



(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)



1-0035454

(51)⁷ C07D 487/04; A61K 31/5025; A61P
35/00

(13) B

(21) 1-2017-00334

(22) 24/07/2015

(86) PCT/GB2015/052143 24/07/2015

(87) WO 2016/016618 04/02/2016

(30) 62/029,676 28/07/2014 US

(45) 25/04/2023 421

(43) 26/06/2017 351A

(73) ASTRAZENECA AB (SE)

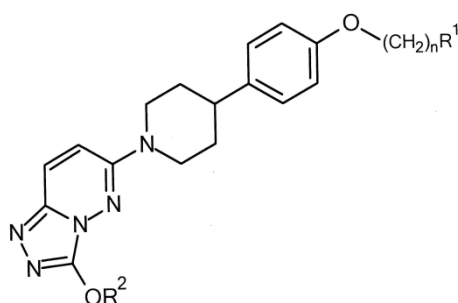
SE-151 85 Södertälje, Sweden

(72) BRADBURY, Robert Hugh (GB); RABOW, Alfred Arthur (US); WARING,
Michael James (GB); MCCABE, James Francis (GB); GLOSSOP, Steven
Christopher (GB); MAHMOOD, Arshed (GB); COTTER, Zoe Ann (GB).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT [1,2,4]TRIAZOLO[4,3-B]PYRIDAZIN, ĐỒNG TINH THỂ CỦA HỢP
CHẤT NÀY VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG

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



(I)

hoặc muối dược dụng của chúng, trong đó R¹, R² và n có nghĩa bất kỳ như được nêu ở trên trong phần mô tả; quy trình điều chế chúng và mô tả việc sử dụng chúng làm chất chống tăng sinh và/hoặc giết tế bào. Sáng chế còn đề cập đến đồng tinh thể của hợp chất này và dược phẩm chứa hợp chất hoặc đồng tinh thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất triazolopyridazin (TPDZ) đã được thể nhất định hoặc muối được dụng của chúng, mà mang hoạt tính chống ung thư và do đó hữu dụng trong phương pháp điều trị bệnh cho cơ thể người hoặc động vật. Sáng chế còn đề cập đến quy trình sản xuất hợp chất TPDZ này, đồng tinh thể của hợp chất này và được phẩm chứa hợp chất hoặc muối được dụng của chúng hoặc đồng tinh thể này, và mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng chẳng hạn như người. Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất TPDZ mà là chất ức chế của một hoặc nhiều protein chứa bromodomain, cụ thể là họ BET của protein chứa bromodomain.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Protein chứa bromodomain có liên quan tới nhiều bệnh khác nhau và được đặc biệt quan tâm làm đích trị liệu. Bromodomain là nếp gấp cấu trúc được bảo toàn cao mà nhận diện các gốc lysin được axetyl hóa và được tìm thấy ở protein đa miền lớn có liên quan đến sự kiểm soát phiên mã tổ chức lại chất nhiễm sắc, hoạt tính metyl hoặc axetyltransferaza hoặc helicaza. Họ BET của protein chứa bromodomain gồm có bốn thành phần (BRD2, BRD3, BRD4, và BRDt) mà đều thể hiện kiến trúc miền chung của các bromodomain nối đuôi nhau đầu tận cùng N có khả năng liên kết với gốc lysin được axetyl hóa trong histon và yếu tố phiên mã. BRD4 đóng vai trò quan trọng trong sự điều hòa phiên mã gen như được chứng minh bởi sự kết hợp của nó với yếu tố kéo dài phiên mã dương b (pTEFb) (Jang et al. Mol. Cell, 2005, 19, 523-534), đồng yếu tố phiên mã chung Mediator (Chiang, F1000 Biol. Rep, 2009, 1, 98), yếu tố tiền viêm đặc hiệu NFkB (Huang et al. Mol. Cell Biol. 2009, 29, 1375-1387) và chất điều hòa phiên mã được mã hóa bởi virus (You et al. Cell, 2004, 117, 349-360). Đã quan sát thấy rằng BRD4 có tải trọng bất đối xứng ở trình tự tăng cường lớn phụ thêm mà có liên quan đến tập hợp con nhỏ của các gen mà thường thiết lập chương trình phiên mã gây ung thư và đặc hiệu dòng trong trường hợp tế bào cụ thể (Loven et al. Cell, 2013, 153, 320-334). Tương tự, BRD2 và BRD3 được báo cáo là các chất điều hòa phiên mã liên kết

với vùng chất nhiễm sắc được siêu axetyl hóa của gen kích thích sinh trưởng (LeRoy et al. Mol. Cell. 2008, 30, 51-60). Cũng đã có báo cáo rằng BRD4 hoặc BRD3 có thể dung hợp với NUT (protein nhân ở tinh hoàn) tạo thành gen gây ung thư mới, BRD4-NUT hoặc BRD3-NUT, ở dạng có độ ác tính cao của sự tạo u biểu mô (French et al. Cancer Research, 2003, 63, 304-307 và French et al. Journal Clinical Oncology, 2004, 22, 4135-4139). Dữ liệu cho thấy rằng protein dung hợp BRD-NUT cấu thành chất gây ung thư (French et al. 2008, Oncogene, 27, 2237-2242). Cũng phát hiện ra rằng gen BRD4 bị thay đổi ở dạng khuếch đại gen ở bệnh ung thư buồng trứng thể thanh dịch và các bệnh ung thư khác trong tập dữ liệu Tập bản đồ Hệ gen Ung thư (Cancer Genome Atlas - TCGA). Tất cả các thành phần họ BET đã được báo cáo là có một số chức năng kiểm soát hoặc thực thi các khía cạnh của chu trình tế bào và đã được thể hiện là vẫn ở trong phức hợp với nhiễm sắc thể trong quá trình phân chia tế bào, cho thấy vai trò trong việc duy trì trí nhớ biểu sinh. Không ngạc nhiên khi gần đây các thành phần họ BET đã được thiết lập dưới dạng thành phần quan trọng để duy trì nhiều loại khối u ví dụ như, bệnh bạch cầu tế bào dạng tủy và dòng hỗn hợp cấp tính (AML), bệnh đa u tủy (MM), u lympho, u nguyên bào đệm và u nguyên bào thần kinh. Sự ức chế BRD4 có khả năng kìm hãm Myc, ER, Bcl2, và các gen gây ung thư khác mà thường bị làm thay đổi ở bệnh ung thư. Sự điều biến của các gen then chốt này được tin là cấu thành kiểu hình kháng khối u của sự ức chế BET.

Ngoài ra, chất ức chế BET đã được chứng minh là có tính chất kháng viêm (Nicodeme et al. Nature, 2010, 468, 1119-1123) và khôi phục sự phiên mã HIV tiềm ẩn ở các mô hình dòng tế bào tiềm tàng (Banerjee et al. J Leukoc Biol, 2012, 92, 1147-1154).

Gần đây, một số ít hợp chất đã được báo cáo là chất ức chế bromodomain, ví dụ như dẫn xuất benzodiazepin chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong WO2011/054553. Tuy nhiên, vẫn có nhu cầu phát triển chất ức chế bromodomain mới và tiềm năng mà có thể được sử dụng để điều trị các bệnh và các dấu hiệu bệnh có liên quan đến protein chứa bromodomain.

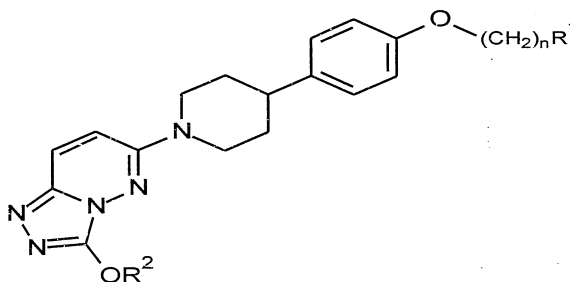
Đã phát hiện ra rằng hợp chất theo sáng chế có hoạt tính làm chất ức chế của protein chứa bromodomain, chẳng hạn như họ BET của bromodomain, ví dụ như

BRD4, BRD2, BRD3 và BRDt, và các miền tandem của chúng, ví dụ như BRD4(1) và BRD4(2).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất triazolopyridazin (TPDZ) đã được thể nhất định hoặc muối được dụng của chúng, mà mang hoạt tính chống ung thư và do đó hữu dụng trong phương pháp điều trị bệnh cho cơ thể người hoặc động vật. Sáng chế còn đề xuất quy trình sản xuất hợp chất TPDZ này, đồng tinh thể của hợp chất này và dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối được dụng của chúng hoặc đồng tinh thể này, và mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng chẳng hạn như người. Sáng chế cũng đề xuất hợp chất TPDZ mà là chất ức chế của một hoặc nhiều protein chứa bromodomain, cụ thể là họ BET của protein chứa bromodomain.

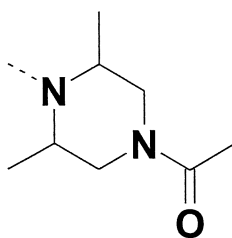
Để đạt được mục đích trên đây, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng:



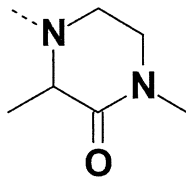
(I)

trong đó:

R¹ là nhóm



hoặc nhóm



và ---- dùng để chỉ điểm gắn;

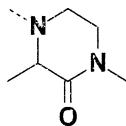
R^2 là C_1 - C_4 alkyl; và

n bằng 2 hoặc 3.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) như xác định ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế R^2 là methyl.

Theo khía cạnh khác nữa của sáng chế, R^1 là nhóm



R^2 là C_1 - C_4 alkyl; và

n bằng 2.

Theo một khía cạnh của sáng chế, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất được chọn từ:

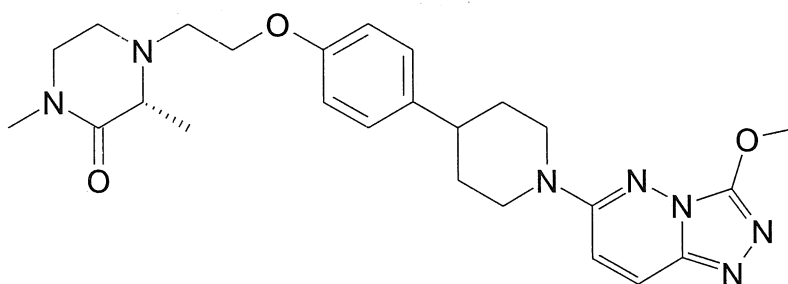
4-(2-(4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on;

1-(4-(2-(4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon;

4-(3-(4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on; và

1-(4-(3-(4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon.

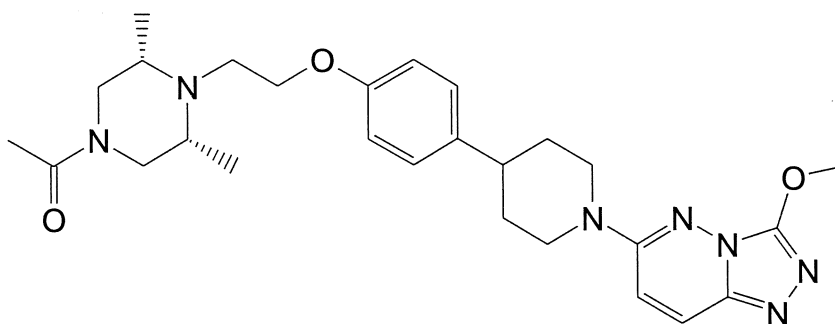
Theo khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất có Công thức (IA):



(IA)

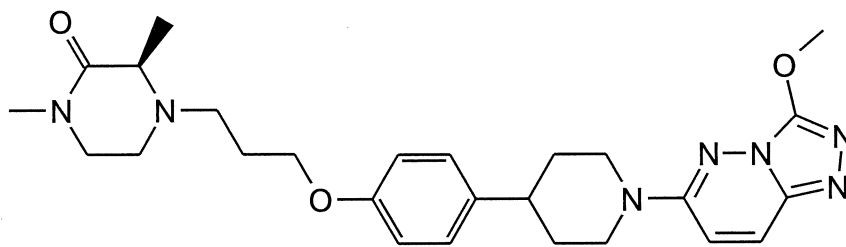
Hợp chất có Công thức (IA) sau đây còn được gọi là Hợp chất A.

Theo khía cạnh khác, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất có Công thức (IB):



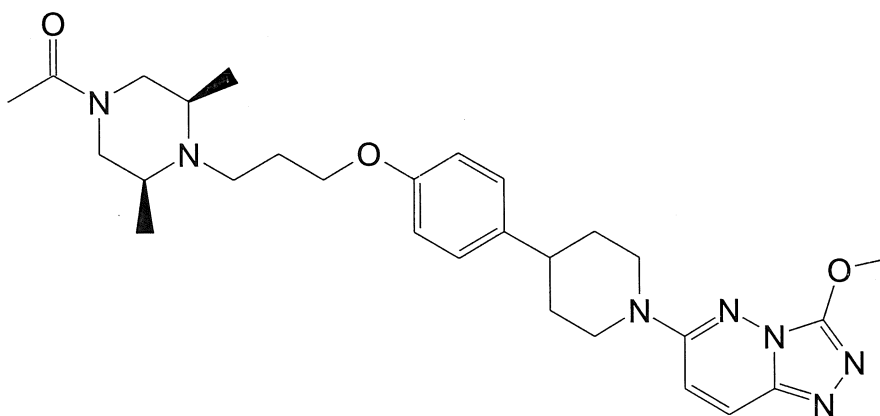
(IB)

Theo khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất có Công thức (IC):



(IC)

Theo khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất có Công thức (ID):



(ID)

Khía cạnh khác đề xuất khía cạnh bất kỳ được nêu trong bản mô tả này (ví dụ như khía cạnh theo điểm 1) với điều kiện là một hoặc nhiều Ví dụ cụ thể (ví dụ một, hai hoặc ba Ví dụ cụ thể) được chọn từ nhóm gồm có Ví dụ 1, Ví dụ 2, Ví dụ 3 và, Ví dụ 4, bị từ chối riêng rẽ.

Một số hợp chất có Công thức (I) có thể kết tinh và có thể có nhiều hơn một dạng tinh thể. Cần hiểu rằng sáng chế bao hàm dạng kết tinh hoặc vô định hình bất kỳ, hoặc hỗn hợp của chúng, dạng mà có các tính chất hữu dụng trong hoạt tính ức chế BET và, chẳng hạn như, hoạt tính ức chế BRD2, BRD3, BRD4, và BRDt. Đã biết rõ việc làm thế nào để xác định hiệu quả của dạng kết tinh hoặc vô định hình bằng các thử nghiệm tiêu chuẩn được mô tả dưới đây.

Đã biết rằng nguyên liệu kết tinh có thể được phân tích bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường chẳng hạn như, ví dụ, phân tích nhiễu xạ bột tia X (sau đây gọi là XRPD) và Phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (sau đây gọi là DSC).

Ví dụ, hợp chất ở Ví dụ 1 thể hiện độ kết tinh và một dạng tinh thể, Dạng A, đã được xác định.

Theo đó, khía cạnh khác của sáng chế là Dạng A của Hợp chất A (Ví dụ 1).

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 20,9^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 16,7^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 20,9^\circ$ và $16,7^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 20,9, 16,7, 20,2, 21,2, 27,4, 18,0, 16,8, 23,6, 15,1$ và $15,5^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD về cơ bản giống như XRPD được thể hiện trên Hình A, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 20,9^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 16,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 20,9^\circ$ và $16,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của Hợp chất A mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 20,9, 16,7, 20,2, 21,2, 27,4, 18,0, 16,8, 23,6, 15,1$ và $15,5^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Khi nói rằng sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của Hợp chất A, Dạng A, mức độ kết tinh thường là lớn hơn khoảng 60%, thích hợp hơn là lớn hơn khoảng 80%, tốt hơn là lớn hơn khoảng 90% và tốt hơn nữa là lớn hơn khoảng 95%. Tốt nhất là mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 98%.

Một số hợp chất có Công thức (I) có thể tạo thành đồng tinh thể với các phân tử đồng cấu tạo cụ thể. Cần hiểu rằng sáng chế bao hàm đồng tinh thể bất kỳ, mà có các tính chất hữu dụng trong hoạt tính ức chế BET và, chẳng hạn như, hoạt tính ức chế BRD2, BRD3, BRD4, và BRDt. Đã biết rõ làm thế nào để xác định hiệu quả của đồng tinh thể này bằng các thử nghiệm tiêu chuẩn được mô tả dưới đây.

Theo đó, sáng chế đề xuất đồng tinh thể của hợp chất có Công thức (I) và phân tử đồng cấu tạo.

Theo đó, theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất đồng tinh thể của Hợp chất A và phân tử đồng cấu tạo axit 6-hydroxy-2-naphthoic.

Để tránh sự không rõ ràng, thuật ngữ "đồng tinh thể" dùng để chỉ hệ thống đa thành phần trong đó tồn tại phân tử hoặc các phân tử API (thành phần có hoạt tính dược) chủ và phân tử hoặc các phân tử (hoặc thành phần đồng cấu tạo) khách trong cùng mạng tinh thể. Trong đồng tinh thể, cả phân tử API và phân tử khách (hoặc thành phần đồng cấu tạo) tồn tại dưới dạng chất rắn ở nhiệt độ trong phòng khi ở một mình ở dạng tinh khiết của chúng (để phân biệt đồng tinh thể với solvat hoặc hydrat). Trong

đồng tinh thể phân tử API và phân tử đồng cấu tạo tương tác bằng liên kết hydro và có thể là bằng tương tác không cộng hóa trị khác.

Trong quá trình điều chế đồng tinh thể của Hợp chất A bằng axit 6-hydroxy-2-naphthoic, khi Hợp chất A là API, có thể đạt được hàng loạt tỷ lệ mol/lượng pháp API:thành phần đồng cấu tạo, ví dụ như tỷ lệ mol API:thành phần đồng cấu tạo chung bằng 1:1, mặc dù điều này có thể thay đổi một chút, tùy thuộc vào, ví dụ như, số đo đặc tính. Theo đó, sáng chế đề xuất đồng tinh thể của Hợp chất A và phân tử đồng cấu tạo axit 6-hydroxy-2-naphthoic với tỷ lệ mol của Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic nằm trong khoảng từ 1:0,8 đến 1:1,2. Theo một khía cạnh của sáng chế, sáng chế đề xuất đồng tinh thể Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1).

Theo khía cạnh khác của sáng chế đồng tinh thể của Hợp chất A với axit 6-hydroxy-2-naphthoic ở dạng tinh thể, Dạng A.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1).

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 19,4^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1), mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 12,5^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 19,4^\circ$ và $12,5^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 19,4, 12,5, 12,8, 18,1, 24,2, 23,4, 14,0, 18,6, 17,0$, và $17,9^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD về cơ bản giống như mẫu XRPD được thể hiện trên Hình I, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở 2-teta = $19,4^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD, có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở 2-teta = $12,5^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD, có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở 2-teta = $19,4^\circ$ và $12,5^\circ$ trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở 2-teta = $19,4, 12,5, 12,8, 18,1, 24,2, 23,4, 14,0, 18,6, 17,0$ và $17,9^\circ$ trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, đồng tinh thể của Hợp chất A với axit 6-hydroxy-2-naphthoic ở dạng tinh thể, Dạng B. Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1).

