chế theo quy trình tối ưu liên quan đến độ an toàn và việc xử lý, vì hợp chất (VI) có xu hướng phân hủy tỏa nhiệt. Do đó, hợp chất (IIa) được tạo huyền phù trong toluen (khoảng 6,5 thể tích) và được gia nhiệt tới 100°C đến $\geq 112^{\circ}\text{C}$ (tốt hơn nhiệt độ hồi lưu của toluen làm nhiệt độ bên trong). Sau khi hoàn thành việc bổ sung, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ 100°C đến $\geq 112^{\circ}\text{C}$.

Sau khi hoàn thành việc bổ sung, phản ứng được khuấy trong thời gian từ 15 đến 24 giờ, tốt hơn 18 giờ, để giảm thiểu lượng dư còn lại của chất alkyl hóa (VI). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được mát xuống nhiệt độ 40°C và được cô đặc trong điều kiện chân không.

Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ 40°C và được cô đặc. Trình tự chiết pha tiếp theo sử dụng etyl axetat, hỗn hợp của axit axetic/ nước, và nước. Pha hữu cơ được cô đặc và dung môi được đổi thành isopropanol. Sản phẩm mong muốn (I) được kết tinh thông qua việc bổ sung nước từ từ. Trong một số trường hợp, đã chứng minh được là có lợi nếu tạo mầm tinh thể hỗn hợp này bằng các lượng nhỏ tinh thể để đạt được sự kết tinh hiệu quả. Sau khi khuấy huyền phù tạo ra trong thời gian dài, sản phẩm được phân tách bằng cách lọc, rửa bằng hỗn hợp của isopropanol và nước, và sau

cùng là nước. Sản phẩm được làm khô ở nhiệt độ 50-60°C trong điều kiện chân không điển hình dẫn đến hiệu suất 60 – 90%. Độ tinh khiết của sản phẩm thô thường nằm trong khoảng từ 76 đến 89% (% diện tích HPLC; phương pháp D) (hàm lượng 70 đến 90% khối lượng) với ít hơn 6% (HPLC) chất đồng phân vị trí N1. Tuy nhiên, bước xử lý này đã chứng tỏ khó xử lý trên quy mô lớn (1,2 kg), vì hàm lượng sản phẩm thấp hơn so với hàm lượng thu được ban đầu ở quy mô phòng thí nghiệm (giảm xuống 61% khối lượng; 71% diện tích HPLC; phương pháp C; 76% diện tích HPLC; phương pháp D).

Sản phẩm thô có thể được tinh chế thông qua quy trình kết tinh lặp đi lặp lại từ hỗn hợp toluen/axeton tương tự quy trình kết tinh được áp dụng sau phản ứng của hợp chất (V) thành hợp chất (I). Ở đây, các tác giả đã phát hiện ra là có lợi khi bổ sung than hoạt tính (0,1 - 0,4 đương lượng) để đạt được các kết quả tối ưu. Do đó, hợp chất (I) thu được với độ tinh khiết từ 95 đến >99% diện tích HPLC.

Việc điều chế nguyên liệu cGMP mà nguyên liệu này cũng sẽ được sử dụng trong các thử nghiệm lâm sàng đòi hỏi việc tinh chế bổ sung. Ngoài ra, vì thành phần được chất sẽ được sử dụng để sản xuất viên nén, nên quy trình cần phải cung cấp dạng tinh thể đồng nhất có thể sản xuất được. Một cách bất ngờ, dạng tinh thể xác định có thể được thiết lập thông qua quy trình tái kết tinh bằng etanol và nước. Để lọc cGMP, hợp chất trước tiên được hòa tan trong etanol được đưa qua thiết bị lọc phần tử và sau đó, được kết tinh bằng việc bổ sung nước. Sản phẩm tinh khiết thông thường thu được với hiệu suất 35 - 56% có độ tinh khiết và hàm lượng cao.

Vì quy trình xử lý mô tả ở trên dẫn đến sự dao động về hàm lượng khi được áp dụng trên quy mô lớn hơn, nên các tác giả đã tìm kiếm quy trình xử lý và tinh chế hiệu quả hơn.

Một cách bất ngờ, các tác giả phát hiện ra rằng, n-butyl axetat được chứng minh là phù hợp làm dung môi để tinh chế hiệu quả thông qua quy trình kết tinh hợp chất (I) thô. Do đó, n-butyl axetat được sử dụng vừa làm dung môi trong quy trình xử lý chiết và vừa làm dung môi để kết tinh. Quá trình kết tinh được tiến hành sử dụng chu kỳ âm-lạnh, đặc biệt chu trình thu được nguyên liệu mà có thể được xử lý một cách dễ dàng để lọc. “Chu kỳ âm - lạnh” nêu trên có nghĩa là, nguyên liệu thô được hòa tan trong n-butyl axetat ở nhiệt độ khoảng 93°C, duy trì ở nhiệt độ này trong 1 giờ, sau đó làm mát xuống

83°C trong 30 phút. Nguyên liệu khởi đầu kết tinh ở nhiệt độ này, tùy ý các tinh thể mầm được bổ sung. Huyền phù tạo ra được khuấy trong 10 phút và sau đó được làm mát xuống 60°C trong 2 giờ. Ở nhiệt độ này, huyền phù được khuấy trong ít nhất 30 phút trước khi nó được làm ấm lên 78°C trong 30 phút. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ này trong ít nhất 30 phút, trước khi nó được làm mát xuống 22°C trong 6 giờ. Huyền phù tạo ra có thể được lọc một cách dễ dàng. Chu kỳ ấm - lạnh đã chứng minh là cần thiết để thu được nguyên liệu có thể lọc được một cách dễ dàng. Sử dụng quy trình này, hợp chất (I) thu được có độ tinh khiết cao (>97% diện tích) và hiệu suất >50%. Quy trình này được thực hiện một cách thành công trên quy mô 1 kg và 18 kg.

Để đạt được chất lượng cGMP (current Good Manufacturing Practice) bằng cách làm giảm lượng hợp chất (VI) gây độc tiềm tàng cho gen ở sản phẩm cuối cùng là hợp chất (I) tới mức có thể chấp nhận được (<20 ppm) và để thu được dạng tinh thể xác định, hợp chất (I) được hòa tan trong etanol ở nhiệt độ 55°C và dung dịch được cho tiến hành lọc gạn. Sau đó, dung dịch được gia nhiệt tới 65°C và nước được bổ sung trong chế độ thời gian, chế độ thời gian này tương tự như được mô tả bởi phương trình toán học của đường cong định lượng thể tích* (lượng nước bổ sung so với thời gian bổ sung):

$$m(t) = (m_{total}) \times \left(\frac{t}{t_B}\right)^3 + m_{start},$$

trong đó

$m(t)$ = lượng H₂O so với thời gian bổ sung [kg]

m_{total} = tổng lượng của H₂O bổ sung thông qua việc bổ sung khối [kg]

m_{start} = lượng nước có mặt trước khi bắt đầu bổ sung khối [kg]

t = thời gian [h]

t_B = tổng thời gian bổ sung [h].

* Nguyên lý của đường cong định lượng thể tích được mô tả bởi *S. Kim et al. in Org. Process Res. Dev.* 2005, 9, 894.

Việc bổ sung nước vào dung dịch của hợp chất (I) trong etanol ở nhiệt độ 65°C trong chế độ thời gian mô tả ở trên (“đường cong định lượng thể tích”) dẫn đến các phần tử sản phẩm mà được mô tả đặc trưng bởi các kích thước tinh thể lớn đáng kể (xem trong fig. 7) và sự phân bố cỡ hạt xác định so với các phần tử sản phẩm thu được sau khi bổ sung nước ở cùng nhiệt độ (65°C), nhưng trong chế độ thời gian được mô tả bởi phương trình của hàm tuyến tính ($y = a \cdot x \cdot z + b$), tức là “bổ sung nước tuyến tính”.

Sau khi hoàn thành việc bổ sung tổng lượng nước và khuấy thêm ở nhiệt độ 65°C, huyền phù được làm lạnh xuống 20°C. Phần kết tủa được lọc ra và rửa bằng hỗn hợp của nước và etanol và làm khô. Các phần tử kết tinh thu được có hình dạng xác định và các đặc tính mong muốn cần thiết trong phối chế dược phẩm, như viên nén (xem trong phần thực nghiệm: XRPD Reflexes) có độ tinh khiết cao (>97% diện tích) và hiệu suất cao (>90%).

Quy trình kết tinh mới mang lại các lợi ích về xử lý lọc và hoạt động của nguyên liệu tinh thể thu được theo phương thức mô tả ở trên (“đường cong định lượng thể tích”). Do đó, các tinh thể thu được bằng quy trình kết tinh “đường cong định lượng thể tích” thể hiện các đặc tính lọc tuyệt vời, như lượng độ ẩm dư thấp ($w_F = 28\%$ khối lượng) sau khi lọc, tính kháng bánh lọc thấp hơn ($\alpha = 2,1 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-2}$) và lưu lượng thể tích cao hơn đáng kể ($v_F = 12,484 \text{ l/m}^2\text{h}$) so với các tinh thể thu được bằng quy trình kết tinh “bổ sung nước tuyến tính” ($w_F = 37\%$ khối lượng; $\alpha = 8,6 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-2}$; $v_F = 3,306 \text{ l/m}^2\text{h}$). Các giá trị α - và v_F - được xác định trong một thử nghiệm lọc chuẩn hóa tương tự như trong tài liệu hướng dẫn VDI 2762 Phần 2 công bố tháng 12 năm 2010. Độ ẩm dư được xác định trong lò sấy khô (nhiệt chân không Heraeus, 30 mbar, 50°C, qua đêm) và có bộ phận phân tích độ ẩm halogen HG53 (Mettler Toledo) ở nhiệt độ 120°C.

Ngoài ra, các tinh thể thu được có thể được xác định bằng sự phân bố cỡ hạt đặc trưng x_{90} : 7,7-9,7 μm ; x_{50} : 2,7-3,2 μm ; x_{10} : 0,9-1,0 μm .

Ngược lại, các tinh thể thu được bằng “bổ sung nước tuyến tính” được xác định bằng sự phân bố cỡ hạt x_{90} : 7,7-9,7 μm ; x_{50} : 2,7-3,2 μm ; x_{10} : 0,9-1,0 μm .

Các số đo sử dụng phổ biến nhất khi mô tả sự phân bố cỡ hạt là các giá trị x - (x_{10} , x_{50} & x_{90}), các giá trị này là các khoảng chặn đối với 10%, 50% và 90% các giá trị khối lượng lũy tích. x - có thể được coi là đường kính của hình cầu mà phân chia các

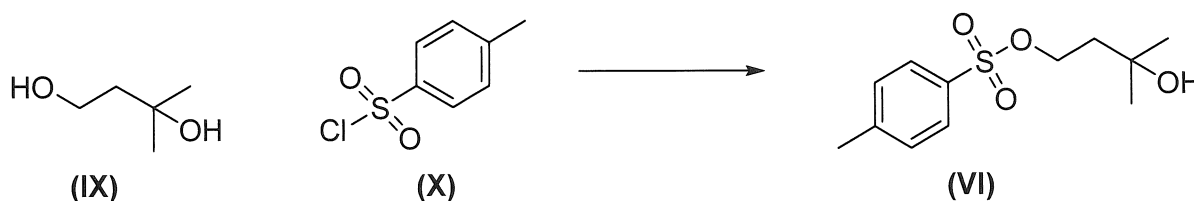
khối lượng mẫu thành tỷ lệ % đặc trưng khi các hạt được sắp xếp trên cơ sở khối lượng tăng dần. Ví dụ, x10 là đường kính mà tại đó, 10% khối lượng mẫu được bao gồm các hạt có đường kính nhỏ hơn giá trị này. x50 là đường kính của hạt mà 50% khối lượng mẫu là nhỏ hơn và 50% khối lượng mẫu là lớn hơn.

Quy trình này rất tương thích với các quy mô kỹ thuật.

Sản phẩm mà thu được từ quy trình kết tinh này có các đặc tính mong muốn cần thiết trong điều chế được phẩm, như viên nén (xem trong phần thử nghiệm: XRPD Reflexes). Nguyên liệu tinh thể thu được bằng quy trình kết tinh mô tả ở trên thể hiện độ ổn định tốt khi bảo quản. Nó cũng có thể dễ dàng được micro hoá mà không làm mất các đặc tính tinh thể của nó.

Cần nhấn mạnh rằng, quá trình alkyl hóa chọn lọc tại N2 của indazol được tạo nhóm chức phức tạp sử dụng chất alkyl hóa mang các nhóm chức phản ứng ngoài nhóm rời chuyển ra là mới, chưa hề có tiền lệ trong tài liệu chuyên ngành và do đó, sáng chế có ý nghĩa cao về mặt khoa học để điều chế các kiểu thay thế này.

Trong các phản ứng alkyl hóa không chọn lọc trước đây, 4-bromo-2-metylbutan-2-ol (CAS No. 35979-69-2) được sử dụng làm chất alkyl hóa. Lượng lớn hơn của nguyên liệu này là khó thực hiện, do đó hợp chất này không phải là lựa chọn khả thi theo quy mô. Do đó, các tác giả sáng chế đã quyết định thay đổi sang tosylat (VI) tương ứng (CAS No. 17689-66-6), chất này có thể được điều chế từ các hợp chất có sẵn là 3-metylbutan-1,3-diol (IX) (CAS No. 2568-33-4) và p-toluensulfonyl clorua (X) (CAS No. 98-59-9).



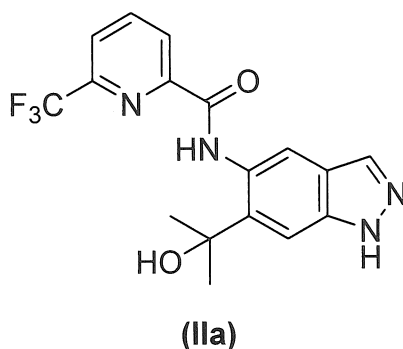
Đáng chú ý là, các tác giả đã phát hiện ra rằng, phản ứng có thể được thực hiện ở nồng độ rất cao của hợp chất (IX) trong diclometan (tổng cộng: 5,8 - 6 thể tích). Hợp chất (IX) trước tiên được trộn với triethylamin và 4-dimethylaminopyridin (CAS No. 1122-

58-3) trong diclometan (2 thể tích) ở nhiệt độ 20 - 25°C. Hỗn hợp phản ứng này được làm lạnh xuống 0±5°C. Dung dịch của hợp chất (X) trong diclometan (2 - 2,1 thể tích) được bổ sung trong thời gian 75 - 90 phút. Phản ứng được làm ấm lên nhiệt độ môi trường (20 - 25°C) và được khuấy trong 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ). Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng nước. Độ pH được hiệu chỉnh tới 1,5 - 2. Tách riêng các pha. Dung dịch nước NaCl bão hòa được bổ sung vào pha hữu cơ và độ pH được hiệu chỉnh tới 7 - 7,5 sử dụng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa. Các pha được tách và pha hữu cơ được cô đặc sử dụng thiết bị làm bay hơi kiểu quay. Trên quy mô kỹ thuật (1,5 kg nguyên liệu khởi đầu (IX)), các lượng xác định định lặp đi lặp lại của diclometan được bổ sung vào phần còn lại và được làm bay hơi để loại bỏ phần nước còn lại. Hợp chất thu được ở dạng dầu nhớt từ màu vàng nhạt sang không màu với hiệu suất từ 90 - 98 % và độ tinh khiết điển hình khoảng 90% diện tích HPLC.

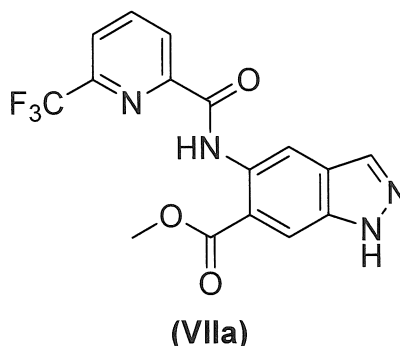
Đáng chú ý, các phép đo DSC về (VI) cho thấy rằng, hợp chất có xu hướng phân hủy tỏa nhiệt ở nhiệt độ khoảng 100°C. Các axit và chất phụ gia như chất gi được chứng minh là thúc đẩy nhanh quá trình phân hủy này. Do đó, cần phải tìm ra quy trình để thực hiện và an toàn hơn để điều chế hợp chất (VI). Một cách bất ngờ, các tác giả sáng chế đã khám phá ra rằng, hợp chất (VI) có thể được điều chế trực tiếp ở dạng dung dịch cô đặc (15-40% khối lượng) trong toluen ở nhiệt độ thấp. Do đó, hợp chất (IX) được nhũ tương hóa trong 1,5 thể tích toluen. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C và 1,1 đương lượng triethylamin được bổ sung, tiếp theo bằng 0,05 đương lượng 4-dimethylaminopyridin. Dung dịch cô đặc cao của hợp chất (X) trong toluen (1,6 thể tích) được nhỏ giọt vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 2 giờ. Tiếp tục khuấy trong thời gian 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ) ở nhiệt độ 0°C. Phần kết tủa (triethylamoni clorua) được lọc ra và thu được dung dịch trong màu của hợp chất (IV) trong toluen. Đáng chú ý, dung dịch này có thể được sử dụng trực tiếp trong phản ứng alkyl hóa chọn lọc tại N2 mà không cần xử lý hoặc tinh chế thêm. Quy trình này tránh được sự tiếp xúc của hợp chất (VI) với nhiệt, axit và lượng dư bazơ lớn. Vì dung dịch toluen của hợp chất (VI) được chụp và sử dụng trực tiếp sau khi lọc trong phản ứng alkyl hóa chọn lọc tại N2 của hợp chất (IIa) thành hợp chất (I), đã chứng minh được điều cốt yếu đối với độ tinh khiết cuối cùng của hợp chất (I) để đáp ứng các yêu cầu về độ tinh khiết cGMP là ở chỗ, lượng dư chút ít của 3-metylbutan-1,3-diol (IX) đối với p-

toluensulfonyl clorua (X) được sử dụng trong sản xuất dung dịch của hợp chất (VI) và bảo đảm rằng, chỉ những lượng rất nhỏ của hợp chất (X) ($<0,05\%$ diện tích, HPLC) vẫn có mặt trong dung dịch. Để có được sự kiểm soát tốt nhất có thể về hệ số tỷ lệ của hợp chất (IX) so với hợp chất (X), có thể có lợi khi cho hợp chất (IX) hút ẩm tương đối trong bước thứ nhất tiến hành chưng cất đồng sôi với toluen để loại bỏ nước.

Việc điều chế các hợp chất có công thức chung (II) được mô tả trong tài liệu WO 2015/091426. Quy trình sáng chế mới này tập trung vào hợp chất được thể hiện bởi công thức (IIa):



Trong WO 2015/091426, hợp chất (IIa) được mô tả có thể điều chế bằng phản ứng của methyl este (VIIa) với dung dịch của methylmagie bromua trong diethylete.



Sau khi xử lý, sản phẩm thô được cho tiến hành tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột tạo ra hợp chất (IIa) với hiệu suất 45%.

Quy trình này không thích hợp để tạo ra hợp chất (IIa) trên quy mô kỹ thuật do các hạn chế sau:

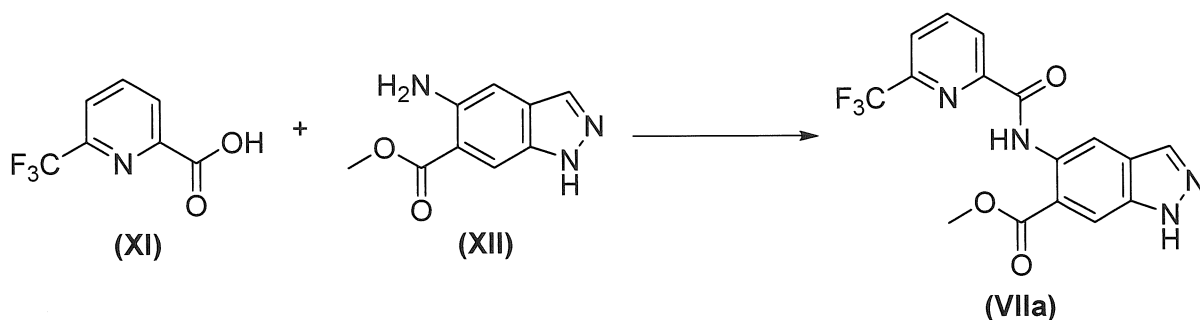
- Việc sử dụng diethylete cần phải tránh vì điểm cháy của nó thấp và khả năng cháy nổ của nó cao.
- Metylmagie bromua tương đối đắt được sử dụng thay cho metylmagie clorua phổ biến hơn, là chất dễ kiếm được hơn.
- Việc tách bằng sắc ký là nên tránh trên quy mô kỹ thuật do nó thường yêu cầu tiêu thụ một lượng lớn hữu cơ dung môi không kinh tế.
- Không có quy trình kết tinh hoá nào được mô tả. Theo thực tiễn thông thường trong phòng thí nghiệm nghiên cứu, hợp chất có công thức (IIa) được làm bay hơi cho đến trạng thái khô. Quy trình này không khả thi trên quy mô kỹ thuật.

