



- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ 1-0053162
(51)^{2020.01} A61P 35/00; C07D 405/14; A61K (13) B
31/4433
-

- (21) 1-2022-01050 (22) 23/07/2020
(86) PCT/US2020/043178 23/07/2020 (87) WO2021/016414 28/01/2021
(30) 62/878,012 24/07/2019 US
(45) 25/11/2025 452 (43) 25/04/2022 409A
(73) CONSTELLATION PHARMACEUTICALS, INC. (US)
215 First Street, Suite 200, Cambridge, MA 02142, United States of America
(72) BANDA, Alamelu (US); GEHLING, Victor, S. (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

- (54) DẠNG TINH THỂ CỦA 7-CLO-2-(4-(3-METOXYAZETIDIN-1-
YL)XYCLOHEXYL)-2,4-DIMETYL-N-((6-METYL-4-(METYLTHIO)-2-OXO-
1,2-DIHYDROPYRIDIN-3-YL)METYL)BENZO[D][1,3]DIOXOL-5-
CACBOXAMIT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG

(21) 1-2022-01050

(57) Sáng chế đề cập đến Dạng tinh thể 1 của 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetyl-N-((6-metyl-4-(metylthio)-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxamit, hữu dụng làm chất điều biến hoạt tính của enzym biến đổi histon metyl. Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm dược dụng chứa dạng tinh thể và phương pháp sử dụng chế phẩm này trong điều trị nhiều rối loạn khác nhau.

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể 1 của 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetyl-N-((6-metyl-4-(metylthio)-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxamit và được phẩm chứa dạng tinh thể này.

Đơn sáng chế này hưởng quyền ưu tiên của đơn sáng chế Mỹ số 62/878,012 được nộp ngày 24 tháng Bảy năm 2019, toàn bộ nội dung của đơn này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

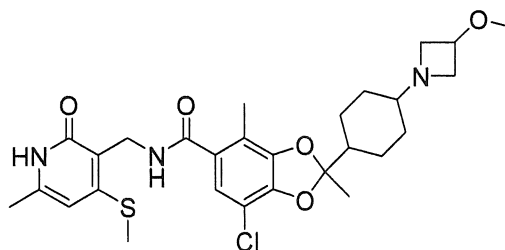
Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chất nhiễm sắc của sinh vật nhân chuẩn được cấu tạo bởi các phức hợp đại phân tử gọi là thể nhân. Thể nhân có 147 cặp bazơ ADN quấn quanh lõi tám phân tử protein có hai tiểu đơn vị của mỗi protein histon là H2A, H2B, H3 và H4. Protein histon chịu sự thay đổi sau dịch mã, do đó ảnh hưởng đến cấu trúc nhiễm sắc và biểu hiện gen. Một loại biến đổi sau dịch mã được tìm thấy trên histon là sự metyl hóa gốc lysin và arginin. Quá trình metyl hóa histon đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa biểu hiện gen ở sinh vật nhân thực. Metyl hóa ảnh hưởng đến cấu trúc nhiễm sắc và có liên quan đến cả sự hoạt hóa và ức chế phiên mã (Zhang và Reinberg, Genes Dev. 15:2343-2360, 2001). Enzym xúc tác gắn và loại bỏ nhóm metyl khỏi histon có liên quan đến quá trình làm im lặng của gen, phát triển phôi, tăng sinh tế bào và các quá trình khác.

Một lớp histon metylaza được đặc trưng bởi sự có mặt của chất ức chế chất tăng cường và chậm của miền Zeste Trithorax (SET), bao gồm khoảng 130 axit amin. Chất tăng cường Zeste Homolog 2 (EZH2) là ví dụ về miền SET của người chứa metylaza. EZH2 liên kết với EED (phát triển biểu bì phôi) và SUZ12 (chất ức chế của zeste 12 tương đồng) để tạo thành phức hợp được gọi là PRC2 (Polycomb Group Repression Complex 2 - phức hợp ngăn chặn nhóm đa lược) có khả năng với tri-metyl hóa histon H3 ở lysin 27 (Cao và Zhang, Mol. Cell 15:57-67, 2004). Phức hợp PRC2 cũng có thể bao gồm các tiểu đơn vị RBAP46 và RBAP48. Một ví dụ khác là metylaza EZH1 liên quan.

Các hoạt động gây ung thư của EZH2 đã được chỉ ra bởi một số nghiên cứu. Trong các thí nghiệm trên dòng tế bào, sự biểu hiện quá mức của EZH2 gây ra sự xâm nhập tế bào, tăng trưởng trong thạch mềm và khả năng vận động trong khi sự đánh gục EZH2 ức chế sự tăng sinh tế bào và xâm nhập tế bào (Kleer et al., 2003, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100:11606-11611; Varambally et al., (2002), "The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer," Nature 419, 624-629). EZH2 đã được chứng minh rằng có ngăn chặn sự biểu hiện của một số chất ức chế khối u, bao gồm E-cadherin, DAB2IP và RUNX3 trong số các chất khác. Trong mô hình ghép ngoại lai, việc đánh gục EZH2 ức chế sự phát triển và di căn của khối u. Gần đây, người ta đã chứng minh được rằng sự điều biến giảm của EZH2 trong các mô hình chuột ngăn chặn sự di căn của ung thư tuyến tiền liệt (Min et al., "An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor- kappaB," Nat Med. 2010 Mar; 16(3):286-94). Sự biểu hiện quá mức của EZH2 có liên quan đến sự tấn công của một số bệnh ung thư như bệnh ung thư vú (Kleer et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100:11606-11611, 2003). Các nghiên cứu gần đây cũng cho thấy gen dung hợp gây ung thư tuyến tiền liệt TMPRSS2-ERG gây ra các chương trình biểu sinh áp chế thông qua kích hoạt trực tiếp EZH2 (Yu et al., "An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and TMPRSS2-ERG Gene Fusions in Prostate Cancer Progression," Cancer Cell. 18 tháng Năm 2010;17(5):443-454).

Hợp chất 1, 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetyl-N-((6-metyl-4-(metylthio)-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxamit là chất ức chế phân tử nhỏ của EZH2 cho thấy tiềm năng điều trị tuyệt vời để điều trị nhiều loại bệnh liên quan đến enzym điều biến metyl, ví dụ, trong điều trị rối loạn tăng sinh như bệnh ung thư. Hợp chất 1 được nêu ví dụ trong đơn sáng chế tạm thời Hoa Kỳ số 62/659.408, nội dung của đơn này được đưa vào đây bằng cách tham khảo và có cấu trúc:



Việc phát triển các dạng khác của Hợp chất 1 là một lĩnh vực hấp dẫn để tiếp tục điều trị bệnh hoặc rối loạn đáp ứng với sự ức chế EZH2.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể của Hợp chất 1.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa một hoặc nhiều dạng tinh thể được bộc lộ của Hợp chất 1.

Sáng chế còn đề xuất việc sử dụng một hoặc nhiều dạng tinh thể được bộc lộ của Hợp chất 1 trong điều trị bệnh hoặc rối loạn đáp ứng lại sự ức chế EZH2, ví dụ, bệnh ung thư.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 minh họa mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) đối với Dạng tinh thể 1 của Hợp chất 1.

Fig. 2 minh họa biểu đồ nhiệt của phép đo nhiệt lượng quét vi sai ví dụ (DSC) cho Dạng 1 của Hợp chất 1.

Fig. 3 minh họa mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) đối với Dạng tinh thể 2 của Hợp chất 1.

Fig. 4 minh họa biểu đồ nhiệt phân tích nhiệt trọng lượng kết hợp (TGA) và biểu đồ nhiệt của phép đo nhiệt lượng quét vi sai ví dụ (DSC) cho Dạng 2 của Hợp chất 1.

Fig. 5 minh họa mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) đối với Dạng tinh thể 3 của Hợp chất 1.

Fig. 6 minh họa biểu đồ nhiệt phân tích nhiệt trọng lượng kết hợp (TGA) và biểu đồ nhiệt của phép đo nhiệt lượng quét vi sai ví dụ (DSC) cho Dạng 3 của Hợp chất 1.

Fig. 7 minh họa mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) cho Dạng vô định hình của Hợp chất 1 được điều chế từ quy trình nêu trong Ví dụ 17 của đơn sáng chế tạm thời Hoa Kỳ số 62/659,408.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “tinh thể” dùng để chỉ dạng rắn của hợp chất trong đó có trật tự nguyên tử dài dài ở các vị trí của các nguyên tử. Bản chất tinh thể của chất rắn có thể được xác nhận, ví dụ, bằng cách kiểm tra mẫu nhiễu xạ bột tia X.

Trừ khi được chỉ ra cụ thể là khác, dạng tinh thể (Dạng 1, Dạng 2, và Dạng 3) của Hợp chất 1 đều ở dạng tinh thể đơn. “Dạng tinh thể đơn” có nghĩa là hợp chất được nêu, tức là, Hợp chất 1, có mặt ở dạng tinh thể đơn hoặc nhiều tinh thể trong đó mỗi tinh thể có dạng tinh thể giống nhau (ví dụ, Dạng 1, 2 hoặc 3). Phần trăm theo khối lượng của dạng tinh thể cụ thể được xác định bằng cách lấy khối lượng của dạng tinh thể cụ thể chia cho tổng khối lượng của dạng tinh thể cụ thể, cộng với khối lượng của các dạng tinh thể khác có mặt cộng với khối lượng của dạng vô định hình có mặt nhân với 100%.

“Dạng 1”, “Dạng tinh thể 1”, hoặc “Dạng tinh thể đơn 1” được sử dụng thay thế cho nhau. “Dạng 2”, “Dạng tinh thể 2”, hoặc “Dạng tinh thể đơn 2” được sử dụng thay thế cho nhau. “Dạng 3”, “Dạng tinh thể 3”, hoặc “Dạng tinh thể đơn 3” được sử dụng thay thế cho nhau.

Độ tinh khiết hóa học dùng để chỉ mức độ mà dạng bộc lộ không có các vật liệu có cấu trúc hóa học khác. Độ tinh khiết hóa học của hợp chất ở dạng tinh thể được bộc lộ có nghĩa là khối lượng của hợp chất chia cho tổng khối lượng của hợp chất cộng với vật liệu/tạp chất có cấu trúc hóa học khác nhân với 100%, tức là, phần trăm theo khối lượng.

Thuật ngữ “vô định hình” dùng để chỉ chất rắn ở trạng thái hoặc dạng không phải tinh thể. Chất rắn vô định hình là các dạng sắp xếp hỗn loạn của các phân tử và do đó không có mạng tinh thể hoặc ô đơn vị phân biệt được và do đó không có trật tự phạm vi dài xác định được. Trật tự trạng thái rắn của chất rắn có thể được xác định bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, bằng nhiễu xạ bột tia X (XRPD) hoặc phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC).

Thuật ngữ “khan” và “khô” được sử dụng thay thế cho nhau và có nghĩa là dạng tinh thể tham chiếu gần như không chứa nước trong mạng tinh thể, ví dụ, nhỏ hơn 1% khối lượng như được xác định bằng phân tích Karl Fisher.

Giá trị 2-theta của mẫu nhiễu xạ bột tia X cho dạng tinh thể được mô tả trong bản mô tả này có thể thay đổi một chút từ thiết bị này sang thiết bị khác và cũng tùy thuộc vào sự thay đổi trong việc chuẩn bị mẫu và sự thay đổi của lô này sang lô khác do các yếu tố như sự thay đổi nhiệt độ, độ dịch chuyển của mẫu và sự có mặt hoặc không có

chất chuẩn nội. Do đó, trừ khi được định nghĩa khác, mẫu/phép gán XRPD được nhắc đến ở đây không được hiểu là tuyệt đối và có thể thay đổi $\pm 0,2$ độ. Trong lĩnh vực kỹ thuật, ai cũng biết rằng sự biến đổi này sẽ giải thích cho các yếu tố trên mà không cản trở việc xác định rõ ràng dạng tinh thể. Trừ khi được chỉ ra cụ thể là khác, giá trị 2-theta nêu trong bản mô tả này thu được bằng cách sử dụng bức xạ Cu K α 1.

Các giá trị nhiệt độ, ví dụ, đối với các đỉnh DSC trong bản mô tả này có thể thay đổi một chút từ thiết bị này sang thiết bị khác và cũng tùy thuộc vào sự thay đổi trong việc chuẩn bị mẫu, sự thay đổi của lô này sang lô khác và các yếu tố môi trường. Do đó, trừ khi có định nghĩa khác, các giá trị nhiệt độ được nêu ở đây không được hiểu là tuyệt đối và có thể thay đổi ± 5 độ hoặc ± 2 độ.

“Mẫu XRPD gần giống” hoặc “mẫu nhiều xạ bột tia X về cơ bản tương tự với” số liệu được xác định có nghĩa là đối với mục đích so sánh, ít nhất 90% đỉnh được hiển thị là có mặt. Cần phải hiểu thêm rằng đối với mục đích so sánh, cho phép một số biến thiên về cường độ đỉnh so với cường độ được hiển thị, chẳng hạn như $\pm 0,2$ độ.

Có thể đánh giá lượng của một dạng tinh thể này so với dạng tinh thể khác trong mẫu bằng cách chuẩn bị một loạt hỗn hợp của hai dạng tinh thể với các tỷ lệ khối lượng đã biết và thu được phổ XRPD cho mỗi dạng. Ví dụ, lượng tương đối của Dạng tinh thể 1 và Dạng 2 trong mẫu có thể được đánh giá bằng cách lựa chọn một hoặc nhiều đỉnh đặc trưng của Dạng tinh thể 1 và Dạng 2 được minh họa trong **Fig. 1** và **Fig. 3**, tương ứng, và so sánh cường độ tương đối của chúng trong XRPD mẫu với cường độ tương đối của chúng trong XRPD hỗn hợp.