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-teta = $15,2^\circ$ đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-teta = $6,1^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 15,2$ và $6,1^\circ$ đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 15,2, 6,1, 16,8, 12,2, 26,1, 28,4, 18,3, 3,1$ và $20,7^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD về cơ bản giống như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Hình K, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 15,2^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 6,1^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 15,2^\circ$ và $6,1^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 15,2, 6,1, 16,8, 12,2, 26,1, 28,4, 18,3, 3,1$ và $20,7^\circ$ trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Theo khía cạnh khác của sáng chế đồng tinh thể của Hợp chất A với axit 6-hydroxy-2-naphthoic ở dạng tinh thể, Dạng C.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1).

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 8,2^\circ$ đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 24,8^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 8,2$ và $24,8^\circ$ đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 8,2, 24,8, 18,9, 29,0, 14,8, 15,5$ và $16,3^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD về cơ bản giống như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Hình M.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 8,2^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 24,8^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 8,2$ và $24,8^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng C, của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mà có mẫu XRPD có các đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 8,2,$

24,8, 18,9, 29,0, 14,8, 15,5 và 16,3° trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ 0,2° 2-teta, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

Khi nói rằng sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) mức độ kết tinh thường là lớn hơn khoảng 60%, thích hợp hơn là lớn hơn khoảng 80%, tốt hơn là lớn hơn khoảng 90% và tốt hơn nữa là lớn hơn khoảng 95%. Tốt nhất là mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 98%.

Cần hiểu rằng các giá trị 2-teta của mẫu nhiều xạ bột tia X có thể thay đổi một chút giữa máy này với máy kia hoặc giữa mẫu này với mẫu kia, và do đó các giá trị đưa ra không được hiểu là tuyệt đối chính xác.

Đã biết rằng có thể thu được mẫu nhiều xạ bột tia X có một hoặc nhiều sai số do tùy thuộc vào điều kiện đo (chẳng hạn như thiết bị hoặc máy móc được sử dụng). Cụ thể là, đã biết rằng cường độ trong mẫu nhiều xạ bột tia X có thể dao động tùy thuộc vào điều kiện đo. Do đó cần hiểu rằng hợp chất A, Dạng A, theo sáng chế không bị giới hạn ở các tinh thể mà tạo ra mẫu nhiều xạ bột tia X giống với mẫu nhiều xạ bột tia X được thể hiện trên Hình A, và các tinh thể bất kỳ tạo ra mẫu nhiều xạ bột tia X về cơ bản giống như được thể hiện trên Hình A cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Tương tự, cần hiểu rằng đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A, theo sáng chế không chỉ giới hạn ở các tinh thể mà tạo ra mẫu nhiều xạ bột tia X giống với mẫu nhiều xạ bột tia X được thể hiện trên Hình C hoặc Hình I, và tinh thể bất kỳ tạo ra mẫu nhiều xạ bột tia X về cơ bản giống như mẫu nhiều xạ bột tia X được thể hiện trên Hình C hoặc Hình I cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Tương tự, cần hiểu rằng đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) các Dạng B và C, theo sáng chế không chỉ giới hạn ở các tinh thể mà tạo ra mẫu nhiều xạ bột tia X giống với mẫu nhiều xạ bột tia X lần lượt được thể hiện trên Hình K và Hình M, và tinh thể bất kỳ tạo ra mẫu nhiều xạ bột tia X về cơ bản giống như mẫu nhiều xạ bột tia X được thể hiện trên Hình K và Hình M cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nhiều xạ bột tia X có thể đánh giá sự giống nhau thực chất của các mẫu nhiều xạ bột tia X.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nhiều xạ bột tia X sẽ hiểu rằng cường độ tương đối của các đỉnh có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ như, các hạt có kích

thước trên 30 micromet và tỷ lệ các mặt không đồng nhất, mà có thể ảnh hưởng đến sự phân tích mẫu. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực cũng sẽ hiểu rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi chiều cao chính xác mà tại đó mẫu nằm trong nhiễu xạ kế và sự định cỡ ở mức không của nhiễu xạ kế. Tính phẳng bề mặt của mẫu cũng có thể có ảnh hưởng nhỏ. Do đó dữ liệu mẫu nhiễu xạ được thể hiện không được lấy dưới dạng giá trị tuyệt đối. (Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, London; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

Nhìn chung, sai số đo của góc nhiễu xạ trong biểu đồ nhiễu xạ bột tia X bằng xấp xỉ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta, và mức độ sai số đo này cần được tính đến khi xem xét mẫu nhiễu xạ bột tia X trên các Hình A, C, I, K và M và khi đọc các Bảng từ A đến E (xem Ví dụ 1). Ngoài ra, cần hiểu rằng cường độ có thể dao động tùy thuộc vào điều kiện thí nghiệm và sự điều chế mẫu (sự định hướng được ưu tiên).

Hợp chất có Công thức (I) bao gồm một hoặc nhiều tâm không đối xứng. Trong trường hợp mà cấu trúc hoặc tên hóa học trong bản mô tả này không chỉ ra tính bất đối xứng, cấu trúc hoặc tên được dự định để bao hàm chất đồng phân lập thể đơn lẻ bất kỳ (tức là chất đồng phân bất đối xứng đơn lẻ bất kỳ) tương ứng với cấu trúc hoặc tên đó, cũng như là hỗn hợp bất kỳ của các chất đồng phân lập thể (ví dụ chất triệt quang). Đã biết rõ trong lĩnh vực về việc làm thế nào có thể điều chế được các dạng có hoạt tính quang học này. Ví dụ như, có thể thu được chất đồng phân lập thể đơn lẻ bằng cách tách nó ra từ hỗn hợp của các chất đồng phân (ví dụ chất triệt quang) bằng cách, ví dụ như, tách bằng sắc ký bất đối xứng. Theo các phương án khác, chất đồng phân lập thể đơn lẻ thu được thông qua sự tổng hợp trực tiếp từ, ví dụ như, nguyên liệu bắt đầu bất đối xứng.

Chất đồng phân đối ảnh hoặc chất đồng phân không đối quang cụ thể của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này có thể có hoạt tính lớn hơn so với các chất đồng phân đối ảnh hoặc các chất đồng phân không đối quang khác của cùng hợp chất.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, mà là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ ở trong độ trội

chất đối quang (%ee) $\geq 95\%$, $\geq 98\%$, hoặc $\geq 99\%$. Thích hợp là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ có mặt trong độ trội chất đối quang $\geq 99\%$.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, mà là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ ở trong độ trội chất đối quang (%ee) nằm trong khoảng từ 95 đến 100%.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất được phẩm, mà có chứa hợp chất có Công thức (I) mà là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ ở trong độ trội chất đối quang (%ee) $\geq 95\%$, $\geq 98\%$, hoặc $\geq 99\%$ hoặc muối được dụng của chúng, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng. Thích hợp là, chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ có mặt trong độ trội chất đối quang $\geq 99\%$.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất được phẩm, mà có chứa hợp chất có Công thức (I) mà là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ ở trong độ trội chất đối quang (%ee) nằm trong khoảng từ 95 đến 100%, hoặc muối được dụng của chúng, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

Sáng chế được dự định là bao gồm tất cả các chất đồng vị của các nguyên tử có mặt trong hợp chất này. Cần hiểu rằng chất đồng vị bao gồm các nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng có số khối khác. Ví dụ như, chất đồng vị của hydro bao gồm triti và đoteri và chất đồng vị của cacbon bao gồm ^{13}C và ^{14}C .

Thuật ngữ "được dụng" được dùng để xác định rằng đối tượng (ví dụ như muối, dạng liều lượng, chất pha loãng hoặc chất mang) thích hợp để sử dụng ở bệnh nhân. Danh mục ví dụ về muối được dụng có thể được tìm thấy trong tài liệu *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, Weinheim/Zürich: Wiley-VCH/VHCA, 2002. Muối được dụng thích hợp của hợp chất có Công thức (I) là, ví dụ như, muối cộng axit. Muối cộng axit của hợp chất có Công thức (I) có thể được tạo thành bằng cách cho hợp chất này tiếp xúc với axit vô cơ hoặc hữu cơ thích hợp trong điều kiện đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Muối cộng axit ví dụ như có thể được tạo thành bằng cách sử dụng axit vô cơ được chọn từ nhóm gồm có axit hydrocloric, axit hydrobromic, axit sulphuric và axit phosphoric. Muối cộng axit cũng có thể được tạo thành bằng cách sử dụng axit

hữu cơ được chọn từ nhóm gồm có axit trifloaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit succinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic và axit *para*-toluensulfonic.

Cần hiểu rằng hợp chất có Công thức (I), và muối dược dụng của chúng, có thể tồn tại ở dạng solvat hóa và không solvat hóa. Ví dụ như, dạng solvat hóa có thể là dạng hydrat hóa. Cần hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các dạng solvat hóa và không solvat hóa này.

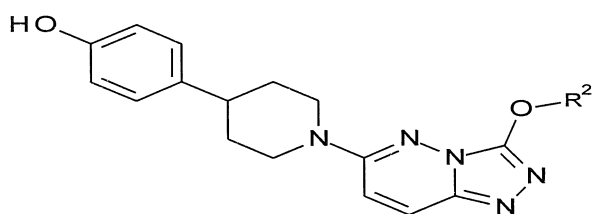
Hợp chất có Công thức (I) có thể được dùng ở dạng tiền dược chất, mà là hợp chất bị phá vỡ trong cơ thể người hoặc động vật để giải phóng ra hợp chất theo sáng chế. Như vậy, tiền dược chất dược dụng của hợp chất có Công thức (I) cũng tạo thành một khía cạnh của sáng chế. Các dạng khác nhau của tiền dược chất đã được biết trong lĩnh vực. Ví dụ như, xem các tài liệu

- a) Design of Pro-drugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);
- b) A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krogsgaard-Larsen and
- H. Bundgaard, Chapter 5 "Design and Application of Pro-drugs", by H. Bundgaard p. 113-191 (1991);
- c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992);
- d) H. Bundgaard, *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988); và
- e) N. Kakeya, *et al.*, Chem. Pharm. Bull., 32, 692 (1984).

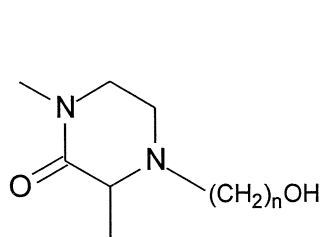
Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng. Quy trình thích hợp được minh họa bằng quy trình đại diện sau đây trong đó, trừ khi có chỉ dẫn khác, R^1 , R^2 và n có nghĩa như được xác định ở trên. Các nguyên liệu bắt đầu cần thiết có thể thu được bằng các quy trình

tiêu chuẩn của hóa hữu cơ. Việc điều chế các nguyên liệu bắt đầu này được mô tả kết hợp với các biến thể quy trình đại diện sau đây và trong các ví dụ kèm theo. Theo cách khác, các nguyên liệu bắt đầu cần thiết có thể thu được bằng các quy trình tương tự đối với các quy trình được minh họa và thuộc kỹ năng thông thường của nhà hóa học hữu cơ.

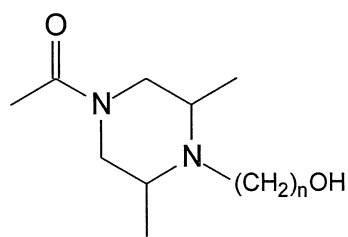
Hợp chất có Công thức (I) thích hợp là được tạo ra bằng phản ứng ghép cặp, ví dụ như, phản ứng của hợp chất có Công thức (II) với hợp chất có Công thức (IIIa) hoặc Công thức (IIIb) trong sự có mặt của trialkyl phosphin, chẳng hạn như trialkyl tributylphosphin, và chất phản ứng diazen, chẳng hạn như (E)-điazen-1,2-diylbis(piperidin-1-ylmetanon, trong dung môi thích hợp, chẳng hạn như điclorometan, và nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 5°C.



(II)

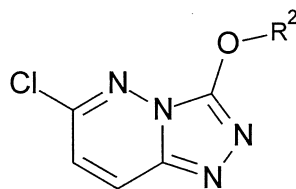


(IIIa)



(IIIb)

Hợp chất có Công thức (II) có thể được tạo thành bằng, ví dụ như, phản ứng của hợp chất có Công thức (IV) với 4-(piperidin-4-yl)phenol trong sự có mặt của bazơ, chẳng hạn như *N,N*-diisopropyletylamin, trong dung môi thích hợp, chẳng hạn như etanol, và nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 55°C.

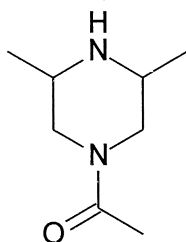


(IV)

Hợp chất có Công thức (IV) có thể được tạo thành bằng, ví dụ như, phản ứng của 3-clo-6-hyđrazinylpyridazin với tetrametoxylan, chẳng hạn như tetrametoxymetan, ở nhiệt độ thích hợp chẳng hạn như 90°C.

Hợp chất có Công thức (IIIa) có thể được tạo ra bằng cách cho 1,3-đimetylpiperazin-2-on hydroclorua với 2-bromoetanol phản ứng với bazơ, chẳng hạn như kali cacbonat, trong dung môi, chẳng hạn như 2-metyltetrahydrofuran, ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 100°C.

Hợp chất có Công thức (IIIb) có thể được tạo ra bằng cách cho 1-(3,5-đimetylpiperazin-1-yl)etanon (hợp chất V) với 2-bromopropan-1-ol phản ứng với bazơ, chẳng hạn như kali cacbonat, trong dung môi, chẳng hạn như 2-metyltetrahydrofuran, ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 80°C.

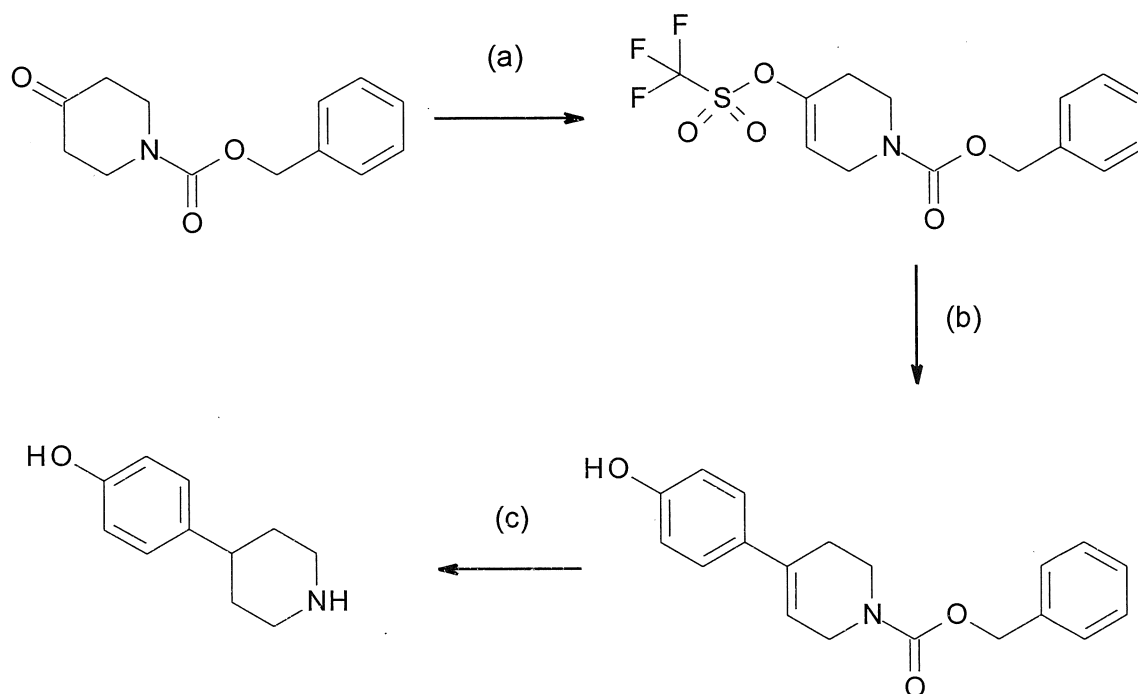


(V)

1-(3,5-đimetylpiperazin-1-yl)etanon có thể được tạo ra bằng cách cho *N*-axetyl-*N*-(2-(triflometyl)phenyl)axetamit phản ứng với 2,6-đimetylpiperazin trong dung môi, chẳng hạn như etanol, ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như nhiệt độ môi trường.

N-axetyl-*N*-(2-(triflometyl)phenyl)axetamit có thể được tạo ra bằng cách cho axetyl clorua phản ứng với 2-(triflometyl)anilin và pyridin trong dung môi thích hợp chẳng hạn như toluen ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 50°C.

4-(piperidin-4-yl)phenol có thể được tạo ra, ví dụ như, theo sơ đồ phản ứng sau đây (Sơ đồ 1)



Sơ đồ 1

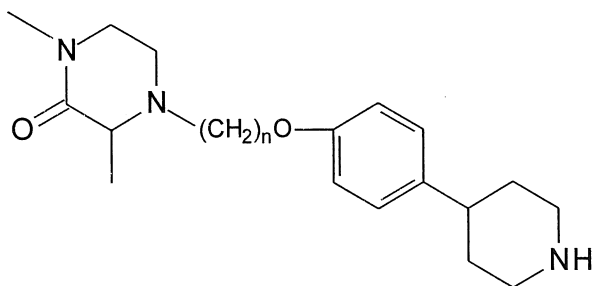
Trong Sơ đồ (1), các điều kiện phản ứng sau đây có thể được sử dụng:

bước (a): bazơ, chẳng hạn như lithi bis(trimetylsilyl)amit và tác nhân sulfonyl hóa, chẳng hạn như 1,1,1-triflo-N-phenyl-N-(triflometylsulfonyl)metansulfonamit, trong sự có mặt của dung môi, chẳng hạn như THF, ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như nằm trong khoảng từ -78 đến 0°C;

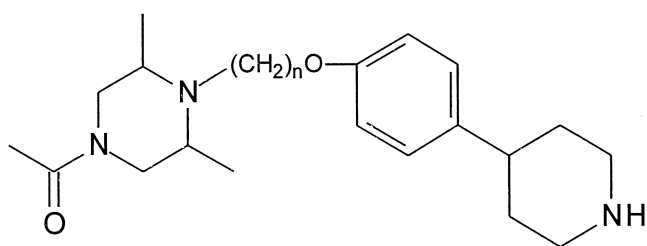
bước (b): axit 4-hydroxyphenylboronic trong sự có mặt của chất xúc tác paladi II, chẳng hạn như 1,1'-bis(điphenylphosphino)feroxendiclopaladi(II), bazơ, chẳng hạn như natri cacbonat và dung môi, chẳng hạn như đioxan-nước, ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 80°C; và

bước (c) hydro trong sự có mặt của chất xúc tác hydro hóa, chẳng hạn như paladi 5% trên cacbon, trong dung môi, chẳng hạn như metanol.

Hợp chất có Công thức (I) cũng có thể được tạo ra bằng cách, ví dụ như, cho hợp chất có Công thức (VIa) hoặc hợp chất có Công thức (VIb) phản ứng với hợp chất có Công thức (IV), như mô tả ở trên, trong sự có mặt của bazơ, chẳng hạn như triethylamin, trong dung môi thích hợp, chẳng hạn như dimetyl formamit, và ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 56°C.