Một cách bất ngờ, đã phát hiện ra rằng, hợp chất (IIa) có thể được điều chế với hiệu suất cao hơn đáng kể khi metylmagie clorua và lithi clorua (2:1) trong THF được sử dụng thay thế. Phản ứng được tiến hành với ít sản phẩm phụ mà, sử dụng phương pháp cũ mô tả trong tài liệu WO 2015/091426, cần phải được loại bỏ bằng phương pháp sắc ký cột. Phản ứng được phát hiện xảy ra tốt nhất với dung môi là THF. 6-10 đương lượng metylmagie clorua (khoảng 3M trong THF) và 3-5 đương lượng lithi clorua được khuấy và duy trì ở nhiệt độ -10 đến 0°C. Trong thời gian 1 - 3 giờ (tốt hơn là 2 giờ), hợp chất (VIIa) được nhỏ giọt vào hỗn hợp ở dạng dung dịch trong THF. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian từ 5 đến 30 phút ở nhiệt độ xác định và sau đó, được làm dừng bằng cách rót vào trong nước. Khuấy mạnh hỗn hợp thu được. Sau đó, độ pH của hỗn hợp được hiệu chỉnh tới khoảng 4,0 bằng cách bổ sung axit khoáng hoặc axit hữu cơ (tốt hơn là axit xitric) và etyl axetat được bổ sung. Tách các pha và pha hữu cơ được rửa vài lần bằng nước muối (dung dịch nước natri clorua). Dung dịch hữu cơ thu được được cho đổi dung môi bằng toluen bằng cách chưng cất. Trong quá trình này, hợp chất (IIa) bắt đầu kết tinh và có thể được tách bằng cách lọc. Phần kết tủa được sấy khô ở nhiệt độ cao (50 -60°C) trong chân không. Một cách điển hình, hiệu suất ở giai đoạn này nằm trong khoảng từ 80 đến 96% và độ tinh khiết nằm trong khoảng từ 95 đến 99% diện tích HPLC; phương pháp A, xem trong phần thực nghiệm).

Để điều chế nguyên liệu cGMP, đã chứng minh được là có lợi khi sau cùng khuấy sản phẩm này trong hỗn hợp của isopropanol/nước (1:1; 2 đến 10 thể tích so với nguyên liệu đầu vào). Nguyên liệu được khuấy trong thời gian 1 đến 5 giờ, tốt hơn là 3 giờ. Sau đó, được lọc và rửa hai lần bằng các lượng nhỏ hỗn hợp 1:1 isopropanol/nước. Sản phẩm được làm khô ở nhiệt độ cao (50 - 60°C) trong điều kiện chân không. Một cách điển hình, có thể đạt được hiệu suất >90% và độ tinh khiết >97% diện tích (HPLC; phương pháp A).

Trong các ví dụ sau trong phần thử nghiệm, biến thể (xem ví dụ #2, biến thể #3) cũng được mô tả trong đó, sau khi xử lý bằng than hoạt tính, tiến hành việc đổi dung môi trực tiếp thành isopropanol. Sản phẩm được kết tinh bằng cách bổ sung nước. Theo cách này, sản phẩm thu được trực tiếp với độ tinh khiết rất cao.

Việc điều chế hợp chất (VIIa) cũng đã được mô tả trong WO 2015/091426. Theo đó, axit 6-(triflometyl)pyridin-2-carboxylic (XI) (CAS No.: 21190-87-4) được kết hợp với anilin (XII) (metyl-5-amino-1H-indazol-6-carboxylat; CAS No.: 1000373-79-4) sử dụng 1-[bis(dimethylamino)metylen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridini 3-oxit hexaflorophosphat (CAS No.: 148893-10-1) làm chất liên hợp. Amit (VIIa) thu được với hiệu suất 84%.



Vì lý do an toàn, việc gia tăng quy mô của chất phản ứng liên hợp gốc uroni là không thể vì lý do tiềm ẩn gây nổ của nó. Do đó, cần phải tìm ra phương pháp liên hợp khác. Phương pháp an toàn và có thể thay đổi quy mô để điều chế amit (VIIa) được dựa vào việc sử dụng T3P (2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphorinan-2,4,6-trioxit; CAS số: 68957-94-8) làm chất liên hợp.

Phản ứng diễn ra một cách trôi chảy và tạo ra amit (VIIa) với hiệu suất cao. Trong quy trình một bình, axit carboxylic (XI) (được sử dụng tốt nhất với lượng hợp chất (XI) thiếu một chút so với anilin (XII), khoảng 0,90-0,95 đương lượng) được đưa vào cùng với 1,5 đương lượng N,N-diisopropyletylamin trong 7 đến 16 thể tích THF. Sau đó, 2 đương lượng T3P (dung dịch 50% khối lượng trong etyl axetat) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ 0 đến 5°C trong thời gian 45 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm trong 2 đến 4 giờ (tốt hơn là 2 giờ) ở nhiệt độ 0 đến 5°C.

Sau đó, hỗn hợp lạnh được làm dừng bằng nước (lạnh), độ pH của nó được hiệu chỉnh bằng dung dịch nước natri carbonat hoặc theo cách khác, bằng dung dịch amoni hydroxit tới 7,5. Sau đó, huyền phù tạo ra (khi chỉ 7 thể tích THF được sử dụng trong phản ứng) được làm ấm lên nhiệt độ môi trường và được lọc. Sản phẩm được rửa bằng nước và etanol và được làm khô trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 45°C. Trong trường hợp 16 thể tích THF, hỗn hợp THF/etyl axetat được chưng cất ra (200 mbar, nhiệt độ bên trong 45-50°C). Sau đó, nước và etanol được bổ sung vào đó và độ pH được hiệu chỉnh tới 7,0 bằng cách bổ sung dung dịch nước natri carbonat. Hỗn hợp được khuấy 1 đến 5 giờ, tốt hơn 1 đến 2 giờ, ở nhiệt độ 50°C, sau đó được làm lạnh xuống 20 đến 25°C và được khuấy trong 10 đến 30 phút. Sản phẩm được tách bằng cách lọc và sau đó rửa bằng hỗn hợp của etanol và nước và sau cùng, làm khô trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 45°C. Bằng quy trình này, điển hình có thể đạt được hiệu suất cao từ 84 đến 96%. Độ tinh khiết trong mọi trường hợp đều >98% diện tích (HPLC; các phương pháp A & B).

Trong một số trường hợp, nhất là khi anilin (XII) có chất lượng quang học kém (ví dụ, màu nâu sẫm) được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu, đã chứng minh được là hữu ích nếu thực hiện việc xử lý bằng than hoạt tính. Quy trình này được mô tả trong phần sau:

Amit thô (VIIa) được hòa tan trong hỗn hợp của metanol và THF (2:1) và than hoạt tính được bổ sung. Hỗn hợp được gia nhiệt tới nhiệt độ 60 đến 65°C trong 1 đến 1,5 giờ. Than hoạt tính được lọc ra và phần dịch lọc được cô đặc (xuống còn 2 thể tích so với nguyên liệu đầu vào). Nước được bổ sung vào đó và sản phẩm được kết tủa, lọc, rửa và làm khô ở nhiệt độ 55 đến 60°C (trong điều kiện chân không).

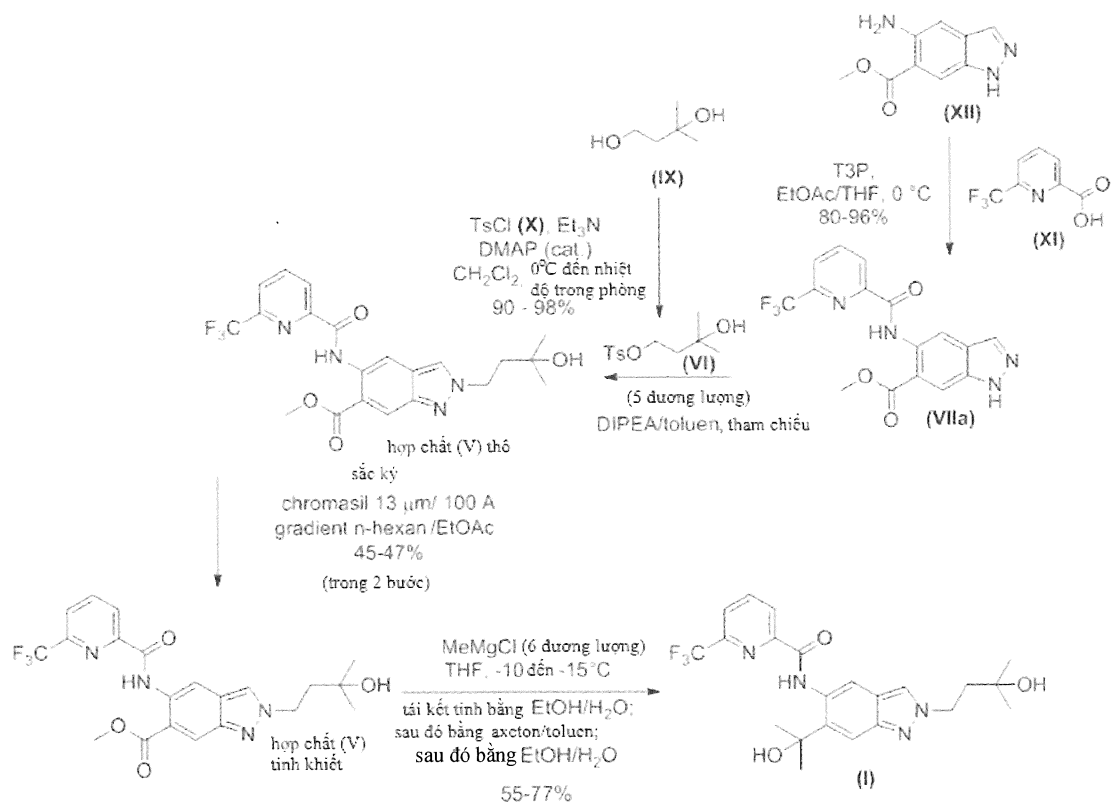
Các hợp chất (XI) và (XII) đã được thông báo trong tài liệu chuyên ngành và cả hai đều có sẵn trên thị trường với lượng lớn.

XI: Cottet, Fabrice; Marull, Marc; Lefebvre, Olivier; Schlosser, Manfred, European Journal of Organic Chemistry, 2003 , 8 p. 1559 – 1568; Carter, Percy H.; Cherney, Robert J.; Batt, Douglas G.; Duncia, John V.; Gardner, Daniel S.; Ko, Soo S.; Srivastava, Anurag S.; Yang, Michael G. Patent: US2005/54627 A1, 2005 ; Ashimori; Ono; Uchida; Ohtaki; Fukaya; Watanabe; Yokoyama Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1990 , vol. 38, 9 p. 2446 – 2458.

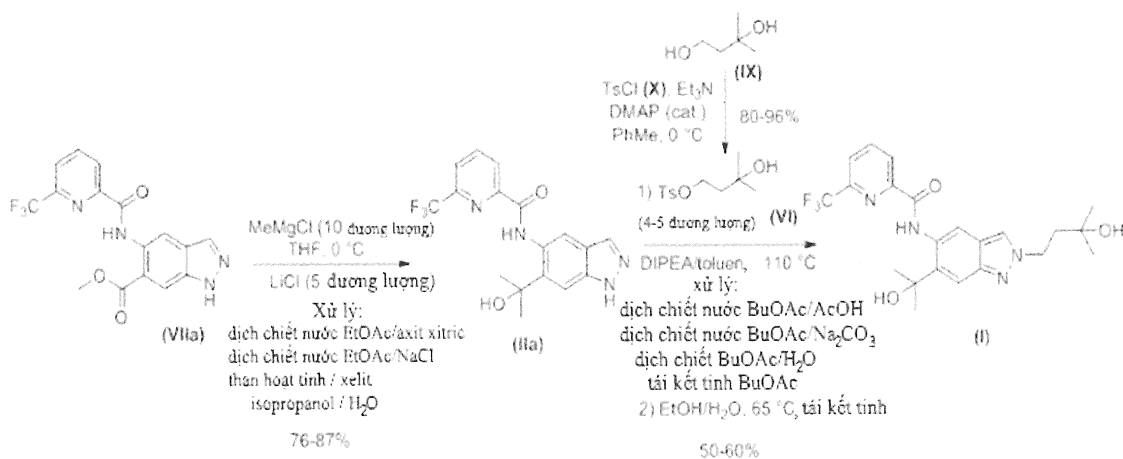
XII: Nissan Chemical Industries, Ltd.; CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA, EP2045253 A1, 2009.

Đánh giá toàn bộ quy trình:

Các sơ đồ sau mô tả toàn bộ quá trình tổng hợp sản phẩm tinh khiết hợp chất (I) từ anilin (XII). Khi tính toán với hiệu suất tốt nhất đạt được đối với mỗi một bước, tổng hiệu suất trung bình xấp xỉ 35% thu được đối với con đường thông qua việc điều chế chọn lọc tại N2 của hợp chất (V). Quy trình này cũng bao gồm việc tạo thành dạng tinh thể cuối cùng.



Con đường tổng hợp thông qua (IIa) hoàn toàn tránh được bước tinh chế sắc ký cột và tạo ra hợp chất mong muốn (I) với độ tinh khiết rất cao (>98% diện tích; phương pháp C) và dạng và kích thước tinh thể kim xác định (xem fig.7). Tổng hiệu suất cao hơn so với tổng hiệu suất thu được sau khi sử dụng con đường tổng hợp thông qua hợp chất (V): tổng hiệu suất trung bình xấp xỉ là 42%.



Khi so sánh các tổng hiệu suất này với dữ liệu công bố trước đây trong lĩnh vực về

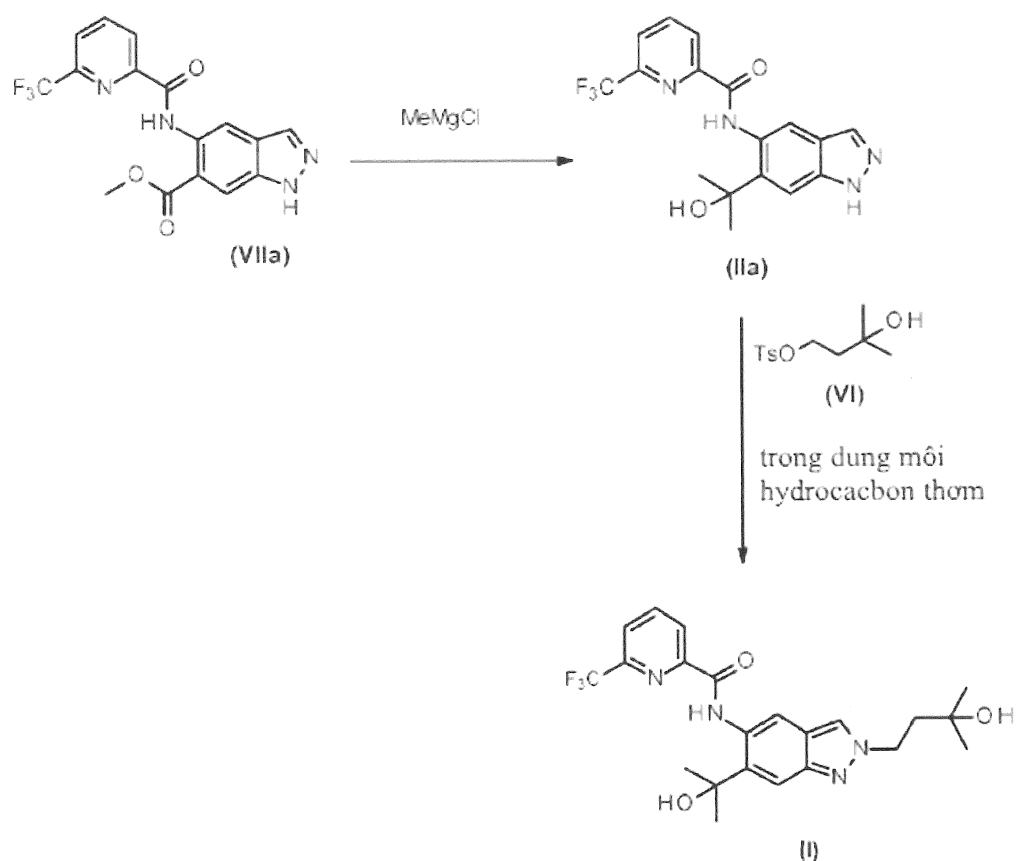
1. sự liên hợp amit (điều chế hợp chất VI): hiệu suất 84 %;
2. phản ứng Grignard tiếp theo là tinh chế bằng sắc ký: phản ứng Grignard đối với hợp chất (VIIa): hiệu suất 45%; đối với hợp chất (V): hiệu suất 56%.
3. alkyl hóa với 4-bromo-2-metylbutan-2-ol tương tự như các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, tiếp theo bằng cách tinh chế sắc ký: alkyl hóa hợp chất (VIIa): hiệu suất 37%; alkyl hóa hợp chất (IIa): hiệu suất 26%,

các lợi ích của quy trình mới trở nên rất rõ ràng:

Với phương pháp trước đây, tổng hiệu suất chỉ nằm trong khoảng 9,8 đến 17,4% có thể đạt được với việc không bao gồm tạo ra dạng tinh thể kim cuối cùng.

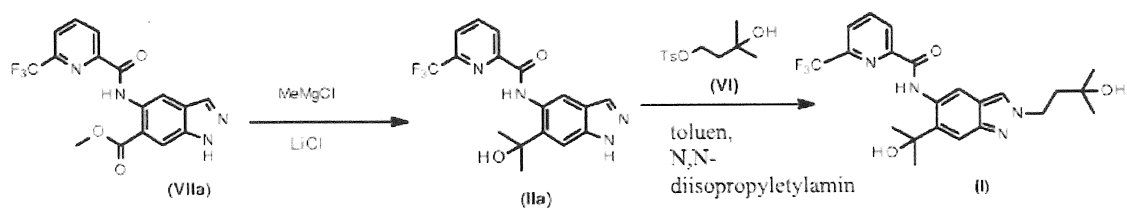
Kết luận, quy trình mới theo sáng chế tạo ra hợp chất (I) với tổng hiệu suất cao hơn từ 2,4 (con đường thông qua hợp chất (V)) đến 4,3 lần (con đường thông qua hợp chất (IIa)) so với trước đây. Ngoài ra, còn bao gồm phương pháp điều chế có định hướng và có thể lặp lại kích thước và dạng tinh thể kim (xem fig.7).

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) thông qua các bước sau được thể hiện trong sơ đồ phản ứng IA, dưới đây:



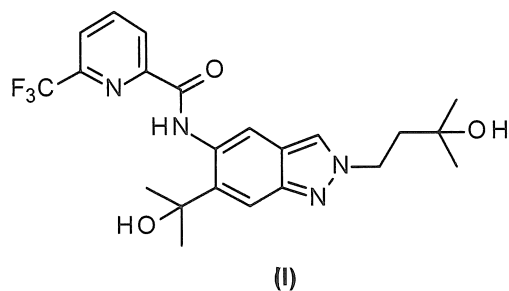
Sơ đồ IA.

Trong một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) thông qua các bước sau được thể hiện trong sơ đồ phản ứng I, dưới đây:



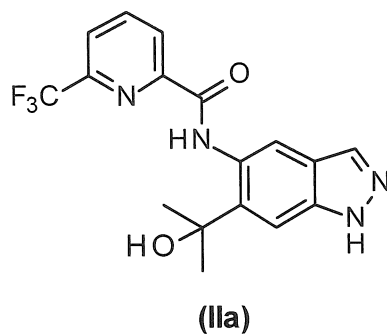
Sơ đồ I.

Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức (I):

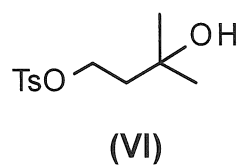


bao gồm bước (A) sau:

trong đó, hợp chất có công thức (IIa):



được cho phản ứng với hợp chất có công thức (VI):



tùy ý với sự có mặt của bazơ hữu cơ, đặc biệt là bazơ yếu, như amin bậc ba, ví dụ như N,N-diisopropyletylamin,

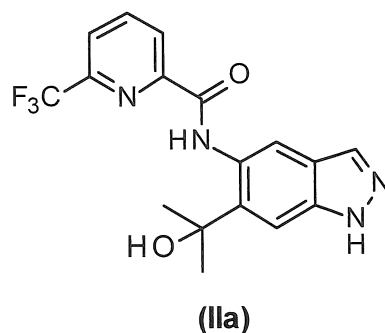
tùy ý trong dung môi hydrocacbon thơm, ví dụ như toluen, xylen và mesitylen,

bằng cách đó tạo ra hợp chất có công thức (I).

Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) nêu trên, trong đó dung môi hydrocacbon thơm là toluen.

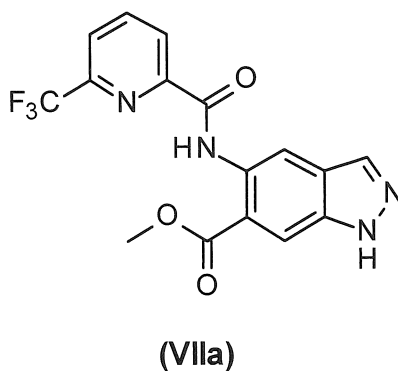
Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên, trong đó bazơ hữu cơ nêu trên là N,N-diisopropyletylamin.

Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên, trong đó hợp chất có công thức (IIa) nêu trên:



được điều chế theo bước (B) sau:

trong đó, hợp chất có công thức (VIIa):

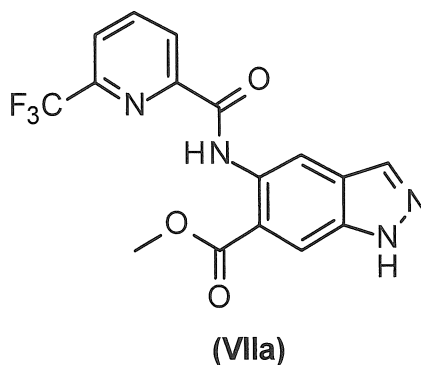


được cho phản ứng với chất methyl hoá khử, như chất methyl kim loại, như methylmagie halogenua, như methylmagie clorua,

tùy ý với sự có mặt của halogenua kim loại kiềm, như lithi clorua,

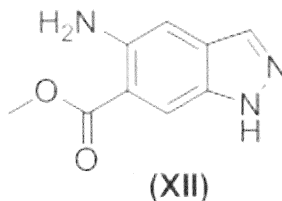
bằng cách đó tạo ra hợp chất có công thức (IIa) nêu trên.

Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên, trong đó hợp chất có công thức (VIIa) nêu trên:

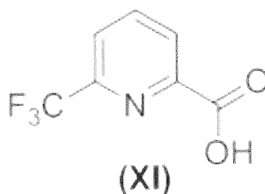


được điều chế theo bước (C) sau:

trong đó, hợp chất có công thức (XII):



được cho phản ứng với hợp chất có công thức (IX):



tùy ý với sự có mặt của bazơ hữu cơ, đặc biệt là bazơ hữu cơ yếu, như amin bậc ba, như N,N-diisopropyletylamin,

tùy ý với sự có mặt của chất liên hợp, như 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit (T3P),

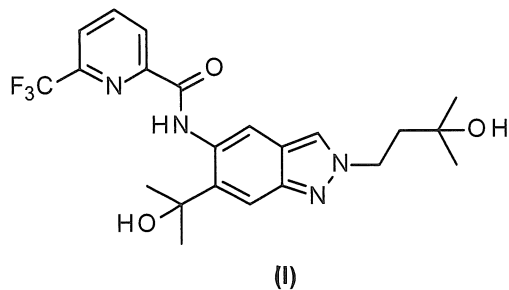
bằng cách đó tạo ra hợp chất có công thức (VIIa) nêu trên.

Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên, trong đó hợp chất có công thức (I) nêu trên được tinh chế bằng cách kết tinh, đặc biệt là từ dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi như hỗn hợp của axeton và toluen, tùy ý với sự có mặt của than hoạt tính,

tùy ý được tiếp theo bằng cách kết tinh thêm từ dung môi như etanol.

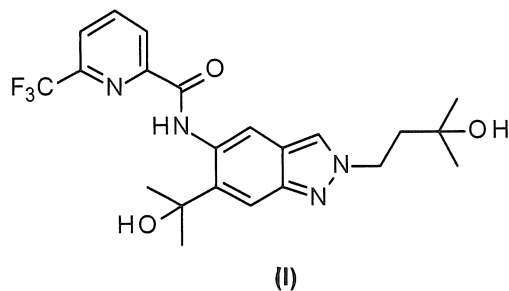
Theo một phương án của khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên, trong đó hợp chất có công thức (I) nêu trên là ở dạng tinh thể kim tương ứng với hydrat (dạng A) của hợp chất có công thức (I).

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể, tương ứng với hydrat (dạng A) của hợp chất có công thức (I):



được điều chế bằng quy trình nêu trên.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể, tương ứng với hydrat (dạng A) của hợp chất có công thức (I):



Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể, tương ứng với hydrat (dạng A) như được mô tả ở trên, có đỉnh XRPD cực đại [$^{\circ}2\theta$] (Đồng (Cu)) như sau:

Bảng 1: XRPD của hydrat, anhydrat và formamit solvat của hợp chất (I)

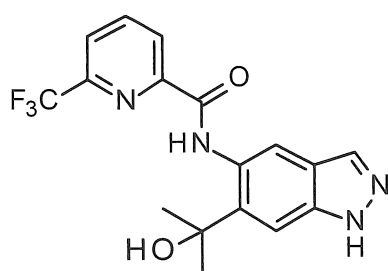
Phản xạ [Đỉnh cực đại $^{\circ}2\theta$]		
Hydrat	Anhydrat	Formamit-Solvat
6,2	8,6	5,5
7,9	10,3	9,7
9,4	12,2	10,0
10,8	12,7	10,4
12,5	13,1	10,5
13,0	13,5	11,5
13,8	14,2	11,7
15,0	14,6	12,0
15,3	15,4	13,9
15,5	15,7	14,7
15,7	16,3	15,3
16,0	17,3	15,5
16,3	18,3	15,8
17,0	18,8	16,2
18,0	19,4	16,6
18,2	19,8	17,2
18,7	19,9	17,7
19,3	20,3	17,9
20,1	21,0	18,0
20,3	21,4	18,5
20,8	21,8	18,5
21,0	22,2	18,7
21,4	23,7	19,2

21,7	24,5	19,3
22,9	25,0	19,4
23,4	25,2	19,5
24,0	25,7	19,7
24,3	25,9	20,0
25,1	26,1	20,1
25,3	27,0	20,3
25,7	27,3	20,5
26,6	27,5	20,7
27,1	28,4	20,9
27,6	28,7	21,1
28,4	28,9	21,3
28,4	29,3	21,7
28,7	29,5	22,0
29,0	30,4	22,2
29,8	30,7	22,4
30,1	31,0	22,8
30,3	31,7	23,0
31,1	32,1	23,6
31,4	32,3	23,9
31,7	33,0	24,1
32,0	33,2	24,4
32,4	33,8	24,6
33,0	34,0	25,0
33,2	34,3	25,4
33,4	34,6	25,6
33,8	35,0	26,2
34,5	35,1	26,6
34,8	35,8	27,0
35,1	36,1	27,4
35,9	36,4	27,9

37,0	36,8	28,3
37,1	37,0	28,6
37,4	37,2	28,9
37,5	37,4	29,3
38,0	37,6	29,9
38,3	38,0	30,0
38,5	38,4	30,2
38,8	38,7	30,4
39,1	39,1	30,6
39,3	39,6	30,9
		31,2
		31,6
		32,0
		32,3
		32,5
		32,6
		32,9
		33,1
		33,5
		33,9
		34,9
		35,0
		35,4
		35,8
		36,1
		37,0
		37,6
		37,8
		38,2
		38,5
		38,8

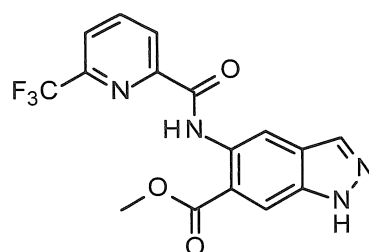
		39,2
		39,4
		39,6
		39,9

Phần mô tả sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất được chọn từ:



(IIa)

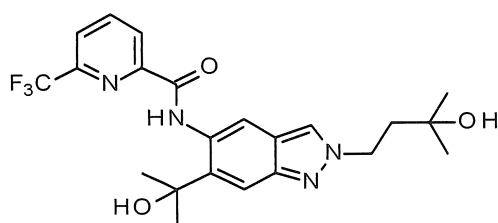
, và



(VIIa)

,

để điều chế hợp chất có công thức (I):

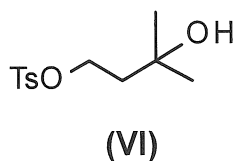


(I)

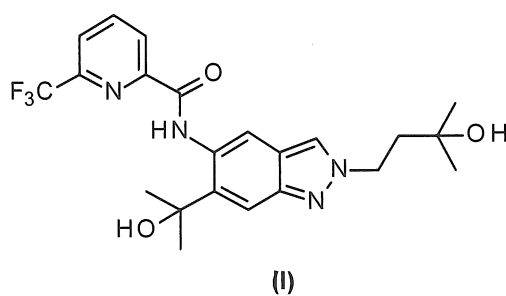
,

hoặc hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể, dạng này tương ứng với hydrat (dạng A) của hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên,

bằng quy trình nêu trên. Phần mô tả sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức cấu trúc:



để điều chế hợp chất có công thức (I):



hoặc tinh thể hình kim, dạng này tương ứng với hydrat (dạng A) của hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên.

Phương pháp điều trị:

Các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (I), tốt hơn là hydrat theo sáng chế có thể có các đặc tính dược hữu dụng và có thể được dùng để phòng ngừa và điều trị các rối loạn ở người và động vật. Các dạng của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có thể mở ra hướng điều trị thay thế khác và do đó, có thể làm phong phú thêm cho ngành dược.

Các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có thể được sử dụng thích hợp để điều trị và phòng ngừa các rối loạn tăng sinh và viêm đặc trưng bởi hệ miễn dịch phản ứng quá mức. Cụ thể ở đây cần phải kể đến việc sử dụng các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế trong điều trị và phòng ngừa các rối loạn sinh khối u, rối loạn về da, rối loạn phụ khoa, rối loạn tim mạch, rối loạn về phổi, rối loạn về mắt, rối loạn thần kinh, rối loạn chuyển hóa, rối loạn về gan, bệnh về thận, rối loạn viêm, rối loạn tự miễn dịch và chứng đau. Cụ thể, sử dụng các dạng tinh thể của

hợp chất có công thức (I) theo sáng chế trong điều trị và phòng ngừa u lympho, thoái hóa điểm vàng, bệnh vẩy nến, lupus ban đỏ, bệnh đa xơ cứng, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease: COPD), bệnh gút, bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis: NASH), bệnh xơ gan, chứng kháng insulin, hội chứng chuyển hóa, bệnh thận mãn tính, bệnh lý ở thận, viêm cột sống dính khớp và viêm khớp dạng thấp, bệnh lạc nội mạc tử cung và đau do bệnh lạc nội mạc tử cung và các triệu chứng khác liên quan đến bệnh lạc nội mạc tử cung như chứng đau bụng kinh, chứng giao hợp đau, chứng khó đái và chứng khó đi cầu đặc biệt sẽ được kể đến ở đây.

Các dạng tinh thể của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có thể được sử dụng thích hợp trong điều trị và phòng ngừa chứng đau, bao gồm chứng đau do viêm và bệnh lý thần kinh cấp tính, mãn tính, nổi bật là chứng tăng cảm giác đau, chứng loạn cảm giác đau, đau do bệnh viêm khớp (như viêm xương khớp, viêm khớp dạng thấp và viêm cột sống dính khớp), chứng đau tiền kinh nguyệt, đau do bệnh lạc nội mạc tử cung, đau sau phẫu thuật, đau do bệnh viêm bàng quang kẽ, hội chứng đau vùng phức tạp (complex regional pain syndrome: CRPS), đau dây thần kinh sinh ba, đau do viêm tuyến tiền liệt, đau gây ra bởi tổn thương cột sống, đau do viêm, đau thắt lưng, đau do ung thư, đau do hóa trị liệu, bệnh lý thần kinh gây ra bởi việc điều trị HIV, đau do bỏng và chứng đau mãn tính.

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, cụ thể là các bệnh nêu trên, sử dụng một lượng hiệu quả của ít nhất một trong số các dạng của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế.

Phần mô tả sáng chế còn bộc lộ phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa các rối loạn tăng sinh và viêm được đặc trưng bởi hệ miễn dịch phản ứng quá mức, cụ thể là các rối loạn sinh khối u, rối loạn về da, rối loạn phụ khoa, rối loạn tim mạch, rối loạn về phổi, rối loạn về mắt, rối loạn thần kinh, rối loạn chuyển hóa, rối loạn về gan, rối loạn viêm, rối loạn tự miễn dịch và đau sử dụng một lượng hiệu quả của ít nhất một trong số các dạng của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế.

Các dạng của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc phối hợp với các hoạt chất khác nếu cần thiết. Sáng chế còn đề xuất sản phẩm

thuốc chứa hợp chất có công thức (I) ở ít nhất một trong số các dạng theo sáng chế và một hoặc nhiều hoạt chất khác, cụ thể để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh nêu trên. Để phù hợp, các hoạt chất khác sau đây có thể được kể đến:

Thông thường có thể kể đến các hoạt chất như chất kháng khuẩn (ví dụ, penicillin, vancomycin, ciprofloxacin), chất kháng virus (ví dụ, aciclovir, oseltamivir) và chất kháng nấm (ví dụ, naftifin, nystatin) và các gamma globulin, các hợp chất điều biến miễn dịch và ức chế miễn dịch như cyclosporin, Methotrexat®, chất đối kháng TNF (ví dụ, Humira®, Etanercept, Infliximab), chất ức chế IL-1 (ví dụ, Anakinra, Canakinumab, Rilonacept), chất ức chế phosphodiesteraza (ví dụ, Apremilast), chất ức chế Jak/STAT (ví dụ, Tofacitinib, Baricitinib, GLPG0634), leflunomid, cyclophosphamid, rituximab, belimumab, tacrolimus, rapamycin, mycophenolate mofetil, interferon, corticosteroid (ví dụ, prednison, prednisolon, metylprednisolon, hydrocortison, betamethason), cyclophosphamid, azathioprin và sulfasalazin; paracetamol, chất chống viêm không steroid (NSAIDS) (aspirin, ibuprofen, naproxen, etodolac, celecoxib, colchicin).

Cần đề cập đến các hoạt chất sau đây trong điều trị khối u: liệu pháp miễn dịch (ví dụ, aldesleukin, alemtuzumab, basiliximab, catumaxomab, celmoleukin, denileukin, diftiox, eculizumab, edrecolomab, gemtuzumab, ibritumomab tiuxetan, imiquimod, interferon-alpha, interferon beta, interferon-gama, ipilimumab, lenalidomit, lenograstim, mifamurtit, ofatumumab, oprelvekin, picibanil, plerixafor, polysaccharit-K, sargramostim, sipuleucel-T, tasonermin, teceleukin, tocilizumab), các chất chống tăng sinh, ví dụ nhưng không chỉ có amsacrin, arglabin, arsenic trioxit, asparaginaza, bleomycin, busulfan, dactinomycin, docetaxel, epirubicin, peplomycin, trastuzumab, rituximab, obinutuzumab, ofatumumab, tositumomab, chất ức chế aromataza (ví dụ, exemestan, fadrozol, formestan, letrozol, anastrozol, vorozol), chất kháng oestrogen (ví dụ, chlormadinon, fulvestrant, mepitiostan, tamoxifen, toremifen), các oestrogen (ví dụ, oestradiol, polyoestradiol phosphat, raloxifen), cá các gestagen (ví dụ, medroxyprogesteron, megestrol), chất ức chế topoisomeraza I (ví dụ, irinotecan, topotecan), chất ức chế topoisomeraza II (ví dụ, amrubicin, daunorubicin, elliptiniumaxetat, etoposid, idarubicin, mitoxantron, teniposit), chất hoạt hóa vi ống (ví dụ, cabazitaxel, eribulin, paclitaxel, vinblastin, vincristin, vindesin, vinorelbin), chất ức chế telomeraza (ví dụ, imetelstat), các chất alkyl hóa và chất ức chế histon deacetylaza

(ví dụ, bendamustin, carmustin, chlormethin, dacarbazin, estramustin, ifosfamid, lomustin, mitobronitol, mitolactol, nimustin prednimustin, procarbazin, ranimustin, streptozotocin, temozolomit, thiotepa, treosulfan, trofosfamid, vorinostat, romidepsin, panobinostat); các chất ảnh hưởng đến các quá trình biệt hóa tế bào, như abarelix, aminoglutethimide, bexaroten, chất ức chế MMP (các chất giả peptid, các chất giả không phải peptid và tetracyclin, ví dụ marimastat, BAY 12-9566, BMS-275291, clodronate, prinomastat, doxycyclin), chất ức chế mTOR (ví dụ, sirolimus, everolimus, temsirolimus, zotarolimus), các chất chống chuyển hóa (ví dụ, clofarabin, doxifluridin, methotrexat, 5-fluoracil, cladribin, cytarabin, fludarabin, mercaptopurin, methotrexat, pemetrexed, raltitrexed, tegafur, tioguanin), các hợp chất platin (ví dụ, carboplatin, cisplatin, cisplatinum, eptaplatin, lobaplatin, miriplatin, nedaplatin, oxaliplatin); các hợp chất chống tạo mạch (ví dụ, bevacizumab), các hợp chất kháng androgen (ví dụ, bevacizumab, enzalutamid, flutamid, nilutamid, bicalutamid, cyproteron, cyproteron axetat), chất ức chế proteasom (ví dụ, bortezomib, carfilzomib, oprozomib, ONYX0914), chất chủ vận và chất đối kháng gonadoliberin (ví dụ, abarelix, buserelin, deslorelin, ganirelix, goserelin, histrelin, triptorelin, degarelix, leuprorelin), chất ức chế methionin aminopeptidaza (ví dụ, dẫn xuất bengamid, TNP-470, PPI-2458), chất ức chế heparanaza (ví dụ, SST0001, PI-88); chất ức chế chống lại Ras protein biến đổi gen (ví dụ, chất ức chế farnesyl transferaza như lonafarnib, tipifarnib), chất ức chế HSP90 (ví dụ, dẫn xuất geldamycin như 17-allylaminogeldanamycin, 17-demetoxygeldanamycin (17AAG), 17-DMAG, retaspimycin hydroclorua, IPI-493, AUY922, BIIB028, STA-9090, KW-2478), chất ức chế protein cấu trúc thoi vô sắc kinesin (ví dụ, SB715992, SB743921, pentamidin/chlorpromazin), chất ức chế MEK (kinaza phosphoryl hóa protein kinaza hoạt hóa phân bào) (ví dụ, trametinib, BAY 86-9766 (refametinib), AZD6244), chất ức chế kinaza (ví dụ: sorafenib, regorafenib, lapatinib, Sutent®, dasatinib, cetuximab, BMS-908662, GSK2118436, AMG 706, erlotinib, gefitinib, imatinib, nilotinib, pazopanib, roniciclib, sunitinib, vandetanib, vemurafenib), chất ức chế đường truyền tín hiệu hedgehog (ví dụ, cyclopamin, vismodegib), chất ức chế BTK (tyrosin kina Bruton) (ví dụ, ibrutinib), chất ức chế JAK/pan-JAK (janus kinaza) (ví dụ, SB-1578, baricitinib, tofacitinib, pacritinib, momelotinib, ruxolitinib, VX-509, AZD-1480, TG-101348), chất ức chế PI3K (ví dụ, BAY 1082439, BAY 80-6946 (copanlisib),

ATU-027, SF-1126, DS-7423, GSK-2126458, buparlisib, PF-4691502, BYL-719, XL-147, XL-765, idelalisib), chất ức chế SYK (tyrosin kinaza lách) (ví dụ, fostamatinib, Excellair, PRT-062607), liệu pháp gen p53, các bisphosphonat (ví dụ, etidronat, clodronat, tiludronat, pamidronat, axit alendronic, ibandronat, risedronat, zoledronat). Để kết hợp, cũng cần đề cập đến các hoạt chất sau đây làm ví dụ nhưng không chỉ giới hạn ở: rituximab, xyclophosphamid, doxorubicin, doxorubicin kết hợp với oestron, vincristin, chlorambucil, fludarabin, dexamethason, cladribin, prednison, ¹³¹I-chTNT, abirateron, aclarubicin, alitretinoin, bisantren, canxi folinat, canxi levofolilat, capecitabin, carmofur, axit clodronic, romiplostim, crisantaspaza, darbepoetin alfa, decitabin, denosumab, dibrospidium clorua, eltrombopag, endostatin, epitioctanol, epoetin alfa, filgrastim, fotemustin, galium nitrat, gemcitabin, glutoxim, histamin dihydrochlorit, hydroxycarbamid, improsulfan, ixabepilon, lanreotit, lentinan, levamisol, lisurit, lonidamin, masoprocol, metyltestosteron, methoxsalen, metyl aminolevulinat, miltefosin, mitoguazon, mitomycin, mitotan, nelarabin, nimotuzumab, nitracrin, omeprazol, palifermin, panitumumab, pegaspargaza, PEG epoetin beta (metoxy-PEG epoetin beta), pegfilgrastim, peg interferon alfa-2b, pentazocin, pentostatin, perfosfamid, pirarubicin, plicamycin, poliglucam, porfimer natri, pralatrexat, quinagolit, razoxan, sizofiran, sobuzoxan, natri glycididazol, tamibaroten, tổ hợp của tegafur và gimeracil và oteracil, testosteron, tetrofosmin, thalidomit, thymalfasin, trabectedin, tretinoin, trilostan, tryptophan, ubenimex, vapreotit, các vi cầu thủy tinh ytri-90, zinostatin, zinostatin stimalamer.

Tổ hợp của liệu pháp không dùng thuốc như hóa trị (ví dụ, azacitidin, belotecan, enocitabin, melphalan, valrubicin, vinflunin, zorubicin), xạ trị (ví dụ, hạt I-125, hạt paladi-103, radi-223 clorua) hoặc quang trị (ví dụ, temoporfin, talaporfin) kèm theo điều trị bằng thuốc với các chất ức chế IRAK4 theo sáng chế hoặc sau khi điều trị khối u không dùng thuốc như hóa trị, xạ trị hoặc quang trị đã kết thúc thì bổ sung điều trị bằng thuốc với các chất ức chế IRAK4 theo sáng chế cũng thích hợp để điều trị khối u.