Như được sử dụng trong bản mô tả này các thuật ngữ “đối tượng” và “bệnh nhân” có thể được dùng thay thế cho nhau, và có nghĩa là động vật có vú cần điều trị, ví dụ, động vật đồng hành (ví dụ, chó, mèo, và tương tự), động vật nông trại (ví dụ, bò, lợn, ngựa, cừu, dê và tương tự) và động vật thí nghiệm (ví dụ, chuột cống, chuột nhắt, chuột lang và tương tự). Thông thường, đối tượng cần điều trị là con người.

Thuật ngữ “chất mang được dụng” dùng để chỉ chất mang, tá chất hoặc chất dẫn không tác động bất lợi đến hoạt tính dược học của hợp chất được bào chế cùng, và cũng an toàn khi sử dụng cho người. Chất mang, chất hỗ trợ hoặc chất dẫn được dụng mà có thể được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất trao đổi ion, nhôm oxit, nhôm stearat, magie stearat, lexitin, protein huyết thanh, như albumin huyết thanh người, chất đệm như phosphat, glyxin, axit sorbic, kali sorbat, hỗn

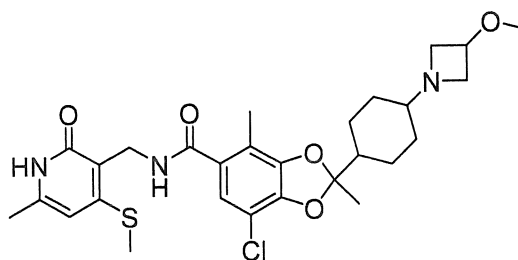
hợp glyxerit một phần của axit béo thực vật no, nước, muối hoặc chất điện li, như protamin sulfat, dinatri hydro phosphat, dicanxi phosphat, kali hydro phosphat, natri clorua, muối kẽm, silica keo, magie trisilicat, polyvinyl pyrrolidon, polyvinylpyrrolidon-vinyl axetat, chất trên cơ sở xenluloza (ví dụ, xenluloza vi tinh thể, hydroxypropyl metylxenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza axetat succinat, hydroxypropyl metylxenluloza Phtalat), tinh bột, lactoza monohidrat, mannitol, natri lauryl sulfat, và crosscarmelloza natri, polyetylen glycol, natri cacboxymetylxenluloza, polyacrylat, polymetacrylat, sáp, polyme phong bế polyetylen-polyoxypropylen, polyetylen glycol và mỡ cừu.

Thuật ngữ “điều trị,” “trị liệu,” và “việc điều trị” dùng để chỉ việc đảo ngược, làm giảm bớt, giảm khả năng phát triển, hoặc ức chế sự tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của chúng, như được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, có thể điều trị sau khi một hoặc nhiều triệu chứng đã phát triển, tức là điều trị trị liệu. Theo một phương án khác, có thể điều trị khi không có triệu chứng. Ví dụ, có thể điều trị cho đối tượng nhạy cảm trước khi khởi phát triệu chứng (ví dụ, cân nhắc lịch sử triệu chứng và/hoặc cân nhắc yếu tố di truyền hoặc yếu tố nhạy cảm khác), tức là điều trị dự phòng. Việc điều trị cũng được duy trì tiếp tục sau khi triệu chứng đã được giải quyết, ví dụ để ngăn ngừa hoặc làm chậm sự tái phát trở lại của chúng.

Thuật ngữ “lượng có hiệu quả” hoặc “lượng có hiệu quả trị liệu” bao gồm lượng của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này mà sẽ gây ra phản ứng sinh học hoặc y học của đối tượng, ví dụ, liều lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 100 mg/kg thể trọng/ngày của Hợp chất 1.

Dạng ví dụ

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất Dạng tinh thể 1 của hợp chất có công thức cấu tạo:



Theo khía cạnh thứ hai, Dạng tinh thể 1 được đặc trưng bởi ít nhất ba đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2Θ được chọn từ $10,0^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $22,2^\circ$, và $22,5^\circ$.

Theo khía cạnh thứ ba, Dạng tinh thể **1** được xác định đặc tính bằng phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) với đường thu nhiệt rõ ràng ở 179,5 °C (nhiệt độ khởi phát), hoặc phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) là 1,0% khối lượng mất đi nằm trong khoảng từ 36 đến 179 °C, hoặc cả hai, trong đó Dạng tinh thể **1** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2Θ được chọn từ đỉnh bất kỳ trong số các đỉnh được mô tả ở khía cạnh thứ hai. Theo khía cạnh khác, Dạng tinh thể **1** được xác định đặc tính bằng phép đo nhiệt lượng

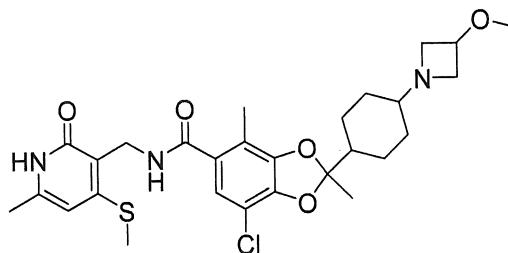
quét vi sai (DSC) gần giống với **Fig. 2**, trong đó Dạng tinh thể **1** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2θ được chọn từ đỉnh bất kỳ trong số các đỉnh được mô tả ở khía cạnh thứ hai.

Theo khía cạnh thứ tư, Dạng tinh thể **1** là khan, trong đó Dạng tinh thể **1** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2θ được chọn từ đỉnh bất kỳ trong số các đỉnh được mô tả ở khía cạnh thứ hai, và/hoặc giá trị TGA hoặc DSC hoặc số liệu được nêu ở khía cạnh thứ ba.

Theo khía cạnh thứ năm, Dạng tinh thể **1** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ nhất, thứ hai, thứ ba hoặc thứ tư) có ít nhất 60% dạng tinh thể đơn, ít nhất 70% dạng tinh thể đơn, ít nhất 80% dạng tinh thể đơn, ít nhất 90% dạng tinh thể đơn, ít nhất 95% dạng tinh thể đơn, hoặc ít nhất 99% dạng tinh thể đơn theo khối lượng.

Theo khía cạnh thứ sáu, Dạng tinh thể **1** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm) có độ tinh khiết hóa học có ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% khối lượng.

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề xuất Dạng tinh thể **2** của hợp chất có công thức cấu tạo:



Theo khía cạnh thứ tám, Dạng tinh thể **2** được đặc trưng bởi XRPD (nhiều xạ bột tia X) gần giống với **Fig. 3**.

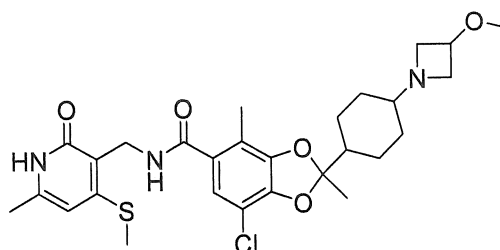
Theo khía cạnh thứ chín Dạng tinh thể **2** được xác định đặc tính bằng phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) là 3,48% khối lượng mất đi nằm trong khoảng từ 46 đến 114 °C cũng như 0,97% khối lượng mất đi nằm trong khoảng từ 114 đến 156 °C, hoặc phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) với hai đường thu nhiệt ở 34,2 °C và 122,6 °C (nhiệt độ khởi phát), hoặc cả hai, trong đó Dạng tinh thể **2** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2θ gần giống với **Fig. 3**. Ngoài ra, như là một phần của khía cạnh thứ chín, Dạng tinh thể **2** được xác định đặc tính bằng phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) hoặc phép đo

nhệt lượng quét vi sai (DSC) gần giống với **Fig. 4**, trong đó Dạng tinh thể **2** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2θ gần giống với **Fig. 3**.

Theo khía cạnh thứ mười, Dạng tinh thể **2** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ bảy, thứ tám hoặc thứ chín) có ít nhất 60% dạng tinh thể đơn, ít nhất 70% dạng tinh thể đơn, ít nhất 80% dạng tinh thể đơn, ít nhất 90% dạng tinh thể đơn, ít nhất 95% dạng tinh thể đơn, hoặc ít nhất 99% dạng tinh thể đơn theo khối lượng.

Theo khía cạnh thứ mười một, Dạng tinh thể **2** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ bảy, thứ tám, thứ chín hoặc thứ mười) có độ tinh khiết hóa học có ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% khối lượng.

Theo khía cạnh thứ mười hai, sáng chế đề xuất Dạng tinh thể **3** của hợp chất có công thức cấu tạo:



Theo khía cạnh thứ mười ba, Dạng tinh thể **3** được đặc trưng bởi XRPD (nhiều xạ bột tia X) gần giống với **Fig. 5**.

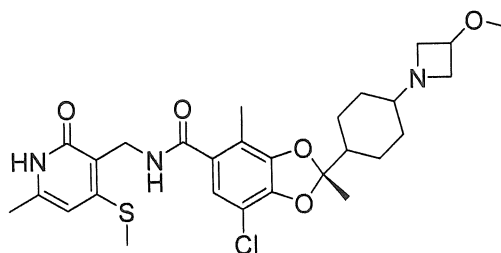
Theo khía cạnh thứ mười bốn, Dạng tinh thể **3** được xác định đặc tính bằng phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) là 5,93% khối lượng mất đi nằm trong khoảng từ 43 đến 143 °C, hoặc phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) với hai đường thu nhiệt ở 34,5 °C và 107,0 °C (nhiệt độ khởi phát) và một đường tỏa nhiệt ở 249,0 °C (nhiệt độ khởi phát), hoặc cả hai, trong đó Dạng tinh thể **3** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2θ gần giống với **Fig. 5**. Ngoài ra, như là một phần của khía cạnh thứ mười bốn, Dạng tinh thể **3** được xác định đặc tính bằng phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) hoặc phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) gần giống với **Fig. 6**, trong đó Dạng tinh thể **3** có thể còn bao gồm đỉnh XRPD ở góc 2θ gần giống với **Fig. 5**.

Theo khía cạnh thứ mười lăm, Dạng tinh thể **3** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ mười hai, mười ba hoặc mười bốn) có ít nhất 60% dạng tinh thể đơn, ít nhất 70% dạng tinh thể đơn, ít nhất 80% dạng tinh thể đơn, ít nhất

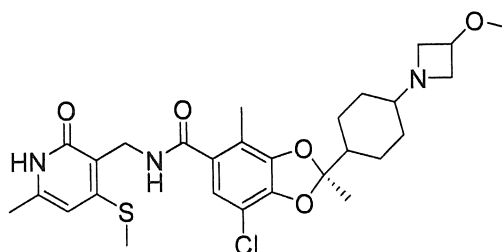
90% dạng tinh thể đơn, ít nhất 95% dạng tinh thể đơn, hoặc ít nhất 99% dạng tinh thể đơn theo khối lượng.

Theo khía cạnh thứ mười sáu, Dạng tinh thể **3** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ mười hai, mười ba, mười bốn hoặc mười lăm) có độ tinh khiết hóa học có ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 80%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% khối lượng.

Theo khía cạnh thứ mười bảy, Dạng tinh thể **1** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm), Dạng tinh thể **2** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ bảy, thứ tám, thứ chín, thứ mười hoặc thứ mười một), hoặc Dạng tinh thể **3** (ví dụ, như theo khía cạnh thứ mười hai, mười ba, mười bốn, mười năm hoặc mười sáu) có công thức cấu tạo sau đây:

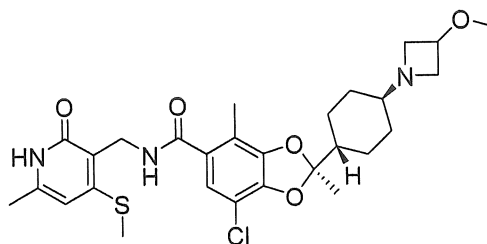


Ngoài ra, như là một phần của khía cạnh thứ mười bảy, Dạng tinh thể **1** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm), Dạng tinh thể **2** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ bảy, thứ tám, thứ chín, thứ mười hoặc thứ mười một), hoặc Dạng tinh thể **3** (ví dụ, như theo khía cạnh thứ mười hai, mười ba, mười bốn, mười năm hoặc mười sáu) có công thức cấu tạo sau đây:



Ngoài ra, như là một phần của khía cạnh thứ mười bảy, Dạng tinh thể **1** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm), Dạng tinh thể **2** như được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, như theo khía cạnh thứ bảy, thứ tám, thứ chín, thứ mười hoặc thứ mười một), hoặc Dạng tinh thể **3**

(ví dụ, như theo khía cạnh thứ mười hai, mười ba, mười bốn, mười năm hoặc mười sáu) có công thức cấu tạo sau đây:



có tên hóa học (2R)-7-clo-2-(trans-4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetyl-N-((6-metyl-4-(metylthio)-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxamit.