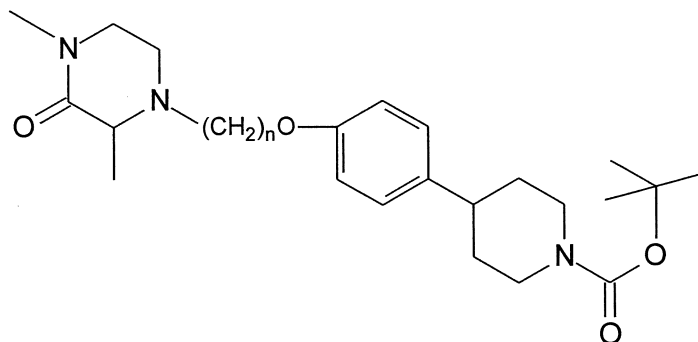


(VIa)



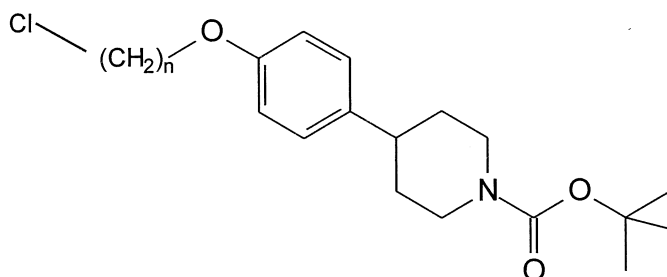
(VIb)

Hợp chất có Công thức (VIa) có thể được tạo ra bằng cách cho hợp chất có Công thức (VIIa) phản ứng với axit, chẳng hạn như hydro clorua, trong sự có mặt của dung môi thích hợp, chẳng hạn như đioxan, và nhiệt độ thích hợp như 20°C.



(VIIa)

Hợp chất có Công thức (VIIa) có thể được tạo ra bằng cách cho hợp chất có Công thức (VIIIa) phản ứng với 1,3-đimethylpiperazin-2-on trong sự có mặt của bazơ, chẳng hạn như N,N-điisopropyletylamin, trong sự có mặt của chất xúc tác, chẳng hạn như kali iodua, và dung môi, chẳng hạn như đimetylaxetamid, và nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 120°C.



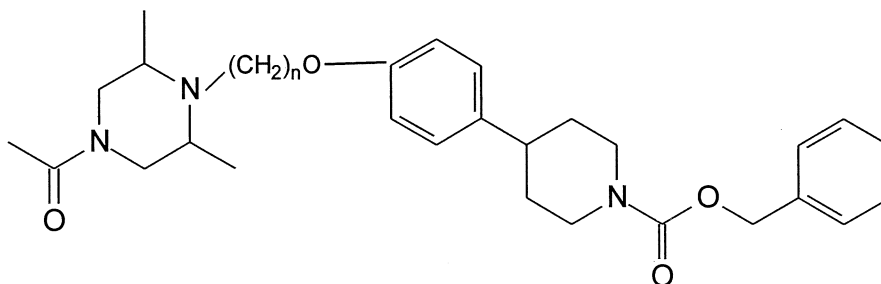
(VIIIa)

Hợp chất có Công thức (VIIa) có thể được tạo ra bằng cách cho tert-butyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat phản ứng với 1-bromo-3-cloalkan và bazơ, chẳng hạn như kali cacbonat, và dung môi, chẳng hạn như điclometan, và ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 80°C.

Tert-butyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat có thể được tạo ra bằng cách cho 4-(piperidin-4-yl)phenol (được tạo ra như mô tả ở trên) phản ứng với di-tert-butyl đicacbonat trong dung môi thích hợp, chẳng hạn như điclometan, và nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 0°C.

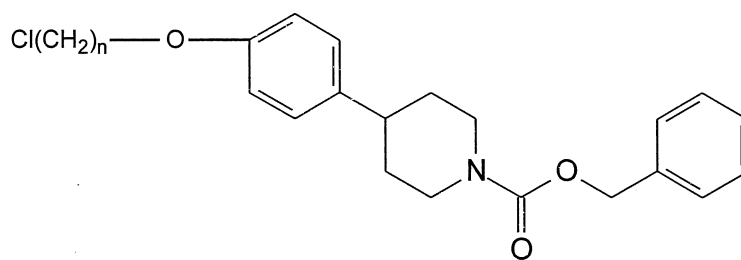
Hợp chất có Công thức (VIb) có thể được tạo ra bằng cách cho phản ứng hợp

chất có Công thức (VIIb) trong sự có mặt của dung môi thích hợp, chẳng hạn như metanol, và chất xúc tác thích hợp, chẳng hạn như paladi 10% trên cacbon, trong khí hydro.



(VIIb)

Hợp chất có Công thức (VIIb) có thể được tạo ra bằng cách cho hợp chất có Công thức (VIIIb) phản ứng với 1-(3,5-đimethylpiperazin-1-yl)etanon, được tạo ra như mô tả ở trên, trong sự có mặt của bazơ thích hợp, chẳng hạn như N,N-điisopropyletylamin, trong sự có mặt của chất xúc tác, chẳng hạn như kali iodua, và dung môi, chẳng hạn như dimetylaxetamit, và ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 120°C .



(VIIIb)

Hợp chất có Công thức (VIIIb) có thể được tạo ra bằng cách cho benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat phản ứng với 1-bromo-3-cloalkan và bazơ, chẳng hạn như kali cacbonat, và dung môi, chẳng hạn như điclometan, và ở nhiệt độ thích hợp, chẳng hạn như 80°C .

Benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat có thể được tạo ra bằng cách cho 4-(piperidin-4-yl)phenol (được tạo ra như mô tả ở trên) phản ứng với

benzylcloformat và DIPEA trong dung môi thích hợp, chẳng hạn như điclotetan, và nhiệt độ thích hợp.

Như nêu trên, một khía cạnh của sáng chế là đồng tinh thể của Hợp chất A với axit 6-hydroxy-2-naphthoic.

Đồng tinh thể này có thể được điều chế bằng cách trộn Hợp chất A trong dung môi thích hợp với axit 6-hydroxy-2-naphthoic trong dung môi thích hợp. Do đó, theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế đồng tinh thể của Hợp chất A với axit 6-hydroxy-2-naphthoic, phương pháp này bao gồm bước trộn dung dịch của Hợp chất A ở trong dung môi thích hợp với axit 6-hydroxy-2-naphthoic ở trong dung môi thích hợp. Các dung môi thích hợp bao gồm dung môi mà có khả năng hòa tan cả hai thành phần và không tạo thành solvat với Hợp chất A hoặc axit 6-hydroxy-2-naphthoic. Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic có thể thu được bằng các bước

- i) trộn dung dịch của Hợp chất A trong dung môi thích hợp với axit 6-hydroxy-2-naphthoic trong dung môi thích hợp; và
- ii) làm khô hỗn hợp thu được từ bước (i) để thu được chất rắn.

Theo một khía cạnh của sáng chế dung môi thích hợp là metanol.

Đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) được phát hiện là có một số tính chất có lợi so với dạng bazơ tự do của Hợp chất A. Cụ thể là, phát hiện thấy tính hút ẩm kém hơn đáng kể so với bazơ tự do Hợp chất A. Cũng phát hiện thấy đồng tinh thể này ổn định hơn so với bazơ tự do Hợp chất A khi tiếp xúc với một loạt điều kiện nhiệt độ và độ ẩm.

Thử Nghiệm Sinh Học-

Các thử nghiệm sau đây được sử dụng để đánh giá hiệu quả của các hợp chất theo sáng chế.

Thử nghiệm BROMOScan™ (ex Discoverx)

Khả năng liên kết với protein bromodomain của hợp chất được thử nghiệm bằng Discoverx bằng cách sử dụng thử nghiệm cạnh tranh định hướng vị trí liên kết phối tử sở hữu. Các hợp chất được cung cấp được giấu tên.

Thử nghiệm BROMOscan dựa trên nguyên tắc là các hợp chất thử nghiệm mà liên kết protein bromodomain ngăn chặn sự liên kết của nó với phối tử bất động do đó làm giảm hàm lượng của protein bị bắt giữ trên giá thể rắn. Ngược lại, các phân tử thử nghiệm mà không liên kết bromodomain không có ảnh hưởng đến hàm lượng của protein bị bắt giữ trên giá thể rắn này. Việc sàng lọc "kết quả thành công" được xác định bằng cách đo hàm lượng của bromodomain bị bắt giữ trong thử nghiệm so với mẫu đối chứng bằng cách sử dụng phương pháp qPCR định lượng, chính xác và cực nhạy để phát hiện ra nhân ADN được kết hợp. Theo cách tương tự, các hằng số phân ly (Kd) đối với tương tác hợp chất thử nghiệm-bromodomain được tính bằng cách đo hàm lượng của protein bromodomain bị bắt giữ trên giá thể rắn này dưới dạng hàm của nồng độ hợp chất thử nghiệm.

Thử nghiệm Alpha-screen

Khả năng liên kết với protein bromodomain của hợp chất được thử nghiệm trong thử nghiệm AlphaScreen®. Thử nghiệm này dựa trên sự tương tác giữa protein bromodomain được gắn đuôi Histidin mà có thể liên kết với hạt cho Niken-chelat, và peptit axetyl lysin đã được Biotinyl hóa tương ứng với trình tự axit amin histon, mà có thể liên kết với hạt nhận đã được kết hợp streptavidin. Tương tác protein-peptit có thể được phát hiện bằng sự phát sáng ở bước sóng 520-620 nm. Trong sự có mặt của hợp chất mà liên kết với BRD4 quan sát thấy tín hiệu thấp hơn khi tương tác protein-peptit bị giảm đi.

1. Thử nghiệm này được tiến hành như sau:- các đĩa hợp chất Greiner BioOne (cat no. 784075) được sử dụng. Hợp chất được điều chế bằng cách sử dụng Máy pha chế bằng Âm thanh Labcyte Echo với hợp chất ở thể tích cuối cùng bằng 40 nl trong mỗi giếng được chuẩn hóa vào DMSO 0,5% (thể tích/thể tích) trong điều kiện thử nghiệm cuối cùng. Thử nghiệm hợp chất theo kiểu đáp ứng nồng độ một bản sao 12 điểm.

2. Bổ sung 4 μ l protein BRD4 (6His-TEV-BRD4, các gốc axit amin 42-169, tương ứng với miền BD1) (nồng độ thử nghiệm cuối cùng = 50 nM) trong mỗi giếng bằng cách sử dụng Beckman Coulter BioRAPTR® Flying Reagent Dispenser Microfluidic Workstation.

3. Ủ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ trong phòng.

4. Bổ sung 4 μ l peptit axetyl lysin (H4K5,8,12,16(Ac)₄-biotin:(NH₂-)YSGRG(K-Ac)GG(K-Ac)GLG(K-Ac)GGA(K-Ac)RHR(K-Biotin)(-COOH)) (nồng độ thử nghiệm cuối cùng = 50 nM) trong mỗi giếng bằng cách sử dụng Beckman Coulter BioRAPTR® Flying Reagent Dispenser Microfluidic Workstation.

5. Ủ trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ trong phòng.

6. Bổ sung 4 μ l dung dịch hạt Niken & Streptavidin trộn sẵn (hạt được cung cấp bởi hãng Perkin Elmer) trong mỗi giếng bằng cách sử dụng BioRaptr như trên (nồng độ thử nghiệm cuối cùng = 4 μ g/ml). Giữ các đĩa trong tối sau khi bổ sung.

7. Ủ trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ trong phòng giữ đĩa thử nghiệm này trong tối

8. Sau đó đọc các đĩa bằng cách sử dụng máy đọc đĩa Perkin Elmer Envision, kích thích bằng laze ở bước sóng 680 nm và phát hiện sự phát xạ ở bước sóng 520-620 nm.

9. Phân tích dữ liệu bằng cách sử dụng phần mềm Genedata và tính giá trị IC₅₀.

Thử nghiệm chống tăng sinh

Đánh giá hiệu quả chống tăng sinh của hợp chất bằng thử nghiệm AlamarBlue ở tế bào MM1.S mà có nguồn gốc ban đầu từ bệnh nhân đa u tủy. Thử nghiệm này dựa trên Resazurin, thuốc nhuộm chỉ thị không phải huỳnh quang được đổi thành resorufin huỳnh quang màu đỏ sáng thông qua phản ứng khử của tế bào có hoạt tính chuyển hóa.

Hàm lượng huỳnh quang được tạo ra tỷ lệ với số lượng tế bào sống. Nuôi cấy tế bào MM.1S trong môi trường RPMI-1640 (Gibco®) cộng với huyết thanh thai bò 10% (FBS) và L-glutamin 1 mM. 12-24 giờ trước khi dùng liều lượng hợp chất, cấy 90 μ l huyền phù tế bào (18.750 tế bào) vào đĩa vi chuẩn độ 96 giếng (màu đen, đáy phẳng). Vào ngày dùng liều lượng hợp chất, pha loãng theo dãy 1:3 hợp chất này trong DMSO 100% bằng cách sử dụng các cột 2-10 của đĩa vi chuẩn độ 96 giếng. Cột 11 của đĩa dãy hợp chất chỉ chứa DMSO. Sau đó pha loãng tiếp tất cả các giếng 1:30 trong môi trường. Bổ sung 10 μ l hợp chất hoặc một mình DMSO trong môi trường vào các cột đĩa tế bào 2-11 trong ba bản sao. Ngoài ra, 1 đĩa có 10 μ l môi trường được bổ sung và cho phát triển bằng cách sử dụng alamar blue. Các đĩa đã phát triển vào ngày bổ sung hợp chất được gọi là Ngày 0. Nuôi cấy các đĩa đã được dùng liều lượng 3 ngày trong điều kiện bình thường (RPMI-1640 cộng với FBS 10% và L-glutamin 1 mM). Sau khi nuôi cấy 3 ngày, các đĩa đã được dùng liều lượng được cho phát triển bằng cách sử dụng MTS hoặc alamar blue. Đối với mỗi nồng độ hợp chất, % sinh trưởng thực được tính bằng

(Giếng đã được dùng liều lượng Ngày 3-Ngày 0 Trung bình)/(Đối chứng DMSO Ngày 3 Trung bình-Ngày 0 Trung bình).

GI₅₀, nồng độ mà gây ra sự ức chế sinh trưởng 50%, của mỗi hợp chất được tính bằng cách sử dụng % sinh trưởng thực như xác định bởi Viện Ung thư Quốc gia (National Cancer Institute - NCI).

Thử nghiệm giám sát sự điều biến protein cMyc

Nuôi cấy tế bào MM1.S ở bệnh đa u tủy trong môi trường RPMI-1640 chứa FBS 10% và L-glutamin 1% trong điều kiện chuẩn hóa trong lò ủ được làm ẩm (37°C và CO₂ 5%). Đánh giá ảnh hưởng của sự điều biến protein cMyc gây ra bởi chất ức chế bromodomain bằng cách nhuộm màu và định lượng hàm lượng protein c-Myc sau khi xử lý hợp chất bằng cách sử dụng thử nghiệm đếm tế bào theo dòng, được tiến hành trong dạng thức đĩa 96 giếng với 200K tế bào trong mỗi giếng. Xử lý các tế bào bằng hợp chất được pha loãng theo dãy 16 giờ trước khi cố định bằng paraformaldehyt 2% (nồng độ cuối cùng) trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ 37°C. Sau khi được làm cho có thể thấm được bằng metanol 90% lạnh như đá ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 30

phút, tế bào được rửa, được phong bế bằng chất đệm (FBS 0,5% trong chất đệm nước muối đệm phosphat (PBS)) trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, và được nhuộm màu bằng kháng thể cMyc trong thời gian 1 giờ (Cell Signaling Technology®5605, pha loãng 1:200). Các tế bào được rửa và được nhuộm màu bằng cách ủ với IgG kháng thể được kết hợp Alexa-488 (Cell Signaling Technology®4412, pha loãng 1:1000) ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Sau khi nhuộm màu, tế bào được rửa lại và được cố định bằng paraformaldehyt 2% trong PBS và sẵn sàng để phân tích bằng máy đếm tế bào theo dòng BD FACSCalibur™. Giá trị trung bình hình học huỳnh quang được tính thông qua FlowJo (TreeStar Inc), tín hiệu ức chế lớn nhất được xác định bằng cách xử lý hợp chất đối chứng ở liều lượng cao ngang qua mỗi đĩa, và tín hiệu ức chế nhỏ nhất được xác định bằng cách xử lý DMSO. IC50 được tính bằng cách làm khớp các điểm dữ liệu đáp ứng liều lượng mà được chuẩn hóa so với các tín hiệu lớn nhất và nhỏ nhất dưới dạng tỷ lệ phần trăm ức chế bằng cách sử dụng mô hình hồi quy không tuyến tính logistic 4 tham số tiêu chuẩn.

Mặc dù các tính chất dược lý của hợp chất có Công thức (I) thay đổi theo sự thay đổi cấu trúc như mong đợi, nhìn chung, hoạt tính của hợp chất có Công thức (I) có thể được chứng minh ở các nồng độ hoặc liều lượng sau đây trong một hoặc nhiều thử nghiệm nêu trên.

Dữ liệu sau đây được tạo ra đối với các Ví dụ (dữ liệu dưới đây có thể là kết quả từ thí nghiệm đơn lẻ hoặc giá trị trung bình của nhiều thí nghiệm lặp lại):

Bảng X

V	Thử nghiệm	Máy phát hiện X	K _D /μM							
í	Alpha	IC ₅₀								
d	BRD4(1)/μ	BRD4(1	BRD4(2	BRD2(1	BRD2(2	BRD3(1	BRD3(2	BRDT(1	BRDT(2	
u	M	)	)	)	)	)	)	)	)	)

1	0,12 (n=2)	0,047 (n=2)	0,13 (n=4)	0,10 (n=2)	0,28 (n=2)	0,064 (n=2)	0,43 (n=2)	0,095 (n=2)	0,45 (n=2)
2	0,035 (n=2)	0,026 (n=6)	0,29 (n=6)	0,083 (n=2)	0,35 (n=2)	0,057 (n=2)	0,92 (n=2)	0,035 (n=2)	1,1 (n=2)
3	0,30 (n=2)	0,11 (n=2)	0,34 (n=4)	0,16 (n=2)	0,53 (n=2)	0,11 (n=2)	0,67 (n=2)	0,093 (n=2)	0,99 (n=2)
4	0,14 (n=4)	0,057 (n=2)	0,25 (n=2)						

Số lần lặp lại trong ngoặc đơn

Bảng Y

Ví dụ Chống tăng sinh MM1.S $GI_{50}/\mu M$ "MoA" MM1.S $IC_{50}/\mu M$

1	0,0049 (n=9)	0,011 (n=12)
2	<0,0020 (n=3)	<0,0020 (n=4)
3	0,0075 (n=2)	0,025 (n=1)
4	0,0051 (n=3)	0,012 (n=2)

Số lần lặp lại trong ngoặc đơn

Mô hình Ghép khác loại

Hợp chất A còn được đánh giá trong mô hình ghép khác loại như được mô tả dưới đây.

Mua chuột cái CB17 SCID từ 6 đến 8 tuần tuổi của hãng Charles River Laboratories (Wilmington, MA) và nuôi trong điều kiện không chứa tác nhân gây bệnh đặc hiệu trong điều kiện được công nhận bởi AAALAC (Tổ chức Đánh giá và Công nhận Sự Chăm sóc Động vật Thí nghiệm - Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care). Cung cấp thực phẩm đã được chiếu xạ và nước đã thanh trùng tùy thích.