Ngoài các chất đề cập ở trên, các chất ức chế IRAK4 theo sáng chế cũng có thể kết hợp được với các hoạt chất sau:

các hoạt chất để điều trị Alzheimer, ví dụ như chất ức chế axetylcholinesteraza (ví dụ, donepezil, rivastigmin, galantamin, tacrin), chất đối kháng thụ thể NMDA (N-methyl-D-aspartat) (ví dụ, memantin); L-DOPA/carbidopa (L-3,4-dihydroxyphenylalanin), chất ức chế COMT (catechol-O-metyltransferaza) (ví dụ, entacapon), chất chủ vận dopamin (ví dụ, ropinrol, pramipexol, bromocriptin), chất ức chế MAO-B (monoaminoxidaza-B) (ví dụ, selegilin), chất kháng cholin (ví dụ, trihexyphenidyl) và chất đối kháng thụ thể NMDA (ví dụ, amantadin) để điều trị bệnh Parkinson; beta-interferon (IFN-beta) (ví dụ, IFN beta-1b, IFN beta-1a Avonex® và Betaferon®), glatiramer axetat, globulin miễn dịch, natalizumab, fingolimod và các chất ức chế miễn dịch như mitoxantron, azathioprin và xyclophosphamit để điều trị bệnh đa xơ cứng; chất để điều trị rối loạn về phổi ví dụ chất kích thích giao cảm beta-2 (ví dụ, salbutamol), chất kháng cholin (ví dụ, glycopyrronium), methylxanthin (ví dụ, theophyllin), chất đối kháng thụ thể leukotrien (ví dụ, montelukast), chất ức chế PDE-4 (phosphodiesteraza typ 4) (ví dụ, roflumilast), methotrexat, các kháng thể IgE, azathioprin và xyclophosphamit, các chế phẩm chứa cortisol; các chất để điều trị bệnh viêm xương khớp như chất chống viêm không steroid (NSAIDs). Ngoài hai liệu pháp điều trị đã nêu, cần đề cập đến methotrexat và các sản phẩm sinh học trong liệu pháp điều trị bằng tế bào B và tế bào T (ví dụ, rituximab, abatacept) đối với các rối loạn dạng thấp khớp ví dụ, bệnh viêm khớp dạng thấp, viêm cột sống dính khớp và viêm khớp tự phát thiếu niên. Các chất dinh dưỡng thần kinh như chất ức chế axetylcholinesteraza (ví dụ, donepezil), chất ức chế MAO (monoaminoxidaza) (ví dụ, selegilin), các interferon và các chất chống co giật (ví dụ, gabapentin); các hoạt chất để điều trị các rối loạn tim mạch như các chất chẹn beta (ví dụ, metoprolol), chất ức chế ACE (ví dụ, benazepril), chất phong bế thụ thể angiotensin (ví dụ, losartan, valsartan), các chất lợi tiểu (ví dụ, hydrochlorothiazit), chất phong bế kênh canxi (ví dụ, nifedipin), các statin (ví dụ, simvastatin, fluvastatin); các thuốc chống tiểu đường, ví dụ metformin, các glinit (ví dụ, nateglinit), các chất ức chế DPP-4 (dipeptidyl peptidaza-4) (ví dụ, linagliptin, saxagliptin, sitagliptin, vildagliptin), chất ức chế SGLT2 (yếu tố đồng vận chuyển natri/glucoza 2)/gliflozin (ví dụ, dapagliflozin, empagliflozin), các chất giả incretin (các chất tương tự/chất chủ vận hormon, peptit kích thích tiết insulin phụ thuộc glucoza (GIP) và peptid 1 giống glucagon (GLP-1)) (ví dụ, exenatit, liraglutit, lixisenatit), chất ức chế

α -glucosidaza (ví dụ, acarbose, miglitol, voglibiose) và các sulphonylure (ví dụ, glibenclamid, tolbutamid), các chất tăng nhạy insulin (ví dụ, pioglitazon) và liệu pháp sử dụng insulin (ví dụ, NPH insulin, insulin lispro), các chất dùng trong điều trị hạ đường huyết, để điều trị bệnh tiểu đường và hội chứng chuyển hóa. Các thuốc làm giảm lipid, ví dụ các chất xơ (ví dụ, bezafibrat, etofibrat, fenofibrat, gemfibrozil), các dẫn xuất axit nicotinic (ví dụ, nicotinic acid/laropiprant), ezetimib, các statin (ví dụ, simvastatin, fluvastatin), các chất trao đổi anion (ví dụ, colestyramin, colestipol, colesevelam). Các hoạt chất như mesalazin, sulfasalazin, azathioprin, 6-mercaptopurin hoặc methotrexat, nhóm lợi khuẩn (Mutaflor, VSL#3®, Lactobacillus GG, Lactobacillus plantarum, L. acidophilus, L. casei, Bifidobacterium infantis 35624, Enterococcus fecium SF68, Bifidobacterium longum, Escherichia coli Nissle 1917), kháng sinh, ví dụ ciprofloxacin và metronidazol, các thuốc chống tiêu chảy, ví dụ loperamid, hoặc thuốc nhuận tràng (bisacodyl) để điều trị các bệnh ruột viêm mãn tính. Các chất ức chế miễn dịch như glucocorticoid và các chất chống viêm không steroid (NSAIDs), cortison, cloquin, cyclosporin, azathioprin, belimumab, rituximab, cyclophosphamid để điều trị bệnh lupus ban đỏ. Ví dụ, nhưng không chỉ có, các chất ức chế calcineurin (ví dụ, tacrolimus và ciclosporin), chất ức chế phân chia tế bào (ví dụ, azathioprin, mycophenolat mofetil, axit mycophenolic, everolimus hoặc sirolimus), rapamycin, basiliximab, daclizumab, các kháng thể kháng CD3, globulin kháng tế bào lympho T/globulin kháng tế bào lympho trong cấy ghép cơ quan. Các chất tương tự vitamin D3, ví dụ calcipotriol, tacalcitol hoặc calcitriol, axit salicylic, ure, ciclosporin, methotrexat, efalizumab dùng trong rối loạn về da.

Dược phẩm:

Hợp chất có công thức (I) ở các dạng tinh thể có thể có hoạt tính trên toàn thân và/hoặc tại chỗ. Đối với mục đích này, các dược phẩm có thể được dùng theo cách thích hợp, ví dụ như theo đường uống, đường ngoài tiêu hóa, đường phổi, đường mũi, đường dưới lưỡi, đường lưỡi, đường miệng má, đường trực tràng, đường âm đạo, đường da, đường qua da, đường kết mạc, đường tai hoặc đường cấy implant hoặc stent.

Đối với các đường dùng này, hợp chất có công thức (I) ở các dạng tinh thể có thể được dùng ở các dạng dùng thích hợp.

Để dùng theo đường uống, có thể phối chế hợp chất có công thức (I) ở các dạng tinh thể thành các dạng liều bào chế đã biết trong lĩnh vực để phân phối hợp chất theo sáng chế một cách nhanh chóng và/hoặc theo cách được cải biến, ví dụ như viên nén (viên nén không bọc hoặc có bọc, ví dụ với nguyên liệu bọc tan trong ruột hoặc để giải phóng có kiểm soát mà các nguyên liệu bọc này hòa tan chậm hoặc không hòa tan), viên nén phân hủy theo đường uống, dạng bao màng/viên nhện, bao màng/đông khô, viên nang (ví dụ, viên nang gelatin cứng hoặc mềm), viên nén bọc đường, dạng hạt, hạt nhỏ, bột, nhũ tương, huyền phù, sol khí hoặc dung dịch. Có thể kết hợp các hợp chất theo sáng chế ở dạng tinh thể và/hoặc vô định hình và/hoặc dạng hòa tan vào trong các dạng liều bào chế.

Việc dùng theo đường ngoài tiêu hóa có thể được thực hiện để tránh bước hấp thu (ví dụ, theo đường tĩnh mạch, đường trong động mạch, đường trong tim, đường trong ống sống hoặc ống sống vùng thắt lưng) hoặc bao gồm bước hấp thu (ví dụ, theo đường trong cơ, đường dưới da, đường trong da, đường qua da hoặc đường trong phúc mạc). Các dạng dùng mà thích hợp để dùng theo đường ngoài tiêu hóa là, ngoài những dạng khác, các chế phẩm để tiêm và để truyền ở dạng dung dịch, huyền phù, nhũ tương, đông khô hoặc bột vô khuẩn.

Các ví dụ thích hợp để dùng theo các đường dùng khác là các dạng dược phẩm để dùng theo đường xông hít [ngoài những dạng khác, dạng bột xông hít, khí dung], nhỏ giọt ở mũi, dung dịch nhỏ mũi, phun xịt mũi; viên nén/bao màng/viên nhện/viên nang để dùng theo đường lưỡi, dưới lưỡi hoặc miệng má; dạng đạn đặt; nhỏ mắt, mỡ bôi mắt, rửa mắt, đặt trong ổ mắt, nhỏ tai, phun xịt ở tai, bột dùng ở tai, rửa tai, tắm bông ngoáy tai; viên nang âm đạo, huyền phù nước (nước xức, hỗn hợp lắc khi dùng), huyền phù ưa béo, nhũ tương, mỡ bôi, kem bôi, các hệ trị liệu qua da (ví dụ như tấm dán), sữa, bột nhão, bột, bột tạo bụi, implant hoặc stent.

Hợp chất có công thức (I) ở các dạng tinh thể có thể được kết hợp vào trong các dạng dùng nêu trên. Thao tác này có thể được thực hiện theo cách đã biết bằng cách kết hợp với các tá dược được dụng. Các tá dược được dụng bao gồm, ngoài những tá dược khác,

- chất độn và chất mang (ví dụ xenluloza, xenluloza vi tinh thể (ví dụ như Avicel®), lactoza, manitol, tinh bột, canxi phosphat (ví dụ như Di-Cafos®)),
- nền mỡ (ví dụ mỡ bôi trơn, parafin, triglyxerit, sáp, sáp lông cừu, rượu từ sáp lông cừu, lanolin, mỡ ưa nước, polyetylen glycol),
- nền cho dạng đạn đặt (ví dụ polyetylen glycol, bơ cacao, chất béo ở dạng rắn),
- các dung môi (ví dụ nước, etanol, isopropanol, glyxerol, propylen glycol, các dầu béo triglyxerit có chiều dài mạch trung bình, polyetylen glycol dạng lỏng, parafin),
- chất hoạt diện, chất nhũ hóa, chất phân tán hoặc chất thấm ướt (ví dụ natri dodexyl sulfat), lecithin, phospholipid, các rượu béo (ví dụ như, Lanette®), các este của axit béo với sorbitan (ví dụ như, Span®), các este của axit béo với polyoxyetylen sorbitan (ví dụ như, Tween®), các glyxerit của axit béo với polyoxyetylen (ví dụ như, Cremophor®), các este của axit béo với polyoxetylen, các ete của rượu béo với polyoxyetylen, các este của axit béo với glycerol, các poloxame (ví dụ như, Pluronic®),
- các chất đệm, axit và bazơ (ví dụ phosphat, carbonat, axit xitric, axit axetic, axit clohydric, dung dịch natri hydroxit, amoni carbonat, trometamol, trietanolamin),
- các chất tạo đẳng trương (ví dụ glucoza, natri clorua),
- các chất hấp phụ (ví dụ silic oxit có độ phân tán cao),
- các chất gia tăng độ nhớt, các chất tạo gel, chất làm đặc và/hoặc chất kết dính (ví dụ polyvinylpyrrolidon, metylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, hydroxypropyl-xenluloza, carboxymetylxenluloza-natri, tinh bột, carbome, các axit polyacrylic (ví dụ như, Carbopol®); alginat, gelatin),
- các chất gây rã (ví dụ tinh bột biến tính, carboxymetylxenluloza-natri, natri tinh bột glycolat (ví dụ như, Explotab®), polyvinylpyrrolidon liên kết ngang, croscarmeloza-natri (ví dụ như, AcDiSol®)),

- chất điều chỉnh tốc độ chảy, chất làm trơn, chất trượt và chất tách khuôn (ví dụ magie stearat, axit stearic, bột talc, silic oxit có độ phân tán cao (ví dụ như, Aerosil®)),
- các nguyên liệu bọc (ví dụ đường, senlac) và chất tạo màng dùng cho các màng hoặc màng khuếch tán mà chúng hòa tan nhanh chóng hoặc theo cách cải biến (ví dụ polyvinylpyrrolidon (ví dụ như, Kollidon®), rượu polyvinyl, hydroxypropylmetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, etylxenluloza, hydroxypropyl-metylxenluloza phtalat, xenluloza axetat, xenluloza axetat phtalat, polyacrylat, polymetacrylat ví dụ như Eudragit®)),
- nguyên liệu bao (ví dụ gelatin, hydroxypropylmetylxenluloza),
- các polyme tổng hợp (ví dụ polylactit, polyglycolit, polyacrylat, polymetacrylat (ví dụ như, Eudragit®), polyvinylpyrrolidon (ví dụ như Kollidon®), rượu polyvinyl, polyvinyl axetat, polyetylen oxit, polyetylen glycol và các copolyme và copolyme khối của chúng),
- các chất dẻo hóa (ví dụ polyetylen glycol, propylen glycol, glyxerol, triaxetin, triaxetyl xitrat, dibutyl phtalat),
- các chất tăng cường tính thấm,
- các chất làm ổn định (ví dụ các chất chống oxy hóa ví dụ như axit ascorbic, ascorbyl palmitat, natri ascorbat, butylhydroxyanisol, butylhydroxytoluen, propyl galat),
- các chất bảo quản (ví dụ paraben, axit sorbic, thiomersal, benzalkoni clorua, clohexidin axetat, natri benzoat),
- các chất tạo màu (ví dụ các chất màu vô cơ ví dụ như sắt oxit, titan dioxit),
- các chất tạo hương, chất làm ngọt, chất tạo hương vị và/hoặc chất che dấu mùi.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm, chứa hợp chất có công thức (I) ở ít nhất một dạng tinh thể, thông thường cùng với một hoặc nhiều tá dược được dụng. Phần mô tả sáng chế bộc lộ việc sử dụng chúng theo sáng chế.

Liều lượng của dược phẩm theo sáng chế:

Dựa vào các kỹ thuật xét nghiệm chuẩn đã biết để đánh giá hợp chất hữu dụng trong điều trị các rối loạn bằng các thử nghiệm phân tích dược lý chuẩn để quyết định việc điều trị tình trạng bệnh xác định ở trên ở động vật có vú và bằng cách so sánh các kết quả này với kết quả của các thuốc đã biết được sử dụng để điều trị các tình bệnh này, liều lượng hiệu quả của hợp chất theo sáng chế có thể được xác định một cách dễ dàng để điều trị cho mỗi một chỉ định mong muốn. Lượng hoạt chất cần sử dụng trong điều trị cho một trong số các tình trạng bệnh này có thể thay đổi nhiều theo các đánh giá như hợp chất cụ thể và đơn vị liều lượng sử dụng, phương thức dùng, thời gian điều trị, tuổi và giới tính của bệnh nhân được điều trị và bản chất và mức độ tình trạng bệnh lý cần điều trị.

Tổng lượng của hoạt chất cần dùng thường sẽ nằm trong khoảng từ 5 đến 6000mg mỗi ngày, tốt hơn từ 7 đến 2000mg mỗi ngày. Liều lượng đơn vị có thể chứa từ 7 đến 2000 mg, tốt hơn từ 25 đến 100mg hoạt chất, và có thể được dùng một hoặc nhiều lần mỗi ngày.

Đương nhiên, phác đồ liều lượng ban đầu và tiếp tục cụ thể cho mỗi một bệnh nhân sẽ thay đổi tùy theo bản chất và mức độ nặng của tình trạng bệnh được xác định bởi bác sỹ chẩn đoán, hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng, tuổi và tình trạng toàn thân của bệnh nhân, thời gian dùng, đường dùng, tốc độ bài tiết thuốc, sự kết hợp thuốc và yếu tố tương tự. Phương thức điều trị mong muốn và số lượng liều lượng của hợp chất theo sáng chế hoặc muối hoặc este được dùng hoặc hỗn hợp của chúng có thể được xác định bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực sử dụng các xét nghiệm điều trị thông thường.

Dữ liệu về khối lượng trong các thử nghiệm và ví dụ dưới đây, trừ khi được thông báo theo cách khác, là tỷ lệ % theo khối lượng; các phần là phần theo khối lượng. Tỷ lệ dung môi, tỷ lệ pha loãng và dữ liệu về hàm lượng của chất lỏng /dung dịch trong mỗi trường hợp được dựa vào thể tích.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây minh họa sáng chế.

Phương pháp:

Nhiệt đồ DSC được ghi lại sử dụng các dụng cụ đo nhiệt lượng quét vi sai (model Netzsch Phoenix DSC 204 F1. Các phép đo được tiến hành với tỷ lệ gia nhiệt là 10 Kmin⁻¹ sử dụng chảo nhôm không kín khí. Dòng khí lưu thông là nitơ. Ở đây không có sự chuẩn bị mẫu.

Nhiệt đồ TGA được ghi lại sử dụng cân nhiệt trọng (model Pyris 6) từ Perkin-Elmer. Các phép đo được tiến hành với tỷ lệ gia nhiệt là 10 Kmin⁻¹ [sử dụng chảo gốm mở. Dòng khí lưu thông là nitơ. Ở đây không có sự chuẩn bị mẫu.

Các mẫu nhiễu xạ tia X được ghi lại ở nhiệt độ trong phòng sử dụng nhiễu xạ kế XRD D8 Bruker Advance Diffraktometer (chiếu xạ Cu K alpha 1, bước sóng 1,54056 Å). Ở đây không có sự chuẩn bị mẫu. Tất cả các phản xạ tia X được nêu ở dạng các giá trị 2θ với độ chính xác $\pm 0,2^\circ$.

Phổ Raman được ghi ở nhiệt độ trong phòng sử dụng quang phổ kế FT-Raman model Perkin Elmer Station 400F với bước sóng laze là 785 nm. Độ phân giải là 2 cm⁻¹. Các phép đo được tiến hành trong giá giữ mẫu. Không có sự chuẩn bị mẫu.

Phổ IR-ATR được ghi ở nhiệt độ trong phòng sử dụng quang phổ kế FT-IR với thiết bị ATR kim cương phổ dụng từ nhà cung cấp Perkin-Elmer. Độ phân giải 4 cm⁻¹. Không có sự chuẩn bị mẫu.

HPLC:

Phương pháp A

Các thiết bị HPLC được sử dụng:

a) Agilent Technologies 1260 Infinity

b) Loại Agilent 1100

Zorbax SB-AQ, 50*4,6 mm, 1,5 μ m

Đệm: Amoni dihydrophosphat pH: 2,4

Axetonitril

0 phút 5% dung dịch đệm

8,3 phút 80% dung dịch đệm

11 phút 80% dung dịch đậm

210 nm / 4 nm

1,2 ml / phút

Phương pháp B

Thiết bị HPLC được sử dụng: Agilent Technologies 1260 Infinity

A1: Axetonitril

B1: 2,72 g KH_2PO_4 + 2,32 g H_3PO_4 + 2 L H_2O

Agilent Poroshell 120 EC-C18 3*50mm 2,7 μ

Giới hạn áp suất thấp: 0,00 bar

Giới hạn áp suất cao: 400,00 bar

Lưu lượng: 1,000 mL/phút

Gradient dòng tối đa: 1,000 mL/phút²

Thời gian dừng: 8,00 phút

Thời gian thông báo: 5,00 phút

Các điều kiện khởi phát: A: 5% B: 95%

Thời gian biểu

Thời gian	A	B	Lưu lượng:	Áp suất
phút	%	%	mL/phút	bar
8,00	80,0	20,0	1,000	400,00

Thể tích bơm: 5,00 μL

Nhiệt độ (Cột): 45,00°C

Bước sóng tín hiệu: 210 nm

Phương pháp C

Thiết bị HPLC được sử dụng: Agilent Technologies, HPLC 1290
Infinity (với DAD)

Thiết bị

1. Hệ đánh giá dữ liệu và phát hiện UV, lò
cột kiểm soát được về mặt nhiệt tĩnh sắc
ký lỏng hiệu năng siêu cao

2. Cột bằng thép không gỉ

Chiều dài: 5 cm

Đường kính 2,1 mm
trong:

Nạp: Acquity UPLC
C18 BEH, 1,7 μ m

Các chất phản ứng

1. Axetonitril, đối với HPLC
2. Nước, loại phân tích
3. Axit phosphoric 85%, loại phân tích

Dung dịch thử nghiệm

Hòa tan mẫu trong axetonitril ở nồng độ
0,25mg/mL.
(ví dụ, hòa tan xấp xỉ 25mg mẫu, cân chính xác
trong axetonitril 100mL.)

Dung dịch hiệu chỉnh

Hòa tan hợp chất chuẩn tham chiếu* trong
axetonitril ở nồng độ 0,25 mg/mL.
(ví dụ, hòa tan xấp xỉ 25mg hợp chất chuẩn
tham chiếu, cân chính xác, trong axetonitril
100 mL.)

	* <i>hợp chất chuẩn tham chiếu</i> có nghĩa là hợp chất, hợp chất này cần được phân tích, ở dạng hợp chất tinh khiết cao, tức là >97% diện tích HPLC	
Dung dịch đối chứng	Chuẩn bị dung dịch đối chứng giống với dung dịch hiệu chỉnh. Ngoài ra, dung dịch đối chứng này chứa một lượng nhỏ các tạp chất hữu cơ.	
Dung dịch nhạy để phát hiện	Chuẩn bị dung dịch chứa thành phần Solbrol P (số CAS: 94-13-3; propyl 4-hydroxybenzoat) (thời gian lưu xấp xỉ 2,75 phút) được pha loãng tới nồng độ 0,35µg/mL.	
Điều kiện HPLC	Các điều kiện cụ thể là các giá trị chỉ dẫn. Để đạt được việc tách tối ưu, các điều kiện này, nếu cần, được điều chỉnh cho phù hợp với khả năng kỹ thuật của phép sắc ký và các đặc tính của cột tương ứng.	
Dung môi rửa giải	A. Axit phosphoric 0,1% với lượng 85% trong nước B. Axetonitril	
Tốc độ dòng	1,0 mL/phút	
Nhiệt độ của lò cột	40°C	
Nhiệt độ của buồng chứa mẫu	nhiệt độ trong phòng	
Phát hiện	Đo bước sóng:	220 nm
	Băng thông:	6 nm

Thể tích bơm 2,0 μ L

Tốc độ rút 200 μ L/phút

Rửa kim Dung môi cho cửa xối: axetonitril

Tốc độ dữ liệu 10 Hz

Kích thước ô 10 mm

Thời gian hiệu chỉnh 10 phút (ở điều kiện ban đầu)

Gradient	Thời gian [phút]	% A	% B
	0	95	5
	2	70	30
	6	60	40
	8	20	80
	12	20	80

Thời gian chạy sắc ký 12 phút

Tính toán thử nghiệm (hàm lượng) Thử nghiệm được tính toán sử dụng phép hồi quy tuyến tính và dựa vào khối lượng mẫu và thử nghiệm và khối lượng của hợp chất chuẩn tham chiếu, bằng hệ dữ liệu sắc ký đã được phê chuẩn (ví dụ, Empower).