Sử dụng, bào chế và cách dùng

Dạng tinh thể được mô tả trong bản mô tả này và chế phẩm của nó hữu dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn đáp ứng lại sự ức chế EZH2. Bệnh và rối loạn như vậy bao gồm bệnh liên quan đến tăng sinh tế bào. Theo một số phương án, dạng tinh thể và chế phẩm của nó được mô tả trong bản mô tả này hữu dụng trong điều trị bệnh và/hoặc rối loạn liên quan đến sự điều hòa sai của chu kỳ tế bào hoặc sửa chữa ADN. Theo một số phương án, dạng tinh thể và chế phẩm của nó được mô tả trong bản mô tả này hữu dụng trong điều trị bệnh ung thư. Các loại bệnh ung thư ví dụ bao gồm ví dụ, bệnh ung thư tuyến thượng thận, bệnh ung thư biểu mô tế bào tuyến nang, u thần kinh thính giác, bệnh ung thư hắc tố ở các vùng ít tiếp xúc ánh sáng, bệnh acrospiroma, bệnh bạch cầu ái toan cấp tính, bệnh bạch cầu dòng hồng cầu cấp tính, bệnh bạch cầu nguyên bào cấp tính, bệnh bạch cầu nguyên bào nhân khổng lồ cấp tính, bệnh bạch cầu đơn nhân cấp tính, bệnh bạch cầu dòng tế bào tủy xương cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tuyến, bệnh ung thư biểu mô nang tuyến, u tuyến, u chất tạo men tuyến nang, bệnh ung thư biểu mô tế bào tuyến, bệnh ung thư mô mỡ, bệnh ung thư biểu mô vỏ thượng thận, bệnh ung thư tế bào bạch cầu dòng lympho T trưởng thành /bệnh ung thư hạch, bệnh bạch cầu tấn công tế bào NK, u lympho liên quan đến AIDS, sacôm cơ vân thể nang, sacôm phần mềm thể nang, u sợi nguyên bào tạo men, u lympho tế bào lớn loại thoái sản, bệnh ung thư tuyến giáp loại thoái sản, u lympho tế bào T nguyên bào miễn dịch máu, u cơ mỡ mạch thận, sacôm mạch máu, u não tế bào hình sao, u hình que dạng cơ vân không điển hình, bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính tế bào B, bệnh bạch cầu tiền lympho tế bào B, u lympho tế bào B, bệnh ung thư biểu mô tế bào đáy, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư bàng

quang, u nguyên bào, bệnh ung thư xương, u Brenner, u Brown, u lympho Burkitt, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư não, bệnh ung thư biểu mô, bệnh ung thư biểu mô tại chỗ, bệnh ung thư biểu mô tuyến sợi, u sụn, u xương răng, sacôm tủy xương, bướu sụn, u nguyên sống, bệnh ung thư nguyên bào nuôi, u nhú đám rối màng mạch, sacôm tế bào sáng của thận, u sọ hầu, u lympho tế bào T ở da, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư đại trực tràng, bệnh Degos, u tế bào tròn nhỏ tạo mô xơ, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, u biểu mô thần kinh loạn sản phôi, u nghịch mầm, bệnh ung thư biểu mô phôi, bệnh ung thư tuyến nội tiết, u xoang nội bì, u lympho tế bào T liên quan đến ruột, bệnh ung thư thực quản, thai trong thai, u xơ, sacôm sợi, u lympho dạng nang, bệnh ung thư tuyến giáp dạng nang, bướu hạch thần kinh, bệnh ung thư đường tiêu hóa, u tế bào mầm, u nguyên bào nuôi thai kỳ, u nguyên bào sợi tế bào khổng lồ, u tế bào khổng lồ của xương, u thần kinh đệm, u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng, u thần kinh đệm, tăng sinh thần kinh đệm toàn bộ não, u tiết glucagon, u nguyên bào sinh dục, u tế bào hạt, u nguyên bào lưỡng tính, bệnh ung thư túi mật, bệnh ung thư dạ dày, bệnh bạch cầu tế bào lông, u nguyên bào mạch máu, bệnh ung thư đầu và cổ, u tế bào quanh mạch, bệnh ác tính về máu, u nguyên bào gan, u lympho tế bào T gan mật, u lympho Hodgkin, u lympho không Hodgkin, bệnh ung thư biểu mô tiểu thùy xâm lấn, bệnh ung thư ruột, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư thanh quản, u hắc tố ác tính tại chỗ, bệnh ung thư biểu mô độc đường giữa, bệnh bạch cầu, u tế bào Leydig, sacôm mỡ, bệnh ung thư phổi, u mạch bạch huyết, sacôm bạch huyết, bệnh ung thư biểu mô lympho, u lympho, bệnh bạch cầu lympho cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, bệnh bạch cầu lympho mạn tính, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ, u lympho MALT, u mô bào sợi ác tính, u vỏ dây thần kinh ngoại vi ác tính, u triton ác tính, u lympho tế bào vỏ, u lympho tế bào B vùng rìa, bệnh bạch cầu dưỡng bào, u tế bào mầm trung thất, bệnh ung thư biểu mô dạng tủy của vú, bệnh ung thư tuyến giáp dạng tủy, u nguyên bào tủy, bệnh ung thư hắc tố, u màng não, bệnh ung thư tế bào merkel, u trung biểu mô, bệnh ung thư biểu mô đường tiết niệu di căn, u Mullerian hỗn hợp, u nhầy, đa u tủy, u mô cơ, u sùi dạng nấm, sacôm mỡ dạng niêm dịch, u niêm, sacôm niêm, bệnh ung thư biểu mô vòm họng, u thần kinh, u nguyên bào thần kinh, u sợi thần kinh, u dây thần kinh, bệnh ung thư hắc tố dạng nốt, bệnh ung thư mắt, u thần kinh đệm ít nhánh, u nguyên bào thần kinh đệm ít nhánh, u tế bào biểu mô hạt, u màng não bao dây thần kinh, u thần kinh thị giác, bệnh ung thư miệng, sacôm xương, bệnh ung thư buồng trứng, u đỉnh phổi, bệnh

ung thư tuyến giáp dạng nhú, u tế bào cận hạch thần kinh, u nguyên bào tuyến tủy, u tế bào tuyến tủy, u tế bào thùy sau tuyến yên, u tuyến tuyến yên, u tuyến yên, bệnh ung thư tế bào plasma, u đa phôi, u lympho nguyên bào lympho T tiền thân, u lympho hệ thần kinh trung ương nguyên phát, u lympho tràn dịch nguyên phát, bệnh ung thư phúc mạc nguyên phát, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh ung thư mũi hầu, u nhầy ổ bụng, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư biểu mô tủy thận, u nguyên bào võng mạc, u cơ vân, sacôm cơ vân, hội chứng biến đổi Richter, bệnh ung thư trực tràng, sacôm, u sợi thần kinh Schwannomatosis, u tinh hoàn, u tế bào Sertoli, u mô đệm-dây sinh dục, bệnh ung thư biểu mô tế bào nhĩ, bệnh ung thư da, u tế bào tròn nhỏ màu xanh, bệnh ung thư biểu mô tế bào nhỏ, sacôm mô mềm, u thần kinh nội tiết, mụn cóc, u cột sống, u lympho vùng rìa lách, bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy, bệnh ung thư dạ dày, u lympho tế bào T, bệnh ung thư tinh hoàn, u tế bào vỏ, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp, bệnh ung thư họng, bệnh ung thư ống niệu rốn, bệnh ung thư niệu sinh dục, bệnh ung thư biểu mô đường bài xuất hệ tiết niệu, bệnh ung thư hắc tố màng mạch nhỏ, bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư biểu mô vảy dạng nhú, u thần kinh đệm đường thị giác, bệnh ung thư âm hộ, bệnh ung thư âm đạo, bệnh tăng globulin đại phân tử Waldenstrom, u Warthin, và u Wilms.

Theo một khía cạnh, bệnh ung thư được điều trị bằng dạng tinh thể và chế phẩm của nó được mô tả trong bản mô tả này được chọn từ bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư nguyên bào thần kinh đệm đa dạng, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư hắc tố, bệnh ung thư phế quản, u lympho, bệnh ung thư gan, bệnh đa u tủy, u lympho, bệnh ung thư buồng trứng, NSCL, bệnh ung thư tuyến tụy, khối u hình que ác tính, sacôm hoạt dịch, và u thần kinh đệm.

Một khía cạnh khác của sáng chế là sử dụng một hoặc nhiều dạng tinh thể như được mô tả trong bản mô tả này trong sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị rối loạn hoặc bệnh trong bản mô tả này. Một mục đích khác của sáng chế là một hoặc nhiều dạng tinh thể hoặc chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng trong điều trị rối loạn hoặc bệnh trong bản mô tả này.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa một hoặc nhiều dạng tinh thể được bọc lộ; và chất mang được dụng.

Chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể được dùng theo đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, bằng cách hít, dùng khu trú, đường trực tràng, đường mũi, đường má, đường âm đạo hoặc thông qua ổ chứa được cấy vào. Thuật ngữ “ngoài đường tiêu hóa” như được sử dụng ở đây bao gồm, tiêm dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong khớp, trong hoạt dịch, trong xương ức, trong vỏ, trong gan, trong thương tổn, và trong sọ hoặc kỹ thuật truyền.

Một lượng dạng tinh thể có thể được kết hợp với vật liệu mang để tạo ra chế phẩm ở dạng liều đơn sẽ khác nhau tùy thuộc vào bệnh nhân được điều trị và phương thức dùng cụ thể. Chế phẩm được đề xuất có thể được bào chế sao cho liều lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 100 mg/kg thể trọng/ngày của chất ức chế có thể được dùng cho bệnh nhân nhận chế phẩm này.

Cũng nên hiểu rằng liều lượng và phác đồ điều trị cụ thể cho bệnh nhân bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm tuổi tác, thể trọng, sức khỏe chung, giới tính, chế độ ăn uống, thời gian dùng thuốc, tốc độ bài tiết, kết hợp thuốc, nhận định của bác sĩ điều trị, và mức độ nghiêm trọng của bệnh cụ thể đang điều trị. Lượng của dạng tinh thể được đề xuất trong chế phẩm cũng sẽ phụ thuộc vào hợp chất cụ thể trong chế phẩm.

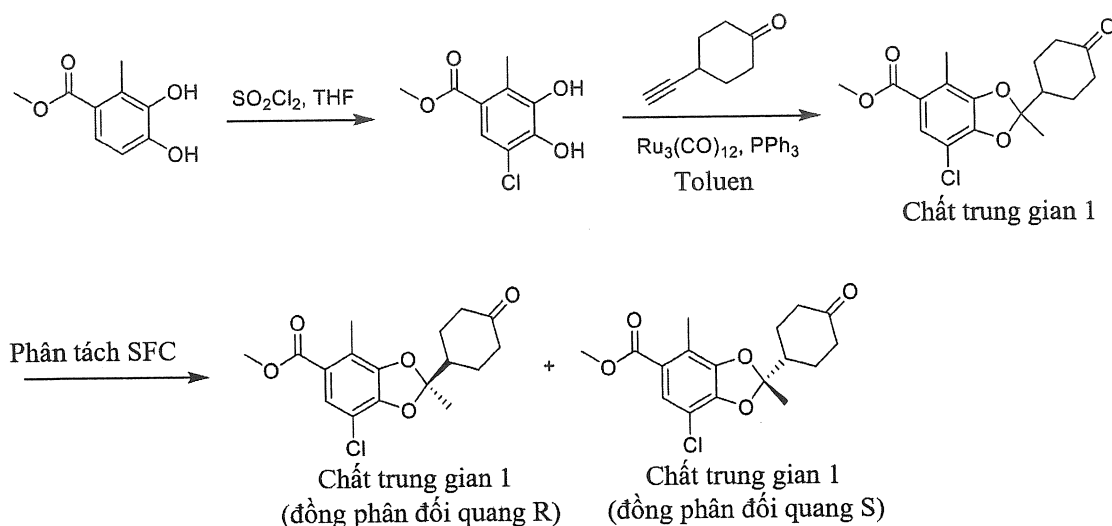
Ví dụ thực hiện sáng chế

Như được mô tả trong các ví dụ dưới đây, dạng tinh thể được điều chế theo quy trình chung sau đây.

Điều chế Hợp chất vô định hình 1

Dạng vô định hình của Hợp chất 1 được điều chế ở dạng một đồng phân đối quang duy nhất, một đồng phân hình học duy nhất, sử dụng quy trình sau đây bên dưới. Mẫu XRPD của sản phẩm vô định hình từ quy trình này được thể hiện trong **Fig. 7**.

Chất trung gian 1: metyl 7-clo-2,4-dimetyl-2-(4-oxocyclohexyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-carboxylat



Bước 1: Tổng hợp metyl 5-clo-3,4-dihydroxy-2-metylbenzoat

Sulfuryl clorua (2,45 mL, 30,6 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của metyl 3,4-dihydroxy-2-metylbenzoat (5,11 g, 27,9 mmol) trong tetrahydrofuran (199 mL) ở -20 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy tại -20°C trong 3 giờ sau đó được dập tắt bằng dung dịch amoni clorua chứa nước bão hòa (50 mL). Sản phẩm mong muốn được chiết với etyl axetat (25 mL x 3). Các lớp hữu cơ đã kết hợp được rửa với nước muối (25 mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô đặc đến khô dưới áp suất giảm. Phần bã được tinh sạch bằng sắc ký nhanh (gel silic dioxit, gradien 0% đến 60% etyl axetat trong heptan) để thu được hợp chất ở tiêu đề (4,117 g, hiệu suất 68%) dưới dạng chất rắn màu be. LCMS $[M+H]^+$ m/z: calc'd 217,0; tìm thấy 217,1 (mẫu đồng vị Cl).