Tái tạo huyền phù tế bào MV-4-11 (Tập đoàn Nuôi cấy Mô Hoa Kỳ) trong 0,1 ml môi trường không chứa huyết thanh và Matrigel (Becton Dickinson) ở tỷ lệ 1:1. Tiêm dưới da các tế bào này 10^7 /con chuột) vào sườn phải của con chuột. Để khối u phát triển đến khi chúng đạt đến thể tích trung bình bằng 200 mm^3 để có hiệu quả và sau đó chia ngẫu nhiên các con chuột vào các nhóm gồm 8 con. Hòa tan hợp chất A trong HPMC 0,5%/Tween80 0,1% để dùng liều lượng. Để có hiệu quả, tá dược hoặc Hợp chất A được dùng PO một lần một ngày (qd) trong thời gian 21 ngày ở hàm lượng 10 mg/kg (mpk). Đo khối lượng cơ thể và thể tích khối u hai lần một tuần trong thời gian 21 ngày. Kết quả được thể hiện trên Hình E và chứng tỏ tác dụng của Hợp chất A lên thể tích khối u.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất dược phẩm, mà có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trong bản mô tả này, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng. Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất dược phẩm, mà có chứa đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định trong bản mô tả này, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng (ví dụ như dưới dạng viên nén, viên thuốc hình thoi, viên nang cứng hoặc mềm, huyền phù nước hoặc dầu, nhũ tương, bột hoặc hạt có thể phân tán, si rô hoặc cồn ngọt), để dùng tại chỗ (ví dụ như kem, thuốc mỡ, gel, hoặc dung dịch hoặc huyền phù nước hoặc dầu), để sử dụng bằng cách xông (ví dụ như bột tán mịn hoặc sol khí lỏng), để sử dụng bằng cách bơm khí (ví dụ như bột tán mịn) hoặc để sử dụng ngoài đường tiêu

hóa (ví dụ như dung dịch nước hoặc dầu tiết trùng để dùng liều lượng trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ hoặc trong cơ hoặc dưới dạng thuốc đạn để dùng liều lượng qua trực tràng). Theo một khía cạnh của sáng chế được phẩm theo sáng chế là được phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể thu được bằng các quy trình thông thường bằng cách sử dụng các tá dược thông thường, đã biết rõ trong lĩnh vực. Do đó, dược phẩm được dự định để dùng qua đường miệng có thể chứa, ví dụ như, một hoặc nhiều chất tạo màu, chất làm ngọt, chất tạo hương và/hoặc chất bảo quản.

Thông tin thêm về việc tạo chế phẩm có thể tham khảo ở Chương 25.2 của Tập 5 của tài liệu *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Chairman of editorial Board), Pergamon Press 1990.

Hợp chất có Công thức (I) hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic thường được dùng cho động vật máu nóng ở liều đơn vị nằm trong khoảng từ 5 đến 5000 mg/m² diện tích cơ thể của con vật tức là xấp xỉ từ 0,1 đến 100 mg/kg, và điều này thường tạo ra liều lượng hữu hiệu để điều trị. Dạng liều đơn vị, chẳng hạn như viên nén hoặc viên nang, thường chứa từ 0,5 mg đến 250 mg và, chẳng hạn như, từ 1 đến 250 mg thành phần hoạt tính. Liều hàng ngày cần phải được thay đổi tùy thuộc vào vật chủ là động vật hoặc con người được điều trị, đường dùng cụ thể, và mức độ nghiêm trọng của bệnh cần điều trị. Theo đó, người hành nghề mà đang điều trị cho con vật hoặc bệnh nhân cụ thể bất kỳ có thể xác định liều lượng tối ưu. Hợp chất hoặc đồng tinh thể theo sáng chế có tiềm năng làm chất chống tăng sinh và/hoặc chất giết tế bào trong việc ngăn chặn và/hoặc điều trị bệnh ung thư máu (còn được gọi là bệnh ung thư dịch lỏng) và bệnh khối u rắn. Cụ thể là, hợp chất hoặc đồng tinh thể theo sáng chế được mong đợi là sẽ hữu dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các khối u mà có liên quan đến sự khuếch đại của một hoặc nhiều họ BET của protein chứa bromodomain, thích hợp là sự khuếch đại BRD4, hoặc phụ thuộc vào gen gây ung thư then chốt mà có thể được điều hòa bằng một hoặc nhiều họ BET của protein chứa bromodomain, thích hợp là BRD4, ví dụ như, ung thư buồng trứng, bệnh bạch cầu tế bào dạng tủy và dòng hỗn hợp cấp tính (AML), bệnh đa u tủy (MM), u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), ung thư tuyến tiền liệt kháng cắt tinh hoàn (CRPC),

ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC), ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC), ung thư vú, u nguyên bào đệm, và u nguyên bào thần kinh.

Mô tả chi tiết sáng chế

Thuật ngữ "liệu pháp" được dự định là có nghĩa thông thường về việc điều trị bệnh để làm giảm nhẹ hoàn toàn hoặc một phần của một, một vài hoặc tất cả các triệu chứng của nó, hoặc sửa chữa hoặc bù đắp cho bệnh lý đã trải qua. Thuật ngữ "liệu pháp" còn bao gồm "phòng bệnh" trừ khi có chỉ dẫn cụ thể về điều ngược lại. Các thuật ngữ "trị liệu" và "về mặt trị liệu" cần được hiểu là tương đương.

Thuật ngữ "phòng bệnh" được dự định là có nghĩa thông thường và bao gồm việc phòng bệnh sơ cấp để ngăn ngừa sự phát triển của bệnh và phòng bệnh thứ cấp bằng cách đó bệnh đã phát triển và bệnh nhân được bảo vệ tạm thời hoặc vĩnh viễn chống lại sự trầm trọng thêm hoặc sự xấu đi của bệnh hoặc sự phát triển của triệu chứng mới có liên quan đến bệnh.

Thuật ngữ "điều trị" được sử dụng đồng nghĩa với "liệu pháp". Tương tự, thuật ngữ "điều trị" có thể được coi như là "áp dụng liệu pháp" khi "liệu pháp" là như được xác định trong bản mô tả này.

Thuật ngữ 'lượng hữu hiệu' dùng để chỉ hàm lượng của hợp chất có Công thức (I) hoặc đồng tinh thể như được mô tả theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này mà hữu hiệu để có khả năng mang lại liệu pháp ở đối tượng. Trong trường hợp bệnh ung thư, lượng hữu hiệu có thể gây ra sự thay đổi bất kỳ có thể quan sát được hoặc có thể đo được ở đối tượng như được mô tả trong định nghĩa về "liệu pháp", "điều trị" và "phòng bệnh" ví dụ như, lượng hữu hiệu có khả năng làm giảm số lượng tế bào ung thư hoặc tế bào khối u; có khả năng làm giảm tổng kích thước khối u; có khả năng ức chế hoặc làm ngừng sự thâm nhập của tế bào khối u vào các cơ quan ngoại vi bao gồm, ví dụ như, mô mềm và xương; có khả năng ức chế và làm ngừng sự di căn khối u; có khả năng ức chế và làm ngừng sự phát triển khối u; có khả năng làm thuyên giảm đến một mức độ nào đó một hoặc nhiều triệu chứng có liên quan đến bệnh ung thư; có khả năng làm giảm tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong; có khả năng cải thiện chất lượng cuộc sống; hoặc kết hợp của các hiệu quả này. Lượng hữu hiệu có thể là lượng đủ để

làm giảm triệu chứng của bệnh đáp ứng với sự ức chế của một hoặc nhiều protein chứa bromodomain. Đối với liệu pháp ung thư, hiệu quả *in-vivo* có thể, ví dụ như, được đo bằng cách đánh giá thời gian sống, thời gian tiến triển bệnh (TTP), tỷ lệ đáp ứng (RR), thời gian đáp ứng, và/hoặc chất lượng cuộc sống.

Sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể hợp chất có Công thức (I): thành phần đồng cấu tạo, thích hợp là đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong liệu pháp.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sản xuất thuốc.

Sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng làm thuốc ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc tạo ra tác dụng chống tăng sinh hoặc giết tế bào ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng để tạo ra tác dụng chống tăng sinh hoặc giết tế bào ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để tạo ra tác dụng chống tăng sinh hoặc giết tế bào ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tác dụng chống tăng sinh hoặc giết tế bào ở động vật máu nóng, chẳng hạn như người, cần điều trị mà bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng, chẳng hạn như người, cần điều trị mà bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư máu (còn được gọi là bệnh ung thư dịch lỏng) và bệnh ung thư thể rắn ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư máu và bệnh ung thư thể rắn ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư máu và bệnh ung thư thể rắn ở động vật máu nóng, chẳng hạn như người, cần điều trị mà bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Một khía cạnh của sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) mà có khả năng ức chế một hoặc nhiều protein chứa bromodomain, tức là họ BET của protein chứa bromodomain, và chẳng hạn như BRD2, BRD3, BRD4, và BRDt và, thích hợp là BRD4. Có lợi nếu hợp chất này có thể hữu dụng để điều trị rối loạn tăng sinh chẳng hạn như bệnh ung thư ở bệnh nhân khi rối loạn tăng sinh là rối loạn qua trung gian protein chứa bromodomain. 'Rối loạn qua trung gian protein chứa bromodomain' có nghĩa là bệnh bất kỳ hoặc các tình trạng bệnh có hại khác trong đó một hoặc nhiều protein chứa bromodomain đã được biết là có đóng vai trò trong đó.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư phụ thuộc BET ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Bệnh ung thư phụ thuộc BET có nghĩa là bệnh ung thư bất kỳ trong đó một hoặc nhiều họ BET của protein chứa bromodomain chẳng hạn như BRD2, BRD3, BRD4, và BRDt đóng vai trò trong đó.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư phụ thuộc BRD4 ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư phụ thuộc BET ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư phụ thuộc BRD4 ở động vật máu nóng chẳng hạn như người.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư phụ thuộc BET ở động vật máu nóng, chẳng hạn như người, cần điều trị mà bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư phụ thuộc BRD4 ở động vật máu nóng, chẳng hạn như người, cần điều trị mà bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc tạo ra tác dụng ức chế lên một hoặc nhiều họ BET của protein chứa bromodomain.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, để sử dụng trong việc tạo ra tác dụng ức chế lên BRD4.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc tạo ra tác dụng ức chế lên một hoặc nhiều họ BET của protein chứa bromodomain.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, trong việc sản xuất thuốc để sử dụng trong việc tạo ra tác dụng ức chế lên BRD4.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tác dụng ức chế lên một hoặc nhiều họ BET của protein chứa bromodomain trong đó bao gồm bước sử dụng cho động vật lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra tác dụng ức chế lên BRD4 mà bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên.

Đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic có thể ở Dạng A, Dạng B hoặc Dạng C, như xác định trong bản mô tả này và thích hợp là ở dạng A.

Việc điều trị chống ung thư được mô tả trong bản mô tả này có thể được áp dụng dưới dạng liệu pháp duy nhất hoặc có thể bao gồm, ngoài hợp chất theo sáng chế, phẫu thuật hoặc xạ trị hoặc hóa trị hoặc liệu pháp miễn dịch thông thường. Hóa trị có thể được dùng cùng lúc, đồng thời, tuần tự hoặc riêng rẽ đối với việc điều trị bằng hợp chất theo sáng chế.

Khi sử dụng liệu pháp kết hợp, hàm lượng của hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic được mô tả trong bản mô tả này và hàm lượng của (các) chất có được tính khác, khi được kết hợp, có tác động cùng nhau để điều trị rối loạn đích ở con vật mắc bệnh. Trong trường hợp này, các hàm lượng kết hợp là "lượng hữu hiệu để điều trị" nếu chúng, khi được kết hợp, đủ để làm giảm triệu chứng của bệnh đáp ứng với sự ức chế của một hoặc nhiều protein chứa bromodomain. Thông thường, các hàm lượng này có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực bằng cách, ví dụ như, bắt đầu với giới hạn liều lượng được mô tả trong bản mô tả này đối với hợp chất

có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic như được xác định trong bản mô tả này và (các) giới hạn liều lượng đã được phê chuẩn hoặc được công bố theo cách khác của (các) hợp chất có được tính khác.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất sản phẩm được có chứa hợp chất có Công thức (I), và chất kháng khối u bổ sung, để điều trị kết hợp bệnh ung thư.

Theo khía cạnh này của sáng chế, sáng chế đề xuất sản phẩm được có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, như được xác định ở trên, và chất kháng khối u bổ sung, để điều trị kết hợp bệnh ung thư.

Theo các khía cạnh này sản phẩm được có chứa hợp chất có Công thức (I) và thành phần đồng cấu tạo ở dạng đồng tinh thể.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất sản phẩm được có chứa đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6 hydroxy-2-naphthoic, như được xác định ở trên, và chất kháng khối u bổ sung, để điều trị kết hợp bệnh ung thư.

Điều trị kết hợp có thể bao gồm một hoặc nhiều chất kháng khối u sau đây:-

(i) thuốc chống tăng sinh/kháng khối u và dạng kết hợp của chúng, như được dùng trong ngành ung thư, chẳng hạn như chất alkyl hóa (ví dụ như *cis*-platin, oxaliplatin, carboplatin, xyclophosphamit, mù tạc nitơ, melphalan, cloambuxil, busulphan, temozolamit và nitrosoure); chất chống chuyển hóa (ví dụ như gemxitabin và kháng folat chẳng hạn như flopyrimidin như 5-flouraxin, pemetrexel và tegafur, raltitrexed, methotrexat, xytosin arabinosit, và hydroxyure); kháng sinh kháng khối u (ví dụ như anthracyclin như adriamycin, bleomycin, doxorubixin, daunomycin, epirubixin, idarubixin, mitomycin-C, dactinomycin và mithramycin); và chất ức chế topoisomeraza (ví dụ như epipodophyllotoxin như etoposit và teniposit, amsacrin, topotecan và camptothecin và irinotecan); chất ức chế của cơ chế sửa chữa ADN chẳng hạn như CHK kinaza; chất ức chế protein kinaza phụ thuộc ADN; chất ức chế

của poly (ADP-riboza) polymeraza (chất ức chế PARP, bao gồm olaparib); và chất ức chế Hsp90 chẳng hạn như tanespimyxin và retaspimyxin;

(ii) hợp chất mà ức chế sự tiến triển thông qua chu trình tế bào chẳng hạn như chất chống phân bào (ví dụ như vinca alkaloit như vincristin, vinblastin, vindesin và vinorelbin; epothilon chẳng hạn như ixabepilone và patupilone; taxoit như taxol, taxotere và docetaxel; chất ức chế kinaza giống polo; và chất ức chế của protein vận động kinesin chẳng hạn như chất ức chế protein Eg5); chất ức chế aurora kinaza (ví dụ như AZD1152, PH739358, VX-680, MLN8054, R763, MP235, MP529, VX-528 và AX39459); chất ức chế kinaza phụ thuộc cyclin chẳng hạn như chất ức chế CDK2 và/hoặc CDK4; và chất ức chế chức năng protein trung đoạn chẳng hạn như chất ức chế CENP-E;

(iii) chất kìm tế bào mà làm thay đổi sự sinh trưởng phụ thuộc hormon chẳng hạn như kháng estrogen (ví dụ như tamoxifen, fulvestrant, toremifen, raloxifen, droloxifen và idoxifen), kháng androgen (ví dụ như bicalutamid, flutamid, nilutamid và xypoterone axetat), chất đối kháng LHRH hoặc chất chủ vận LHRH (ví dụ như goserelin, leuprorelin và buserelin), progestogen (ví dụ như megestrol axetat), chất ức chế aromataza (ví dụ như anastrozol, letrozol, vorazol và exemestan); chất ức chế của 5α -reductaza chẳng hạn như finasterid và chất ức chế CYP17A1 chẳng hạn như abirateron;

(iv) chất chống xâm lấn, ví dụ như chất ức chế họ c-Src kinaza như AZD0530 (saracatinib); dasatinib ((BMS-354825), J. Med. Chem., 2004, 47, 6658-6661) và bosutinib (SKI-606), và chất ức chế metalloproteinaza như marimastat, chất ức chế của chức năng thụ thể chất hoạt hóa urokinaza plasminogen hoặc kháng thể đối với heparanaza; chất ức chế của FAK hay kinaza đích tiêu điểm; chất ức chế phân tử nhỏ của kinaza thụ thể MET (ví dụ như volitinib/AZD6904); kháng thể đối với kinaza thụ thể MET hoặc yếu tố sinh trưởng tế bào gan phổi từ MET (ví dụ như onartuzumab);

(v) chất ức chế chức năng yếu tố sinh trưởng: ví dụ như chất ức chế bao gồm kháng thể yếu tố sinh trưởng và kháng thể thụ thể yếu tố sinh trưởng (ví dụ như kháng thể kháng erbB2 trastuzumab [Herceptin™], kháng thể kháng EGFR panitumumab,

kháng thể kháng erbB1 cetuximab [Erbix, C225] và yếu tố sinh trưởng hoặc kháng thể thụ thể yếu tố sinh trưởng bất kỳ được bộc lộ bởi Stern và cộng sự. Critical reviews in oncology/haematology, 2005, Vol. 54, pp11-29); chất ức chế này cũng bao gồm chất ức chế tyrosin kinaza, ví dụ như chất ức chế họ yếu tố sinh trưởng biểu bì (ví dụ như chất ức chế tyrosin kinaza họ EGFR chẳng hạn như gefitinib (ZD1839), erlotinib (OSI-774) và CI 1033, chất ức chế tyrosin kinaza erbB2 chẳng hạn như lapatinib; chất ức chế erbB 1/2 hỗn hợp chẳng hạn như afatinib; và chất ức chế không thuận nghịch của EGFR và Her2 chẳng hạn như HKI-272, chất ức chế không thuận nghịch của EGFR chẳng hạn như AZD9291; chất ức chế họ yếu tố sinh trưởng tế bào gan và thụ thể của chúng; chất ức chế họ yếu tố sinh trưởng insulin bao gồm chất ức chế phân tử nhỏ kinaza và kháng thể định hướng yếu tố sinh trưởng giống insulin và thụ thể yếu tố sinh trưởng giống insulin; chất ức chế họ yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu và thụ thể của chúng chẳng hạn như imatinib và/hoặc nilotinib (AMN107); chất ức chế c-kit, chất ức chế AnLK, chất ức chế Flt3 kinaza, chất ức chế c-abl kinaza, và chất ức chế CSF-1R hoặc TRK kinaza;

(vi) chất ức chế của kinaza truyền tín hiệu như FGFR (ví dụ như AZD4547), PIM (ví dụ như AZD1208), MEK (ví dụ như Selumetinib (AZD6244), AKT (ví dụ như AZD5363), chất ức chế của TOR kinaza (bao gồm TORC1 và TORC2, ví dụ như AZD2014), và chất ức chế của PI3 kinaza, bao gồm các chất đồng phân chẳng hạn như PI3K- α , PI3K- β hoặc PI3K- Δ (ví dụ như AZD8186); chất ức chế của serin/threonin kinaza chẳng hạn như Ras hoặc Raf kinaza (ví dụ như sorafenib hoặc vemurafenib); chất ức chế của PDK, SGK, PI4K hoặc PIP5K, JAK, STAT (bao gồm STAT3, chất ức chế của chúng là AZD9150) và IRAK4; chất ức chế ATR (ví dụ như AZD6738) hoặc chất ức chế ATM; chất ức chế BTK chẳng hạn như ibrutinib, chất ức chế SYK chẳng hạn như fostamatinib, và chất ức chế kinaza phụ thuộc cyclin; chất ức chế farnesyl transferaza chẳng hạn như tipifarnib (R115777) lonafarnib (SCH66336) và chất ức chế Wee-1 kinaza (ví dụ như AZD1775 như được mô tả trong tài liệu WO2007/126128);

(vii) chất chống tạo mạch chẳng hạn như các chất mà ức chế hiệu quả của yếu tố sinh trưởng nội mạc, ví dụ như kháng thể yếu tố sinh trưởng tế bào kháng nội mạc bevacizumab (Avastin™) và ví dụ như, chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza VEGF chẳng hạn như vandetanib (ZD6474), sorafenib, vatalanib (PTK787), sunitinib