Phương pháp D

Thiết bị HPLC được sử dụng: Agilent Technologies 1260 Infinity

A1: Axetonitril

B1: 1,36 KH₂PO₄ + 1,74 K₂HPO₄ + 2 L H₂O

Eclipse XDB-C18 3*150mm 3,5 μ

Giới hạn áp suất thấp: 0,00 bar

Giới hạn áp suất cao: 400,00 bar

Lưu lượng: 0,500 mL/phút

Thời gian dừng: 35,00 min

Thời gian thông báo: 10,00 min

Các điều kiện khởi phát: A: 95% B: 5%

Thời gian biểu

Thời gian	A	B	Lưu lượng:	Áp suất
phút	%	%	mL/phút	bar
30,00	20,0	80,0	0,500	400,00
35,00	20,0	80,0	0,500	400,00

Thể tích bơm: 3,00 μ L ;

Nhiệt độ (Cột): 35,00°C

Bước sóng tín hiệu: 220 nm

GC-HS

Phân tích dung môi dư bằng sắc ký khí không gian hơi (GC-HS)

Thiết bị sắc ký khí Agilent 6890 với chức năng bơm mẫu có chia dòng và FID (cột: Restek Rxi Sil MS; độ dài: 20 m; đường kính trong: 0,18 mm; d_f = 1 μ m). Nhiệt độ tiêm 160°C, lưu lượng 1,2 ml/phút (H₂) Tỷ lệ phân chia 18, Nhiệt độ lò 40°C (4,5 phút)

– 14°C/phút – 70°C – 90°C/phút – 220°C (1,69 phút). Phát hiện: Nhiệt độ 300°C, 400 ml/phút (không khí tổng hợp), 40 ml/phút (H₂), 30 ml/phút (N₂), đánh giá 20 Hz.

Thiết bị lấy mẫu không gian hơi Perkin Elmer Turbomatrix 40: lò 80°C, kim 150°C, dòng chuyển 160°C, áp suất hệ thống 140 kPa, thời gian hiệu chỉnh 32 phút, điều áp 4,0 phút, thời gian bơm 0,04 phút (mẫu) 0,05 phút (GC).

Nồng độ mẫu: 20mg chất trong 2 ml DMF

Phân tích cỡ hạt

Phân tích cỡ hạt được tiến hành theo Dược điển châu Âu (European Pharmacopeia 2.9.31)

Thiết bị được phát triển và sản xuất bởi Sympatec GmbH.

Các thành phần là như sau:

- hệ phân tán khô RODOS có giá xoay và bàn chải quay
- hệ thống bàn quang học laze HELOS có bộ dò và các đơn vị thu nhận dữ liệu
- phần mềm để kiểm soát hệ thống, chuyển dạng dữ liệu và tạo báo cáo HELOS

N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I) ở dạng tinh thể A của nó được áp dụng lên giá xoay. Các hạt được chải vào trong dòng khí tạo áp và được phân tán. Khi đi qua chùm tia laze, sol khí sinh ra mẫu nhiễu xạ, mẫu này được phát hiện và phân tích theo phương thức Fraunhofer (European Pharmacopoeia 8.0, 2.9.31. Phân tích cỡ hạt bằng nhiễu xạ ánh sáng laze, 01/2010:20931, trang 333 - 336). Kết quả được định dạng sau khi lựa chọn đối tượng sử dụng để hiển thị và in ra ở dạng bảng và đồ họa. Dữ liệu được báo cáo ở dạng đơn vị μm và % thể tích.

Thiết đặt hệ thống

môi trường phân tán: không khí khô

áp suất không khí: 4,0 bar

tiêu cự: 100 mm

dòng khí: 2,6 m³/ giờ

mật độ quang học: 3 - 12%

thời gian dò: phút. (không nhỏ hơn) 1 giây

quay: 18 %

lượng mẫu: xấp xỉ 200 mg

Đối với mục đích thông thường, giá trị trung bình của ba lần đo được thông báo.

Phân tích vết HPLC (ppm)

Dụng cụ sử dụng: sắc ký lỏng tính năng siêu cao (Agilent 1290) có trang bị lò cột được kiểm soát theo kiểu điều chỉnh nhiệt, phổ kế ghi khối lượng (Agilent 6420 Triple Quad-MS), bộ dò UV và hệ thống đánh giá dữ liệu

Cột	Zorbax Eclipse Plus C8	
	Chiều dài:	50 mm
	Đường kính trong:	2,1 mm
	Cỡ hạt:	1,8 µm
	Nhiệt độ:	40°C
Pha động	Dung môi rửa giải A	dung dịch nước axit formic 0,1% (khả năng nén: $45 \cdot 10^{-6}$ /bar)
	Dung môi rửa giải B	Axetonitril chứa axit formic 0,1% (khả năng nén: $120 \cdot 10^{-6}$ /bar)
Lưu lượng:	0,8 mL/phút	
Dung dịch thử nghiệm	Hòa tan mẫu trong metanol ở nồng độ 10,0 mg/mL. (ví dụ, hòa tan xấp xỉ 20mg mẫu, cân chính xác	

trong metanol 2 mL.)

Dung dịch hiệu chỉnh	Hòa tan hợp chất chuẩn đặc trưng (VI) trong metanol ở các nồng độ 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 và 0,75 µg/mL.		
Nhiệt độ của lò cột	40°C		
Nhiệt độ của bộ lấy mẫu tự động	10°C		
Dò (không được sử dụng để định lượng)	Đo bước sóng:	220 nm	
	Băng thông:	6 nm	
Thể tích bơm	1,5 µL		
Tốc độ dữ liệu	2,5 Hz		
Ngăn dò	10 mm		
Thời gian hiệu chỉnh	5 phút (ở các điều kiện khởi đầu)		

Gradient

Thời gian [phút]	% A	% B
0,0	80	20
7,5	60	40
10,0	20	80
12,0	20	80

Thời gian chạy sắc ký	12 phút
Các thông số MSD (sử dụng để định lượng)	Các điều kiện mô tả ở đây có thể được áp dụng với Agilent 6420 Triple Quad-MS
Nguồn ion	Ion hóa phun điện tử (ESI)
Thời gian lọc	Độ rộng đỉnh 0,07 mm
Giám sát đa phản ứng sử dụng để định lượng	Ion tiền chất 281,1, ion sản phẩm 194,9
Điện thế phân mảnh	85 V
Năng lượng va chạm	5 V
Các thông số nguồn	
Nhiệt độ khí	350°C
Khí sấy khô	13 L/phút
Áp lực phun	172,4 KPa (50 psi)
VCap	3000 V
Thu hồi	Để xác định tỷ lệ thu hồi (W), mẫu được tạo đỉnh bằng dung dịch hiệu chỉnh chứa (VI) và sau đó, được cho tiến hành đo
Phương trình tính toán tỷ lệ % thu hồi	$W = \frac{G_{AP} - G_P}{G_A} \cdot 100\%$

$$W = \text{Tỷ lệ thu hồi [\%]}$$

$$G_{AP} = \text{Hàm lượng của (VI) trong mẫu tạo đỉnh}$$

$$G_p = \text{Hàm lượng của (VI) trong mẫu}$$

$$G_A = \text{Lượng tạo đỉnh của (VI)}$$

Tính toán hàm lượng của
hợp chất (VI) trong mẫu

$$(G_P)_i = \frac{(P_P)_i - b}{a} \cdot \frac{W_{P,soll}}{(W_P)_i}$$

$$(G_P)_i = \text{hàm lượng của (VI) trong mẫu } i^{th}$$

$$(P_P)_i = \text{diện tích đỉnh của (VI) trong mẫu } i^{th}$$

$$(W_P)_i = \text{khối lượng của mẫu } i^{th}$$

$$W_{P,soll} = \text{khối lượng đích của mẫu } i^{th}$$

$$a = \text{độ dốc của đường cong hiệu chuẩn}$$

$$b = \text{trục chặn của đường cong hiệu chuẩn}$$

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây minh họa sáng chế.

Ví dụ 1

Metyl 5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-1H-indazol-6-carboxylat
(VIIa)

Biến thể #1

30g metyl 5-amino-1H-indazol-6-carboxylat (XII) cùng với 28,5 g axit 6-(triflometyl)pyridin-2-carboxylic (XI) được tạo huyền phù trong 235 ml (210 g) THF ở nhiệt độ 20 đến 25°C. 40ml (30,4 g) N,N-diisopropyletylamin được bổ sung vào đó. Sau đó, hỗn hợp, dung dịch màu vàng, được làm lạnh xuống 0°C. 187 ml (199,7 g) dung dịch 50% khối lượng của propylphosphonic anhydrit (T3P) trong etyl axetat được bổ

sung vào hỗn hợp nêu trên trong 45 phút ở nhiệt độ 0°C. Phễu nhỏ giọt được rửa bằng 17 ml (15g) THF. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch chuyển sang màu đỏ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng lạnh được nhỏ giọt trong thời gian 45 phút vào 1,2 L nước được duy trì ở nhiệt độ 1,5°C. Phễu nhỏ giọt được rửa bằng 17 ml (15 g) THF. Độ pH của hỗn hợp được xác định là ở độ pH 1,6 (pH 1-2). Sau đó, độ pH của hỗn hợp được điều chỉnh tới 7,5 thông qua việc bổ sung 45 ml (40 g) dung dịch 28-30% khối lượng của amoni hydroxit ở nhiệt độ 1,5°C. Tiếp tục khuấy trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 1,5°C. Sau đó, huyền phù tạo ra được làm ấm lên nhiệt độ môi trường (20 - 25°C) trong 1 giờ và tiếp tục khuấy trong thời gian 15 phút. Phần kết tủa được lọc ra và rửa bằng 100 ml nước và sau đó bằng 2 x 76 ml (60 g) etanol. Sản phẩm được làm khô trong lò sấy trong điều kiện chân không (160 mbar) và hồi lưu N₂ ở nhiệt độ 45°C trong 22 giờ.

Hiệu suất: 52,8 g (92,4%, độ tinh khiết: 99,3% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp B): Thời gian lưu = 5,6 phút.

MS (ESI pos): m/z = 365 (M+H)⁺

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]: 3,98 (s, 3 H), 8,21 (d, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,39 (t, 1H), 8,48 (d, 1H), 9,16 (s, 1H), 12,57 (s, 1H), 13,45 (br s, 1H).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 3,97 (s, 3 H), 8,13 - 8,27 (m, 2 H), 8,30 (s, 1 H), 8,33 - 8,45 (m, 1 H), 8,45 - 8,51 (m, 1 H), 9,15 (s, 1 H), 12,57 (s, 1 H), 13,44 (br s, 1 H).

Phương thức này được thực hiện ở quy mô kỹ thuật sử dụng 2,5 kg hợp chất (XII). Hai phản ứng được tiến hành ở quy mô này. Mỗi một phản ứng được chia thành 4 mẻ để xử lý và tách:

Bảng 2: Các mẻ và hiệu suất sau khi sản xuất hợp chất (VIIa) từ hợp chất (XII)

Phản ứng #	Mẻ #	Hiệu suất
1 (quy mô 2,5kg)	1	1,007 kg 84,6%
	2	1,111 kg

		93,3%
	3	1,051 kg 88,2 %
	4	1,055 kg 88,6 %
2 (quy mô 2,5kg)	5	1,041 kg 87,4 %
	6	1,123 kg 94,3 %
	7	1,056 kg 88,7 %
	8	1,048 kg 88,0 %

Biến thể #2

2000g (10,46 mol) metyl 5-amino-1H-indazol-6-carboxylat (XII), 1899g (9,94 mol) axit 6-(triflometyl)pyridin-2-carboxylic (XI) và 2028g (15,69 mol) N,N-diisopropyletylamin được kết hợp trong 14,2 kg THF. Ở nhiệt độ 0 - 5°C, 13,3 kg dung dịch của T3P trong etyl axetat (50% khối lượng) được bổ sung từng giọt trong 30 phút. Tiếp tục khuấy trong 2 giờ ở cùng nhiệt độ.

Xử lý:

Hỗn hợp phản ứng được làm ấm tới nhiệt độ môi trường (20°C). 3000 g nước được bổ sung trong khi nhiệt độ được duy trì ở 20 - 25°C. Tiếp tục khuấy trong 10 phút. Độ pH được hiệu chỉnh tới khoảng 7,4 (7-8) sử dụng dung dịch nước natri carbonat 4N. Tiếp tục khuấy trong 10 phút. Nếu cần thiết, độ pH lại được điều chỉnh tới 7,4 sử dụng dung dịch nước natri carbonat 4N.

Các dung môi (THF/etyl axetat) được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm (~ 200 mbar, nhiệt độ bên trong là 45-50°C) cho tới khi đạt tới giới hạn khuấy. Hỗn hợp

của 4,7 kg etanol và 14,0 kg nước được bổ sung vào đó và độ pH lại được điều chỉnh lên tới pH 7,4 (7-8) sử dụng dung dịch nước natri carbonat 4N.

Hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 50°C, sau đó làm lạnh xuống 20 - 25°C. Tiếp tục khuấy trong 10 phút ở cùng nhiệt độ. Các tinh thể kết tủa được lọc, rửa bằng hỗn hợp của etanol và nước (1,3 kg etanol với 4 kg nước) và làm khô trong điều kiện chân không trong lò sấy (45°C, hồi lưu N₂, ít nhất 12 giờ).

Theo quy trình mô tả ở trên, 4 mẻ sử dụng 2 kg nguyên liệu khởi đầu (metyl 5-amino-1H-indazol-6-carboxylat) được tạo ra trong phòng thí nghiệm kỹ thuật:

Hiệu suất:

Mẻ 1: 3476 g (95%)

Mẻ 2: 3449 g (95%)

Mẻ 3: 3476 g (95%)

Mẻ 4: 3494 g (96%)

Độ tinh khiết của toàn bộ các mẻ được xác định lớn hơn > 98% diện tích (HPLC).

HPLC (Phương pháp A): Rt = 6,5 phút.

MS (ESI pos): m/z = 365 (M+H)⁺

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]: 3,98 (s, 3 H), 8,21 (d, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,39 (t, 1H), 8,48 (d, 1H), 9,16 (s, 1H), 12,57 (s, 1H), 13,45 (br s, 1H).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 3,97 (s, 3 H), 8,13 - 8,27 (m, 2 H), 8,30 (s, 1 H), 8,33 - 8,45 (m, 1 H), 8,45 - 8,51 (m, 1 H), 9,15 (s, 1 H), 12,57 (s, 1 H), 13,44 (br s, 1 H).

Ví dụ 2

N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa)

Trong phần sau, các biến thể khác của quy trình phản ứng và xử lý được mô tả. Các quy trình này được định hướng theo các điều kiện xác định trong các thiết bị kỹ

thuật tương ứng. Các thử nghiệm sau được tiến hành không có nước và không khí sử dụng khí trơ (N_2 hoặc Ar).

Biến thể #1

50g (137,26mmol) methyl 5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl}amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa) được hòa tan trong 800 ml THF. Trong điều kiện áp suất thường (1 atm), khoảng 300 ml THF được chưng cất ở nhiệt độ 70°C . Sau đó, dung dịch được làm lạnh xuống $0 - 3^\circ\text{C}$.

Dung dịch được duy trì ở nhiệt độ này và được bổ sung từng giọt trong vòng 120 phút vào hỗn hợp được làm lạnh của 457,5 ml (1372,55 mmol) methylmagie clorua 3M trong THF và 29,1g lithi clorua (686,27 mmol) ở nhiệt độ $0 - 3^\circ\text{C}$. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, mẫu được lấy ra khỏi hỗn hợp và được cho tiến hành phân tích HPLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn. Hỗn hợp được rót cẩn thận trong thời gian 25 phút ở nhiệt độ $0 - 3^\circ\text{C}$ vào trong 500ml dung dịch nước natri clorua nửa bão hòa (chú ý: tỏa nhiệt! Trong 50 ml đầu tiên, quan sát thấy sự tăng nhiệt độ mạnh đến 29°C !). Huyền phù thu được được hoà tan khi bổ sung 358 ml dung dịch nước axit xitric 20% khối lượng (pH giảm từ 8,08 xuống 4,28). Tiếp tục khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ $20 - 25^\circ\text{C}$. 500 ml etyl axetat được bổ sung vào đó và tiếp tục khuấy trong 10 phút. Các pha được tách riêng. Phần cạn được bổ sung vào pha hữu cơ. 5 g than hoạt tính được bổ sung vào pha hữu cơ. Hỗn hợp này được gia nhiệt đến 78°C (nhiệt độ bên trong), khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ đó và tiếp theo, làm mát xuống 50°C (nhiệt độ bên trong). Dung dịch ẩm thu được được lọc qua xelit và rửa hai lần bằng 125 ml etyl axetat. Hỗn hợp này được cô đến khoảng 150 ml ở áp suất môi trường (1 atm) và nhiệt độ 110°C . Bổ sung 350 ml toluen vào đó và 200 ml được chưng cất ra ở áp suất môi trường (1 atm) và nhiệt độ 110°C . Sản phẩm được kết tủa. Ở nhiệt độ bên trong là 60°C , 200 ml n-heptan được bổ sung vào trong 45 phút. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ từ 0 đến 3°C và khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ này. Sản phẩm được lọc và rửa hai lần bằng hỗn hợp của 50 ml toluen/n-heptan (1:1). Sản phẩm kết tủa được sấy khô trong lò sấy ở nhiệt độ 40°C và 20 mbar trong >48 giờ.

Hiệu suất: 39,42 g (78,83%, độ tinh khiết 97,84% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp A): $R_t = 5,8$ phút.

MS (ESIpos): $m/z = 365 (M+H)^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,63 (s, 6H), 5,99 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,06 (s, 1H),

8,17 (d, 1H), 8,37 (t, 1H), 8,46 (d, 1H), 8,78 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 12,97 (br s, 1H).

13 mẻ được tạo ra theo quy trình của biến thể #1. Bảng dưới đây tổng hợp các hiệu suất tương ứng. Các phản ứng được tiến hành ở quy mô 1kg với việc sử dụng methyl 5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa) làm nguyên liệu khởi đầu. Trong hầu hết các trường hợp, hai mẻ được hợp nhất sau khi xử lý bằng than hoạt tính:

Bảng 3: Các mẻ và hiệu suất sau khi sản xuất hợp chất (IIa) từ hợp chất (VIIa)

Mẻ #	Sản lượng [kg] [%]
1	1,597 kg
2	79,9 %
3	1,88 kg
4	94 %
5	1,816 kg
6	90,8 %
7	1,66 kg
8	83 %
9	1,752 kg
10	87,6 %
11	1,854 kg
12	92,7 %
13*	0,919 kg 96,4 %

*) mẻ đơn

Biến thể #2

30g (82,353mmol) methyl 5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl}amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa) được hòa tan trong 480 ml THF. Ở áp suất bình thường (1 atm), khoảng 180 ml THF được chưng cất ra ở nhiệt độ 70°C. Tiếp theo, làm mát hỗn hợp này (hơi vẫn đục) xuống nhiệt độ từ 0 đến 3°C.

Dung dịch được duy trì ở nhiệt độ này và được bổ sung từng giọt trong vòng 120 phút vào hỗn hợp được làm mát gồm 274,5 ml (823,528 mmol) metylmagie clorua 3M trong THF và 17,5g lithi clorua (411,764 mmol) ở nhiệt độ 0 - 3°C. 15 phút sau khi hoàn thành việc bổ sung, mẫu được lấy ra khỏi hỗn hợp và được cho tiến hành phân tích HPLC (phương pháp A) cho thấy rằng, hợp chất (VI) được chuyển hóa hoàn toàn. Hỗn hợp này được rót cẩn thận trong 15 phút ở nhiệt độ từ 0 đến 3°C vào 300 ml nước (chú ý: toả nhiệt! Trong 50 ml đầu tiên, quan sát thấy sự tăng nhiệt độ mạnh!). 310 ml dung dịch nước axit xitric 20% khối lượng được bổ sung (độ pH giảm xuống 4,05). Tiếp tục khuấy trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ 20 đến 25°C. 300 ml etyl axetat được bổ sung vào đó và tiếp tục khuấy trong 30 phút. Các pha được tách riêng. Phần cạn được bổ sung vào pha hữu cơ. Pha hữu cơ được rửa hai lần bằng 450 ml nước. Pha hữu cơ được cô đến khoảng 350 ml ở 65°C (nhiệt độ bên trong) và áp suất môi trường (1 atm). 250 ml etyl axetat được bổ sung. 6 g than hoạt tính được bổ sung vào pha hữu cơ. Hỗn hợp này được gia nhiệt đến 65°C (nhiệt độ bên trong), khuấy trong 120 phút ở nhiệt độ đó và tiếp theo, làm mát xuống 50°C (nhiệt độ bên trong). Dung dịch ẩm thu được được lọc qua xelit và rửa hai lần bằng 125 ml etyl axetat. Hỗn hợp này được cô đến khoảng 150 ml ở áp suất môi trường (1 atm) và nhiệt độ 110°C. 300 ml toluen được bổ sung và 200 ml được chưng cất ra ở áp suất môi trường (1 atm) và nhiệt độ 110°C. Sản phẩm được kết tủa. Ở nhiệt độ bên trong là 60°C, 200 ml n-heptan được bổ sung vào trong 45 phút. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ từ 0 đến 3°C và khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ này. Sản phẩm được lọc và rửa hai lần bằng hỗn hợp của 50 ml toluen/n-heptan (1:1). Sản phẩm kết tủa được sấy khô trong lò sấy ở nhiệt độ 40°C và 20 mbar trong >48 giờ.