Bước 2: Tổng hợp metyl 7-clo-2,4-dimetyl-2-(4-oxocyclohexyl)-2H-1,3-benzodioxol-5-carboxylat

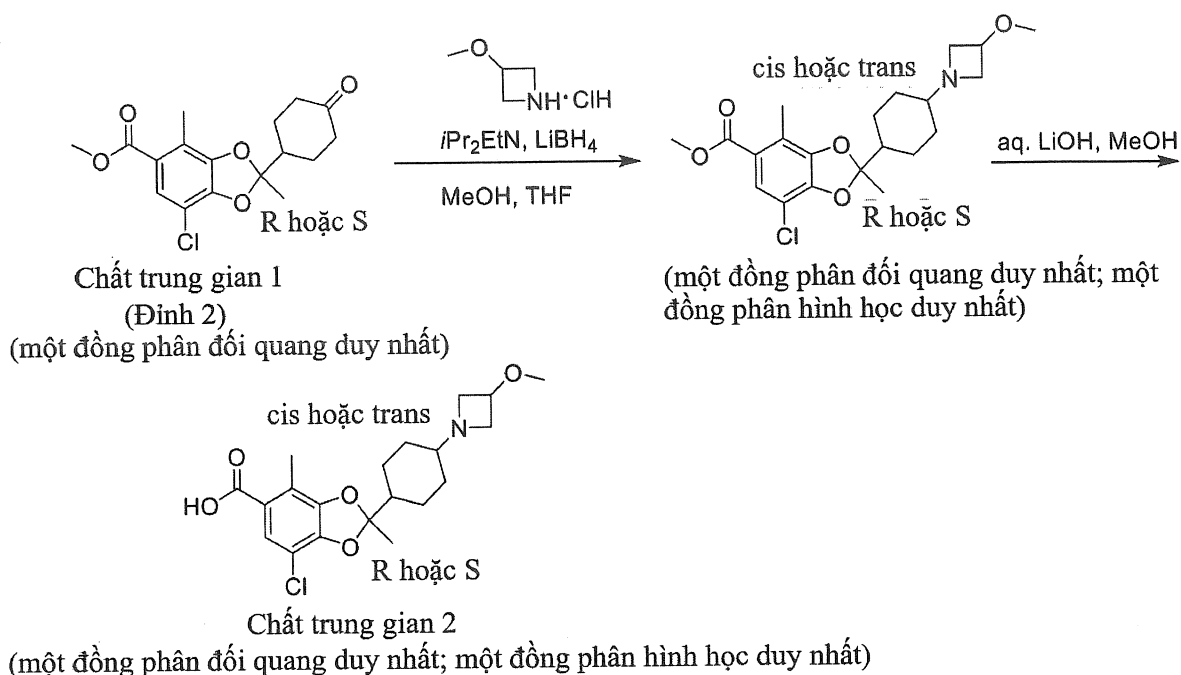
Hỗn hợp của metyl 5-clo-3,4-dihydroxy-2-metylbenzoat (1,2 g, 5,53 mmol), trirutheni dodecacacbonyl (176 mg, 276 μ mol), và triphenylphosphin (145 mg, 553 μ mol) được khử khí dưới chân không và sục khí nitơ (3 chu kỳ). Toluene (8,1 mL) được bổ sung thêm và hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến hồi lưu trong 30 phút. Dung dịch của 4-etylnylxyclohexan-1-on (1,34 g, 11,0 mmol) trong toluene (17 mL) sau đó được thêm nhỏ giọt và phản ứng được khuấy trong 23 giờ tại hồi lưu. Cuối cùng, hỗn hợp phản ứng được để nguội xuống nhiệt độ phòng và cô đặc đến khô dưới áp suất giảm. Phần bã được tinh sạch bằng sắc ký nhanh (gel silic dioxit, gradien 0 đến 60% etyl axetat

trong heptan) để tạo ra hợp chất ở tiêu đề (1,327 g, hiệu suất 70%) dưới dạng dầu màu vàng. LCMS $[M+Na]^+$ m/z: calc'd 361,1; tìm thấy 361,1 (mẫu đồng vị Cl).

Bước 3: Phân tách methyl (R)-7-clo-2,4-dimetyl-2-(4-oxoxyclohexyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylat và methyl (S)-7-clo-2,4-dimetyl-2-(4-oxoxyclohexyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylat

Hỗn hợp racemic của methyl-7-clo-2,4-dimetyl-2-(4-oxoxyclohexyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylat (4,4 g, 13 mmol) được phân giải bằng SFC điều chế [Cột: ChiralPak AY từ công nghiệp hóa học Daicel (250mm×50mm I.D., 10μm). Pha động A: CO₂ / Pha động B: 0,1% NH₄OH trong metanol. Đăng cấp (85% pha động A và 15% pha động B). Tốc độ dòng: 80 mL/phút. Nhiệt độ cột: 40 °C]. Chất trung gian 1 (Đỉnh 1) (đồng phân đối quang/đồng phân đối quang ít hoạt động không mong muốn): Thời gian lưu = 6,2 phút. Thu hồi = 1,4 g, 4,05 mmol, hiệu suất 31%, 90% ee, độ tinh khiết 98% (chất rắn màu vàng). ¹H NMR (400 MHz, cloform-*d*) δ 7,48 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,44 - 2,36 (m, 2H), 2,35 - 2,25 (m, 6H), 2,19 (tdd, *J* = 2,8, 5,6, 13,1 Hz, 2H), 1,70 - 1,57 (m, 5H). Chất trung gian 1 (Đỉnh 2) (đồng phân đối quang/eutome mong muốn): Thời gian biến tính = 7,0 phút. Thu hồi = 1,1 g, 3,08 mmol, 23,75% hiệu suất, 99% ee, 95% tinh khiết (chất rắn màu vàng). ¹H NMR (400 MHz, cloform-*d*) δ 7,49 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,44 - 2,36 (m, 2H), 2,36 - 2,25 (m, 6H), 2,20 (tdd, *J* = 2,8, 5,6, 13,1 Hz, 2H), 1,72 - 1,59 (m, 5H). Phương pháp phân tích SFC: [Cột: ChiralPak AY-3 (150×4,6mm I.D., 3μm). Pha động A: CO₂ / Pha động B: 0,05% Et₂NH trong *i*PrOH. Gradient: từ 5 đến 40% của pha động B (trong 5,5 phút). Tốc độ dòng: 2,5 mL/phút. Nhiệt độ cột: 40 °C]. Chất trung gian 1 (Đỉnh 1 - đồng phân đối quang/đồng phân đối quang ít hoạt động không mong muốn): Thời gian biến tính = 2,853 phút. Chất trung gian 1 (Đỉnh 2 - đồng phân đối quang/eutome mong muốn): Thời gian lưu = 2,979 phút.

Chất trung gian 2: Axit 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetylbenzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylic



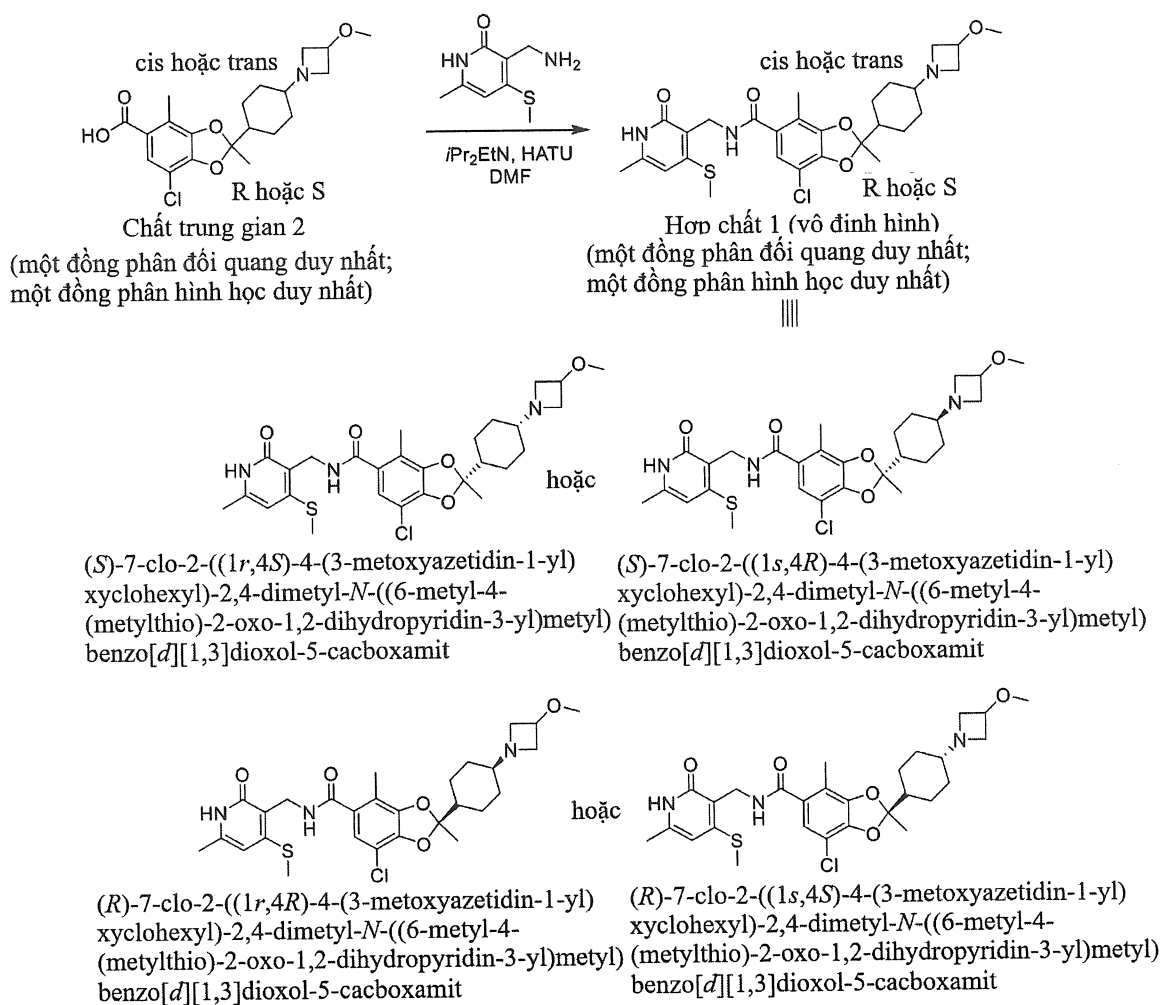
Bước 1: Tổng hợp metyl 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetylbenzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylat

Dung dịch của muối 3-metoxiazetidin hydroclorua (8 g, 64,75 mmol) và N,N-diisopropyletylamin (12 mL, 68,9 mmol) trong metanol (30 mL) được khuấy tại nhiệt độ phòng trong 30 phút trước khi dung dịch của dung dịch metyl 7-clo-2,4-dimetyl-2-(4-oxoxyclohexyl)-1,3-benzodioxol-5-cacboxylat khác (Chất trung gian 1 — Đỉnh 2) (4,1 g, 12,10 mmol) trong tetrahydrofuran (30 mL) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy tại nhiệt độ phòng trong 1 giờ sau đó làm lạnh xuống -70°C . Lithi borohydrua (500 mg, 22,96 mmol) được thêm vào và phản ứng được khuấy tại -70°C trong 30 phút [hoặc đến khi việc tiêu thụ hoàn toàn chất ban đầu được quan sát bằng TLC, etyl axetat/metanol 5:1]. Tiếp theo, hai mẻ phản ứng được kết hợp và được dập tắt bằng dung dịch amoni clorua chứa nước bão hòa (120 mL) tại 0°C và sản phẩm mong muốn được chiết với diclometan ($200\text{ mL} \times 3$). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô trên natri sulfat, được lọc và cô đặc đến khô dưới áp suất giảm. Phần bã được tinh sạch bằng sắc ký nhanh (gel silic dioxit, gradient 0 đến 14% metanol trong diclometan) để tạo ra hợp chất ở tiêu đề (8,05 g, hiệu suất 67%, độ tinh khiết 83%) dưới dạng dầu màu vàng. Mẫu (50 mg) được tinh sạch tiếp bằng sắc ký lớp mỏng điều chế (gel silic dioxit, etyl axetat:metanol 15:1). LCMS $[M+H]^+$ m/z: calc'd. 410,2; tìm thấy 410,1. ^1H NMR (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,39 (s, 1H), 3,95 - 3,91 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,59 - 3,51 (m, 2H), 3,16 (s, 3H), 2,97 (br dd, $J = 6,4, 8,0$ Hz, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,11 - 2,02 (m, 1H), 1,91 - 1,73 (m, 5H), 1,54 (s, 3H), 1,22 - 1,12 (m, 2H), 0,98 - 0,86 (m, 2H).

Bước 2: Tổng hợp axit 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylic

Dung dịch của methyl 7-clo-2-(4-(3-metoxiazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimethylbenzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylat (4 g, 9,75 mmol) trong metanol (48 mL) được bổ sung thêm dung dịch của lithi hydroxit hydrat (4,03 g, 96,06 mmol) trong nước (12 mL). Phản ứng được khuấy tại 70 °C trong 2 giờ sau đó hai mẻ được kết hợp và cô đặc dưới dưới áp suất giảm. Nước (50 mL) được thêm vào và điều chỉnh pH đến 6 bằng dung dịch axit xitric chứa nước bão hòa tại 0°C. Sản phẩm mong muốn được chiết với hỗn hợp 3:1 của diclometan và isopropanol (300 mL × 5). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô trên natri sulfat, được lọc và cô đặc đến khô dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất ở tiêu đề (6,1g, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng nhò, được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh sạch thêm. LCMS $[M+H]^+$ m/z: calc'd. 396,2; tìm thấy 396,1. 1H NMR (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,07 (s, 1H), 4,05 - 4,10 (m, 2H), 3,76 - 3,88 (m, 1H), 3,67 (br dd, $J = 10, 3,6$ Hz, 2H), 3,22 (s, 3H), 2,71 - 2,81 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,91 - 1,99 (m, 4H), 1,75 - 1,85 (m, 1H), 1,52 (s, 3H), 1,18 - 1,28 (m, 2H), 1,06 - 1,14 (m, 2H).