(SU11248), axitinib (AG-013736), pazopanib (GW 786034) và cediranib (AZD2171), hợp chất chẳng hạn như hợp chất được bộc lộ trong WO97/22596, WO97/30035, WO97/32856 và WO98/13354 và hợp chất mà hoạt động theo cơ chế khác (ví dụ như linomit, chất ức chế chức năng integrin $\alpha v \beta 3$ và angiostatin);

(viii) chất làm hư hỏng mạch chẳng hạn như Combretastatin A4 và hợp chất được bộc lộ trong WO99/02166, WO00/40529, WO00/41669, WO01/92224, WO02/04434 và WO02/08213;

(ix) liệu pháp đối nghĩa, ví dụ như các liệu pháp định hướng vào các đích được liệt kê ở trên, chẳng hạn như ISIS 2503, chất đối nghĩa kháng ras;

(x) phương pháp liệu pháp gen, bao gồm ví dụ như các phương pháp thay thế gen khác thường chẳng hạn như p53 khác thường hoặc BRCA1 hoặc BRCA2 khác thường, phương pháp GDEPT (liệu pháp tiền dược chất enzym định hướng gen) chẳng hạn như phương pháp sử dụng xytosin deaminaza, tymidin kinaza hoặc enzym nitroreductaza vi khuẩn và phương pháp làm tăng khả năng dung chịu của bệnh nhân đối với việc hóa trị hoặc xạ trị chẳng hạn như liệu pháp gen kháng đa thuốc;

(xi) phương pháp liệu pháp miễn dịch, bao gồm ví dụ như các phương pháp *ex-vivo* và *in-vivo* để làm tăng khả năng gây miễn dịch của tế bào khối u của bệnh nhân, chẳng hạn như chuyển nạp bằng xytokin chẳng hạn như interleukin 2, interleukin 4 hoặc yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt-đại thực bào; phương pháp để làm giảm sự suy nhược tế bào T hoặc chức năng tế bào T điều hòa; phương pháp tăng cường đáp ứng tế bào T với khối u, chẳng hạn như phong bế kháng thể với CTLA4 (ví dụ như ipilimumab và tremelimumab), B7H1, PD-1 (ví dụ như BMS-936558 hoặc MEđi-4736), và kháng thể chất chủ vận với CD137; phương pháp sử dụng tế bào miễn dịch đã được chuyển nạp chẳng hạn như tế bào phân nhánh đã được chuyển nạp xytokin; phương pháp sử dụng dòng tế bào khối u đã được chuyển nạp xytokin, phương pháp sử dụng kháng thể đối với kháng nguyên kết hợp khối u, và kháng thể mà làm tan loại tế bào đích (ví dụ, kháng thể kháng CD20 không được kết hợp chẳng hạn như Rituximab, kháng thể kháng CD20 đã được đánh dấu phóng xạ Bexxar và Zevalin, và kháng thể kháng CD54 Campath); chế độ điều trị hóa trị R-CHOP (Rituximab cùng với xyclophosphamit, doxorubixin hydroclorua, vincristin

sulphat và prednison); phương pháp sử dụng kháng thể kháng idiotyp; phương pháp làm tăng cường chức năng tế bào Giết Tự nhiên; và phương pháp sử dụng thể kết hợp kháng thể-độc tố (ví dụ kháng thể kháng CD33 Mylotarg); độc tố miễn dịch chẳng hạn như moxetumumab pasudotox; chất chủ vận của thụ thể giống toll 7 hoặc thụ thể giống toll 9;

(xii) chất ức chế của sự thoái hóa protein qua trung gian proteasom bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở chất ức chế proteasom chẳng hạn như Velcade™ (Bortezomib) hoặc carfilzomib, chất ức chế của ubiquity lipaza, chất ức chế của ubiquitin proteaza, chất ức chế của protein Neddylation, và chất ức chế của protein sumoylation; và

(xiii) tiêu chuẩn khác của chất chăm sóc chẳng hạn như xyclophosphamit, prednison, lenalidomit hoặc thalidomit.

Theo khía cạnh này của sáng chế, sáng chế đề xuất dạng kết hợp thích hợp để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư có chứa hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và chất kháng khối u bổ sung, cụ thể là chất kháng khối u bất kỳ được liệt kê trong các mục (i)-(xiii) ở trên.

Theo khía cạnh này của sáng chế, sáng chế cũng đề xuất dạng kết hợp thích hợp để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư có chứa đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic và chất kháng khối u bổ sung, cụ thể là chất kháng khối u bất kỳ được liệt kê trong các mục (i)-(xiii) ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng ở dạng kết hợp với chất kháng khối u bổ sung, cụ thể là chất kháng khối u được chọn từ một được liệt kê trong các mục (i)-(xiii) ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất đồng tinh thể Hợp chất A: 6-hydroxy-2-naphthoic ở dạng kết hợp với chất kháng khối u bổ sung, cụ thể là chất kháng khối u được chọn từ một được liệt kê trong các mục (i)-(xiii) ở trên.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất bộ kit có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A: 6-

hydroxy-2-naphthoic hoặc muối được dụng của chúng, ở dạng kết hợp với chất kháng khối u. Theo các phương án nhất định, bộ kit còn có chứa hướng dẫn sử dụng (các) hợp chất hoặc đồng tinh thể.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất bộ kit có chứa:

- a) hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, hoặc đồng tinh thể Hợp chất A:6-hydroxy-2-naphthoic ở dạng liều đơn vị thứ nhất;
- b) chất kháng khối u khác ở dạng liều đơn vị thứ hai; và
- c) vật chứa để chứa dạng liều lượng thứ nhất và dạng liều lượng thứ hai này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được minh họa trong các ví dụ dưới đây trong đó, nhìn chung:

- (i) nhiệt độ được nêu theo độ Celsius ($^{\circ}\text{C}$); trừ khi có chỉ dẫn khác, các hoạt động được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng hoặc nhiệt độ môi trường, tức là, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 18 đến 25 $^{\circ}\text{C}$;
- (ii) dung dịch hữu cơ được làm khô trên magie sulfat khan hoặc natri sulfat khan; việc làm bay hơi dung môi được tiến hành bằng cách sử dụng máy bay hơi quay dưới áp suất giảm (từ 600 đến 4000 Pascal; từ 4,5 đến 30 mmHg) với nhiệt độ bề lên đến 60 $^{\circ}\text{C}$;
- (iii) sắc ký có nghĩa là sắc ký nhanh trên silicagel; sắc ký lớp mỏng (TLC) được tiến hành trên đĩa silicagel;
- (iv) nhìn chung, tiến trình phản ứng được nối tiếp bằng TLC và / hoặc LC-MS phân tích, và thời gian phản ứng khi được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa;
- (v) sản phẩm cuối cùng có dữ liệu phổ cộng hưởng từ nhân proton (NMR) và/hoặc phổ khối thích hợp;

(vi) hiệu suất được đưa ra chỉ để minh họa và không nhất thiết là hiệu suất mà có thể thu được bằng sự phát triển quy trình siêng năng; sự điều chế được lặp lại nếu cần nhiều nguyên liệu hơn;

(vii) khi được đưa ra, dữ liệu NMR ở dạng giá trị delta đối với các proton chuẩn đoán chính, được nêu theo phần triệu (ppm) tương ứng với tetrametylsilan (TMS) dưới dạng tiêu chuẩn nội bộ, được xác định ở 300, 400 hoặc 500 MHz bằng cách sử dụng perdeuterio dimethyl sulfoxit (DMSO- d_6) làm dung môi trừ khi có chỉ dẫn khác; sử dụng các chữ viết tắt sau đây: s, vạch đơn; d, vạch đôi; t, vạch ba; q, vạch bốn; m, vạch bội; bs, vạch đơn rộng; dd, vạch đôi kép; td, vạch đôi ba lần; qd, vạch đôi bốn lần;

(viii) Đối với cacbon (^{13}C) phân tích NMR trạng thái rắn quay góc ảo phân cực chéo được tiến hành ở Ví dụ 1, phổ của đồng tinh thể, bazơ tự do của Hợp chất A và thành phần đồng cấu tạo được ghi lại trên quang phổ kế NMR Bruker Avance hoạt động ở tần số ^1H bằng 400 MHz. Các mẫu được quay quanh góc ảo ở tần số 9 kHz và xung tiếp xúc bằng 2 ms được sử dụng để cho phép chuyển sự từ hóa từ proton sang cacbon. Độ trễ chu kỳ bằng 5 s được sử dụng để cho phép giãn mạng quay;

(ix) Đối với nitơ (^{15}N) phân tích NMR trạng thái rắn quay góc ảo phân cực chéo được tiến hành ở Ví dụ 1, phổ của đồng tinh thể được ghi lại trên quang phổ kế NMR Bruker Avance hoạt động ở tần số ^1H bằng 400 MHz. Các mẫu được quay quanh góc ảo ở tần số 5 kHz và xung tiếp xúc bằng 200 μs và 2 ms được sử dụng để cho phép chuyển sự từ hóa từ proton sang cacbon. Độ trễ chu kỳ bằng 5 s được sử dụng để cho phép giãn mạng quay;

(x) các ký hiệu hóa học có nghĩa thông thường; các đơn vị và ký hiệu SI được sử dụng;

(xi) dữ liệu phổ khối (MS) và LC-MS được tạo ra trên hệ thống LC-MS khi thành phần HPLC nhìn chung là bao gồm Agilent 1100, thiết bị Waters Alliance HT (2790 & 2795) hoặc bơm HP1100 và Màng Điốt có bộ lấy mẫu tự động CTC và được chạy trên Phenomenex Gemini C18 5 μm , cột 50 x 2 mm (hoặc tương tự) rửa giải bằng either dung môi rửa giải axit (ví dụ như, bằng cách sử dụng gradien giữa 0 - 95% nước

/ axetonitril với 5% của axit formic 1% trong hỗn hợp nước:axetonitril 50:50 (thể tích/thể tích)), hoặc dung môi rửa giải bazơ (ví dụ như, bằng cách sử dụng gradien giữa 0 - 95% nước / axetonitril với 5% của 0,1% 880 amoni trong hỗn hợp axetonitril); và thành phần MS nhìn chung là có chứa quang phổ khối kế Waters ZQ quét trên khoảng khối lượng thích hợp. Biểu đồ sắc ký đối với Cường độ Đỉnh Cơ sở dương và âm Electrospray (ESI), và Biểu đồ sắc ký Độ hấp thụ Tổng cộng UV từ 220-300 nm, được tạo ra và các giá trị m/z được đưa ra; nhìn chung, chỉ các ion mà chỉ ra khối bố mẹ được báo cáo và trừ khi có chỉ dẫn khác giá trị đưa ra là (M+H)⁺ đối với kiểu ion dương và (M-H)⁻ đối với kiểu ion âm;

(xii) trừ khi có chỉ dẫn khác hợp chất chứa cacbon được thể bất đối xứng không được phân giải;

(xiii) sắc ký lỏng cao áp điều chế (HPLC) được tiến hành trên thiết bị Gilson bằng cách sử dụng các điều kiện sau đây:-

Cột: Silic oxit pha đảo C18, ví dụ như, Waters 'Xbridge', 5 µm silic oxit, 19 x 100 mm, hoặc 30 x 100 mm, bằng cách sử dụng hỗn hợp dung môi phân cực giảm dần làm dung môi rửa giải (tỷ lệ giảm dần của dung môi A so với dung môi B); dung môi A: nước với amoni hydroxit 1%; dung môi B: axetonitril; tốc độ dòng chảy: 28 ml / phút hoặc 61 ml / phút; gradien: được biến đổi cho phù hợp với mỗi hợp chất – nhìn chung là có độ dài 7-10 phút; chiều dài bước sóng: 254 nm;

(xiv) Sắc ký trao đổi cation mạnh (SCX) được tiến hành trên cột chứa đóng gói sẵn (ví dụ như, ISOLUTE SCX-hộp chứa dựa trên axit 2 propyl sulfonic cung cấp bởi hãng International Sorbent Technology), bằng cách sử dụng dung môi rửa giải bazơ (ví dụ như, amoni 1M trong metanol);

(xv) sử dụng các chữ viết tắt sau đây trong bản mô tả này, khi cần thiết:-

ADDP 1,1'-(azodicarbonyl)dipiperidin

DCM điclorometan

DIPEA N,N-diisopropyletylamin

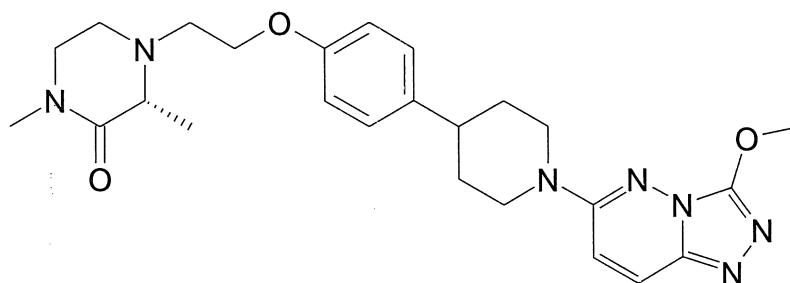
DMA	<i>N,N</i> -đimetyl axetamit
DMF	<i>N,N</i> -đimetylformamit
DME	Đimetoxyetan
DMSO	đimetylsulphoxit
Et ₂ O	đietylete
EtOAc	etyl axetat
EtOH	etanol
HPLC	sắc ký lỏng cao áp
MeOH	metanol
MgSO ₄	magie sulfat
MTBE	metyl <i>tert</i> -butyl ete
NMR	cộng hưởng từ nhân
SCX	trao đổi cation mạnh
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran;

(xvii) Đối với phân tích XRPD theo Ví dụ 1, mẫu được đặt lên bề mặt silicon và được phân tích bằng cách sử dụng nhiễu xạ kế PANalytical CubiX PRO. Đo mẫu trong hình phản xạ ở cấu hình $\theta - 2\theta$ trong phạm vi quét từ 2° đến $40^\circ 2\theta$ với độ bậc lộ 25 giây danh nghĩa trong mỗi gia lượng $0,02^\circ$. Quay mẫu ở tốc độ 30 vòng quay mỗi phút (để cải thiện thống kê đếm) và được chiếu xạ bằng tia X được tạo ra bởi ống tiêu cự rất mảnh bằng đồng hoạt động ở 45 kV và 40 mA với chiều dài bước sóng bằng 1,5418 Å. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nhiễu xạ bột tia X sẽ hiểu rằng cường độ tương đối của các đỉnh có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ như, các hạt có kích thước trên

30 micromet và tỷ lệ các mặt không đồng nhất mà có thể ảnh hưởng đến sự phân tích mẫu. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực cũng sẽ hiểu rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi chiều cao chính xác mà tại đó mẫu nằm trong nhiều xạ kế và sự định cỡ bằng không của nhiều xạ kế. Tính phẳng bề mặt của mẫu cũng có thể có ảnh hưởng nhỏ. Do đó dữ liệu mẫu nhiều xạ được thể hiện không được lấy dưới dạng giá trị tuyệt đối.

(xviii) Phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai: Thiết bị Phân tích: Thiết bị TA Q1000 DSC. Thông thường ít hơn 5 mg nguyên liệu được chứa trong bể bằng nhôm tiêu chuẩn được lắp với nắp được gia nhiệt trong khoảng nhiệt độ từ 25°C đến 300°C ở tốc độ gia nhiệt không đổi bằng 10°C mỗi phút. Khí đẩy sử dụng nitơ được sử dụng - tốc độ dòng chảy là 50 ml mỗi phút.

Ví dụ 1: Điều chế (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on Dạng A

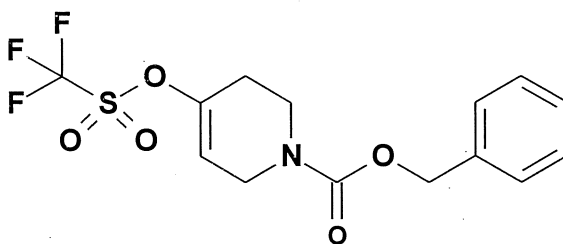


Bổ sung từng phần tributylphosphin (102 ml, 414,92 mmol) và huyền phù của 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol (67,5 g, 207,46 mmol) trong DCM khan, đã loại khí kỹ (1,7 l) ở nhiệt độ 5 °C trong nitơ. Làm lạnh hỗn hợp xuống nhiệt độ 0 °C và bổ sung từng phần (E)-điazene-1,2-diylbis(piperidin-1-yl metanon) (105 g, 414,92 mmol). Sau đó bổ sung từng giọt dung dịch (R)-4-(2-hydroxyetyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on (46,4 g, 269,70 mmol) trong DCM (200 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 30 phút và lọc. Pha loãng dung dịch trong bằng DCM (1 l) thêm nữa và sau đó axit hóa bằng HCl 2M (400 ml) và bổ sung thêm nước (400 ml). Rửa dung dịch trong nước kết hợp này bằng DCM (3 x 1 l) và sau đó là EtOAc (1 l). Sau đó, bazơ hóa dung dịch trong nước bằng Na₂CO₃ rắn đến độ pH~10 và chiết bằng DCM (3 x 1,5 l). Rửa dung dịch hữu cơ kết hợp bằng

nước (500 ml) và nước muối bão hòa (500 ml), sau đó làm khô trên MgSO_4 và làm bay hơi đến khô để tạo ra nguyên liệu thô. Tinh chế nguyên liệu này bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, rửa giải bằng $\text{EtOH}:\text{EtOAc}:\text{heptan}:\text{NH}_3(\text{trong nước})$ 1,8:4:4:0,2. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn đến khô để tạo ra bột màu vàng. Tinh chế tiếp bằng HPLC điều chế (cột Chiralpak AS, 20 μm silic oxit, đường kính 100 mm, chiều dài 250 mm), heptan/ EtOH 50/50 ở tốc độ 400 ml / phút. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn đến khô và khuấy chất rắn thu được dưới dạng huyền phù trong diethyl ete (300 ml) trong thời gian 18 giờ, lọc và làm khô để tạo ra (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxymethyl-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-one (69 g, 69,4 %) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^1H NMR (400 MHz, DMSO , 30 $^\circ\text{C}$) 1,22 (3H, d), 1,62 (2H, qd), 1,82 (2H, d), 2,6 - 2,79 (3H, m), 2,79 (3H, s), 2,85 - 3,09 (4H, m), 3,13 (1H, q), 3,2 - 3,26 (2H, m), 4,03 (2H, t), 4,17 (3H, s), 4,28 (2H, d), 6,85 (2H, d), 7,15 (2H, d), 7,29 (1H, d), 7,85 (1H, d). m/z ES^+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 480

Điều chế 4-(1-(3-metoxymethyl-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol dùng làm nguyên liệu bắt đầu như sau:-

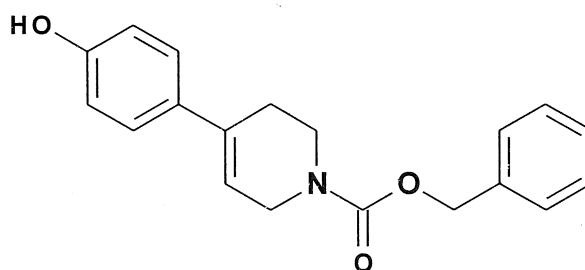
Điều chế benzyl 4-(triflormethylsulfonyloxy)-5,6-dihydropyridin-1(2H)-carboxylat



Bổ sung từng giọt dung dịch benzyl 4-oxopiperidin-1-carboxylat (88,57 g, 379,70 mmol) trong THF (300 ml) vào lithi bis(trimethylsilyl)amit (1M trong THF) (418 ml, 417,67 mmol) ở nhiệt độ $-78\text{ }^\circ\text{C}$, trong khoảng thời gian 1 giờ trong nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ $-78\text{ }^\circ\text{C}$ trong thời gian 90 phút sau đó bổ sung từng giọt dung dịch 1,1,1-triflo-N-phenyl-N-(triflormethylsulfonyl)metansulfonamit (142 g, 398,68 mmol) trong THF (600 ml) trong khoảng thời gian 1 giờ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ $-78\text{ }^\circ\text{C}$ trong thời gian 30 phút, sau đó để cho ấm lên đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong thời gian 16 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng

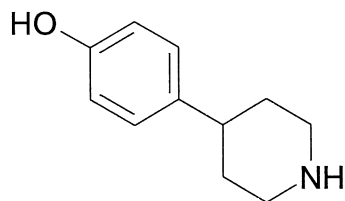
natri hydroxit 2M trong nước (450 ml). Các lớp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa bằng natri hydroxit 2M trong nước (360 ml). Làm bay hơi dung môi, sau đó tái hòa tan phần cặn trong Et₂O (1500 ml) và rửa dung dịch này bằng nước (500 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi để tạo ra benzyl 4-(triflometylsulfonyloxy)-5,6-dihiđropyridin-1(2H)-carboxylat (124 g, 81 %) dưới dạng dầu không màu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,43 (2H, m), 3,62 (2H, m), 4,06 (2H, m), 5,10 (2H, s), 6,02 (1H, m), 7,34 (5H, m).