Hiệu suất: 24,0 g (80%, độ tinh khiết: 95,8% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp A): $R_t = 5,8$ phút.

MS (ESI pos): $m/z = 365$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]= 1,63 (s, 6H), 5,99 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,06 (s, 1H),

8,17 (d, 1H), 8,37 (t, 1H), 8,46 (d, 1H), 8,78 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 12,97 (br s, 1H).

Biến thể #3

30g (82,353mmol) methyl 5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa) được hòa tan trong 600ml THF. Ở áp suất bình thường (1 atm), khoảng 150 ml THF được chưng cất ra ở nhiệt độ 70°C. Tiếp theo, làm mát hỗn hợp này (hơi vẫn đục) xuống nhiệt độ từ 0 đến 3°C.

Dung dịch được giữ ở nhiệt độ này và bổ sung nhỏ giọt trong vòng 120 phút vào hỗn hợp được làm mát gồm 274,5 ml (823,528 mmol) methylmagie clorua 3 M trong THF và 17,5 g (411,76 mmol) lithi clorua ở nhiệt độ từ 0 đến 3°C. Phễu nhỏ giọt được rửa hai lần bằng 10 ml THF. 15 phút sau khi hoàn thành việc bổ sung, mẫu được lấy ra khỏi hỗn hợp và được cho tiến hành phân tích HPLC cho thấy rằng, hợp chất (VIIa) được chuyển hóa hoàn toàn. Hỗn hợp này được rót cẩn thận trong 10 phút ở nhiệt độ từ 0 đến 3 °C vào 300 ml nước (chú ý: toả nhiệt! Trong 50 ml đầu tiên, quan sát thấy sự tăng nhiệt độ mạnh đến 25°C!). 250 ml dung dịch nước axit xitric 20 % khối lượng được bổ sung (độ pH giảm từ 8 xuống 4). Tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ từ 20 đến 25°C. 300 ml etyl axetat được bổ sung và tiếp tục khuấy trong 10 phút. Tách các pha ra. Phần cặn được bổ sung vào pha hữu cơ. Pha hữu cơ được rửa hai lần bằng 200ml dung dịch nước natri clorua 1% khối lượng. Các pha được tách. Pha hữu cơ được cô đến khoảng 250 ml ở 65°C (nhiệt độ bên trong) và áp suất môi trường (1 atm). 150 ml etyl axetat và 6 g than hoạt tính được bổ sung vào pha hữu cơ. Hỗn hợp này được gia nhiệt đến 65°C (nhiệt độ bên trong), khuấy trong 120 phút ở nhiệt độ đó và tiếp theo, làm mát xuống 50°C (nhiệt độ bên trong). Dung dịch ẩm thu được được lọc qua xelit và rửa hai

lần bằng 50 ml etyl axetat. Hỗn hợp này được cô đến khoảng khoảng 100 ml ở áp suất môi trường (1 atm) và 110°C. 300 ml isopropanol được bổ sung. 300 ml được chưng cất ra tại áp suất môi trường (1 atm) và nhiệt độ 110°C. 300 ml isopropanol được bổ sung lại và được chưng cất ra (khoảng 355 ml) ở nhiệt độ 110°C. Huyền phù thu được được làm mát xuống nhiệt độ 20 đến 25°C. 45 ml nước được bổ sung vào trong 45 phút. Hỗn hợp này được khuấy trong 1 giờ. Sản phẩm kết tủa được lọc và rửa bằng 50 ml hỗn hợp nước/isopropanol (1:1). Sản phẩm kết tủa được sấy khô trong lò sấy ở nhiệt độ 50°C và 20 mbar trong >48 giờ.

Hiệu suất: 24,9 g (83%, độ tinh khiết: 97,84% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp A): $R_t = 5,8$ phút.

MS (ESI pos): $m/z = 365$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]= 1,63 (s, 6H), 5,99 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,06 (s, 1H),

8,17 (d, 1H), 8,37 (t, 1H), 8,46 (d, 1H), 8,78 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 12,97 (br s, 1H).

Biên thể #4

Biên thể này được sử dụng để sản xuất các mẻ kỹ thuật ở mức quy mô kg (>10kg).

60g (164,706 mmol) methyl 5-({[6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl}amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa) được hòa tan trong 1500ml THF. Ở áp suất bình thường (1 atm), khoảng 600 ml THF được chưng cất ra ở nhiệt độ 70°C. Tiếp theo, làm mát hỗn hợp này (dung dịch màu vàng) xuống nhiệt độ từ 0 đến 3°C.

Dung dịch được duy trì ở nhiệt độ này và được bổ sung từng giọt trong vòng 120 phút vào hỗn hợp được làm lạnh gồm 550ml (1647,06mmol) metylmagie clorua 3M trong THF và 35g (823,53mmol) lithi clorua ở nhiệt độ 0 - 3°C. 15 phút sau khi hoàn

thành việc bổ sung, mẫu được lấy ra khỏi hỗn hợp và được cho tiến hành phân tích HPLC cho thấy rằng, sự chuyển hóa hợp chất (VIIa) là hoàn toàn. Hỗn hợp này được rót cẩn thận trong 15 phút ở nhiệt độ từ 0 đến 3°C vào 600 ml nước (chú ý: toả nhiệt! Trong 50 ml đầu tiên, quan sát thấy sự tăng nhiệt độ mạnh!). 600 ml dung dịch nước axit xitric 20 % khối lượng được bổ sung (độ pH giảm xuống 4). Tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ từ 20 đến 25°C. Tách các pha ra. Pha hữu cơ được rửa hai lần bằng 400 ml dung dịch nước natri clorua 1% khối lượng. Phần cặn được bổ sung vào pha hữu cơ. Các pha được tách. Pha hữu cơ được cô đến khoảng 700 ml ở 65°C (nhiệt độ bên trong) và áp suất môi trường (1 atm). 500 ml etyl axetat và 12 g than hoạt tính được bổ sung vào pha hữu cơ. Hỗn hợp này được gia nhiệt đến 65°C (nhiệt độ bên trong), khuấy trong 120 phút ở nhiệt độ đó và tiếp theo, làm mát xuống 50°C (nhiệt độ bên trong). Dung dịch ẩm thu được được lọc qua xelit và rửa hai lần bằng 200 ml etyl axetat. Tiếp tục cô dưới áp suất giảm (200 mbar). Tiến hành thay đổi dung môi thành toluen (thể tích còn lại khoảng 850mL). Huyền phù thu được được làm mát xuống nhiệt độ 0 đến 3°C. Sản phẩm kết tủa được lọc và rửa bằng 50 ml toluen. Sản phẩm kết tủa được sấy khô trong lò sấy ở nhiệt độ 50°C và 20 mbar trong >48 giờ.

Hiệu suất: 51,2 g (85,3%, độ tinh khiết: 96,51% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp A): $R_t = 5,8$ phút.

MS (ESI pos): $m/z = 365$ ($M+H$)⁺

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]= 1,63 (s, 6H), 5,99 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 8,17 (d, 1H), 8,37 (t, 1H), 8,46 (d, 1H), 8,78 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 12,97 (br s, 1H).

Biên thể #5

Tinh chế bằng cách khuấy trong isopropanol/nước

Tùy thuộc vào độ tinh khiết của sản phẩm thô, có thể tiến hành bước tinh chế bổ sung bằng cách khuấy trong hỗn hợp của isopropanol và nước, tốt hơn là với tỷ lệ 1:1. Tùy thuộc vào độ tinh khiết của sản phẩm thô, việc khuấy được tiến hành trong

khoảng từ 2 đến 10 thể tích so với nguyên liệu thô ban đầu. Ví dụ sau mô tả việc khuấy trong 3 thể tích isopropanol/nước:

7,5g N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa) với độ tinh khiết 95% diện tích (HPLC) được khuấy trong 22,5ml hỗn hợp tỷ lệ 1:1 (thể tích) của nước và isopropanol trong 2 giờ ở nhiệt độ 20°C. Sau đó, huyền phù được lọc và sản phẩm được rửa bằng 4ml cùng loại hỗn hợp dung môi. Sản phẩm kết tủa được sấy khô trong lò sấy ở nhiệt độ 50°C trong chân không (<100 mbar).

Hiệu suất: 6,8 g (90,7%, độ tinh khiết > 98% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp A): Thời gian lưu = 5,8 phút.

MS (ESIpos): $m/z = 365 (M+H)^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,63 (s, 6H), 5,99 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 8,17 (d, 1H), 8,37 (t, 1H), 8,46 (d, 1H), 8,78 (s, 1H), 12,33 (s, 1H), 12,97 (br s, 1H).

Ví dụ 3

3-Hydroxy-3-metylbutyl-4-metylbenzensulfonat (VI)

Biến thể #1

Biến thể này được sử dụng để sản xuất mẻ kỹ thuật với quy mô kg.

Bổ sung 147ml (107g) trietylamin cùng với 6,0g 4-dimetylaminopyridin (DMAP) vào dung dịch của 100g 3-metylbutan-1,3-diol (IX) trong 200ml (264g) diclometan. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C (0±5°C).

Song song đồng thời, 192g 4-toluensulfonyl clorua (X) được hòa tan trong 400ml (528g) diclometan. Sau đó, dung dịch đục nhẹ tạo ra được nhỏ giọt trong thời gian 1,5 giờ vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0 - 5°C. Khi nhiệt độ của phản ứng đạt 5°C, việc bổ sung dừng lại và được tiếp tục khi nhiệt độ bên trong đạt tới 0°C. Sau khi

hoàn thành việc bổ sung, hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên nhiệt độ môi trường (20 - 25°C) trong 1 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy liên tục ở nhiệt độ môi trường trong 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ).

Sau đó, 500ml nước được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ nữa ở nhiệt độ 20 - 25°C. Các pha được tách riêng. Phần cặn được tập hợp trong pha nước. 500ml nước được bổ sung vào pha hữu cơ và độ pH được hiệu chỉnh tới 1,9 sử dụng 5 ml dung dịch nước HCL 2N. Sau khi các pha được tách riêng, 500ml dung dịch nước NaCl bão hòa được bổ sung vào pha hữu cơ. Độ pH được hiệu chỉnh tới 7 sử dụng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa. Các pha được tách riêng và pha hữu cơ được cô đặc bằng phương pháp làm bay hơi kiểu quay trong chân không (xuống áp suất 14 mbar) ở nhiệt độ 40°C. Sản phẩm thu được ở dạng dầu nhớt màu vàng.

Hiệu suất: 222,3 g (89,6 %, độ tinh khiết: 91,9% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp A): Thời gian lưu = 5,3 phút.

MS (ESI pos): $m/z = 241$ [M-OH]⁺

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]= 1,12 (s, 6H), 1,78 (t, 2H), 2,50 (s, 3H), 4,20 (t, 2H), 4,47 (br s, 1H), 7,56 (d, 2H), 7,87 (d, 2H).

Quy trình này được thực hiện ở quy mô kỹ thuật sử dụng 1,5kg hợp chất (IX). Chín mẻ được tạo ra. Thông tin khái quát được đưa ra trong bảng dưới đây.

Bảng 4: Các mẻ và hiệu suất sau khi sản xuất hợp chất (VI) từ hợp chất (IX)

Mẻ # (quy mô 1,5kg)	Hiệu suất
1	3,477 kg 93,4%
2	3,521 kg 94,6 %
3	3,458 kg

Biến thể		92,9 %	#2
	4	3,487 kg 93,7 %	
	5	3,499 kg 94,0 %	
	6	3,490 kg 93,8 %	
	7	3,492 kg 93,8 %	
	8	3,624 kg 97,4 %	
	9	3,467 kg 93,2%	

400g 3-metylbutan-1,3-diol được tạo nhũ hóa trong 607ml (528g) toluen ở nhiệt độ môi trường (20 - 25°C). Nhũ tương được làm lạnh xuống 0°C. 589ml (427,5g) triethylamin được bổ sung trong 15 phút (tỏa nhiệt nhẹ). 23,5g 4 dimethylaminopyridin (DMAP) được bổ sung vào đó. Trong vòng 10 phút, hỗn hợp phản ứng đã chuyển thành dung dịch.

Song song đồng thời, 768,8g 4-toluensulfonyl clorua được hòa tan trong 1214ml (1056g) toluen (thu nhiệt!). Dung dịch đục nhẹ tạo ra được lọc và dịch lọc được nhỏ giọt trong 2 giờ vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, tiếp tục khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 12 đến 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ). Chất kết tủa màu trắng được tạo ra (triethylamoni clorua). Chất kết tủa được lọc ra và dung dịch trong màu tạo ra (2603g) được sử dụng làm dung dịch 30-35% khối lượng của 3-hydroxy-3-metylbutyl-4-metylbenzensulfonat (VI) trong quá trình alkyl hóa N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa) trong các quá trình chuyển dạng tương tự như ví dụ #5 biến thể #2.

HPLC (Phương pháp B): Thời gian lưu = 4,68 phút.

Biến thể #3

Biến thể này được sử dụng để sản xuất mẻ kỹ thuật với quy mô kg.

1,57kg 3-metylbutan-1,3-diol (IX) được tạo nhũ hóa trong 4,0kg toluen ở nhiệt độ môi trường (20 - 25°C). 2kg dung môi được chưng cất tại áp suất môi trường ($T \geq 110^\circ\text{C}$). Nhũ tương được làm lạnh xuống 0°C (nhiệt độ bên trong). 1,63kg trimetylamin và 89g 4-dimetylaminopyridin (DMAP) được bổ sung cùng với 0,1kg toluen và được khuấy trong 15 phút (tỏa nhiệt nhẹ).

Song song đồng thời, 2,65kg 4-toluensulfonyl clorua được hòa tan trong 3,7kg toluen (thu nhiệt!), do đó được làm ấm tới nhiệt độ môi trường). Dung dịch được nhẹ tạo ra được lọc và bánh lọc được rửa bằng 0,11kg toluen. Phần dịch lọc tạo ra được nhỏ giọt trong thời gian 5 giờ vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C . Sau khi hoàn thành việc bổ sung, tiếp tục khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 12 đến 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ). Chất kết tủa màu trắng được tạo ra (triethylamoni clorua). Phần kết tủa được lọc ra và phần kết tủa rửa bằng 3x 1,88kg toluen. Dung dịch trong màu tạo ra (14,4 kg) được xác định có hàm lượng 25,4% khối lượng của 3-hydroxyl-3-metylbutyl-4-methylbenzensulfonat (VI) và được sử dụng không cần xử lý thêm trong phản ứng alkyl hóa của N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa). Dung dịch này được sử dụng trong quy trình chuyển dạng được mô tả trong ví dụ #5 biến thể #3.

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 2,68 phút.

Ví dụ 4

2-(3-Hydroxy-3-metylbutyl)-5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-2H-indazol-6-carboxylat (V)

Biến thể này được sử dụng để sản xuất mẻ kỹ thuật với quy mô kg.

1200g methyl 5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-1H-indazol-6-carboxylat (VIIa), 12,0L N,N-diisopropyletylamin và 7,5L toluen được

kết hợp ở nhiệt độ môi trường (20 - 25°C). Huyền phù màu vàng tạo ra được gia nhiệt tới nhiệt độ bên trong là 111°C (nhiệt độ áo bao 120°C). Dung dịch của 4255g 3-hydroxy-3-metylbutyl-4-metylbenzensulfonat (VI) trong 4,25L toluen được định lượng từ từ vào hỗn hợp phản ứng trong thời gian 10 giờ bằng bơm tiêm. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, phần nhỏ giọt được rửa bằng 0,25L toluen. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ bên trong là 104°C và được khuấy ở nhiệt độ đó trong thời gian 12 đến 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống 45°C (nhiệt độ áo bao). Thể tích của hỗn hợp phản ứng được khử ở nhiệt độ 45°C đến 53°C (nhiệt độ áo bao) trong điều kiện chân không (113 - 70 mbar) thành phần còn lại dạng nhớt, có thể khuấy được (khoảng 19,6L dịch chung cất được loại bỏ). Ở nhiệt độ bên trong là 28 - 33°C (thận trọng: tránh kết tinh hóa bằng việc bổ sung nhanh etyl axetat) 12L etyl axetat được bổ sung, tiếp theo là 12L nước. Hỗn hợp được khuấy trong thời gian 5 phút ở nhiệt độ bên trong là 22°C. Các pha được tách riêng. Phần cạn được bổ sung vào pha nước. Pha nước được chiết bằng 3,85L etyl axetat. Các pha hữu cơ được kết hợp và 12L nước được bổ sung. Độ pH của hỗn hợp được hiệu chỉnh từ 10 xuống 6,9 (6 - 7) sử dụng axit axetic đặc. Pha hữu cơ được cho bay hơi tới trạng thái khô ở nhiệt độ 40°C trong điều kiện chân không (xuống còn 45 mbar). Phần còn lại được hòa tan trong 1L diclometan và được cho bay hơi đến trạng thái khô. Quy trình này được lặp lại hai lần nữa. Phần còn lại (1,772kg) được hòa tan trong 26,58L diclometan (15L/kg). Dung dịch tạo ra được hiệu chỉnh tới nồng độ 20L/kg (3,6% khối lượng) và sau đó được cho tiến hành phương pháp sắc ký cột (chromasil 13 μ m; gradien: etyl axetat/ n-hexan 10:90 đến 100:0). Sản phẩm tinh khiết tạo ra được cung cấp ở dạng dung dịch 10-15% khối lượng trong THF cho bước tiếp theo.

Bốn phản ứng được thực hiện ở quy mô 1,2kg cho mỗi một phản ứng. Các phản ứng này được bao gồm trong một mẻ của phương pháp sắc ký cột. Ba phản ứng khác được thực hiện ở cùng quy mô và cũng được bao gồm trong một mẻ của phương pháp sắc ký cột. Bảng dưới đây thể hiện kết quả liên quan đến hiệu suất và độ tinh khiết:

Bảng 5: Hiệu suất và độ tinh khiết (HPLC) sau khi sản xuất hợp chất (V) từ hợp chất (VIIa)

Mẻ #	Phản ứng # (Quy mô 1,2kg (VIIa))	Hiệu suất	Độ tinh khiết (HPLC)
1	1	3,39 kg 47 %	99,8% diện tích
	2		
	3		
	4		
2	5	2,40 kg 45%	99,5% diện tích
	6		
	7		

HPLC (Phương pháp B): Thời gian lưu = 5,9 phút.

MS (ESI pos): $m/z = 451 (M+H)^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,16 (s, 6H), 2,00 - 2,13 (m, 2H), 3,96 (s, 3H), 4,45 - 4,64 (m, 3H), 8,20 (d, 1H), 8,34 - 8,42 (m, 1H), 8,42 - 8,49 (m, 2H), 8,55 (s, 1H), 9,05 (s, 1H), 12,52 (s, 1H).

Theo cách khác, quá trình kết tinh có thể được tiến hành để thu được sản phẩm tinh khiết ở dạng chất rắn nguyên chất:

300G dung dịch 15% khối lượng của 2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-5-([6-(triflormethyl)pyridin-2-yl]carbonyl}amino)-2H-indazol-6-carboxylat (V) trong THF được cô đặc ở nhiệt độ áp suất 43°C trong điều kiện chân không (300 - 320 mbar). Tiếp tục chưng cất cho tới khi đạt tới giới hạn khuấy (199,6g phần còn lại). Tại áp suất môi trường và nhiệt độ áp suất là 43°C, bổ sung 255g n-heptan trong thời gian 15 phút vào phần còn lại. Tiếp tục khuấy trong 1 giờ trước khi hỗn hợp được làm lạnh xuống 20°C trong 1 giờ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ đó trong thời gian 12 đến 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ). Sản phẩm được lọc, được rửa hai lần bằng 25g n-heptan và làm khô trong lò sấy ở nhiệt độ 40°C trong điều kiện chân không (<200 mbar).

Ví dụ 5

N-[2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

Biến thể #1

Thực nghiệm sau được tiến hành không cần nước và không khí sử dụng khí trơ (N₂ hoặc Ar, tốt hơn Ar).

4,0kg THF khan được đưa vào trong bình phản ứng trong điều kiện khí quyển trơ và được làm lạnh xuống -15°C (nhiệt độ bên trong). 4,61kg dung dịch metylmagie clorua 3M trong THF được bổ sung. Phễu nhỏ giọt được rửa bằng 0,433kg THF.

Song song đồng thời, 9,901kg dung dịch 10,1% khối lượng của metyl 2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-2H-indazol-6-carboxylat (V) được cô đặc ở nhiệt độ 40°C trong điều kiện chân không. Khoảng 5kg được chưng cất và 2,087kg phần cặn còn lại. Bổ sung 4,279kg THF vào phần cặn dẫn đến dung dịch 15% khối lượng của hợp chất (V) trong THF.