Hợp chất vô định hình 1



Dung dịch của axit 7-clo-2-(4-(3-methoxyazetidin-1-yl)xyclohexyl)-2,4-dimetylbenzo[d][1,3]dioxol-5-cacboxylic (Chất trung gian 2 – chỉ đồng phân đối quang và đồng phân hình học) (5 g, 12,63 mmol) trong N,N-dimetylformamit (50 mL) được bổ sung thêm O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium hexaflophosphat (5,7 g, 14,99 mmol) và N,N-diisopropyletylamin (11 mL, 63,15 mmol). Hỗn hợp được khuấy tại 20°C trong 30 phút trước khi muối 3-(aminometyl)-6-metyl-4-(metylthio)pyridin-2(1H)-on hydroclorua (Chất trung gian 1) (4,2 g, 19,03 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy tại nhiệt độ phòng trong 1,5 giờ nữa sau đó được lọc. Dịch lọc được tinh sạch bằng HPLC điều chế [Cột: Phenomenex Gemini C18 (250mm×50mm, 10µm). Pha động A: Nước (0,04% amoniac hydroxit v/v và 10 mM amoni bicacbonat) / Pha động B: axetonitril. Gradient (75 đến 44% pha động A / 25 đến 56% pha động B, trong 23 phút). Nhiệt độ cột: 30 °C] để tạo ra hợp chất ở tiêu đề (4,4 g, hiệu suất 60%, độ tinh khiết 96% dưới dạng chất rắn màu trắng. LCMS [M+H]⁺ m/z: calc'd.562,2; tìm thấy 562,2. ¹H NMR (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 6,91 (s, 1H), 6,29 (s,

1H), 4,50 (s, 2H), 4,01 (quin, $J = 6$ Hz, 1H), 3,58 (dd, $J = 8,8, 6,4$ Hz, 2H), 3,26 (s, 3H), 2,92 - 3,02 (m, 2H), 2,54 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,01 - 2,11 (m, 1H), 1,79 - 2,00 (m, 5H), 1,62 (s, 3H), 1,19 - 1,34 (m, 2H), 0,91 - 1,08 (m, 2H). Mẫu XRPD của sản phẩm vô định hình từ quy trình này được thể hiện trong **Fig. 7**.

Danh sách các từ viết tắt

Từ viết tắt	Nghĩa
% w/w	Phần trăm khối lượng
¹ H-NMR	Cộng hưởng từ hạt nhân proton
DMF	dimetyl formamit
DMSO	dimetylsulfoxit
DSC	Nhiệt quét vi sai
DVS	Hấp thụ hơi động
EtOAc	etyl axetat
EtOH	ethanol
GVS	Hấp thụ hơi trọng lực
H ₂ O	nước
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu suất cao
HCl	Axit clohydric
IC	Sắc ký sắt
IPA	propan-2-ol
KF	Karl Fischer
MAS	Quay góc ảo
MDSC	Phép đo nhiệt lượng quét vi sai điều biến
MEK	metyl etyl keton
MeOH	metanol
N/A	Không thể áp dụng
PLM	Kính hiển vi ánh sáng phân cực
RH	Độ ẩm tương đối
RT	Nhiệt độ phòng
SCXRD	Nhiễu xạ tia X tinh thể đơn
SEM	Kính hiển vi điện tử quét

TFA	axit tri-flo axetic
Tg	Chuyển kính
TGA	Phân tích trọng lượng nhiệt
THF	tetrahydrofuran
UV	tia cực tím
VT-XRPD	Nhiều xạ bột tia X nhiệt độ biến đổi
XRPD	Nhiều xạ bột tia X

1. Chi tiết thiết bị và phương pháp

Nhiều xạ bột tia X (XRPD):

Đồ thị nhiễu xạ XRPD được thu thập trên Bruker AXS C2 GADDS, Bruker AXS D8 Advance hoặc PANalytical Empyrean như chi tiết bên dưới.

Bruker AXS C2 GADDS

XRPD sử dụng máy đo nhiễu xạ Bruker AXS C2 GADDS được thực hiện bằng cách sử dụng bức xạ Cu K α (40 kV, 40 mA), giai đoạn XYZ tự động, kính hiển vi video laze để định vị mẫu tự động và máy dò vùng 2 chiều Vantec-500. Quang học tia X bao gồm một gương đa lớp Göbel được ghép với ống chuẩn trực lỗ kim là 0,3 mm. Sự phân kỳ của chùm tia, tức là kích thước hiệu dụng của chùm tia X trên mẫu, xấp xỉ 4 mm. Chế độ quét liên tục θ - θ được sử dụng với khoảng cách mẫu - máy dò là 20 cm mang lại phạm vi hiệu quả 2θ là 1,5°–32,5°. Thông thường, mẫu được tiếp xúc với chùm tia X trong 120 giây. Phần mềm được sử dụng để thu thập dữ liệu và phân tích lần lượt là GADDS đối với Win7/XP và Diffrac Plus EVA. Các mẫu chạy trong điều kiện môi trường xung quanh được chuẩn bị dưới dạng mẫu tấm phẳng sử dụng bột như đã nhận mà không cần nghiền. Các mẫu được chuẩn bị và phân tích trên lam kính hoặc gờ thủy tinh. Mẫu được ấn nhẹ lên lam kính để có bề mặt phẳng để phân tích. Khối lọc frit thủy tinh được sử dụng để phân lập và phân tích chất rắn khỏi huyền phù bằng cách thêm một lượng nhỏ huyền phù trực tiếp vào frit thủy tinh trước khi lọc dưới chân không nhẹ. Đối với các thí nghiệm nhiệt độ thay đổi (VT), mẫu thử nghiệm được gắn trên giàn nóng Anton Paar DHS 900 trong điều kiện môi trường xung quanh. Sau đó, mẫu được làm nóng đến nhiệt độ thích hợp ở 10°C/phút và sau đó được giữ đẳng nhiệt trong 1 phút

trước khi bắt đầu thu thập dữ liệu. Các mẫu được chuẩn bị và phân tích trên tấm silicon được gắn vào giai đoạn nóng bằng cách sử dụng hợp chất dẫn nhiệt.

Bruker AXS D8 Advance

XRPD sử dụng máy đo nhiễu xạ Bruker D8 được thực hiện bằng cách sử dụng bức xạ Cu K α (40 kV, 40 mA) và góc θ -2 θ được gắn với bộ đơn sắc Ge. Chùm tia tới đi qua khe phân kì 2,0 mm tiếp theo là khe phản xạ và mép dao 0,2 mm. Chùm nhiễu xạ đi qua một khe tiếp nhận 8,0 mm với các khe Soller 2,5°, tiếp theo là Máy dò Lynxeye. Phần mềm được sử dụng để thu thập và phân tích dữ liệu lần lượt là Diffrac Plus XRD Commander và Diffrac Plus EVA. Mẫu được chạy trong điều kiện môi trường xung quanh dưới dạng mẫu tấm phẳng sử dụng bột như đã nhận. Mẫu được chuẩn bị trên tấm silicon (510) đã được đánh bóng, không có nền (510) bằng cách ấn nhẹ lên bề mặt phẳng hoặc được đóng gói vào khoang được cắt. Mẫu được quay trong mặt phẳng của chính nó.

PANalytical Empyrean

XRPD sử dụng máy đo nhiễu xạ PANalytical Empyrean được thực hiện bằng cách sử dụng bức xạ Cu K α (45 kV, 40 mA) trong hình học truyền qua. Khe 0,5° mặt nạ 4 mm và khe Soller 0,04 rad với gương hội tụ được sử dụng trên chùm tia tới. Máy dò PIXcel3D, được đặt trên chùm tia nhiễu xạ, được gắn với khe nhận và khe Soller 0,04 rad. Phần mềm được sử dụng để thu thập dữ liệu là Máy thu thập dữ liệu X'Pert sử dụng Giao diện người vận hành X'Pert. Dữ liệu được phân tích và trình bày bằng Diffrac Plus EVA hoặc HighScore Plus. Mẫu được chuẩn bị và phân tích trong đĩa kim loại hoặc đĩa Millipore 96 ở chế độ truyền. Màng trong suốt tia X được sử dụng giữa các tấm kim loại trên tấm kim loại và bột (khoảng 1–2 mg) đã được sử dụng khi nhận được. Đĩa Millipore được sử dụng để cô lập và phân tích chất rắn khỏi huyền phù bằng cách thêm một lượng nhỏ huyền phù trực tiếp vào đĩa trước khi lọc dưới chân không nhẹ.

Phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC):

Dữ liệu DSC được thu thập trên thiết bị TA Q2000 được trang bị bộ lấy mẫu tự động 50 vị trí. Thông thường, 0,5-3 mg mỗi mẫu, trong chảo nhôm có lỗ kim, được gia nhiệt ở 10°C/phút từ 25°C đến 300°C. Quá trình lọc nitơ khô ở 50 ml/phút được duy trì trên mẫu. Nhiệt độ điều chế DSC được thực hiện bằng cách sử dụng tốc độ gia nhiệt cơ bản là 2°C/phút và thông số điều chế nhiệt độ $\pm 0,318^\circ\text{C}$ (biên độ) cứ sau 60 giây

(khoảng thời gian). Phần mềm điều khiển thiết bị là Advantage cho Dòng Q và Thermal Advantage và dữ liệu được phân tích bằng Universal Analysis hoặc TRIOS.

Dữ liệu DSC cũng được thu thập trên TA Instruments Discovery DSC được trang bị bộ lấy mẫu tự động 50 vị trí. Thông thường, 0,5-3 mg mỗi mẫu, trong chảo nhôm có lỗ kim, được gia nhiệt ở 10°C/phút từ 25°C đến 300°C. Quá trình lọc nitơ khô ở 50 ml/phút được duy trì trên mẫu. Phần mềm điều khiển thiết bị là TRIOS và dữ liệu được phân tích bằng TRIOS hoặc Phân tích phổ quát.

Phân tích nhiệt trọng lượng (TGA)

Dữ liệu TGA được thu thập trên TA Instruments Q500 TGA, được trang bị bộ lấy mẫu tự động 16 vị trí. Thông thường, 5-10 mg mỗi mẫu được nạp vào chảo nhôm DSC đã cắt sẵn và được làm nóng ở 10°C/phút từ nhiệt độ môi trường đến 300°C. Quá trình thanh lọc nitơ ở 60 ml/phút được duy trì trên mẫu. Phần mềm điều khiển thiết bị là Advantage cho Dòng Q và Thermal Advantage và dữ liệu được phân tích bằng Universal Analysis hoặc TRIOS.

Dữ liệu TGA cũng được thu thập trên TA Instruments Discovery TGA được trang bị bộ lấy mẫu tự động 25 vị trí. Thông thường, 5-10 mg mỗi mẫu được nạp vào chảo nhôm DSC đã cắt sẵn và được làm nóng ở 10°C/phút từ nhiệt độ môi trường đến 300°C. Quá trình thanh lọc nitơ ở 25ml/phút được duy trì trên mẫu. Phần mềm điều khiển thiết bị là TRIOS và dữ liệu được phân tích bằng TRIOS hoặc Phân tích phổ quát.

2. Phương pháp kết tinh chung

Phương pháp sàng lọc kết tinh được nêu trong các phương pháp mô tả dưới đây.

Sự trưởng thành / Sự chín của huyền phù

Trong phòng trưởng thành: Huyền phù để trưởng thành được đặt trong tủ ẩm lắc nền (Heidolph Titramax / Incubator 1000, Fig. 2) và trải qua một loạt các chu kỳ làm mát bằng nhiệt từ môi trường xung quanh đến khoảng 50°C. Điều này đạt được bằng cách bật hoặc tắt hệ thống sưởi sau mỗi 4 giờ. Việc rung lắc được duy trì trong suốt quá trình.

Trong thiết bị Polar Bear: Huyền phù được khuấy (500 vòng/phút) trong Polar Bear (Thiết kế lò phản ứng Cambridge) trong các khoảng thời gian khác nhau ở 50 C. Sau đó, mẫu được làm lạnh đến 25°C ở 0,1°C/phút và được khuấy thêm bốn giờ/ Sau

thời gian này, mẫu được làm nóng trở lại $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ở $0,1\text{ }^{\circ}\text{C/phút}$. Chu kỳ sau đó được lặp lại.

Kết tinh làm mát

Dung dịch được làm lạnh đến 5°C ở $0,1^{\circ}\text{C/phút}$ trong Polar Bear và khuấy ở nhiệt độ này trong khoảng thời gian khác nhau. Tất cả chất rắn được lọc và làm khô dưới lực hút trong 10 phút và được phân tích ban đầu bằng XRPD. Dung dịch được tiếp tục làm lạnh đến -20°C trong 16 giờ và chất rắn mới sau đó được xử lý như trước đó. Làm bay hơi mọi dung dịch còn lại (xem Phương pháp 3 bên dưới).

Làm bay hơi có kiểm soát

Dung dịch đặt trong lọ được làm bay hơi ở điều kiện môi trường xung quanh bằng cách tháo nắp lọ hoặc bằng cách đâm kim vào nắp vách ngăn của lọ. Mẫu được làm bay hơi từ từ đến khô hoặc cho đến khi xuất hiện chất rắn ở điều kiện môi trường xung quanh.