Điều chế benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)-5,6-dihiđropyridin-1(2H)-carboxylat



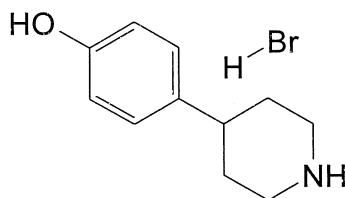
Bổ sung natri cacbonat (96 g, 909,79 mmol) vào benzyl 4-(triflometylsulfonyloxy)-5,6-dihiđropyridin-1(2H)-carboxylat (123,1 g, 303,26 mmol) và axit 4-hydroxyphenylboronic (46,0 g, 333,59 mmol) trong hỗn hợp của dioxan (1000 ml) và nước (250 ml). Sục hỗn hợp thu được bằng nitơ trong thời gian 10 phút sau đó bổ sung 1,1'-bis(điphenylphosphino)feroxendiclopalađi(II) (5,49 g, 7,58 mmol) và gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 80 °C trong thời gian 1 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (2 l) và rửa bằng nước (2 l). Chiết lại lớp nước bằng DCM (1 l), sau đó rửa các chất hữu cơ kết hợp bằng nước muối bão hòa (500 ml), làm khô trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải EtOAc từ 10 đến 30 % trong isohexan. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn đến khô sau đó tán nhỏ bằng isohexan, lọc và làm khô để tạo ra benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)-5,6-dihiđropyridin-1(2H)-carboxylat (62,3 g, 66,4 %) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,44 (2H, m), 3,61 (2H, m), 4,05 (2H, m), 5,12 (2H, s), 5,99 (1H, m), 6,73 (2H, d), 7,26 (2H, d), 7,32 - 7,40 (5H, m), 9,45 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 310.

Điều chế 4-(piperidin-4-yl)phenol



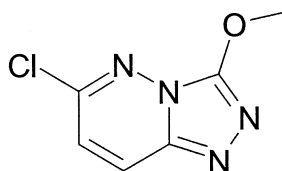
Khuấy benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)-5,6-dihiđropyridin-1(2H)-carboxylat (37,7 g, 121,86 mmol) và paladi 5% trên cacbon (7,6 g, 3,57 mmol) trong MeOH (380 ml) trong khí hydro ở áp suất 5 bar và nhiệt độ 25 °C trong thời gian 2 giờ. Loại bỏ chất xúc tác bằng cách lọc, được rửa bằng MeOH và làm bay hơi dung môi. Tán nhỏ nguyên liệu thô bằng Et₂O (200 ml), sau đó thu thập sản phẩm mong muốn bằng cách lọc và làm khô trong chân không để tạo ra 4-(piperidin-4-yl)phenol (20,36 g, 94 %) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,46 (2H, m), 1,65 (2H, m), 2,45 (1H, m), 2,58 (2H, m), 3,02 (2H, m), 6,68 (2H, d), 7,00 (2H, d), 9,15 (1H, s). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 178

Điều chế 4-(piperidin-4-yl)phenol hydrobromua



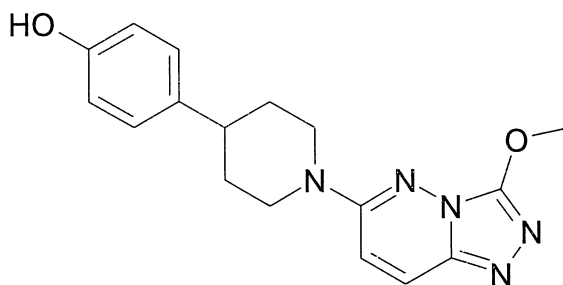
Bổ sung từng giọt hydro bromua (48% trong nước) (0,283 ml, 2,48 mmol) vào huyền phù 4-(piperidin-4-yl)phenol (0,4 g, 2,26 mmol) trong THF (23 ml). Khuấy huyền phù thu được trong thời gian 30 phút. Thu thập chất rắn bằng cách lọc, rửa bằng THF (20 ml) và làm khô trong chân không để tạo ra 4-(piperidin-4-yl)phenol hydrobromua (0,580 g, 100 %) dưới dạng bột màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,74 (2H, qd), 1,86 (2H, d), 2,71 (1H, tt), 2,96 (2H, td), 3,33 (2H, d), 6,68 – 6,73 (2H, m), 6,97 – 7,02 (2H, m), 8,48 (2H, br s), 9,18 (1H, br s).

Điều chế 6-clo-3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin



Tạo huyền phù 3-clo-6-hydrizinylpyridazin (18 g, 124,51 mmol) trong DME (330 ml) và xử lý bằng tetrametoxymetan (26,5 ml, 199,22 mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 90 °C trong thời gian 3 giờ. Làm bay hơi DME và hòa tan phần cặn trong MeOH 5 %/DCM; và sau đó lọc qua nút silic oxit. Làm bay hơi dịch lọc đến khô và sau đó lấy ra trong MTBE (200 ml) và làm nhão trong thời gian 1 giờ. Lọc chất rắn và làm khô trong chân không để tạo ra 6-clo-3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin (19,78 g, 86 %) dưới dạng bột kem. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 4,25 (3H, s), 7,30 (1H, d), 8,22 (1H, d). m/z : ES+ [M+H]⁺ 185

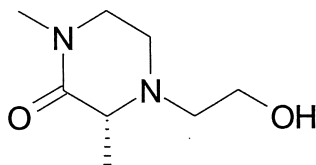
Điều chế 4-(1-(3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol



Bổ sung 6-clo-3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin (19,73 g, 106,91 mmol) vào 4-(piperidin-4-yl)phenol hydrobromua (18,4 g, 71,28 mmol) trong EtOH (200 ml). Bổ sung vào hỗn hợp này DIPEA (62,2 ml, 356,38 mmol) và khuấy phản ứng ở nhiệt độ 55°C trong thời gian 18 giờ. Sau đó để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ môi trường và rót vào nước được khuấy mạnh (1600 ml); và khuấy mạnh trong thời gian 2 giờ. Lọc chất rắn chất kết tủa ra và rửa lần lượt bằng H₂O (200 ml) và Et₂O (200 ml). Làm khô chất rắn thu được trong chân không để tạo ra 4-(1-(3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol (15,30 g, 66,0 %) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,59 (2H, qd), 1,81 (2H, d), 2,67 (1H, ddt), 2,9 - 3,02 (2H, m), 4,17 (3H, s), 4,23 - 4,31 (2H, m), 6,63 - 6,71 (2H, m), 7,02 (2H, dd), 7,29 (1H, d), 7,84 (1H, d), 9,14 (1H, s). m/z ES+ [M+H]⁺ 326

Điều chế (R)-4-(2-hydroxyetyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on dùng làm nguyên liệu bắt đầu như sau:

Điều chế (R)-4-(2-hydroxyetyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on



Bổ sung 2-bromoetanol (108 ml, 1518,54 mmol) vào hỗn hợp của (R)-1,3-dimethylpiperazin-2-on hydroclorua (50 g, 303,71 mmol) và kali cacbonat (126 g, 911,12 mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (500 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 100 °C trong thời gian 16 giờ. Lọc hỗn hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế nguyên liệu này bằng sắc ký nhanh trên silicagel rửa giải bằng MeOH từ 1 đến 5% trong DCM và kết hợp các phân đoạn tinh khiết và làm bay hơi đến khô để tạo ra (R)-4-(2-hydroxyetyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on (36,0 g, 68,8 %) dưới dạng dầu màu vàng đậm.

^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,19 (3H, d), 2,42 (1H, dt), 2,59 (2H, tt), 2,79 (3H, s), 2,93 - 3,1 (2H, m), 3,17 - 3,25 (2H, m), 3,47 (2H, q), 4,41 (1H, t).

Phân tích sản phẩm cuối cùng, (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on, bằng XRPD và DSC và phát hiện thấy là đã kết tinh. XRPD của mẫu của nguyên liệu mang lại sự tăng lên đối với mẫu nhiễu xạ như được thể hiện trên Hình A. (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on Dạng A đặc trưng bởi ít nhất là một đỉnh ở giá trị 2θ bằng 20,9° hoặc 16,7°, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$. Mười đỉnh nổi bật nhất của XRPD được thể hiện trong Bảng A.

Bảng A : Mùoi đỉnh XRPD Nổi bật nhất đối với (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxo-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on Dạng A

Góc 2-teta (2θ)	Cường độ %
20,9	100,0
16,7	53,4
20,2	38,1
21,2	27,2
27,4	26,5
18,0	23,4
16,8	20,0
23,6	18,1
15,1	14,2
15,5	13,9

trong đó các giá trị 2-teta là +/- 0,2°.

Phân tích phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (DSC) của (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxo-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-

dimethylpiperazin-2-on Dạng A cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở 106,4°C và đỉnh ở 111,2°C. Vết của DSC được thể hiện trên Hình B.

Ví dụ 1.1: Điều chế đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1), Dạng A.

Bổ sung xấp xỉ 3 g (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on Dạng A vào bình đáy tròn chứa 10 ml metanol. Sau đó bổ sung từng giọt dung dịch riêng rẽ chứa 1 đương lượng mol (1,18 g) của axit 6-hydroxy-2-naphthoic trong 5 ml metanol vào bình đáy tròn, và khuấy phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Lọc nguyên liệu trong ngày tiếp theo và rửa bằng metanol (5 ml). Làm khô chất rắn thu được trong không khí và sau đó chuyển sang lò chân không tại đó nó được làm khô thêm qua đêm ở nhiệt độ 50°C. Thu được đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on : axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) dưới dạng chất rắn màu trắng nhò. Dạng này được xác định là đã kết tinh bằng XRPD.

Phân tích nguyên liệu này bằng XRPD và DSC. XRPD của mẫu của nguyên liệu mang lại sự tăng lên đối với mẫu nhiễu xạ như được thể hiện trên Hình C. Đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A đặc trưng bởi ít nhất là một đỉnh ở giá trị 2 θ bằng 19,5° hoặc 12,5°, đo bằng cách sử dụng bức xạ CuK α . Mười đỉnh nổi bật nhất của XRPD được thể hiện trong Bảng B.

Bảng B - Mười đỉnh XRPD Nổi bật nhất đối với đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A

Góc 2-teta (2 θ)	Cường độ %
--------------------------	------------

19,5	100
12,5	80,4
18,1	79,8
12,8	66,4
24,2	60,9
14,1	56,5
23,4	51,8
17,9	40,2
18,6	38,6
17,0	37,3

trong đó các giá trị 2-teta là $\pm 0,2^\circ$.

Phân tích phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (DSC) của đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở $186,3^\circ\text{C}$ và đỉnh ở $188,3^\circ\text{C}$. Vết của DSC được thể hiện trên Hình D.

Đồng tinh thể có thể được xác định theo quan điểm ΔpKa , tức là ($\text{pKa}(\text{bazo}) - \text{pKa}(\text{axit})$). Nếu $\Delta\text{pKa} < 1$, phức hợp API:phân tử đồng cấu tạo được phân loại là đồng tinh thể. (Quy tắc Phân loại của Đồng tinh thể Dược, Hướng dẫn của FDA US, tháng

từ năm 2013). pKa đối với tâm bazơ trên piperazinon trong Hợp chất A được xác định là bằng 4,8 và pKa đối với phân tử đồng cấu tạo axit 6-hydroxy-2-naphthoic 4,3, mà tạo ra $\Delta pK_a < 1$ và, do đó phù hợp với sự tạo thành của đồng tinh thể.

Phân tích NMR trạng thái rắn quay góc ảo phân cực chéo ^{13}C được tiến hành trên sản phẩm cuối cùng theo Ví dụ 1.1, (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on và thành phần đồng cấu tạo axit 6-hydroxy-2-naphthoic. Phổ được thể hiện trên Hình F. Phổ đáy trên Hình F (tức là của sản phẩm theo Ví dụ 1.1) không phải là tổng của các phổ của (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on (phổ giữa) và thành phần đồng cấu tạo (phổ trên). Trong phổ trên có đỉnh ở khoảng 172 ppm, cấu thành axit carboxylic được proton hóa đầy đủ trong thành phần đồng cấu tạo. (Nếu axit carboxylic trong thành phần đồng cấu tạo không được proton hóa, thì đỉnh được mong đợi là ở 177 ppm chứ không phải là 172 ppm). Trong phổ giữa có đỉnh ở khoảng 169 ppm cấu thành carbonyl trong (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on. Trong phổ đối với sản phẩm theo Ví dụ 1.1, có 3 đỉnh trong vùng carbonyl mà không thống nhất với các đỉnh ở phổ trên hoặc phổ giữa. Ngoài ra, trong phổ này, không có đỉnh ở 177 ppm. Đỉnh này được mong đợi là có mặt nếu thành phần đồng cấu tạo axit carboxylic không được proton hóa và chỉ ra rằng proton đã di chuyển giữa thành phần đồng cấu tạo và bazơ tự do và muối được tạo thành. Sự vắng mặt của đỉnh này phù hợp với sự tạo thành của đồng tinh thể.

Phân tích NMR trạng thái rắn quay góc ảo phân cực chéo ^{15}N được tiến hành trên sản phẩm cuối cùng theo Ví dụ 1.1. Phổ được ghi lại ở các thời gian tiếp xúc là 2 ms và 200 μs và được thể hiện trên Hình G. Phổ được ghi lại với thời gian tiếp xúc dài hơn thống nhất với ít nhất là 8 môi trường nitơ khác nhau trong đồng tinh thể trong khi đó không quan sát thấy đỉnh nào ở thời gian tiếp xúc ngắn hơn. Điều này thống nhất với việc không có nguyên tử nitơ nào thể hiện lưỡng cực mạnh ghép cặp với proton như trong trường hợp mà proton được di chuyển đầy đủ giữa thành phần đồng cấu tạo và bazơ như quan sát thấy đối với muối.

Hóa học lượng pháp của đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on: axit 6-hydroxy-2-naphthoic được xác định bằng NMR proton. Nguyên liệu này mang lại sự tăng lên đối với phổ NMR như được thể hiện trên Hình H. Hóa học lượng pháp được xác định bằng cách kết hợp sự cộng hưởng do (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on, ví dụ bằng cách sử dụng sự cộng hưởng ở 6,85 ppm (2H) và so sánh với sự cộng hưởng do axit 6-hydroxy-2-naphthoic, ví dụ bằng cách sử dụng sự cộng hưởng ở 8,46 (1H), và xác định tỷ lệ giữa các đỉnh, cho phép số lượng proton mang lại sự tăng lên đối với tín hiệu cộng hưởng. Hóa học lượng pháp (tỷ lệ mol) được xác định là 1:1.

^1H NMR (500 MHz, DMSO, 27°C) 1,22 (3H, d), 1,62 (2H, qd), 1,82 (2H, d), 2,63 - 2,79 (3H, m), 2,81 (3H, s), 2,85 - 3,09 (4H, m), 3,13 (1H, q), 3,20 - 3,28 (2H, m), 4,03 (2H, t), 4,17 (3H, s), 4,28 (2H, d), 6,85 (2H, d), 7,12 - 7,21 (4H, m), 7,29 (1H, d), 7,75 (1H, d), 7,83 - 7,89 (2H, m), 7,96 (1H, d), 8,47 (1H, s), 10,15 (1H, bs), 12,81 (1H, bs)

Do đó, NMR ^1H , NMR trạng thái rắn ^{13}C và ^{15}N và ΔpKa , được đề cập ở trên, phù hợp với sự tạo thành của đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1)

Ví dụ 1.2: Điều chế đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A

4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol (0,818kg, 2,34mol) được trộn với ADDP (1,19 kg, 4,67 mol) và DCM (9,8 l, 150 mol) và khuấy ở nhiệt độ khoảng 10°C. Bổ sung từng phần tributyl phosphin (0,98 kg, 47,6 mol) vào hỗn hợp phản ứng trong thời gian 30 phút và sau đó khuấy trong thời gian 30 phút. Sau đó bổ sung từng giọt dung dịch (R)-4-(2-hydroxyetyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on (0,503 kg, 2,80 mol) trong DCM (1,64 l, 25,6 mol) và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 24 giờ.

Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng bằng cách rửa bằng DCM để loại bỏ sản phẩm phụ ADDP. Khuấy dịch lọc với axit hydrocloric trong nước và lớp hữu cơ ở dưới bị loại bỏ. Lớp nước được rửa thêm bằng DCM và lớp hữu cơ ở dưới bị loại bỏ. Sau đó bazơ hóa dung dịch trong nước bằng Na_2CO_3 đến độ pH 9-10 và chiết bằng DCM. Lớp DCM được rửa thêm bằng nước và làm bay hơi và làm đồng sôi bằng metanol để loại bỏ nước dư để tạo ra nguyên liệu thô. Hòa tan nguyên liệu thô trong metanol (7,5 l, 190 mol) và gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C trong bình 1. Hòa tan axit 6-hydroxynaphthalen-2-carboxylic (0,360 kg, 1,87 mol) trong metanol (3,8 l, 94 mol) trong bình 2. Sau đó bổ sung từng giọt của 10% của dung dịch từ bình 2 vào bình 1 trong thời gian 10 phút. Duy trì nhiệt độ của bình 1 ở xấp xỉ 60°C .

Bổ sung nguyên liệu mầm đồng tinh thể Hợp chất A: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) (1,2 g, 0,0018 mol), mà có thể được tạo ra như được mô tả trong Ví dụ 1.1, vào bình 1 và giữ nhiệt độ ở 60°C trong thời gian xấp xỉ 1 giờ. Sau đó bổ sung từng giọt phần chứa còn lại trong bình 2 vào bình 1 trong thời gian xấp xỉ 16 giờ. Để bột nhão thu được nguội xuống nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 giờ và sau đó lọc và rửa bằng metanol. Làm khô chất rắn thu được trong lò chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on: axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) (hiệu suất 56,45%).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,43 (d, $J=7,00$ Hz, 3 H) 1,54 - 1,69 (m, 2 H) 1,80 (d, $J=11,36$ Hz, 2 H) 2,74 (tt, $J=12,06$, 3,41 Hz, 1 H) 2,84 (s, 3 H) 2,91 - 3,03 (m, 2 H) 3,25 - 3,63 (m, 6 H) 3,83 (d, $J=6,88$ Hz, 1 H) 4,10 - 4,34 (m, 7 H) 6,89 (d, $J=8,69$ Hz, 2 H) 7,09 - 7,22 (m, 4 H) 7,28 (d, $J=10,34$ Hz, 1 H) 7,72 (d, $J=8,72$ Hz, 1 H) 7,79 - 7,88 (m, 2 H) 7,92 (d, $J=8,88$ Hz, 1 H) 8,44 (d, $J=0,63$ Hz, 1 H) 10,12 (br. S., 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 480$.