Dung dịch 15% khối lượng của metyl 2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-5-([6-(triflometyl)pyridin-2-yl]carbonyl)amino)-2H-indazol-6-carboxylat (V) trong THF được định lượng từ từ trong thời gian ít nhất 1 giờ 45 phút vào dung dịch Grignard ở nhiệt độ -15°C. Đồ chứa và bơm được rửa bằng 0,3kg THF. Tiếp tục khuấy trong 30 - 40 phút ở cùng nhiệt độ. Trong khi đó, dung dịch nước 15% khối lượng của axit xitric (2,8 kg axit xitric monohydrat + 14,267 kg nước) được đưa vào trong bình phản ứng và làm lạnh xuống 0°C (nhiệt độ bên trong). Hỗn hợp phản ứng lạnh (0 – 10°C) được định liều trong 30 phút vào dung dịch nước axit xitric. Hỗn hợp này được rửa bằng 1kg THF. Sau đó, hỗn hợp phản ứng đã dừng được làm ấm lên nhiệt độ môi trường (20 - 25°C) trong thời gian 40 phút. Các pha được tách riêng. Pha nước được chiết bằng 10L etyl axetat. Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng 6,66L nước (các pha được khuấy trong 15 phút). Các pha hữu cơ kết hợp được cô đặc cho tới khi đạt tới giới hạn khuấy (nhiệt độ áo bao 45°C, áp suất chân không từ 150 mbar đến 70 mbar; khoảng 3 - 4L thể tích cặn). 6kg etanol được bổ sung vào phần cặn. Dung dịch được cô đặc trong điều kiện chân không (nhiệt độ áo bao từ 45 đến tối đa 60°C ; 8,5L dịch chưng cất) và 6kg etanol khác được bổ sung. Dung dịch lại được cô đặc trong điều kiện chân không (dịch chưng cất: 7,95L). Sau đó, 6kg etanol được bổ sung vào phần cặn.

Kết tinh thô:

Dung dịch tạo ra được gia nhiệt tới nhiệt độ bên trong nằm trong khoảng từ 31 đến 32°C. 18L nước được bổ sung trong 1 giờ tạo ra huyền phù màu vàng nhạt. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 20°C trong 1 giờ và được khuấy trong 20 phút. Phần kết tủa được lọc và được rửa hai lần bằng hỗn hợp của 0,416 kg etanol + 1,25 kg nước. Nước cái lại được lọc và phần kết tủa được rửa bằng hỗn hợp của 1,7 kg etanol/nước (1:3). Sản phẩm thô được làm khô trong lò sấy ở nhiệt độ 40°C trong điều kiện chân không (< 200 mbar) trong thời gian 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ).

Quá trình tái kết tinh (3 phản ứng (các mẻ sản phẩm thô) được kết hợp trong một mẻ để tinh chế):

Các sản phẩm thô kết hợp (2,855kg) được tạo huyền phù trong 18,27kg hỗn hợp tỷ lệ 9:1 của toluen/axeton. Sau đó, hỗn hợp được gia nhiệt tới nhiệt độ bên trong 80°C và 6,67 kg hỗn hợp tỷ lệ 9:1 của toluen/axeton được bổ sung theo các phần 1,1L. Khi hòa tan sản phẩm, hỗn hợp được làm lạnh xuống nhiệt độ 55°C. Sau đó, làm lạnh từ từ xuống 52°C và được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ đó. Sản phẩm bắt đầu kết tinh ở nhiệt độ 53°C. (Sự tạo mầm bằng các tinh thể là tùy ý). Tiếp tục khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 52°C (nhiệt độ bên trong). Sau đó, huyền phù được làm lạnh trong 2 giờ xuống nhiệt độ 20°C. Huyền phù được khuấy ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ). Sản phẩm được lọc và rửa bằng 1,11kg toluen/axeton theo tỷ lệ 9:1 và sau đó bằng 1,11kg toluen. Sản phẩm được làm khô trong lò sấy ở nhiệt độ 40°C trong điều kiện chân không (< 200 mbar) trong thời gian 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ).

Để thu được ngoại dạng tinh thể xác định, sản phẩm tinh khiết được cho kết tinh bằng etanol và nước (như mô tả ở trên, tương tự như bước kết tinh thứ nhất từ etanol/nước). Do đó, các tinh thể kim của sản phẩm thu được với độ tinh khiết cao: 8,37 kg etanol được bổ sung vào 2,32 kg sản phẩm tinh khiết. Hỗn hợp được làm ấm lên nhiệt độ 32°C. Ở nhiệt độ này, 25,1 kg nước được bổ sung trong thời gian 1 giờ. Huyền phù tạo ra được làm lạnh xuống nhiệt độ 20°C trong 1 giờ và được khuấy trong 20 phút. Sản phẩm được lọc và rửa bằng 7,43kg hỗn hợp của etanol/nước (1:3). Phần kết tủa được rửa hai lần nữa bằng 7,43kg hỗn hợp của etanol/nước (1:3). Sản phẩm được làm

khô trong lò sấy ở nhiệt độ 50°C trong điều kiện chân không (< 200 mbar) trong thời gian 12 - 18 giờ (tốt hơn là 15 giờ).

Bảng 6: Hiệu suất và độ tinh khiết (HPLC) sau khi sản xuất hợp chất (I) từ hợp chất (V)

Mẻ #	Phản ứng # (Quy mô 1,0kg (V))	Hiệu suất	Độ tinh khiết (HPLC) Hàm lượng
1	1	2,314 kg 77,1 %	98,1% diện tích 97,92 %
	2		
	3		
2	4	2,164 kg 72,1 %	98,25% diện tích 97,96 %
	5		
	6		

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,50 phút.

MS (ESI pos): $m/z = 451 (M+H)^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,15 (s, 6H), 1,62 (s, 6H), 1,99 - 2,08 (m, 2H), 4,45 – 4,50 (m, 2H), 4,51 (s, 1H), 5,94 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,36 - 8,39 (m, 1H), 8,43 - 8,47 (m, 1H), 8,71 (s, 1H), 12,35 (s, 1H).

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,15 (s, 6H), 1,63 (s, 6H), 2,00 - 2,09 (m, 2H), 4,43 - 4,55 (m, 3H), 5,94 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,34 - 8,39 (m, 2H), 8,45 (d, 1H), 8,72 (s, 1H), 12,36 (s, 1H).

Biến thể #2

Dung dịch khoảng 30 - 35% khối lượng của 3-hydroxy-3-methylbutyl-4-methylbenzensulfonat (VI) trong toluen được điều chế mới tương tự như quy trình được nêu trong ví dụ #3 biến thể #2.

100g N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa) được tạo huyền phù trong 560,5g toluen. Hỗn hợp được gia nhiệt tới nhiệt độ 104°C (110°C) trong 30 phút. Trong thời gian 5 giờ, 212,8g N,N-diisopropyletylamin và 1013g dung dịch 35% khối lượng của hợp chất (VI) trong toluen được định liều đồng thời vào hỗn hợp phản ứng trong 5 giờ. Bằng cách đó, điều quan trọng là lượng dư bazơ luôn luôn có mặt trong quá trình phản ứng. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 104°C (110°C) qua đêm (18 giờ). Sau đó, hỗn hợp phản ứng (hai pha được tạo ra) được làm mát xuống 45°C và được cô đặc trong điều kiện chân không (giảm xuống khoảng 50 mbar) tới thể tích cạn dạng nhớt, có thể khuấy được khoảng 750ml (1189,9g được chưng cất ra). Sau đó, phần cạn còn lại được làm lạnh xuống nhiệt độ 20°C và 920g etyl axetat được bổ sung, tiếp theo bằng hỗn hợp của 110g axit axetic đặc và 840 g nước. Hỗn hợp được khuấy trong thời gian 5 phút ở nhiệt độ 20°C. Các pha được tách riêng. Pha nước được chiết lại trước tiên bằng 840g và sau đó bằng 420g etyl axetat. Các pha hữu cơ được kết hợp và 840g nước được bổ sung. Các pha được lặp lại. Các pha được tái kết hợp và hỗn hợp được gia nhiệt tới nhiệt độ 50°C (nhiệt độ bên trong) và được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ đó. Các pha được tách riêng và pha hữu cơ được cô đặc trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 50 - 60°C tới thể tích cạn khoảng 213,4g.

840g isopropanol được bổ sung vào phần cạn. Dung môi được làm bay hơi tới phần cạn cuối cùng khoảng 380,9g để loại bỏ toàn bộ etyl axetat còn lại. Quy trình này có thể được lặp lại nếu cần thiết. Bổ sung 187,6g isopropanol và 419g isopropanol vào isopropanol còn lại (380,9g) . Quá trình này dẫn đến dung dịch 27,3% khối lượng của hợp chất (I) thô trong isopropanol (độ tinh khiết: 78,4% diện tích HPLC).

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,58 phút.

316,9g dung dịch này được sử dụng trong quy trình kết tủa sau: Dung dịch được duy trì ở 25°C. Trong thời gian 30 phút, 984,4g nước được bổ sung. Các tinh thể mầm (1%; 0,33g) được bổ sung. Tiếp tục khuấy trong thời gian 30 phút. Trong thời gian 2 giờ, 564g nước được bổ sung. Huyền phù tạo ra được khuấy trong 1 giờ và được lọc. Phần kết tủa được rửa bằng hỗn hợp của 15,4g isopropanol và 46,8g nước, tiếp theo

bằng 62,1g nước. Sản phẩm được làm khô trong lò sấy ở nhiệt độ 50°C trong điều kiện chân không trong 18 giờ.

Sử dụng quy trình này, sản phẩm thô thu được với hiệu suất 81% có độ tinh khiết 89,2% diện tích (84,4% khối lượng).

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,55 phút.

Nguyên liệu thu được bằng quá trình xử lý mô tả ở trên có thể được tinh chế bằng quá trình kết tinh lặp đi lặp lại từ hỗn hợp toluen/axeton tỷ lệ 9:1 với sự có mặt của than hoạt tính tương tự như quy trình kết tinh được mô tả trong biến thể #1. Dạng tinh thể xác định có thể thu được thông qua quá trình tái kết tinh bằng etanol và nước (cũng xem trong quy trình biến thể #1). Một ví dụ được đưa ra dưới đây:

23,0g hợp chất (I) thô (89% diện tích HPLC; 86% khối lượng; phương pháp D) được tạo huyền phù trong 70g hỗn hợp toluen/axeton (9:1). Hỗn hợp được gia nhiệt tới nhiệt độ bên trong 80-82°C (quan sát thấy sự hồi lưu nhẹ). 87g hỗn hợp toluen/axeton (9:1) được bổ sung. Dung dịch trong suốt tạo ra. 4,6g than hoạt tính được bổ sung. Tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ đó. Dung dịch nóng được lọc qua 2,5g harbolit 900. Bánh lọc được rửa bằng 9,5g hỗn hợp toluen/axeton (9:1). Sự kết tinh trong dịch lọc bắt đầu ở nhiệt độ 60°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ bên trong 60-62°C trong thời gian 1 giờ. Sau đó, huyền phù được làm lạnh xuống nhiệt độ 22°C trong 2,5 giờ và được khuấy trong khoảng 16 giờ (qua đêm). Sản phẩm tinh khiết được lọc và rửa bằng 20g hỗn hợp toluen/axeton (9:1) và được làm khô trong lò sấy trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 24 giờ.

Hiệu suất: 14,9g (64,8%; độ tinh khiết: 96,2% diện tích HPLC; 94,1% khối lượng)

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,47 phút.

14,9g sản phẩm tinh khiết thu được, trong đó 13,6g lại được cho tiến hành tái kết tinh:

13,6g hợp chất (I) tinh khiết được tạo huyền phù trong 85,7g hỗn hợp toluen/axeton (9:1). Hỗn hợp được gia nhiệt tới nhiệt độ bên trong 80 đến 82°C. 32,7g hỗn hợp toluen/axeton (9:1) được bổ sung. Dung dịch trong suốt tạo ra. 2,8 g than hoạt

tính được bổ sung. Tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ đó. Dung dịch nóng được lọc qua 2,5g harbolit 900. Bánh lọc được rửa bằng 10 g hỗn hợp toluen/axeton (9:1). Sự kết tinh trong dịch lọc bắt đầu ở nhiệt độ 70°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ bên trong 70°C trong thời gian 1 giờ. Sau đó, huyền phù được làm lạnh xuống nhiệt độ 22°C trong 4 giờ và được khuấy trong khoảng 18 giờ. Sản phẩm tinh khiết được lọc và rửa bằng 10g hỗn hợp toluen/axeton (9:1) và được làm khô trong lò sấy trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 24 giờ.

Hiệu suất: 11,5g (84,6%; độ tinh khiết: 97,7% diện tích HPLC; 91,5% khối lượng)

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,48 phút.

11,5g sản phẩm tinh khiết thu được, trong đó 9g được cho tiến hành kết tinh bằng etanol/nước để thu được dạng tinh thể chuẩn và loại bỏ chất lẫn toluen (7,3% khối lượng):

Bổ sung 32,4g etanol vào 9,0g hợp chất (I) tinh chế và hỗn hợp được làm ấm tới nhiệt độ 32°C (nhiệt độ bên trong). 92,7g nước được bổ sung vào dung dịch trong 1 giờ. Huyền phù tạo ra được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ này. Huyền phù được làm lạnh xuống nhiệt độ 22°C trong 1 giờ. Sản phẩm kết tinh được lọc và rửa bằng hỗn hợp của 6,6g nước và 3,3g etanol và làm khô trong lò sấy trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 50°C trong 24 giờ.

Hiệu suất: 8,0g (88,9%; độ tinh khiết: 99,3% diện tích HPLC; 101% khối lượng)

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,52 phút.

MS (ESI pos): $m/z = 451$ (M+H)⁺

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]= 1,15 (s, 6H), 1,62 (s, 6H), 1,99 - 2,08 (m, 2H), 4,45 – 4,50 (m, 2H), 4,51 (s, 1H), 5,94 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,36 - 8,39 (m, 1H), 8,43 - 8,47 (m, 1H), 8,71 (s, 1H), 12,35 (s, 1H).

¹H-NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ [ppm]= 1,15 (s, 6H), 1,63 (s, 6H), 2,00 - 2,09 (m, 2H), 4,43 - 4,55 (m, 3H), 5,94 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,34 - 8,39 (m, 2H), 8,45 (d, 1H), 8,72 (s, 1H), 12,36 (s, 1H).

Biến thể #3

Dung dịch 25,4% khối lượng của 3-hydroxy-3-methylbutyl-4-methylbenzensulfonat (VI) trong toluen (11,27 kg) được điều chế mới tương tự như quy trình được nêu trong ví dụ #3 biến thể #3.

1,01kg N-[6-(2-hydroxypropan-2-yl)-1H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (IIa) được tạo huyền phù trong 5,66kg toluen và 1,72kg N,N-diisopropyletylamin. Hỗn hợp được gia nhiệt để hồi lưu ($\geq 110^{\circ}\text{C}$). Dung dịch 25,4% khối lượng của 3-hydroxy-3-methylbutyl-4-methylbenzensulfonat (VI) trong toluen được định liều vào hỗn hợp phản ứng trong 10 giờ. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, bơm và các bộ phận nối được rửa bằng 0,35kg toluen và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ hồi lưu trong thời gian 14-24 giờ (tốt hơn là 18 giờ). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống nhiệt độ 60°C (nhiệt độ bên trong), 1,3kg toluen được bổ sung vào đó và hỗn hợp được cô đặc trong điều kiện chân không (áp suất cuối: 90 mbar) tới thể tích cặn còn lại dạng nhớt, có thể khuấy được khoảng 8,3 l (13,8 l được chưng cất). Sau đó, phần cặn còn lại được làm lạnh xuống nhiệt độ 50°C và 9,3kg butyl axetat được bổ sung, tiếp theo bằng hỗn hợp của 1,1kg axit axetic đặc và 8,5 kg nước. Hỗn hợp được khuấy trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 50°C . Các pha được tách riêng. Pha nước được chiết bằng 8,5kg butyl axetat. Các pha hữu cơ được kết hợp và 8,49kg dung dịch nước NaCO_3 bão hòa một nửa được bổ sung vào đó. Hỗn hợp được khuấy trong ít nhất 15 phút ở nhiệt độ 50°C . Các pha được tách riêng và pha hữu cơ được chiết bằng 6,1kg nước. Sau đó, pha hữu cơ được cô đặc trong điều kiện chân không ở nhiệt độ áo bao từ $50 - 60^{\circ}\text{C}$ tới thể tích cặn còn lại khoảng 6,3 l (18,7 l được chưng cất). 6,1 kg butyl axetat được bổ sung vào đó và hỗn hợp lại được cô đặc trong điều kiện chân không ở nhiệt độ $50-60^{\circ}\text{C}$ (thể tích cặn: 5,9 l; 5,9 l được chưng cất ra). Sau đó, hỗn hợp được làm ấm lên 93°C (nhiệt độ bên trong) và được khuấy ở nhiệt độ này trong thời gian 1 giờ. Trong vòng 30 phút, dung dịch tạo ra được làm nguội xuống 83°C và được tạo mầm bằng 2g sản phẩm đích (sự tạo mầm là tùy chọn). Huyền phù tạo ra được khuấy trong 10 phút. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống 60°C trong 2 giờ và được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ này. Sau đó, huyền phù được làm ấm lên 78°C trong thời gian ít nhất 30 phút và được khuấy ở nhiệt độ này trong ít nhất 30 phút. Sau đó, hỗn hợp được làm lạnh xuống 22°C trong thời gian ít nhất 6 giờ. Huyền phù được khuấy ở nhiệt độ này trong

thời gian ít nhất 10 phút và sau đó được lọc. Phần kết tủa được rửa bằng 1,1kg butyl axetat làm khô trong lò sấy trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 60°C trong 21 giờ.

Hiệu suất: 2,11kg (61,6%; độ tinh khiết: 98,6% diện tích HPLC)

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,50 phút.

MS (ESI pos): $m/z = 451 (M+H)^+$

Điều chế các dạng tinh thể của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

Điều chế hydrat của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

Khi thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” được sử dụng trong các bước tổng hợp sau, nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 25°C có nghĩa là nhiệt độ trong phòng.

Ví dụ 0

Để có được sản phẩm ở dạng tinh thể xác định với chất lượng cGMP, quy trình tái kết tinh sau được tiến hành:

7,5kg N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I) được hòa tan trong 39,9kg etanol ở nhiệt độ 55°C. Dung dịch tạo ra được cho tiến hành lọc gạn và bánh lọc được rửa bằng 5kg etanol. Dung dịch được gia nhiệt tới 65°C và được khuấy ở nhiệt độ này. 131,6kg nước được định lượng từ từ vào hỗn hợp. 15% (19,7kg) của tổng lượng (131,6 kg) nước được bổ sung trực tiếp, 21% (28,0kg) được bổ sung trong 2 giờ, và 13% khác (16,7 kg) được bổ sung sau đó trong 1 giờ, 21% khác (28,0kg) trong 0,5 giờ và 30% (39,2kg) còn lại trong 0,5 giờ. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, huyền phù tạo ra được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 65°C và sau đó, làm lạnh trong 5 giờ xuống 20°C. huyền phù được khuấy for 5 h ở nhiệt độ này, lọc và phần kết tủa được rửa hai lần bằng hỗn hợp của 3,5 kg etanol và 8,7 kg nước. Sản phẩm được làm khô trong lò sấy trong điều kiện chân không (70°C, ≤ 40 mbar).

Hiệu suất: 7,2kg (96,0%; độ tinh khiết: 98,7% diện tích HPLC)

Hàm lượng (thử nghiệm về sử dụng): 96,5% khối lượng

Etanol <0,13% khối lượng

3-Hydroxy-3-methylbutyl 4-methylbenzensulfonat (VI) <20 ppm

HPLC (Phương pháp C): Thời gian lưu = 3,50 phút.

MS (ESI pos): $m/z = 451 (M+H)^+$

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,15 (s, 6H), 1,62 (s, 6H), 1,99 - 2,08 (m, 2H), 4,45 - 4,50 (m, 2H), 4,51 (s, 1H), 5,94 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,36 - 8,39 (m, 1H), 8,43 - 8,47 (m, 1H), 8,71 (s, 1H), 12,35 (s, 1H).

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6): δ [ppm]= 1,15 (s, 6H), 1,63 (s, 6H), 2,00 - 2,09 (m, 2H), 4,43 - 4,55 (m, 3H), 5,94 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,34 - 8,39 (m, 2H), 8,45 (d, 1H), 8,72 (s, 1H), 12,36 (s, 1H).

Ví dụ 1

Điều chế hydrat của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

19,9mg hợp chất (I) thu được từ ví dụ #5, biến thể #1 được hòa tan trong 100 μL metanol ở nhiệt độ trong phòng trong bình thể tích 1,5mL mà bình này được đậy kín sau đó. Mẫu được khuấy trong thời gian 5 phút và được cho tiếp xúc với sóng siêu âm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 phút nữa. Mẫu được làm bay hơi ở nhiệt độ trong phòng tới trạng thái khô hoàn toàn.

Ví dụ 2

Điều chế anhydrat của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

102,10mg hợp chất (I) thu được từ ví dụ #5, biến thể #1 được hòa tan trong 3 mL isobutanol ở nhiệt độ 50°C trong bình thể tích 4mL mà bình này được đậy kín sau đó. Mẫu được khuấy trong thời gian 5 phút và được cho tiếp xúc với sóng siêu âm ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 5 phút nữa. Mẫu được làm bay hơi ở nhiệt độ 50°C tới trạng thái khô hoàn toàn.

Ví dụ 3

Điều chế dạng formamit solvat của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

Huyền phù của 100,30mg hợp chất (I) thu được từ ví dụ #5, biến thể #1 trong 2mL formamit được khuấy trong một lọ đậy kín trong thời gian 7 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Chất rắn được lọc ra sau đó.

Dữ liệu XRPD về hydrat, anhydrat và formamit solvat của hợp chất (I) được nêu trong bảng 1 và hình vẽ trên các Fig. 1, 2 và 3.

Ví dụ 4

Dược phẩm chứa một trong số các dạng tinh thể (dạng hydrat, anhydrat hoặc formamit solvat) của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

Dịch lỏng tạo hạt được điều chế bằng cách trộn kết hợp dạng micron hóa của hợp chất có công thức (I), natri laurilsulfat, hypromeloza 3 cP, và nước tinh khiết với lượng lớn. Manitol, xenluloza vi tinh thể, và croscarmeloza natri được trộn kết hợp. Hỗn hợp được nghiền hạt với dịch lỏng tạo hạt trong thiết bị nghiền hạt tầng sôi. Hạt được sấy khô và rây.