Kết tủa / Kết tinh bằng phụ gia kháng dung môi

Dung dịch được xử lý nhỏ giọt bằng chất kháng dung môi ở 50°C cho đến khi vẩn đục. Sau đó, mẫu được làm lạnh đến 5°C ở $0,1^{\circ}\text{C/phút}$ và được giữ đẳng nhiệt. Khi cần thiết, kháng dung môi bổ sung đã được thêm vào huyền phù. Chất rắn được lọc và làm khô dưới lực hút trong 10 phút và phần còn lại được phân tích ban đầu bằng XRPD.

3. Phương pháp sàng lọc

Các mẫu dạng vô định hình của Hợp chất 1 với độ tinh khiết khác nhau, một với 95,2% tinh khiết (30 mg) và một với 97,6% tinh khiết (20 mg), được tạo huyền phù hoặc hòa tan trong 10-30 vol là dung môi đã cho ở RT. Sau 5 phút cân bằng ở RT, tất cả các mẫu (dung dịch và huyền phù) được làm nóng đến 50°C trong 10 phút và mẫu thu được được xử lý như sau: Huyền phù được làm trưởng thành trong khoảng từ 60 đến $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 72 giờ (4 giờ ở mỗi nhiệt độ). Dung dịch được làm lạnh từ 50 đến 5°C ở $0,1^{\circ}\text{C/phút}$ và duy trì ở 5°C trong 72 giờ. Nếu không thu được chất rắn, dung dịch được làm bay hơi ở RT. Tất cả các chất rắn thu hồi được phân tích bằng XRPD và sau đó bằng các kỹ thuật thích hợp. Xem Bảng 1-3 để biết các quy trình sàng lọc và kết quả phân tích.

Dựa vào phân tích XRPD, sàng lọc đa hình bằng cách sử dụng dạng vô định hình của Hợp chất 1 với 95,2% tinh khiết tạo ra ba dạng tinh thể, được biểu thị ở đây là Dạng

1, Dạng 2, và Dạng 3 (**Bảng 1 và 2**). Dạng 1 là dạng nhiều nhất, được thu nhận từ nhiều hệ dung môi. Dạng 3 chỉ được quan sát một lần từ dung môi 2-butanol. Sàng lọc đa hình bằng cách sử dụng dạng vô định hình của Hợp chất 1 với 97,6% tinh khiết tạo ra Dạng 1 và Dạng 2, nhưng không phải là Dạng 3 (**Bảng 3**). Dạng 1 nhiều hơn Dạng 2. Việc xác định đặc tính của Dạng 1-3 được trình bày dưới đây.

Bảng 1. Sàng lọc đa hình bằng cách sử dụng dạng vô định hình của Hợp chất 1 với 95,2% tinh khiết (30 mg)

Dung môi	10 vol	20 vol	30 vol	Quan sát ở 50 °C	Xử lý	Làm bay hơi ở RT	XRPD
n-Heptan	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	N/P	Mẫu 1
Axeton	✓	-		Giải	Làm lạnh ở 5 °C	N/P	Mẫu 1
2-Propanol	✓	-		Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Kính/gôm	N/P
Etanol	✓	-		Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Kính/gôm	N/P
Etyl Axetat	x	-		Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	N/P	Mẫu 2
Isopropyl Axetat	x	✓ x		Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	N/P	Mẫu 1
tert- Butylmetyl Ete	x	✓ x		Huyền phù	Làm trưởng	N/P	Mẫu 1

					thành 60/5 °C		
Metylisobutyl Keton	x	x		Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	N/P	Mẫu 1
Dimetyl Sulfoxit	✓	-		Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Chất rắn	Vô định hình
Anisole	✓	-		Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Kính/gôm	N/P
Metanol	✓	-		Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Chất rắn	Vô định hình
toluen	x	✓x	✓x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	N/P	Mẫu 2

Từ khóa: ✓ = Dung dịch trong; ✓x = đục; x = huyền phù; N/P = không tiến hành

Bảng 2. Sàng lọc đa hình bằng cách sử dụng dạng vô định hình của Hợp chất 1 với 95,2% tinh khiết (30 mg)

Dung môi	10 vol	20 vol	30 vol	Quan sát ở 50 °C	Xử lý	Xử lý sau quan sát (72 giờ)	Làm bay hơi ở RT	XRPD
Tetrahydrofuran	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
Diclometan	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
Axetonitril	✓	-	-	Huyền phù	Làm trưởng	Huyền phù	N/P	Mẫu 1

					thành 60/5 °C			
10% Nước / EtOH	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
10% Nước / IPA	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
10% Nước / THF	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
MEK	x	✓	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 2
Nước	x	x	x	Huyền phù dẻo	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
2-Butanol	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 3
Isobutyl axetat	x	x	✓x	Huyền phù mỏng	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
Xyclohexan	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Dạng 1 + hai đỉnh bổ sung

1,4-Dioxan	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Chất rắn	Vô định hình
------------	---	---	---	------	-----------------	------	----------	--------------

Chìa khóa: ✓ = Dung dịch trong; ✓x = đục; x = huyền phù; N/P = không tiến hành

Bảng 3. Sàng lọc đa hình bằng cách sử dụng dạng vô định hình của Hợp chất 1 với 97,6% tinh khiết (20 mg)

Dung môi	10 vol	20 vol	30 vol	Quan sát ở 50 °C	Xử lý	Xử lý sau quan sát (72 giờ)	Làm bay hơi ở RT	XRPD
n-Heptan	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
Axeton	x	✓x	✓	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
2-Propanol	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
Etanol	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P
Etyl Axetat	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
Isopropyl Axetat	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng	Huyền phù	N/P	Mẫu 1

					thành 60/5 °C			
tert- Butylmetyl Ete	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
MEK	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
toluen	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Chất rắn	Tương tự với Dạng 2
Tetrahydrofuran	✓	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Chất rắn	Tương tự với Dạng 2
Axetonitril	x	x	x	Huyền phù	Làm trưởng thành 60/5 °C	Huyền phù	N/P	Mẫu 1
10% Nước / IPA	-	-	-	Giải	Làm lạnh ở 5 °C	Giải	Kính/gôm	N/P

Chìa khóa: ✓ = Dung dịch trong; ✓ x = đục; x = huyền phù; N/P = không tiến hành

4. Lựa chọn dạng tinh thể mới

Dạng 1 và 2 được chọn để phân tích thêm vì XRPD đối với Dạng 3 cho thấy pha kết tinh kém. Đối với Dạng 1, mẫu thu được từ axeton có độ tinh khiết cao nhất (97,4 %) và chỉ chứa ít dung môi. Các thử nghiệm mở rộng quy mô trên Dạng 1 được thực hiện tương ứng như mô tả bên dưới. Đối với Dạng 2, mẫu thu được từ MEK có độ tinh

khiết cao hơn (97,2 %) và chỉ chứa một lượng nhỏ MEK còn dư. Các thử nghiệm mở rộng quy mô trên Dạng 1 được thực hiện tương ứng như mô tả bên dưới.

Mở rộng quy mô kết tinh Dạng 1 và Dạng 2

Thí nghiệm mở rộng quy mô đối với Dạng 1 trong axeton và Dạng 2 trong MEK được tiến hành theo quy trình sau đây. Dạng vô định hình của Hợp chất 1 được điều chế theo phương pháp trong U.S. 62/659,408 (1 g) được cân vào hai lọ có nắp đậy 20 ml, và được hòa tan trong thể tích 20 (20 ml) axeton hoặc thể tích 20 (20 ml) của MEK ở 50 °C có khuấy. Dung dịch sau đó được làm lạnh đến 5 °C ở 0,1°C/phút và giữ ở nhiệt độ này trong 20 giờ. Cả hai mẫu đều tạo thành huyền phù màu trắng được lọc và làm khô trong phễu Buchner dưới chân không. Chất rắn được để khô trong không khí trong một giờ trước khi xác định đặc tính của cả hai kiểu bằng cách sử dụng nhiều kỹ thuật (tóm tắt trong **Bảng 4** và **5** và **Fig. 1-4**). Hiệu suất cũng được tính toán từ chất rắn thu hồi.

Đối với việc mở rộng quy mô Dạng 1, mẫu chất rắn được xác nhận là Dạng tinh thể 1 theo XRPD (**Bảng 4** và **Fig. 1**). Độ tinh khiết được xác định là 96,6 % bằng HPLC. Mẫu phù hợp với dạng vô định hình của Hợp chất 1 đối chiếu bằng ¹H NMR với một lượng nhỏ axeton dư (0,04 eq) vẫn còn trong mẫu. Phân tích nhiệt cho thấy một khối lượng nhỏ mất đi 1,0% w/w (tương đương với 0,32 eq nước), phù hợp với dữ liệu KF. Phân tích DSC cho thấy thu nhiệt rõ rệt ở 179,5 °C (khởi phát) (**Fig. 2**). Phân tích của GVS cho thấy vật liệu này có tính hút ẩm nhẹ, với lượng nước hấp thụ 1,7% w/w trong khoảng từ 0 đến 90% RH. Mẫu vẫn ở Dạng 1 sau khi phân tích GVS hoặc lưu trữ trong 5 ngày ở điều kiện RH tăng cao. Hình thái của Dạng 1 theo PLM và SEM là sự kết tụ của các hạt tinh thể nhỏ. Các chất kết tụ này có thể khác nhau về kích thước và hình dạng (từ 20 đến 650 µm), và các hạt tinh thể nhỏ và không đều (lên đến 20 µm). Nhìn chung, Dạng 1 được xác định là khan. Cũng xem **Bảng 5** để biết tóm tắt đặc tính của Dạng 1.

Đối với việc mở rộng quy mô Dạng 2, mẫu chất rắn được xác nhận là Dạng tinh thể 2 theo XRPD (**Fig. 3**). Tuy nhiên, việc xác định đặc tính thêm cho thấy rằng Dạng 2 là dạng tinh thể ít ổn định hơn Dạng 1. Ví dụ, không như Dạng 1 giữ lại dạng tinh thể gốc của nó, phân tích XRPD cho thấy rằng Dạng 2 trở nên vô định hình sau phân tích GVS hoặc lưu trữ trong 5 ngày ở điều kiện RH tăng cao. Không như Dạng 1 có thu nhiệt rõ (**Fig. 2**), Dạng 2 có hai sự kiện thu nhiệt trong phân tích DSC (**Fig. 4**). Dạng 2 cũng có khối lượng mất đi cao hơn Dạng 1 trong phân tích TGA. Dạng 1 được quan sát thường

xuyên hơn Dạng 2 cả trong quá trình sàng lọc đa hình và trong thí nghiệm huyền phù cạnh tranh, củng cố thêm rằng Dạng 1 ổn định hơn Dạng 2.

Bảng 7. XRPD của Dạng tinh thể 1

Góc 2-Theta °	Cường độ %
10,0	61,1
10,2	37,5
11,0	21,9
11,4	23,9
11,8	20,4
12,3	24,7
12,7	27,6
13,3	52,8
14,9	85,3
15,3	24,8
16,1	22,5
17,4	18,5
20,2	100,0
20,8	63,9
21,3	43,1
22,2	52,9
22,5	49,2
23,8	28,4

Bảng 8. Xác định đặc tính của Dạng tinh thể 1

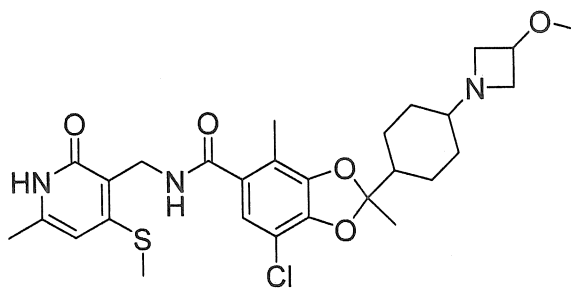
Phân tích	Sản xuất mở rộng quy mô của Dạng 1
XRPD	Dạng tinh thể 1 (không bazơ)
¹ H-NMR	Phù hợp với vật liệu đối chiếu. 0,04 eq axeton dư
HPLC	96,6 %
TGA	Khối lượng mất đi là 1,0 % nằm trong khoảng từ 36 đến 179 °C (tương đương với 0,32 eq)
DSC	Thu nhiệt ở 179,5 °C (khởi phát, 61 J/g).
KF	1,0 % w/w (0,32 eq nước).
GVS	Thu ~1,7 % w/w nước nằm trong khoảng từ 0 đến 90 % RH. Không có hiện tượng trễ. XRPD sau GVS cho thấy vật liệu duy trì mẫu 1.
Hiệu suất	54,1 % (một số vật liệu đi qua bộ lọc. Hiệu suất thực tế sẽ cao hơn đáng kể).
Độ ổn định tĩnh 40 °C / 75 % RH (5 ngày)	XRPD: Giảm nhẹ độ kết tinh, vẫn giữ mẫu 1 HPLC: 96,5 %.
Độ ổn định tĩnh 25 °C / 97 % RH (5 ngày)	XRPD: Giảm nhẹ độ kết tinh, vẫn giữ mẫu 1 HPLC: 96,8 %.
PLM	Kết tụ của các hạt tinh thể nhỏ. Các khối kết tụ rất khác nhau về kích thước và hình dạng với chiều dài từ 20 μ đến 650 μ. Các hạt tinh thể có chiều dài đến 20 μ, hình dạng không đều.
SEM	Các khối kết tụ có kích thước khác nhau bao gồm các hạt tinh thể nhỏ có hình dạng bất thường.