Dạng này được xác định là đã kết tinh bằng XRPD.

Chế phẩm 4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol

3-clo-6-hyđrazinylpyridazin (0,753 kg) được trộn với tetrametoxymetan (8,231 mol, 1,22 kg) trong metanol (5,7L) và khuấy. Sau đó gia nhiệt hỗn hợp thu được và

khuấy ở nhiệt độ 55°C trong thời gian 2 giờ. Sau khi để nguội xuống 45°C, bổ sung 4-(piperidin-4-yl)phenol hydrobromua (được điều chế như mô tả ở trên) (1,000 kg, 3,874 mol). Sau đó bổ sung từng giọt DIPEA (2,03 l, 11,6 mol) trong khoảng thời gian khoảng 10 phút và phản ứng được khuấy thêm. Bổ sung metanol (5,1 l, 126 mol) và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian ít nhất là 48 giờ ở nhiệt độ xấp xỉ 45°C. Lọc hỗn hợp và rửa dịch lọc bằng metanol và nước. Làm khô chất rắn đã tách ra trong lò chân không ở nhiệt độ xấp xỉ 50°C để tạo ra 4-(1-(3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol (hiệu suất 65%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,59 (2H, qd), 1,81 (2H, d), 2,67 (1H, ddt), 2,9 - 3,02 (2H, m), 4,17 (3H, s), 4,23 - 4,31 (2H, m), 6,63 - 6,71 (2H, m), 7,02 (2H, dd), 7,29 (1H, d), 7,84 (1H, d), 9,14 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 326

Phân tích đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) bằng XRPD và DSC. XRPD của mẫu của nguyên liệu mang lại sự tăng lên đối với mẫu nhiễu xạ được thể hiện trên Hình I. Đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A đặc trưng bởi ít nhất là một đỉnh ở giá trị 2θ bằng 19,4° hoặc 12,5°, đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα. Mười đỉnh nổi bật nhất của XRPD được thể hiện trong Bảng C.

Bảng C - Mười đỉnh XRPD Nổi bật nhất đối với đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A

Góc 2-teta (2θ)	Cường độ %
19,4	100
12,5	79,3

12,8	77,4
18,1	75,0
24,2	66,8
23,4	55,2
14,0	53,2
18,6	37,8
17,0	37,5
17,9	36,4

trong đó các giá trị 2-teta là $\pm 0,2^\circ$.

Phân tích phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (DSC) của đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở $184,9^\circ\text{C}$ và đỉnh ở $187,9^\circ\text{C}$ (Hình J).

Do đó phân tích DSC cho thấy đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A là chất rắn nóng chảy cao với sự bắt đầu nóng chảy ở trong khoảng $163-186^\circ\text{C}$ và đỉnh ở trong khoảng $169-188^\circ\text{C}$.

Ví dụ 1.1A -Nguyên liệu được tạo ra trong sự điều chế lặp lại của con đường được mô tả trong Ví dụ 1.1, dẫn đến dạng khác, Dạng B. Dạng này được xác định là đã kết tinh bằng XRPD.

XRPD của mẫu của nguyên liệu mang lại sự tăng lên đối với mẫu nhiễu xạ như được thể hiện trên Hình K. Đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxymethyl)-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-one:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng B đặc trưng bởi ít nhất là một đỉnh ở giá trị 2θ bằng $15,2^\circ$ hoặc $6,1^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$. Chín đỉnh nổi bật nhất của XRPD được thể hiện trong Bảng D.

Bảng D - Chín đỉnh XRPD Nổi bật nhất đối với đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxymethyl)-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-one:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng B

Góc 2-teta (2θ)	Cường độ %
15,2	40,9
6,1	58,1
16,8	64,3
12,2	44,0
26,1	43,9
28,4	41,0
18,3	34,2
3,1	30,6
20,7	25,4

trong đó các giá trị 2-teta là $\pm 0,2^\circ$.

Phân tích phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (DSC) của đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng B cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở $169,3^\circ\text{C}$ và đỉnh ở $172,7^\circ\text{C}$. Vết của DSC được thể hiện trên Hình L.

Ví dụ 1.3: Điều chế đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1), Dạng C.

Mẫu của đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng A được phân tích bằng XRPD giai đoạn nóng bằng cách sử dụng nhiễu xạ kế cải tiến Bruker D8. Mẫu được gia nhiệt đến 210°C với biểu đồ nhiễu xạ được thu lấy mỗi 3°C .

Sau đó để mẫu nguội xuống 25°C ở tốc độ 10°C/phút , và khi mở ra giai đoạn mẫu khi kết thúc thí nghiệm nguyên liệu được quan sát là đã thăng hoa và tập hợp trên dao đòn cân bằng của nhiễu xạ kế dưới dạng bột màu trắng. Bột màu trắng này được tập hợp và được phân tích và thể hiện dạng kết tinh khác, Dạng C. Dạng này được xác định là kết tinh bằng XRPD.

XRPD của mẫu của nguyên liệu mang lại sự tăng lên đối với mẫu nhiễu xạ như được thể hiện trên Hình M. Đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng C đặc trưng bởi ít nhất là một đỉnh ở giá trị 2θ bằng $8,2^\circ$ hoặc $24,8^\circ$, đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$. Bảy đỉnh nổi bật nhất của XRPD được thể hiện trong Bảng E.

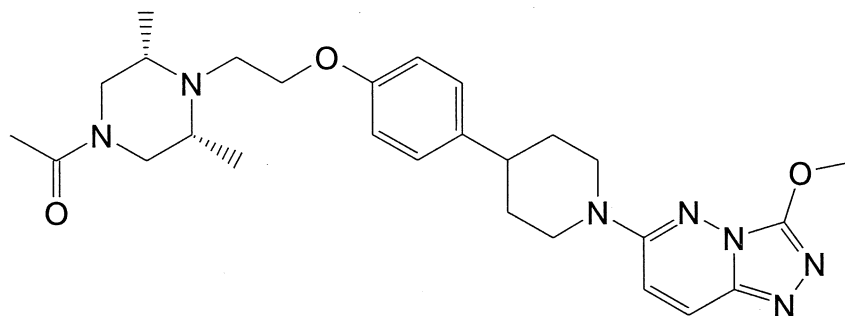
Bảng E - Bẫy đỉnh XRPD Nổi bật nhất đối với đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxymethyl-1H-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-one:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng C

Góc 2-teta (2 θ)	Cường độ %
8,2	100
24,8	90,9
18,9	46,4
29,0	32,3
14,8	26,3
15,5	22,2
16,3	20,7

trong đó các giá trị 2-teta là $\pm 0,2^\circ$.

Phân tích phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (DSC) của đồng tinh thể (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxymethyl-1H-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-one:axit 6-hydroxy-2-naphthoic (1:1) Dạng C cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở $156,8^\circ\text{C}$ và đỉnh ở $160,5^\circ\text{C}$. Vết của DSC được thể hiện trên Hình N.

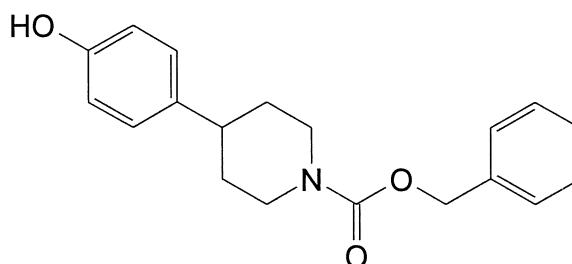
Ví dụ 2 : Điều chế 1-((3S,5R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxymethyl-1H-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon



Bổ sung DIPEA (1,455 ml, 8,36 mmol) vào 1-((3S,5R)-3,5-dimethyl-4-(2-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)piperazin-1-yl)etanon (1,502 g, 4,18 mmol) và 6-clo-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin (thu được như được mô tả trong Ví dụ 1, điều chế nguyên liệu bắt đầu) (1,003 g, 5,43 mmol) trong DMF (15 ml). Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 80 °C trong thời gian 18 giờ và làm bay hơi đến khô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký trao đổi ion, bằng cách sử dụng cột SCX. Rửa giải sản phẩm mong muốn từ cột bằng cách sử dụng NH₃/MeOH 1M và làm bay hơi đến khô để tạo ra gôm màu nâu. Tinh chế tiếp bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải NH₃/MeOH 7M từ 0 đến 10 % trong EtOAc. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra 1-((3S,5R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon (0,991 g, 46,7 %) dưới dạng bột màu kem. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1,06 - 1,1 (6H, m), 1,69 (2H, qd), 1,91 (2H, d), 1,97 (3H, s), 2,56 - 2,68 (4H, m), 2,78 (1H, tt), 2,99 (2H, t), 3,06 (2H, td), 3,84 (2H, br s), 4,00 (2H, t), 4,21 (3H, s), 4,27 (2H, d), 6,83 - 6,88 (2H, m), 7,14 - 7,19 (3H, m), 7,74 (1H, d). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 508

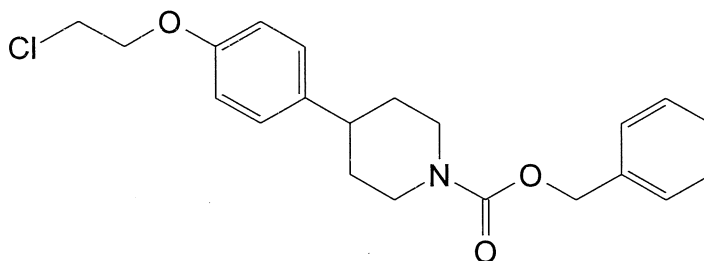
Sau đó điều chế 1-((3S,5R)-3,5-dimethyl-4-(2-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)piperazin-1-yl)etanon để dùng làm nguyên liệu bắt đầu như sau:-

Điều chế benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat



Bổ sung benzyl cloformat (5,97 ml, 41,84 mmol) vào 4-(piperidin-4-yl)phenol hydrobromua (thu được như được mô tả trong Ví dụ 1, điều chế nguyên liệu bắt đầu) (9 g, 34,86 mmol) và DIPEA (14,57 ml, 83,67 mmol) trong DCM (150 ml). Khuấy huyền phù thu được trong thời gian 2 giờ. Rửa hỗn hợp phản ứng tuần tự bằng nước (2 x 100 ml) và axit xitric trong nước 1M (100 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5 % trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat (7,89 g, 72,7 %) dưới dạng gồm không màu, mà hóa rắn khi đứng yên. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,43 (2H, qd), 1,71 (2H, d), 2,57 (1H, tt), 2,79 - 2,93 (2H, m), 4,11 (2H, d), 5,08 (2H, s), 6,64 - 6,69 (2H, m), 6,98 - 7,02 (2H, m), 7,28 - 7,33 (1H, m), 7,34 - 7,4 (4H, m), 9,10 (1H, s). m/z : ES^+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 312

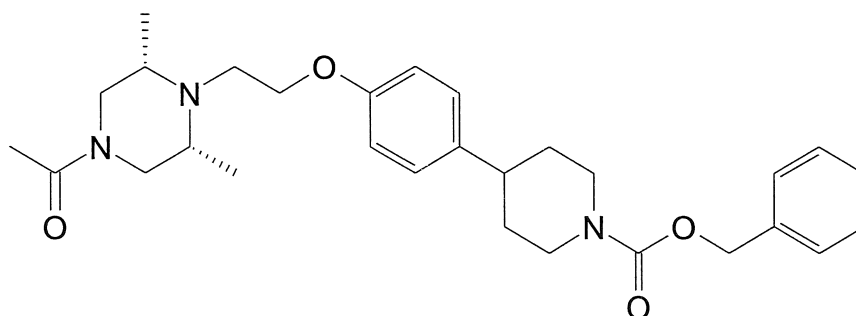
Điều chế benzyl 4-(4-(2-cloethoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat



Bổ sung 1-bromo-2-cloetan (2,134 ml, 25,64 mmol) vào benzyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat (5,322 g, 17,09 mmol) và kali cacbonat (4,72 g, 34,18 mmol) trong MeCN (80 ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 85 °C trong thời gian 18 giờ. Phản ứng là không hoàn toàn và bổ sung thêm kali cacbonat (4,72 g, 34,18 mmol) và 1-bromo-2-cloetan (2,134 ml, 25,64 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 85 °C trong 48 giờ nữa. Phản ứng thể hiện một vài tiến triển đến ~50% hoàn thành. Phản ứng là không hoàn toàn do đó nhiệt độ được tăng lên đến 95 °C và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 24 giờ nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô và tái hòa tan trong EtOAc (200 ml), và rửa lần lượt bằng nước (2 x 100 ml) và nước muối bão hòa (100 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5 % trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra benzyl

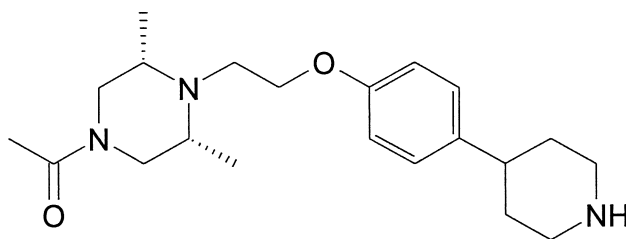
4-(4-(2-cloethoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (3,30 g, 51,7 %) dưới dạng gồm màu vàng nhạt. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,47 (2H, qd), 1,73 (2H, d), 2,64 (1H, tt), 2,81 - 2,95 (2H, m), 3,90 (2H, dd), 4,12 (2H, d), 4,20 (2H, dd), 5,08 (2H, s), 6,85 - 6,9 (2H, m), 7,12 - 7,17 (2H, m), 7,28 - 7,34 (1H, m), 7,34 - 7,4 (4H, m). m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 374

Điều chế benzyl 4-(4-(2-((2S,6R)-4-axetyl-2,6-đimethylpiperazin-1-yl)ethoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat



Bổ sung DIPEA (3,05 ml, 17,49 mmol) vào benzyl 4-(4-(2-cloethoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (2,18 g, 5,83 mmol), 1-((3S,5R)-3,5-đimethylpiperazin-1-yl)etanon (1,366 g, 8,75 mmol) và kali iodua (0,968 g, 5,83 mmol) trong DMA (25 ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 125 °C trong thời gian 18 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô và tái hòa tan trong EtOAc (250 ml), và rửa lần lượt bằng nước (200 ml) và nước muối bão hòa (200 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế nguyên liệu này bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải NH_3/MeOH 7M từ 0 đến 4 % trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra benzyl 4-(4-(2-((2S,6R)-4-axetyl-2,6-đimethylpiperazin-1-yl)ethoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (2,180 g, 76 %) dưới dạng gồm màu nâu. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1,06 - 1,1 (6H, m), 1,51 (2H, qd), 1,76 - 1,83 (2H, m), 1,97 (3H, s), 2,57 - 2,72 (5H, m), 2,93 (2H, td), 2,99 (2H, t), 3,85 (2H, br s), 4,00 (2H, t), 4,14 (2H, d), 5,12 (2H, s), 6,83 - 6,87 (2H, m), 7,1 - 7,15 (2H, m), 7,27 - 7,33 (1H, m), 7,34 - 7,38 (4H, m). m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$ 494

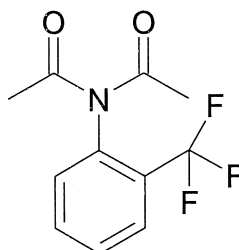
Điều chế 1-((3S,5R)-3,5-đimethyl-4-(2-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)etyl) piperazin-1-yl)etanon



Khuấy benzyl 4-(4-(2-((2S,6R)-4-axetyl-2,6-đimetylpipezazin-1-yl)ethoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (2,18 g, 4,42 mmol) và paladi 10% trên cacbon (0,470 g, 0,44 mmol) trong MeOH (45 ml) trong khí hydro for 5 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra 1-((3S,5R)-3,5-đimetyl-4-(2-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)etyl)piperazin-1-yl)etanon (1,502 g, 95 %) dưới dạng gồm màu vàng nhạt. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1,07 - 1,1 (6H, m), 1,48 (2H, qd), 1,70 (2H, d), 1,97 (3H, s), 2,5 - 2,66 (7H, m), 2,99 (2H, t), 3,01 - 3,07 (2H, m), 3,85 (2H, br s), 4,00 (2H, t), 6,82 - 6,86 (2H, m), 7,09 - 7,13 (2H, m). m/z : ES+ [M+H]⁺ 360

Điều chế 1-((3S,5R)-3,5-đimetylpipezazin-1-yl)etanon để dùng làm nguyên liệu bắt đầu như sau:-

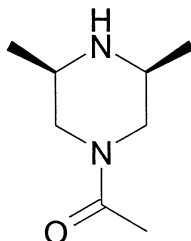
Điều chế *N*-axetyl-*N*-(2-(triflometyl)phenyl)axetamit



Bổ sung từng giọt axetyl clorua (132 ml, 1861,91 mmol) trong thời gian 30 phút vào 2-(triflometyl)anilin (100 g, 620,64 mmol) và pyridin (200 ml, 2482,55 mmol) trong toluen (500 ml) đã nguội xuống 0 °C. Phản ứng được gia nhiệt lên 50°C và khuấy trong thời gian 20 giờ. Sau đó để hỗn hợp nguội xuống nhiệt độ môi trường và rửa hai lần bằng axit xitric trong nước 1M (250 ml). Sau đó làm bay hơi hỗn hợp sản phẩm thô đến khi thể tích còn lại một nửa và xử lý bằng heptan (500 ml). Khuấy bột nhão thu được ở nhiệt độ 5 °C trong thời gian 4 giờ và sau đó thu lấy chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng heptan (500 ml) và làm khô trong chân không. Điều này tạo ra

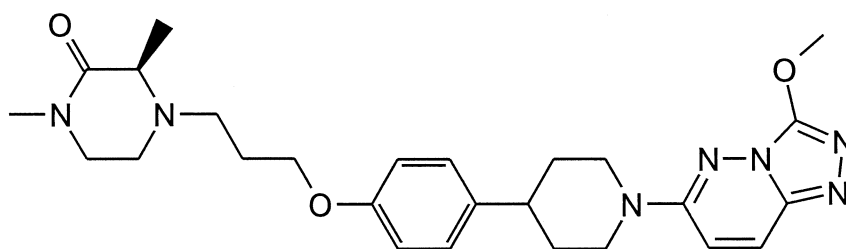
N-axetyl-*N*-(2-(triflometyl)phenyl)axetamit (93 g, 59,1 %) dưới dạng chất rắn màu nâu sáng. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2,18 (6H, s), 7,58 - 7,93 (4H, m). m/z : ES+ [M+H] $^+$ 246

Điều chế 1-((3R,5S)-3,5-đimetylpiperazin-1-yl)etanon



Bổ sung *N*-axetyl-*N*-(2-(triflometyl)phenyl)axetamit (13,28 g, 52,54 mmol) vào 2R,6S-2,6-đimetylpiperazin (5 g, 43,79 mmol) trong EtOH (75 ml) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 24 giờ. Sau đó làm bay hơi nó đến khô, tái hòa tan trong DCM (25 ml) và rửa bằng HCl trong nước 2M (25 ml). Sau đó bazơ hóa dung dịch trong nước này đến độ pH 14 bằng NaOH trong nước đặc và chiết bằng DCM (2 x 25 ml). Làm bay hơi các chất hữu cơ kết hợp đến khô để tạo ra dịch lỏng màu vàng. Tinh chế nguyên liệu này bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải NH_3/MeOH 7M từ 0 đến 10 % trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra 1-((3S,5R)-3,5-đimetylpiperazin-1-yl)etanon (4,00 g, 66,7 %) dưới dạng dầu màu nâu vàng nhạt. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 100 °C) 0,98 (6H, d), 1,78 (1H, br s), 1,96 (3H, s), 2,26 (2H, br s), 2,58 - 2,68 (2H, m), 3,94 (2H, br s).

