(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) **1-0019497**

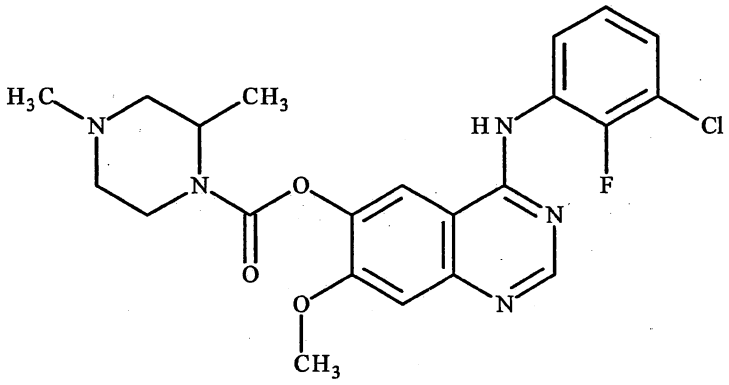
(51)[7] **C07D 403/12**, A61K 31/495, 31/505

(13) **B**

(21) 1-2015-03116
(22) 05.03.2014
(86) PCT/GB2014/050655 05.03.2014
(87) WO2014/135876 12.09.2014
(30) PCT/CN2013/072250 06.03.2013 CN
(45) 25.07.2018 364
(43) 25.12.2015 333
(73) ASTRAZENECA AB (SE)
SE-151 85 Sodertalje, Sweden
(72) LI, David, Yunzhi (US), WANG, Jiabing (US), YANG, Zhenfan (CN), ZENG, Qingbe (US), ZHANG, Xiaolin (US)
(74) Văn phòng luật sư Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT QUINAZOLIN ỨC CHẾ CÁC DẠNG ĐỘT BIẾN HOẠT HÓA CỦA THỤ THỂ YẾU TỐ SINH TRƯỞNG BIỂU BÌ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng:



(I)

có hoạt tính ức chế chống lại các dạng đột biến hoạt hóa EGFR, và do đó có tác dụng chống ung thư và là hữu ích trong các phương pháp điều trị cho người hoặc động vật. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa chúng. Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng để sản xuất thuốc có tác dụng chống ung thư ở động vật máu nóng như người.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất 4-(được thế-anilino)-6-O-(được thế-piperizin-cacbonyl)quinazolin nhất định và các muối dược dụng của chúng có thể có tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến các dạng đột biến hoạt hóa của thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor - EGFR), ví dụ, đột biến hoạt hóa L858R và/hoặc các đột biến hoạt hóa khuyết Exon 19. Các hợp chất này và các muối của chúng có thể có tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa nhiều bệnh ung thư khác nhau. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này, hoặc muối dược dụng của chúng, các dạng tinh thể của các hợp chất này, hoặc muối dược dụng của chúng, các sản phẩm trung gian hữu ích trong việc điều chế các hợp chất này, hoặc muối dược dụng của chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

EGFR (còn được gọi là ErbB1 hoặc HER1) là protein tyrosin kinaza xuyên màng thuộc họ thụ thể erbB. Khi gắn kết với phối tử của yếu tố sinh trưởng như yếu tố sinh trưởng biểu bì (epidermal growth factor - EGF), thụ thể này có thể tạo ra đồng đime với phân tử EGFR khác hoặc tạo ra dị đime với các thụ thể thuộc họ khác như erbB2 (HER2), erbB3 (HER3), hoặc erbB4 (HER4).

Sự tạo ra đồng đime và/hoặc dị đime của các thụ thể erbB sẽ làm phosphoryl hoá các gốc tyrosin quan trọng trong miền nội bào và kích thích rất nhiều con đường truyền tín hiệu nội bào liên quan tới quá trình tăng sinh và sống sót tế bào. Việc mất điều hòa quá trình truyền tín hiệu của họ erbB sẽ thúc đẩy quá trình tăng sinh, xâm nhập, di căn, tạo mạch, và sống sót của tế bào khối u và đã được mô tả trong nhiều bệnh ung thư ở người, bao gồm các bệnh ung thư phổi, đầu và cổ và ngực.