Mặc dù đã mô tả một số phương án của sáng chế, nhưng rõ ràng là các ví dụ cơ bản của chúng tôi có thể được thay đổi để tạo ra các phương án khác sử dụng các hợp chất và phương pháp theo sáng chế. Do đó, nên hiểu rằng phạm vi của sáng chế được xác định bằng bộ yêu cầu bảo hộ đính kèm chứ không phải bằng các phương án cụ thể mà được trình bày bằng cách ví dụ.

Nội dung của tất cả các tài liệu tham khảo (bao gồm tài liệu tham khảo văn bảo, bằng sáng chế đã ban hành, đơn sáng chế đã công bố, và đơn sáng chế đang cùng chờ xử lý) được trích dẫn trong suốt đơn này theo đây được đưa vào bản mô tả này bằng cách tham khảo toàn bộ. Trừ khi được chỉ ra là khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này được hiểu theo nghĩa thông thường được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dạng tinh thể 1 của hợp chất có công thức cấu tạo:



trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi ít nhất ba đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ $10,0^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $22,2^\circ$, và $22,5^\circ$.

2. Dạng tinh thể 1 theo điểm 1, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi ít nhất bốn đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ $10,0^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $22,2^\circ$, và $22,5^\circ$.

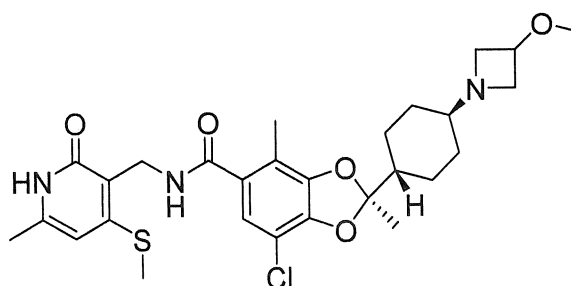
3. Dạng tinh thể 1 theo điểm 1 hoặc 2, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi ít nhất năm đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ $10,0^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $22,2^\circ$, và $22,5^\circ$.

4. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi ít nhất sáu đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ $10,0^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $22,2^\circ$, và $22,5^\circ$.

5. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ $10,0^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $22,2^\circ$, và $22,5^\circ$.

6. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ $10,0^\circ$, $10,2^\circ$, $12,3^\circ$, $12,7^\circ$, $13,3^\circ$, $14,9^\circ$, $15,3^\circ$, $20,2^\circ$, $20,8^\circ$, $21,3^\circ$, $22,2^\circ$, $22,5^\circ$, và $23,8^\circ$.

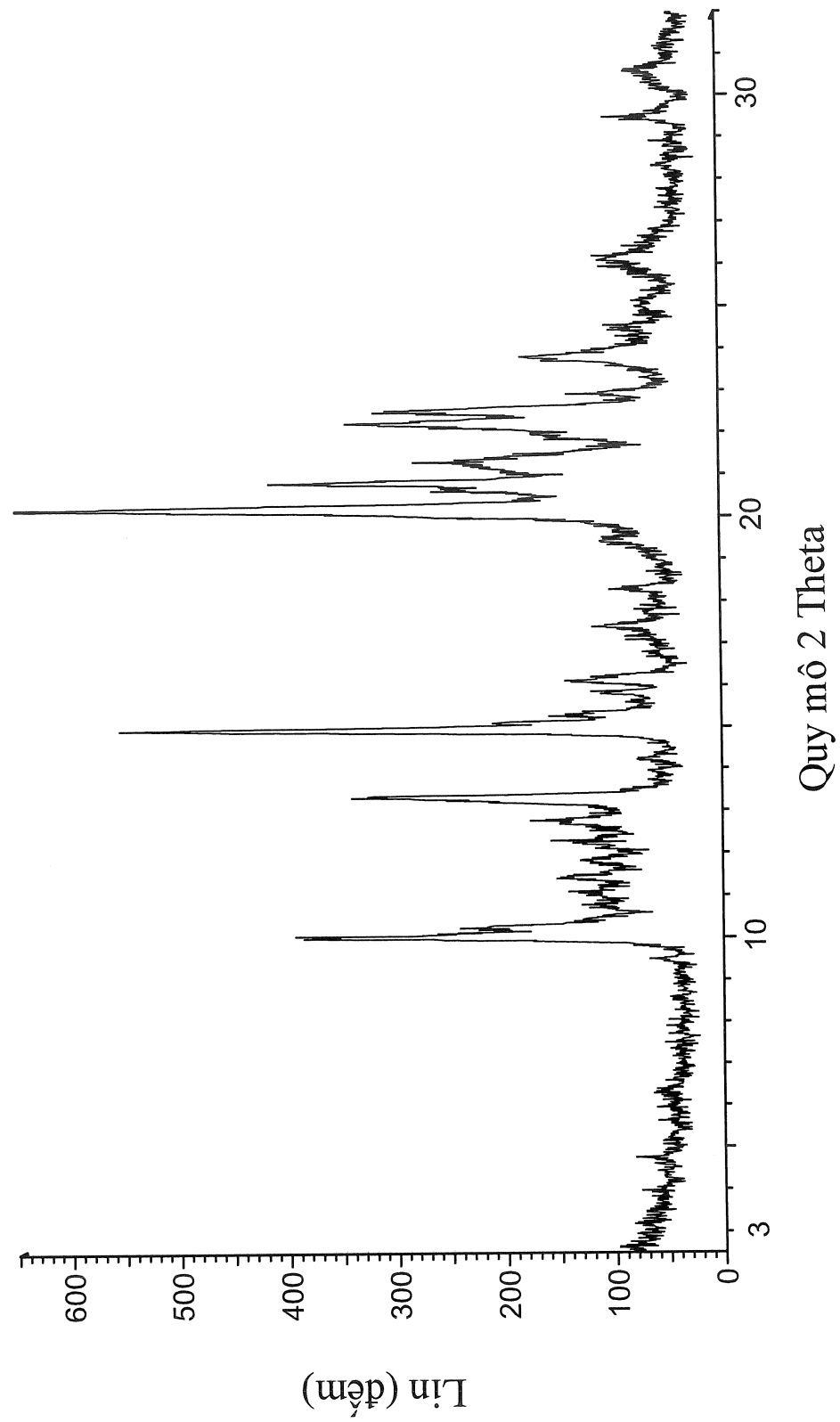
7. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2Θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ 10,0°, 10,2°, 11,0°, 11,4°, 11,8°, 12,3°, 12,7°, 13,3°, 14,9°, 15,3°, 16,1°, 17,4°, 20,2°, 20,8°, 21,3°, 22,2°, 22,5°, và 23,8°.
8. Dạng tinh thể 1 theo điểm 1, trong đó dạng tinh thể này được đặc trưng bởi đỉnh nhiễu xạ bột tia X ở góc 2Θ sử dụng bức xạ Cu K α 1 được chọn từ 14,9°, 20,2°, và 20,8°, hoặc được chọn từ 10,0°, 14,9°, 20,2°, và 20,8°, hoặc được chọn từ 10,0°, 14,9°, 20,2°, 20,8°, và 22,2°, hoặc được chọn từ 10,0°, 13,3°, 14,9°, 20,2°, 20,8°, và 22,2°.
9. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó dạng tinh thể này là khan.
10. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó dạng tinh thể 1 có ít nhất 90% dạng tinh thể đơn theo khối lượng hoặc ít nhất 95% dạng tinh thể đơn theo khối lượng.
11. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó hợp chất có độ tinh khiết hóa học có ít nhất 90% khối lượng, ít nhất 95% khối lượng, hoặc ít nhất 99% khối lượng.
12. Dạng tinh thể 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó hợp chất có công thức cấu tạo:



13. Dược phẩm chứa dạng tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, và chất mang hoặc chất pha loãng dược dụng.