Hạt được trộn kết hợp với magie stearat rây trong thiết bị trộn dẫn đến hỗn hợp sẵn sàng để nén. Hỗn hợp sẵn sàng để nén được nén thành viên nén. Viên nén không bọc được thử nghiệm về tính đồng nhất khối lượng, độ dày, độ bền chống vỡ vụn, phân hủy và bỏ rời. Hypromeloza 5 cP, macrogol 3350, bột talc, titan dioxit, và oxit sắt đỏ được kết hợp với nước tinh khiết với lượng lớn để tạo ra huyền phù bọc đồng nhất, huyền phù này được phun lên viên nén trong một thiết bị bọc thích hợp, ví dụ như thiết bị bọc kiểu trống đục lỗ.

Bảng 2: Thành phần của viên nén

Thành phần	Lượng [mg]
------------	------------

Dược chất	
Dạng hydrat A của hợp chất có công thức (I) micron hóa	100,00
Các tá dược	
Lactoza monohydrat	116,00
Xenluloza vi tinh thể	91,00
Croscarmelozơ natri	36,00
Hypromelozơ 3 cP	12,50
Natri laurilsulfat	1,80
Magie stearat	2,70
Nước tinh khiết với lượng lớn ^a	---
Khối lượng (viên nén không bọc)	360,00
Màng bọc	
Hypromelozơ 5 cP	
(tổng hợp: Hydroxypropylmetylxenluloza 2910)	5,00
Macrogol 3350	
(tổng hợp: Polyetylen glycol (3350))	1,00
Bột talc	1,00
Titan dioxit ^b	2,90
Oxit sắt vàng ^b	0,10
Nước tinh khiết với lượng lớn ^a	---
Khối lượng (màng bọc)	10,00
Khối lượng (viên nén có bọc)	370,00

Mỗi một viên nén chứa 25 và 100mg hydrat của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit được điều chế theo quy trình được nêu trong ví dụ 4.

Thử nghiệm về độ ổn định của dược phẩm chứa một trong số các dạng tinh thể (hydrat, anhydrat hoặc formamit solvat) của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-metylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (I)

Viên nén có bọc chứa 25mg hoặc 100mg dạng hydrat A của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (dược chất) được đóng trong các lọ HDPE (**H**igh-**D**ensity **P**oly**e**thylene) có nắp đậy polypropylen/ polyetylen màu trắng để tránh xa trẻ nhỏ. Cấu hình đóng gói này cung cấp sự bảo vệ đầy đủ tránh ánh sáng và độ ẩm.

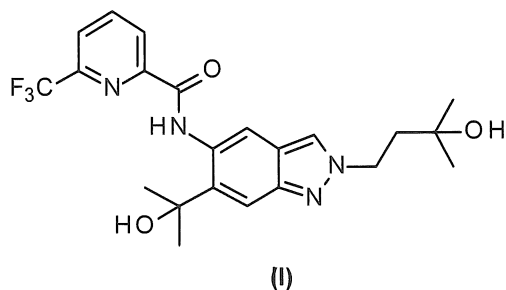
Các nghiên cứu về độ ổn định được tiến hành thực hiện với việc thử nghiệm về độ ổn định chỉ ra các thông số về hình dáng bên ngoài, độ hòa tan, sản phẩm phân rã, và hàm lượng dược chất theo các khoảng giãn cách thời gian đều đặn để khẳng định độ ổn định của viên nén có bọc chứa 25mg hoặc 100mg dược chất trong thời gian nghiên cứu đề xuất.

Các mẫu viên nén có bọc (25mg hoặc 100mg) đóng trong các lọ HDPE được bảo quản ở các điều kiện nhiệt độ 25°C / độ ẩm tương đối 60%, nhiệt độ 30°C / độ ẩm tương đối 75% và nhiệt độ 40°C / độ ẩm tương đối 75%, cũng như ở nhiệt độ 2 – 8°C. Các thực nghiệm về khảo sát độ ổn định được tiến hành đều đặn.

Các viên nén có bọc chứa 25mg hoặc 100mg hydrat của hợp chất N-[2-(3-hydroxy-3-methylbutyl)-6-(2-hydroxypropan-2-yl)-2H-indazol-5-yl]-6-(triflometyl)pyridin-2-carboxamit (dược chất) là ổn định trong tất cả các điều kiện khảo sát. Trong giai đoạn bảo quản này, không quan sát thấy bất kỳ sự gia tăng nào về sản phẩm phân rã và sự suy giảm về hàm lượng của dược chất.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hydrat của hợp chất có công thức (I):



trong đó hydrat này có phổ nhiễu xạ bột tia X ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ thể hiện ít nhất là các góc phản xạ sau, được nêu dưới dạng giá trị 2Theta $\pm 0,2^\circ$: 9,4, 10,8, và 15,0.

2. Hydrat của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hydrat này có phổ nhiễu xạ bột tia X ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ thể hiện ít nhất là các góc phản xạ sau, được nêu dưới dạng giá trị 2Theta $\pm 0,2^\circ$: 9,4, 10,8, 15,0, 16,0, và 17,0.

3. Hydrat của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hydrat này có phổ nhiễu xạ bột tia X ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ thể hiện ít nhất là các góc phản xạ sau, được nêu dưới dạng giá trị 2Theta $\pm 0,2^\circ$: 9,4, 10,8, 15,0, 16,0, 17,0, 20,1, và 22,9.

4. Hydrat của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hydrat này có phổ nhiễu xạ bột tia X ở nhiệt độ 25°C và với Cu-K alpha 1 làm nguồn chiếu xạ thể hiện ít nhất là các góc phản xạ sau, được nêu dưới dạng giá trị 2Theta $\pm 0,2^\circ$: 9,4, 10,8, 15,0, 16,0, 17,0, 20,1, 22,9, 24,3, 26,6, và 29,8.

5. Dược phẩm chỉ chứa duy nhất hydrat của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 chủ yếu và không có phần đáng kể nào của dạng khác của hợp chất có công thức (I).

6. Dược phẩm chứa hydrat của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 và các tá dược được dụng.

7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó dược phẩm này chỉ chứa duy nhất hydrat của hợp chất có công thức (I) chủ yếu và không có phần đáng kể nào của dạng khác của hợp chất có công thức (I).

8. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó dược phẩm này chứa hydrat của hợp chất có công thức (I) với lượng nhiều hơn 85% khối lượng so với tổng lượng của tất cả các dạng của hợp chất có công thức (I) có mặt trong dược phẩm này.

9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó dược phẩm này chứa hydrat của hợp chất có công thức (I) với lượng nhiều hơn 90% khối lượng so với tổng lượng của tất cả các dạng của hợp chất có công thức (I) có mặt trong dược phẩm này.

FIG. 1: Phổ nhiễu xạ bột tia X của hydrat của hợp chất (I)

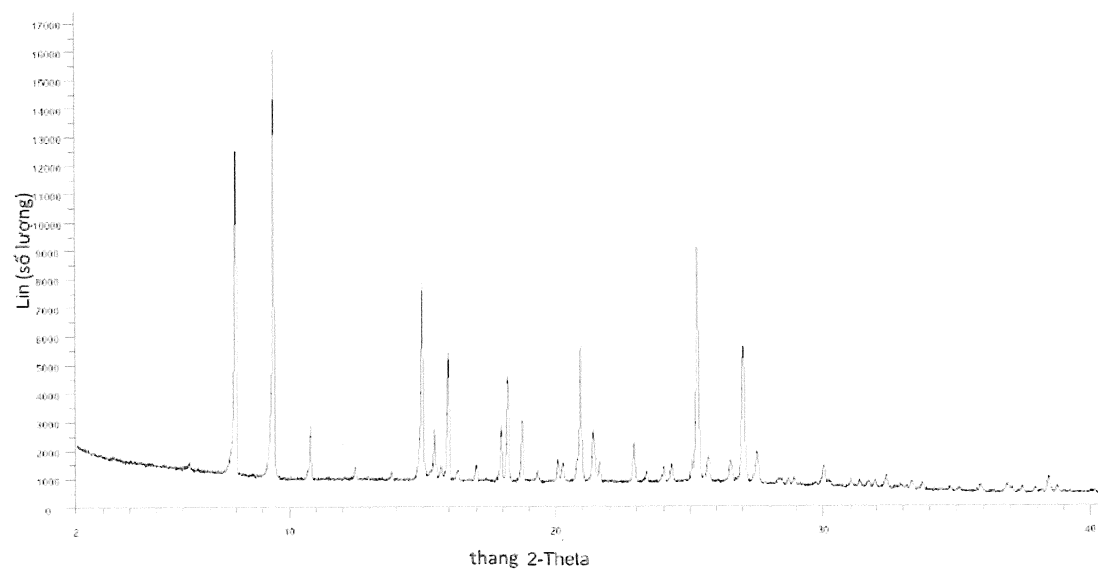


FIG. 2: Phổ nhiễu xạ bột tia X của anhydrat của hợp chất (I)

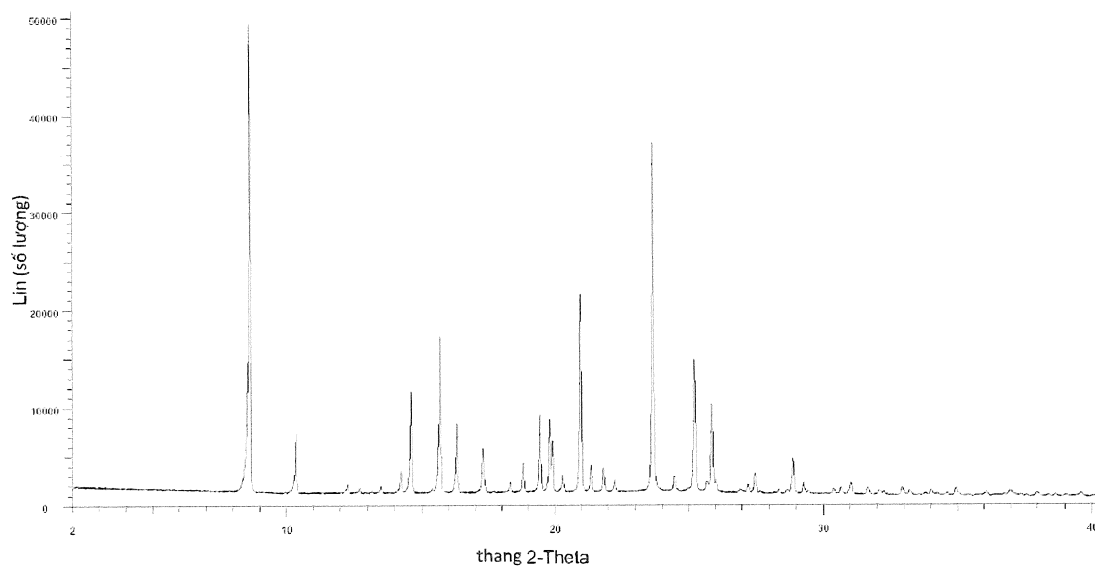


FIG. 3: Phổ nhiễu xạ bột tia X của formamit solvat

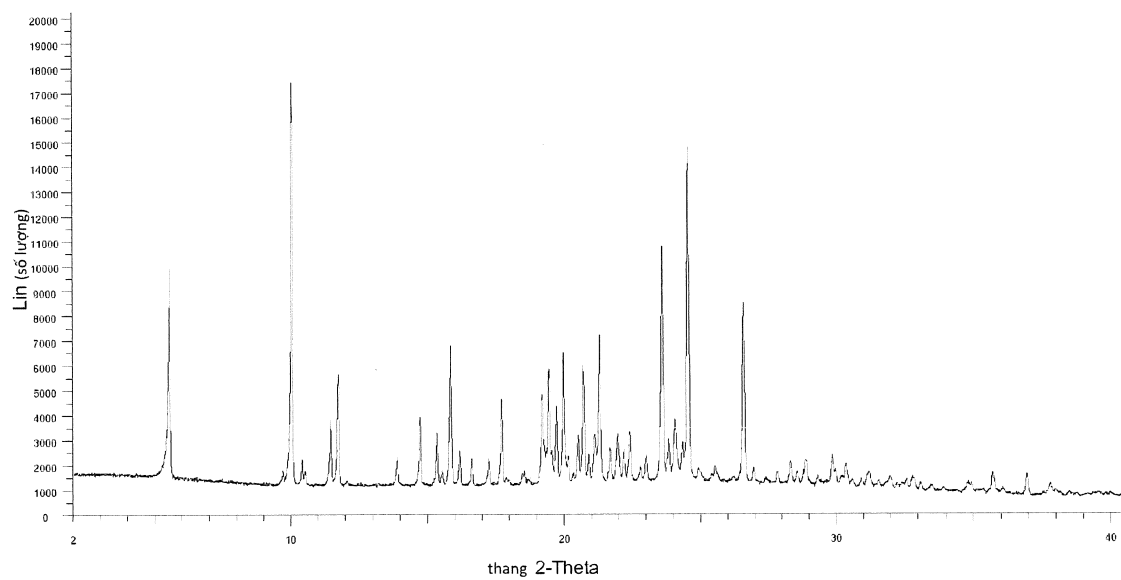


FIG. 4: Nhiệt đồ DSC và TGA của hydrat của hợp chất (I)

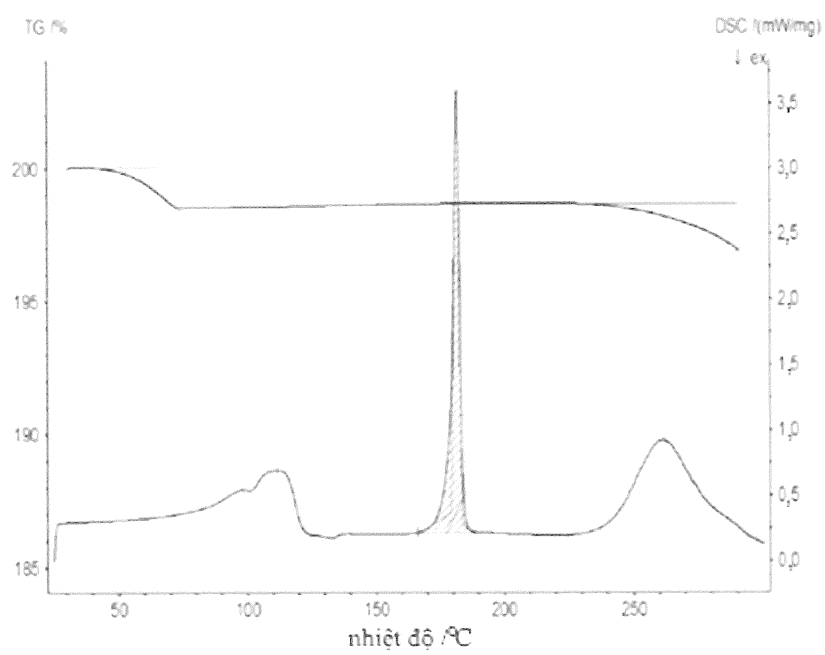


FIG. 5: Nhiệt đồ DSC và TGA của anhydrat của hợp chất (I)

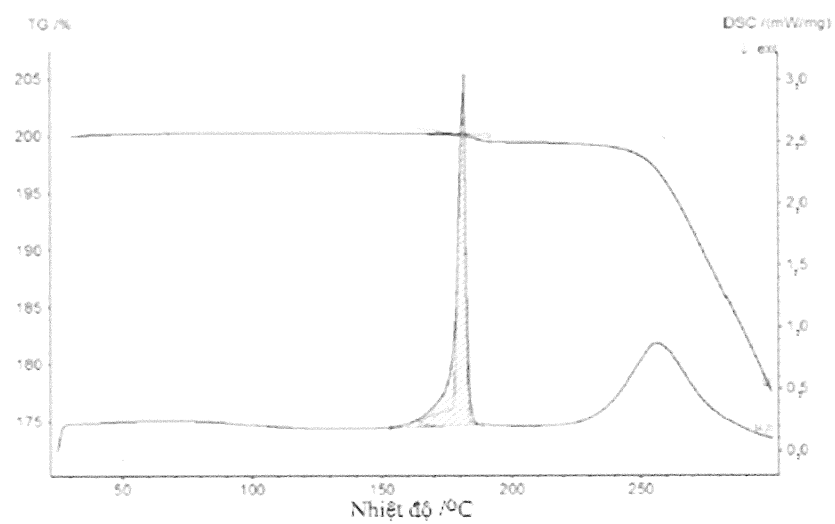


FIG. 6: Nhiệt độ DSC và TGA của formamit solvat của hợp chất (I)

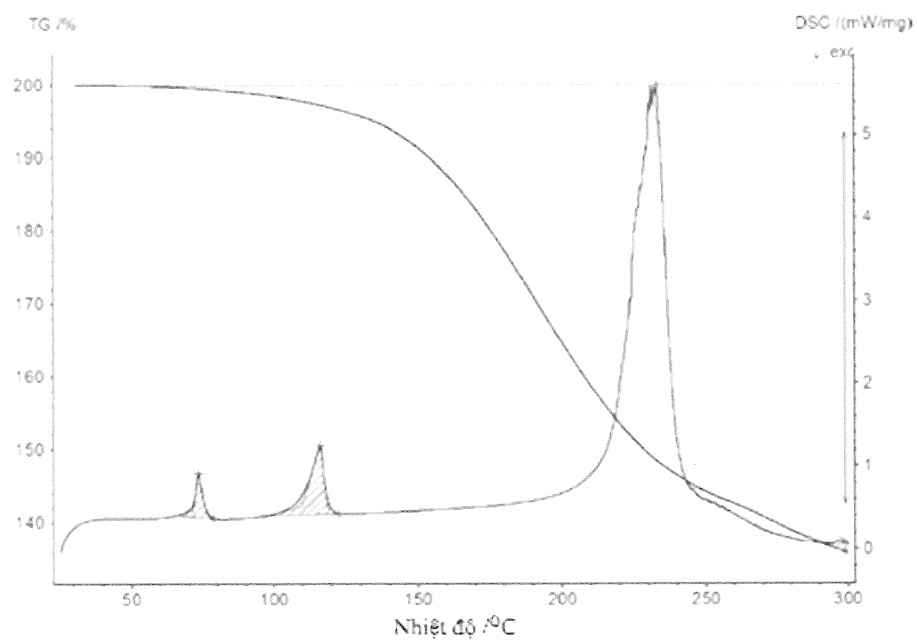
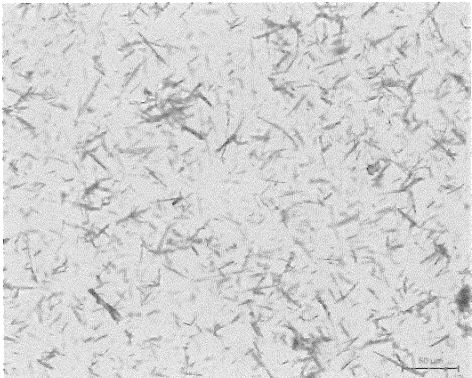
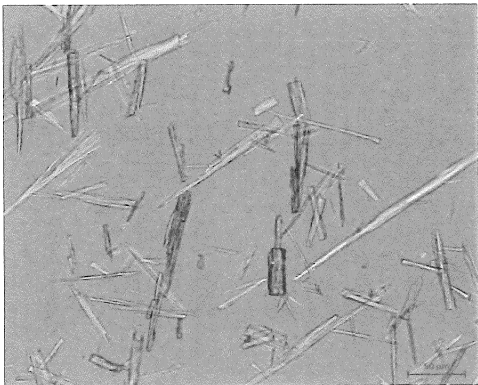
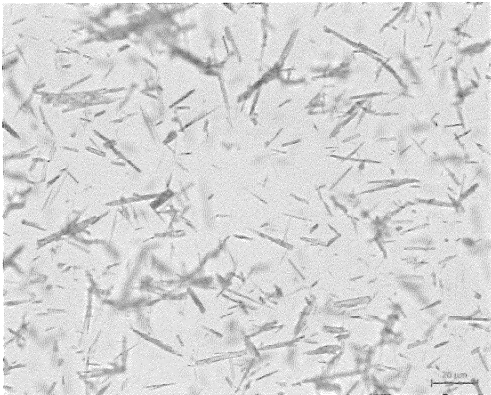
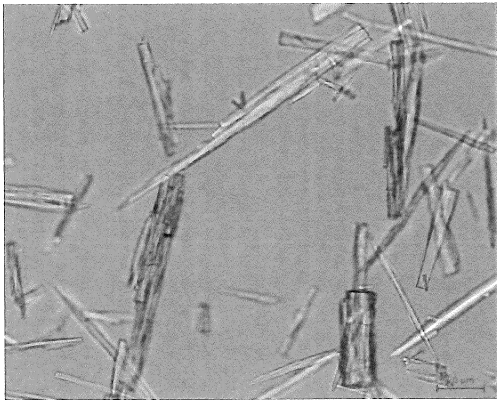


FIG. 7: Hình ảnh hiển vi của các hạt kết tinh của hợp chất (I) thu được bằng quy trình tái kết tinh tương tự như quy trình tái kết tinh được mô tả trong ví dụ #5 biến thể #1 so với các hạt tinh thể của hợp chất (I) thu được tương tự như quy trình tái kết tinh được mô tả trong ví dụ #5, biến thể #3

Các tinh thể thu được bằng cách "bổ sung nước tuyến tính, tương tự như ví dụ #5 biến thể #1"	Các tinh thể thu được bằng cách bổ sung nước theo "đường cong định lượng thể tích", tương tự như ví dụ #5 biến thể #3"
	
	

Hình ảnh được ghi lại sử dụng kính hiển vi Zeiss Axioscope 2 có trang bị camera loại Zeiss AxioCam ICc 5.