Do đó, họ erbB là đích thích hợp để phát triển các thuốc trị bệnh ung thư và nhiều tác nhân hướng đích tới EGFR hoặc erbB2 hiện đã có mặt trên lâm sàng, bao gồm gefitinib

(IRESSA™), erlotinib (TARCEVA™) và lapatinib (TYKERB™, TYVERB™). Tổng quan chi tiết về quá trình truyền tín hiệu của thụ thể erbB và vai trò của nó trong việc tạo khối u được đề cập trong New England Journal of Medicine [2008] Vol. 358;1160–74 và Biochemical and Biophysical Research Communications [2004] Vol. 319: 1–11.

Năm 2004, trong Science [2004] Vol.304: 1497–500 và New England Journal of Medicine [2004] Vol. 350; 2129–39 đã thông báo rằng các thể đột biến hoạt hóa trong EGFR có liên quan tới đáp ứng trong trị liệu bằng gefitinib ở bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (non-small-cell lung cancer - NSCLC). Khoảng 90% NSCLC liên quan tới các thể đột biến EGFR bao gồm hai thể đột biến EGFR chính (đột biến E746-A750del trong Exon 19 và đột biến thế L858R trong Exon 21) (Pao et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America [2004], Vol.13: 306-11 và Kosada et al. Cancer Research [2004]Vol. 64: 8919-23). Các thể đột biến hoạt hóa này làm tăng ái lực đối với các chất ức chế tyrosin kinaza phân tử nhỏ như gefitinib và erlotinib và làm giảm ái lực đối với ađenosin triphosphat (ATP) so với EGFR kiểu hoang (wild type - WT).

Tuy nhiên, đã biết rằng các tác dụng phụ, như chứng phát ban trên da và tiêu chảy, được coi là có liên quan đến quá trình ức chế con đường truyền tín hiệu EGFR kiểu hoang ở các tế bào khỏe mạnh ở da và ruột, xuất hiện >60% bệnh nhân bị NSCLC đã được điều trị bằng gefitinib hoặc erlotinib (Zhou CC et al. Journal of Clinical Oncology [2011], Vol. 12: 735-42; Mok TS et al. New England Journal of Medicine [2009], Vol. 361: 947-57). Ngoài ra, cả gefitinib lẫn erlotinib đều có tác dụng hạn chế trong việc điều trị cho các bệnh nhân bị NSCLC di căn lên não, do hai thuốc này đều không qua được hàng rào máu não (blood-brain-barrier - BBB) một cách hiệu quả (McKillop D et al. Xenobiotica [2004], Vol. 34: 983-1000; Jackman DM et al. Journal of Clinical Oncology [2006], Vol. 24: 4517-20 Grommes C et al. Neuro-Oncology [2011], Vol. 13: 1364-9), trong khi đó đã có một vài bài báo chỉ ra rằng bệnh ung thư phổi di căn lên não hiện vẫn chưa có phương pháp điều trị thích hợp (Gavrilovic et al, Journal of Neurooncology [2005], Vol. 75: 5-14; Barnholtz-Sloan JS et al. Journal of Clinical Oncology [2004], 22: 2865-72; Schouten LJ et al, Cancer [2002], Vol. 94: 2698-705).

Di căn màng não mềm xảy ra khi ung thư lan tới màng não, các lớp mô bao phủ não và dây cột sống. Quá trình di căn có thể lan tới màng não thông qua máu hoặc chúng có thể lây lan từ khối di căn não, được mang bởi dịch não tủy (cerebrospinal fluid - CSF) chảy qua