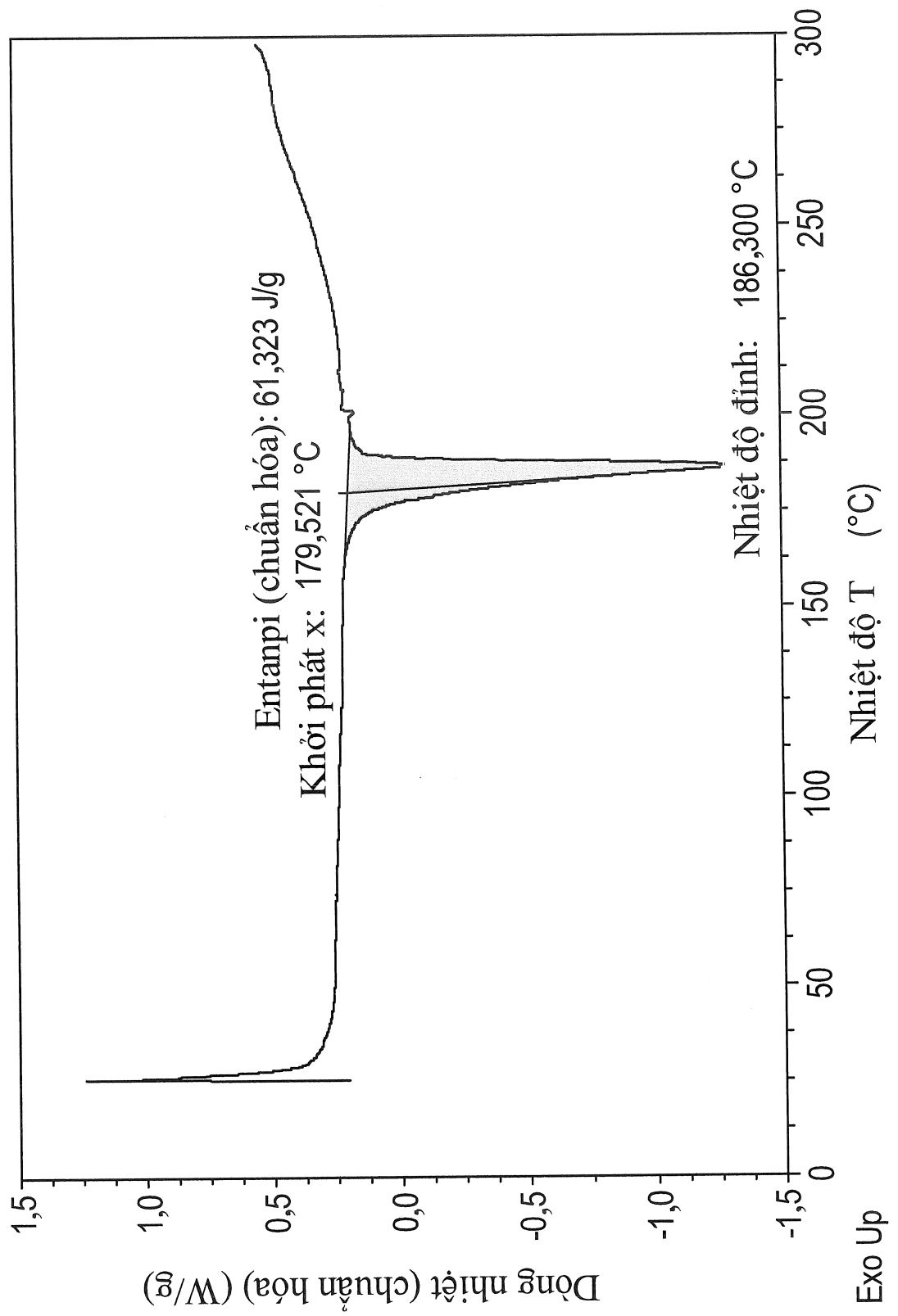
1/7

FIG. 1



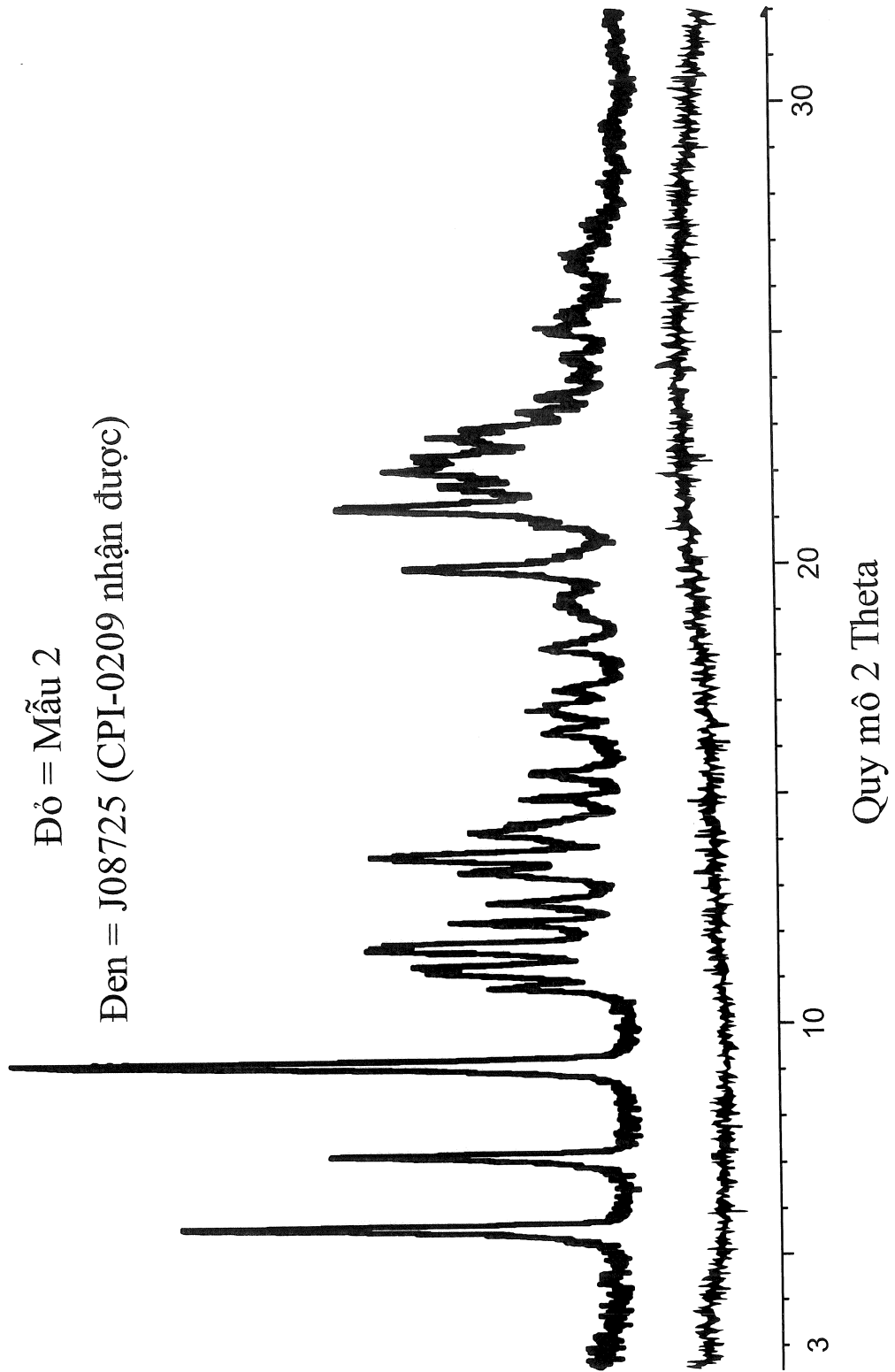
2/7

FIG. 2

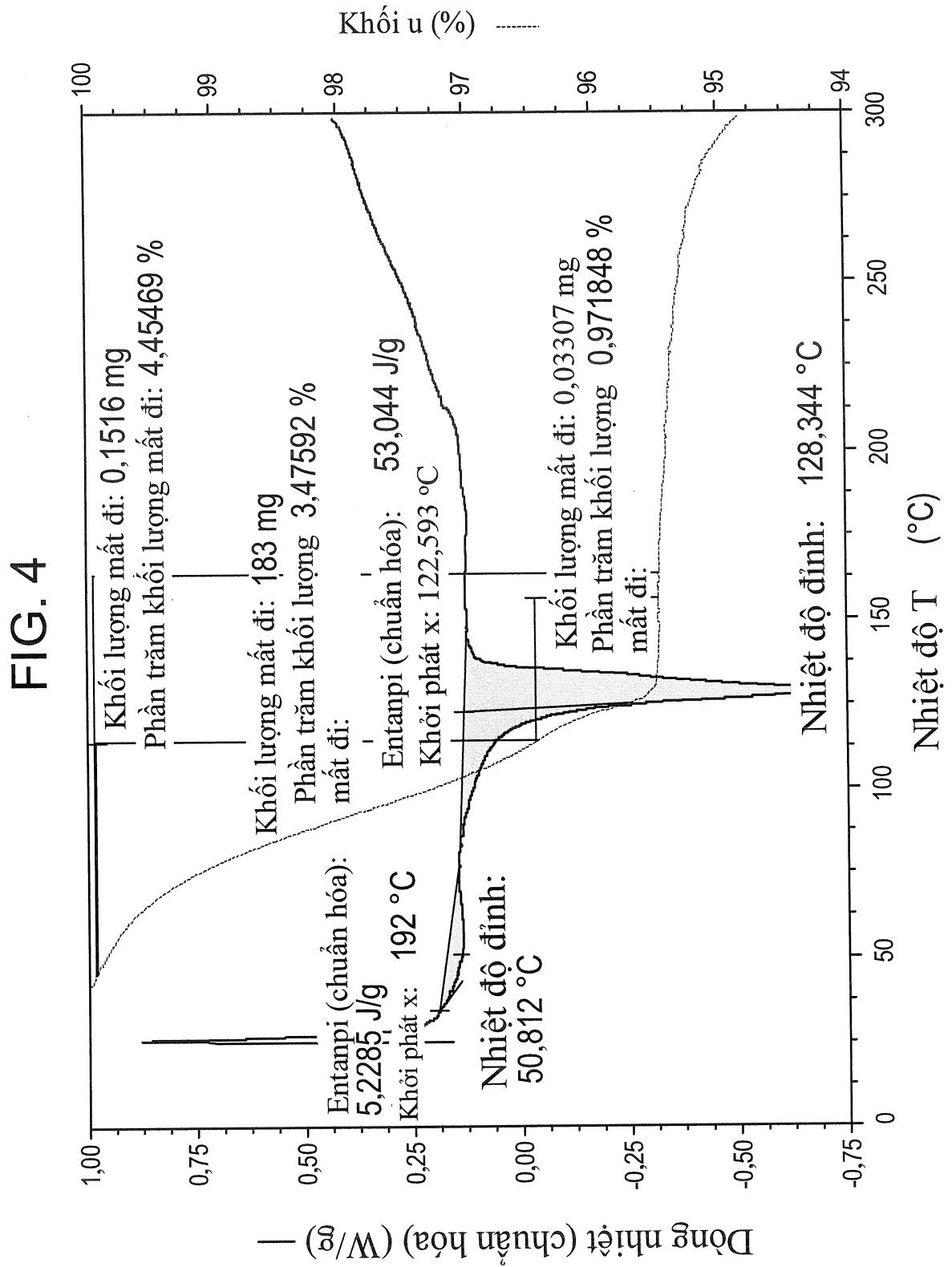


3/7

FIG. 3

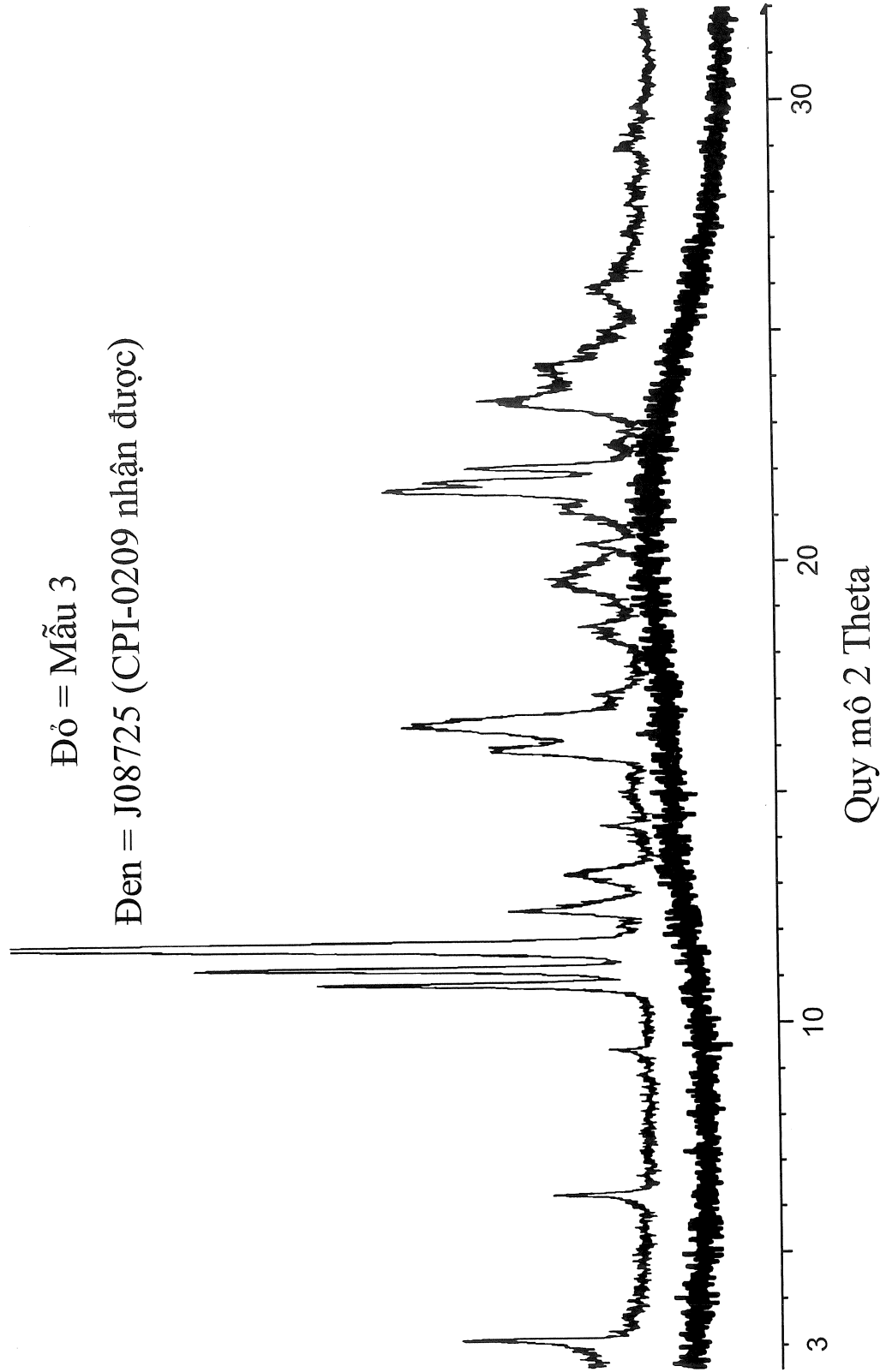


4/7



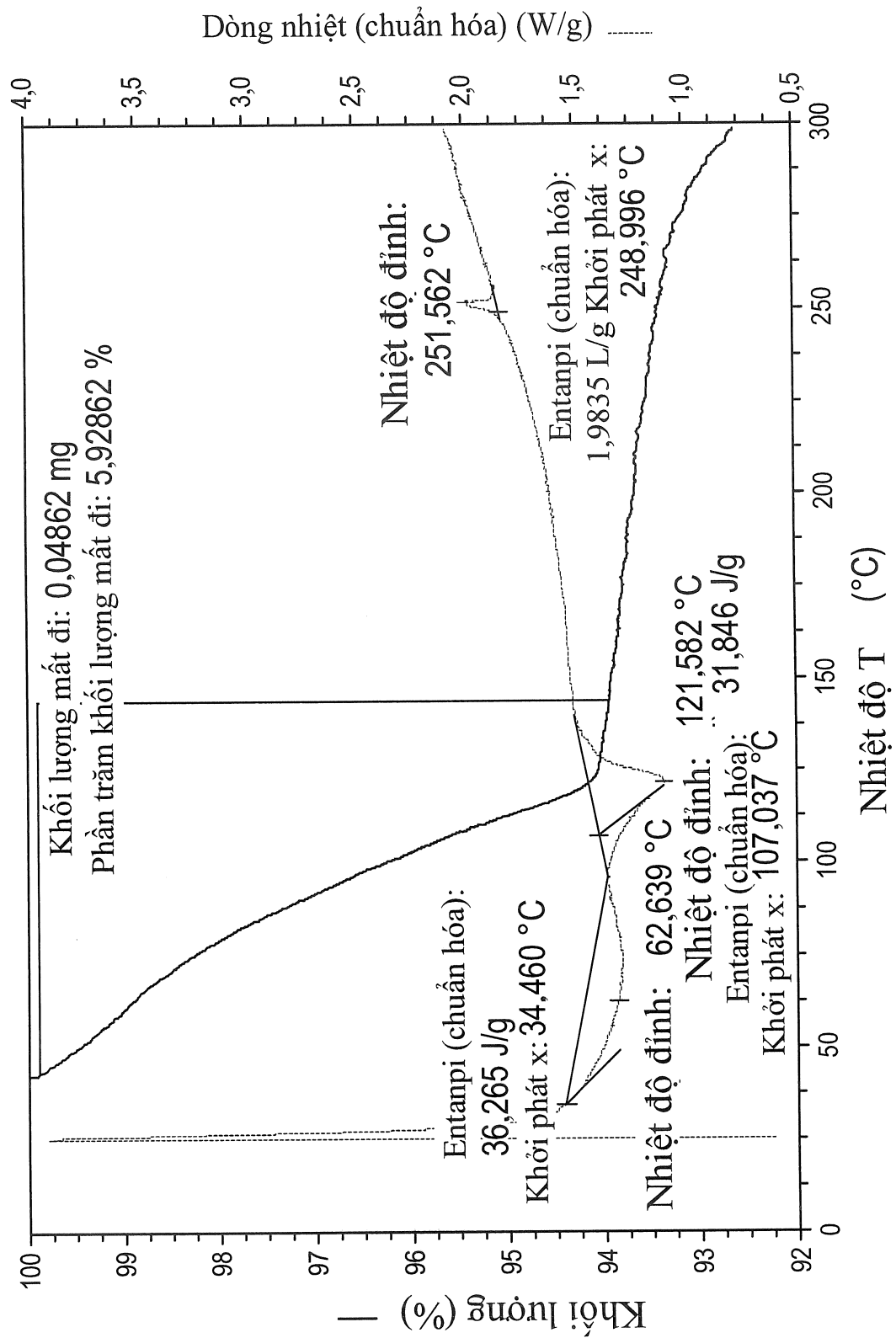
5/7

FIG. 5



6/7

FIG. 6



7/7

FIG. 7