Ví dụ 3 : Điều chế (R)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-1,3-đimetylpiperazin-2-on

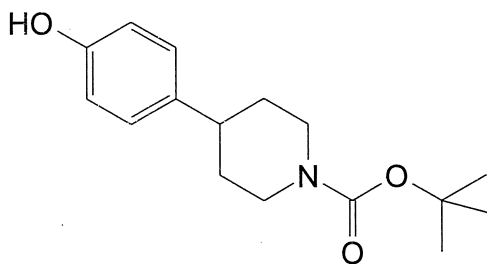


Bổ sung trietylamin (0,396 ml, 2,84 mmol) vào 6-clo-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin (thu được như được mô tả trong Ví dụ 1, điều chế

nguyên liệu bắt đầu) (350 mg, 1,90 mmol) và (R)-1,3-đimetyl-4-(3-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)piperazin-2-on (655 mg, 1,90 mmol) trong DMF (10 ml) và gia nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ 56 °C trong thời gian 5 giờ. Tinh chế dung dịch sản phẩm thô bằng sắc ký trao đổi ion, bằng cách sử dụng cột SCX. Rửa giải sản phẩm mong muốn từ cột bằng cách sử dụng NH₃/MeOH 7M và làm bay hơi đến khô để tạo ra gồm màu nâu. Tinh chế tiếp bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradient rửa giải MeOH từ 0 đến 10 % trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra (R)-4-(3-(4-(1-(3-methoxy-[1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-1,3-đimethylpiperazin-2-on (140 mg, 14,96 %) dưới dạng bột màu nâu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C); 1,20 (3H, d), 1,64 (2H, m), 1,86 (4H, m), 2,45 (2H, m), 2,72 (2H, m), 2,82 (3H, s), 3,00 (4H, m), 3,25 (2H, m), 3,98 (2H, tr), 4,19 (3H, s), 4,30 (2H, m), 6,87 (2H, dd), 7,17 (2H, dd), 7,30 (1H, d), 7,86 (1H, d). *m/z* ES+ [M+H]⁺ = 494

Điều chế (R)-1,3-đimetyl-4-(3-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)piperazin-2-on để dùng làm nguyên liệu bắt đầu như sau:-

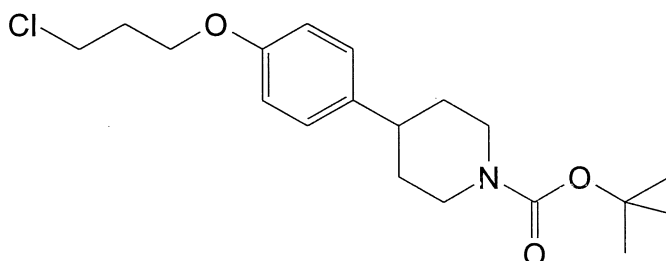
Điều chế *tert*-butyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat



Bổ sung từ từ triethylamin (23,76 ml, 170,44 mmol) vào 4-(piperidin-4-yl)phenol hydrobromua (thu được như được mô tả trong Ví dụ 1, điều chế nguyên liệu bắt đầu) (40 g, 154,95 mmol) trong DCM (190 ml) ở nhiệt độ 0 °C. Khuấy hỗn hợp thu được trong thời gian 20 phút và sau đó bổ sung di-*tert*-butyl dicacbonat (35,5 g, 162,69 mmol). Loại bỏ bể đá và khuấy phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 2 giờ. Rửa hỗn hợp phản ứng tuần tự bằng nước (2 x 200 ml) và nước muối bão hòa (200 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Lấy chất rắn ra trong MTBE (150 ml) và nghiền bằng siêu âm và làm nhão trong thời gian 2 giờ. Thu lấy chất rắn thu được bằng cách lọc, rửa bằng heptan (200 ml) và làm khô

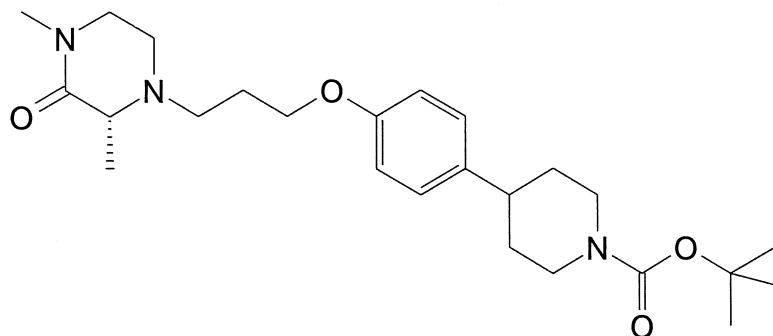
trong chân không để tạo ra *tert*-butyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat (36,0 g, 84 %) dưới dạng sản phẩm rắn màu trắng kem. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 27 °C) 1,40 (9H, s), 1,44 (2H, d), 1,68 (2H, d), 2,49 - 2,59 (1H, m), 2,76 (2H, s), 4,03 (2H, d), 6,63 - 6,7 (2H, m), 6,96 - 7,04 (2H, m), 9,13 (1H, s). m/z [ES-] M^- = 276

Điều chế *tert*-butyl 4-(4-(3-clopropoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat



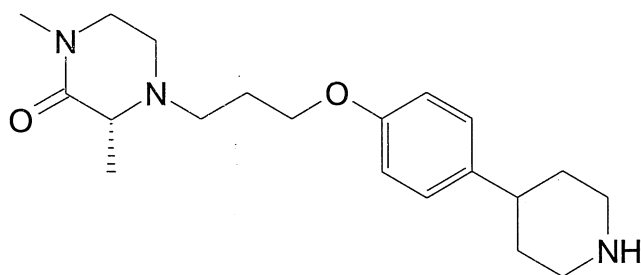
Bổ sung 1-bromo-3-clopropan (14,27 ml, 144,07 mmol) và kali cacbonat (19,91 g, 144,07 mmol) vào dung dịch có khuấy của *tert*-butyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperidin-1-carboxylat (9,99 g, 36,02 mmol) trong MeCN (200 ml). Khuấy phản ứng ở nhiệt độ 80 °C trong thời gian 16 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (125 ml), và chiết bằng DCM (200 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi để tạo ra *tert*-butyl 4-(4-(3-clopropoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (12,75 g, 100 %) dưới dạng dầu không màu. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 30 °C) 1,48 (9H, s), 1,54 - 1,65 (2H, m), 1,79 (2H, d), 2,20 (2H, d), 2,59 (1H, tt), 2,78 (2H, t), 3,56 (2H, t), 4,02 - 4,13 (2H, m), 4,23 (2H, d), 6,8 - 6,87 (2H, d), 7,03 - 7,17 (2H, d).

Điều chế (R)-*tert*-butyl 4-(4-(3-(2,4-đimetyl-3-oxopiperazin-1-yl)propoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat



Bổ sung DIPEA (28,2 ml, 162,13 mmol) vào huyền phù của (R)-1,3-đimethylpiperazin-2-on hydroclorua (7,12 g, 43,23 mmol), *tert*-butyl 4-(4-(3-clopropoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (12,75 g, 36,03 mmol) và kali iodua (5,98 g, 36,03 mmol) trong DMA (100 ml). Gia nhiệt dung dịch lên nhiệt độ 120 °C trong thời gian 24 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (200 ml) và chiết bằng DCM (200 ml). Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế nguyên liệu này bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, rửa giải bằng MeOH 10 % trong EtOAc. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra (R)-*tert*-butyl 4-(4-(3-(2,4-đimethyl-3-oxopiperazin-1-yl)propoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (15,50 g, 97 %) dưới dạng dầu màu nâu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,19 - 1,22 (3H, d), 1,42 (9H, s), 1,71 (2H, d), 1,8 - 1,9 (2H, m), 1,96 (2H, s), 2,37 - 2,49 (1H, m), 2,60 (1H, ddt), 2,80 (5H, d), 2,93 - 3,05 (4H, m), 3,2 - 3,28 (2H, m), 4,05 (2H, dd), 6,8 - 6,9 (2H, m), 7,12 (2H, dd). *m/z* ES⁺ [M+H]⁺ = 446

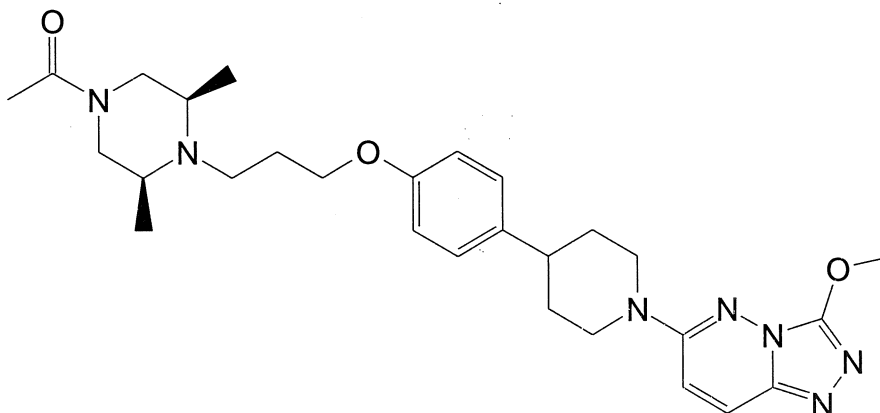
Điều chế 1(R)-1,3-đimethyl-4-(3-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)piperazin-2-on



Bổ sung hydro clorua 4,0M trong đioxan (34,8 ml, 139,14 mmol) vào huyền phù của (R)-*tert*-butyl 4-(4-(3-(2,4-đimethyl-3-oxopiperazin-1-yl)propoxy)phenyl)piperidin-1-carboxylat (15,5 g, 34,78 mmol) trong đioxan (20 ml). Khuấy dung dịch đến nhiệt độ 20 °C trong thời gian 2 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký trao đổi ion, bằng cách sử dụng cột SCX. Rửa giải sản phẩm mong muốn từ cột bằng cách sử dụng NH₃/MeOH 7M và làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra (R)-1,3-đimethyl-4-(3-(4-(piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)piperazin-2-on (10,50 g, 87 %) dưới dạng dầu màu nâu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1,21 (3H, d), 1,73 - 1,93 (6H, m), 2,4 - 2,46 (1H, m), 2,68 - 2,78 (2H, m), 2,80 (3H, s), 2,92 - 3,04 (4H, m), 3,18

(1H, d), 3,22 - 3,27 (2H, m), 3,35 (2H, s), 3,98 (2H, t), 6,89 (2H, d), 7,13 (2H, d), 8,79 (1H, bs). m/z ES+ $[M+H]^+ = 346$

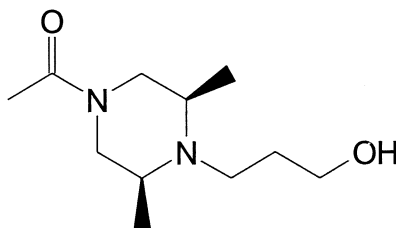
Ví dụ 4 : Điều chế 1-((3R,5S)-4-(3-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon



Bổ sung từng giọt tributylphosphin (1,441 ml, 5,84 mmol) vào 4-(1-(3-metoxyl-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenol (thu được như được mô tả trong Ví dụ 1, điều chế nguyên liệu bắt đầu) (0,95 g, 2,92 mmol), 1-((3R,5S)-4-(3-hydroxypropyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon (0,751 g, 3,50 mmol) và (E)-điazen-1,2-diylbis(piperidin-1-yl)metanon (1,473 g, 5,84 mmol) trong DCM đã khử khí (20 ml) trong nitor. Khuấy hỗn hợp thu được trong thời gian 90 phút và sau đó lọc. Tinh chế dung dịch sản phẩm thô bằng sắc ký trao đổi ion, bằng cách sử dụng cột SCX. Rửa giải sản phẩm mong muốn từ cột bằng cách sử dụng NH_3/MeOH 1M và làm bay hơi đến khô để tạo ra gôm màu nâu nhạt. Tinh chế tiếp bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải NH_3/MeOH 7M từ 0 đến 10 % trong EtOAc. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra 1-((3R,5S)-4-(3-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon (0,868 g, 57,0 %) dưới dạng bột màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1,04 (6H, d), 1,69 (2H, qd), 1,76 - 1,84 (2H, m), 1,88 - 1,94 (2H, m), 1,96 (3H, s), 2,51 - 2,55 (2H, m), 2,56 - 2,7 (2H, m), 2,74 - 2,82 (3H, m), 3,06 (2H, td), 3,81 (2H, br s), 3,98 (2H, t), 4,21 (3H, s), 4,27 (2H, d), 6,83 - 6,87 (2H, m), 7,13 - 7,18 (3H, m), 7,74 (1H, d). m/z : ES+ $[M+H]^+ 522$

Điều chế 1-((3R,5S)-4-(3-hydroxypropyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon để dùng làm nguyên liệu bắt đầu như sau:

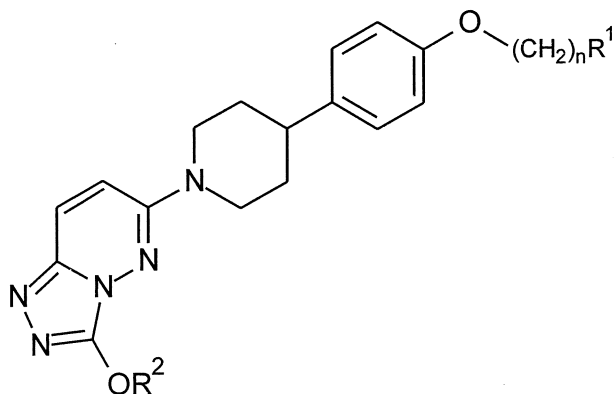
Điều chế 1-((3R,5S)-4-(3-hydroxypropyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon



Bổ sung 3-bromopropan-1-ol (6,41 ml, 70,84 mmol) vào 1-((3R,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon (thu được như được mô tả trong Ví dụ 2, điều chế nguyên liệu bắt đầu) (6,51 g, 41,67 mmol) và kali cacbonat (14,40 g, 104,18 mmol) trong 2-metyl tetrahydrofuran (40 ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80 °C trong thời gian 18 giờ, sau đó lọc và làm bay hơi đến khô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải NH₃/MeOH 7M từ 0 đến 6 % trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để tạo ra 1-((3R,5S)-4-(3-hydroxypropyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon (0,749 g, 8,39 %) dưới dạng dầu không màu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 30 °C) 0,96 - 1,03 (6H, m), 1,39 - 1,5 (2H, m), 1,96 (3H, s), 2,19 - 2,28 (1H, m), 2,28 - 2,36 (1H, m), 2,39 - 2,47 (1H, m), 2,67 - 2,77 (3H, m), 3,36 (2H, t), 3,60 (1H, dt), 4,12 (1H, dt), 4,36 (1H, br s).

YÊU CẦU BẢO HỘ

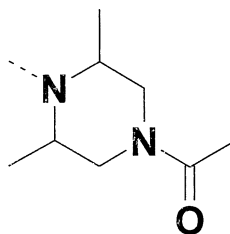
1. Hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng,



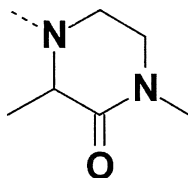
(I)

trong đó:

R^1 là nhóm



hoặc nhóm

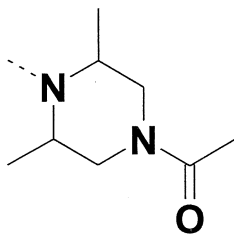


và ---- dùng để chỉ điểm gắn;

R^2 là C_1 - C_4 alkyl; và

n bằng 2 hoặc 3.

2. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của chúng, trong đó R^1 là nhóm

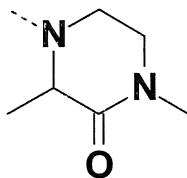


trong đó --- dùng để chỉ điểm gắn;

R^2 là C_1 - C_4 alkyl; và

n bằng 2 hoặc 3.

3. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của chúng, trong đó R^1 là nhóm

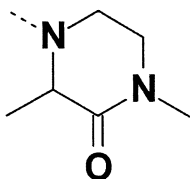


trong đó ---- dùng để chỉ điểm gắn;

R^2 là C_1 - C_4 alkyl; và

n bằng 2 hoặc 3.

4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của chúng, trong đó R^1 là nhóm:



trong đó ---- dùng để chỉ điểm gắn;

R^2 là C_1 - C_4 alkyl; và

n bằng 2.

5. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của chúng, trong đó hợp chất này được chọn từ:

4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on;

1-(4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon;

4-(3-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on; và

1-(4-(3-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon.

6. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của chúng, trong đó hợp chất này được chọn từ:

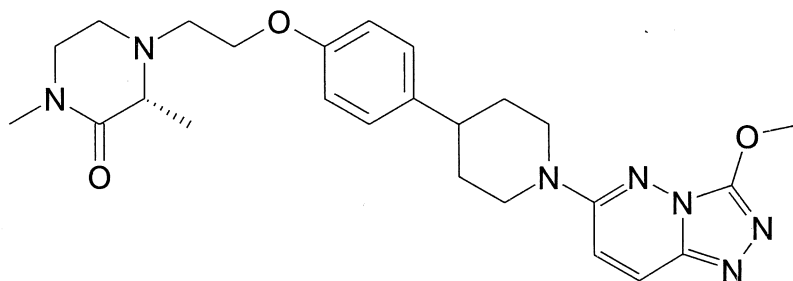
(R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on (sau đây gọi là Hợp chất A);

1-(((3S,5R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)ethyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon;

(R)-4-(3-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-1,3-dimethylpiperazin-2-on; và

1-(((3R,5S)-4-(3-(4-(1-(3-metoxyl-1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazin-6-yl)piperidin-4-yl)phenoxy)propyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)etanon.

7. Hợp chất theo điểm 6 hoặc muối được dụng của chúng, có Công thức (IA):



(IA)

8. Hợp chất theo điểm 7 có Công thức (IA).

9. Hợp chất theo điểm 7 hoặc 8 ở dạng tinh thể có mẫu XRPD với ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 20,9^\circ$ và $16,7^\circ$, cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta , đo được bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$.

10. Đồng tinh thể của hợp chất có Công thức (IA), theo điểm 7, và phân tử đồng cấu tạo axit 6-hydroxy-2-naphthoic.

11. Đồng tinh thể của hợp chất có Công thức (IA), theo điểm 7, và axit 6-hydroxy-2-naphthoic có thể thu được bằng các bước:

i) trộn dung dịch của hợp chất có Công thức (IA) trong dung môi thích hợp với đồng tinh thể axit 6-hydroxy-2-naphthoic trong dung môi thích hợp; và

ii) làm khô hỗn hợp thu được từ bước (i) để thu được chất rắn.

12. Dược phẩm chứa hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, và chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

13. Dược phẩm chứa đồng tinh thể theo điểm 10, và chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

14. Dược phẩm chứa đồng tinh thể theo điểm 11, và chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.