màng não. Nếu các tế bào khối u đi vào CSF và sống sót, thì chúng có thể di chuyển vào hệ thần kinh trung ương, gây ra các vấn đề về thần kinh (Le Rhun et al. Surg Neurol Int. [2013], Vol. 4: S265-88). Tỷ lệ di căn màng não mềm đang ngày càng gia tăng, một phần là do các bệnh nhân bị bệnh ung thư có thời gian sống kéo dài hơn, phần khác là do nhiều phương pháp điều trị hóa học và phương pháp điều trị hướng đích phân tử không có khả năng đạt được nồng độ đủ trong dịch não tủy để tiêu diệt các tế bào khối u. Các phương pháp điều trị truyền thống tỏ ra không có hiệu quả và tỷ lệ sống được xác định theo tuần. AstraZeneca đã nghiên cứu ra sapitinib (AZD8931) - chất ức chế toàn năng của các thụ thể EGFR, HER2 và HER3, để dùng trong bệnh ung thư vú. Cho đến nay, sapitinib đã được nghiên cứu trong ba thử nghiệm lâm sàng pha II: thử nghiệm thứ nhất ở dạng kết hợp với paclitaxel so với paclitaxel riêng lẻ ở các bệnh nhân bị bệnh ung thư vú ở giai đoạn muộn có nồng độ HER2 thấp; thử nghiệm thứ hai ở dạng kết hợp với anastrozole so với anastrozole riêng lẻ ở bệnh ung thư vú ở giai đoạn muộn dương tính với thụ thể hormon; và thử nghiệm thứ ba ở dạng kết hợp với paclitaxel so với paclitaxel riêng lẻ ở bệnh nhân bị di căn, bệnh ung thư dạ dày hoặc đoạn nối dạ dày-thực quản đã có tiến triển sau khi điều trị bước một và không đủ tiêu chuẩn để điều trị bằng trastuzumab do tình trạng HER2 gây ra. Hợp chất theo sáng chế là khác biệt về mặt cấu trúc so với sapitinib, và có các đặc tính thẩm thấu mạnh vào não, nhờ đó có tác dụng điều trị bệnh ung thư đã di căn vào hệ thần kinh trung ương [central nervous system - CNS], đặc biệt là các bệnh ung thư đã di căn lên não và bệnh ung thư gây ra di căn màng não mềm.

Hiện nay, một số chất quinazolin ức chế EGFR không thuận nghịch, như afatinib và dacomitinib, đang được phát triển trên lâm sàng. Mặc dù các hợp chất này có hiệu quả trong việc tạo đột biến hoạt hóa EGFR ở các bệnh nhân bị NSCLC tương đương với gefitinib và erlotinib, nhưng chúng lại có một số tác dụng phụ trầm trọng, như chứng phát ban trên da (>90% trường hợp bị phát ban trên da và tiêu chảy) (Zhou CC et al. Journal of Clinical Oncology [2011], Vol. 12: 735-42; Mok TS et al. New England Journal of Medicine [2009], Vol. 361: 947-57; Miller VA et al. Lancet Oncology [2012], Vol. 13: 528-38; Ramalingam SS et al. Journal of Clinical Oncology [2012], Vol. 30: 3337-44). Các hợp chất theo sáng chế là các chất ức chế thuận nghịch, và do đó được kỳ vọng là sẽ có ít tác dụng phụ liên quan đến EGFR hơn so với afatinib và dacomitinib.

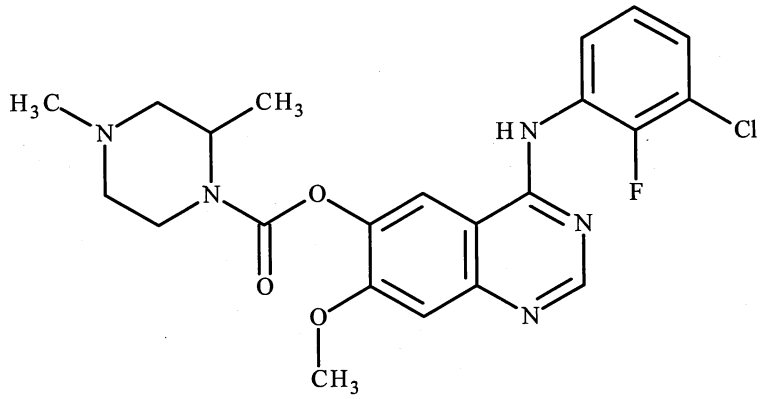
Các hợp chất quinazolin nhất định đã được bộc lộ, ví dụ, trong các tài liệu "Preparation of quinazoline derivatives for treatment of tumors" (US 20080177068 A1), "Preparation of quinazoline derivatives for treatment of tumors" (US 20080167328 A1), "Preparation of saccharide derivatives of quinazolines as protein tyrosine kinase inhibitors" (CN 101857618 A), "Preparation of chlorofluoroanilinomethoxy-N-methylcarbamoylmethylpiperidinyloxyquinazoline derivatives for use as antitumor agents" (WO 2010061208 A2), "Preparation of 4-aminoquinazoline derivatives as antineoplastic agents (CN 101367793 A)", "Preparation of proline quinazoline derivatives as antiproliferative agents (BR 2006002275 A)", "Preparation of quinazoline derivatives as protein kinase inhibitors" (WO 2005097137 A2), "Preparation of quinazoline derivatives as protein kinase inhibitors" (WO 2005097134 A2), "Preparation of quinazoline derivatives as EGFR tyrosine kinase inhibitors" (WO 2005028469 A1), "Preparation of phenylamino-substituted quinazolines as inhibitors of EGF and ErbB-2 kinases" (WO 2005028470 A1), "Preparation of quinazoline derivatives as EGFR tyrosine kinase inhibitors" (WO 2005026156 A1), "Preparation of piperidyl-quinazoline derivatives as tyrosine kinase inhibitors for the treatment of tumors" (WO 2005012290 A1), "Preparation of 4-anilinoquinazolines as antiproliferative agents" (WO 2003082831 A1), "Preparation of aminoquinazolines as epidermal growth factor receptor signal transduction inhibitors" (WO 2002018351 A1), "Preparation of quinazolines as aurora 2 kinase inhibitors" (WO 2001021594 A1), "Quinazolines and other bicyclic heterocycles, pharmaceutical compositions containing these compounds as tyrosine kinase inhibitors, and processes for preparing them" (WO 2000055141 A1), "Preparation of quinazoline derivatives and their receptor tyrosine kinase inhibitory properties" (WO 9738994 A1), "Quinazoline derivatives as antitumor agents" (WO 9730034 A1), "Preparation of haloanilinoquinazolines as Class I receptor tyrosine kinase inhibitors" (WO 9633980 A1) và "Quinazoline derivatives useful for treatment of neoplastic disease" (US 5457105).

Các hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của chúng, so với các chất ức chế EGFR khác có mặt trên lâm sàng, có các đặc tính cải thiện nhất định, ví dụ, khả năng thấm qua BBB cao hơn (do đó, nó có tác dụng điều trị các bệnh ung thư đã di căn tới CNS, cụ thể là di căn lên não và di căn màng não mềm); có tính chọn lọc tốt hơn giữa EGFR kiểu hoang và EGFR đột biến (có thể làm giảm các tác dụng phụ như chứng phát ban trên da và chứng

tiêu chảy trong khi điều trị); đồng thời vẫn duy trì được hoạt tính tương đương hoặc cải thiện đối với đột biến hoạt hóa EGFR (ví dụ, đột biến hoạt hóa EGFR L858R và/hoặc các đột biến hoạt hóa khuyết Exon 19). Do đó, các hợp chất này, hoặc muối dược dụng của chúng, là đặc biệt hữu ích trong việc điều trị các tình trạng bệnh lý liên quan tới đột biến hoạt hóa EGFR, như trong điều trị bệnh ung thư chẳng hạn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

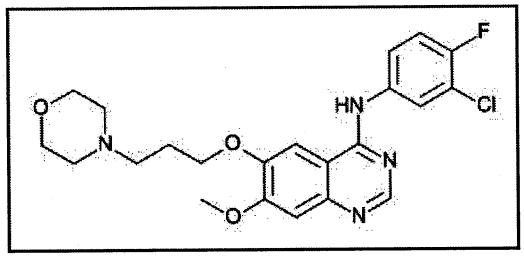
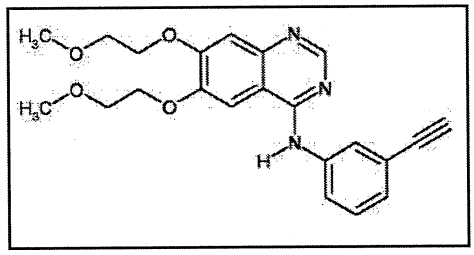
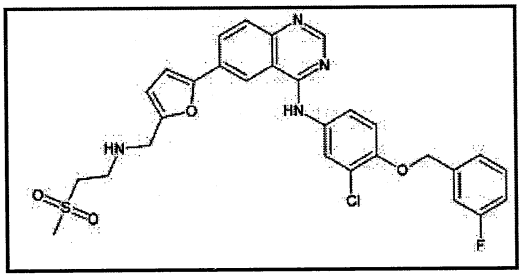
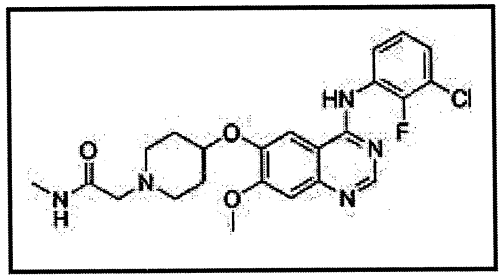
Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (I):

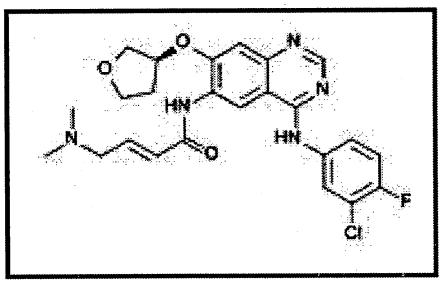
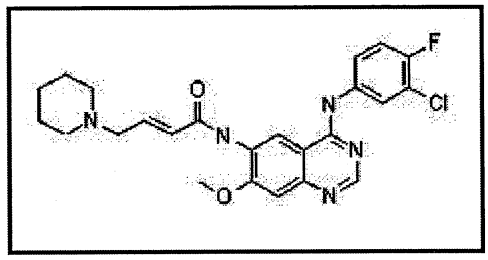
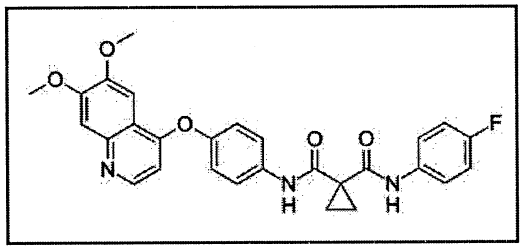
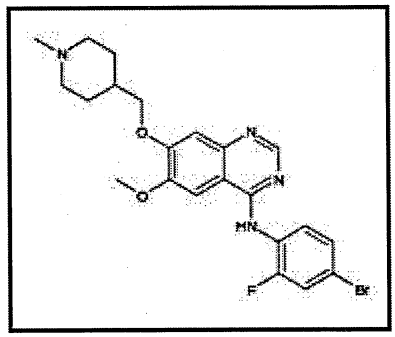


(I)

hoặc muối dược dụng của chúng.

Cấu trúc của các hợp chất được dùng trên lâm sàng nêu trên là như sau:

gefitinib 	erlotinib 
lapatinib 	sapitinib 

afatinib 	dacomitinib 
cabozantinib 	vandetanib 

Muối dược dụng thích hợp của hợp chất theo sáng chế là, ví dụ, muối cộng axit, ví dụ axit vô cơ hoặc hữu cơ, như các axit clohyđric, bromhyđric, sulfuric, phosphoric, xitric, L-tartric, glycolic, fumaric, sucxinic hoặc maleic, đặc biệt là axit clohyđric, bromhyđric, sulfuric, phosphoric, xitric, L-tartric, glycolic, fumaric hoặc maleic. Muối dược dụng được ưu tiên của hợp chất theo sáng chế là muối của axit clohyđric. Muối dược dụng được ưu tiên khác của hợp chất theo sáng chế là muối của axit sucxinic. Các Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết rằng các muối cộng axit khác, ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn ở, các muối được đưa ra trong phần ví dụ, cũng có thể có mặt.

Các muối của hợp chất có công thức (I) có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách cho hợp chất có công thức (I) phản ứng với lượng axit trong môi trường như môi trường trong đó muối này tạo kết tủa hoặc trong môi trường nước, tiếp đó là làm đông khô lạnh.

Các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, có tâm không đối xứng. Cần phải hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các chất đồng phân lập thể (các chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân không đối quang) của các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, có hoạt tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa. Sáng chế cũng đề xuất các dạng hỗ biến bất kỳ và tất cả các dạng chất hỗ biến của các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, có hoạt tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa. Theo một

khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chất đồng phân đối ảnh có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, về cơ bản là không chứa các chất đồng phân đối ảnh khác bất kỳ. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chất đồng phân đối ảnh (R) có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, về cơ bản là không chứa các chất đồng phân đối ảnh khác bất kỳ. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chất đồng phân đối ảnh (S) có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, về cơ bản là không chứa các chất đồng phân đối ảnh khác bất kỳ.

Theo một phương án của sáng chế trong đó hỗn hợp bao gồm tỷ lệ mol của các chất đồng phân đối ảnh không bằng nhau, hỗn hợp này có thể có lượng dư các chất đồng phân đối ảnh được chọn từ >50%, >70%, >90% và >95%. Đặc biệt, hỗn hợp này có thể có lượng dư các chất đồng phân đối ảnh >98%. Cụ thể hơn, hỗn hợp này có thể có lượng dư các chất đồng phân đối ảnh >99%. Cụ thể hơn, hỗn hợp này có thể có lượng dư các chất đồng phân đối ảnh >99,5%.

Cũng cần hiểu rằng các hợp chất có công thức (I) nhất định, hoặc muối dược dụng của chúng, có thể tồn tại ở dạng solvat hóa cũng như dạng không solvat hóa như, ví dụ, dạng hyđrat hóa. Cần phải hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các dạng solvat hóa như vậy có hoạt tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa.

Hơn nữa, cần hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các dạng đồng vị của các hợp chất đã nêu trong bản mô tả. Ví dụ, hyđro bao gồm đoteri và cacbon bao gồm ^{12}C và ^{13}C.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, các hợp chất được ưu tiên theo sáng chế là hợp chất bất kỳ nêu trong thử nghiệm hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, các hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ:

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat;

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2S)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat; và

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (±) 2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat;

hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, các hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ:

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat;

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2S)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat; và

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (±) 2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ muối dược dụng 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat hyđroclorua.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat suxinat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ muối dược dụng 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2S)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2S)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ muối dược dụng 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (-)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (-)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ muối dược dụng 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (+)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (+)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ muối dược dụng 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (±) 2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất được ưu tiên theo sáng chế được chọn từ 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (±) 2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

Theo sáng chế, khi các ký hiệu dạng quay quang (+) hoặc (-) được đề cập, thì chúng được xác định ở c10 trong đó c là nồng độ tính bằng g/ml, trong DMSO ở 25°C. Cũng cần hiểu rằng các hợp chất nhất định theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của chúng, có thể tồn tại ở các dạng tinh thể nhất định. Cụ thể, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat, được xác định là có một vài dạng tinh thể - đặc biệt là dạng A, dạng E, dạng I và dạng J. Ngoài ra muối hyđroclorua của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat cũng có thể tồn tại ở các dạng tinh thể - đặc biệt là muối mono-HCl ở dạng A_1 và muối suxinat của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat cũng có thể tồn tại ở các dạng tinh thể - đặc biệt là muối suxinat ở dạng A_8. Cần phải hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các dạng tinh thể của các hợp chất có công thức (I) như vậy, hoặc muối dược dụng của chúng, có hoạt tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa.

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể, dạng A

Dạng A được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một trong số các trị số 2θ dưới đây đo được bằng cách sử dụng bức xạ CuKa: 23,3° và 14,3°. Dạng A được đặc trưng ở chỗ có mẫu nhiễu

xạ bột tia X, về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.1. Mười pic nhiễu xạ tia X được thể hiện trong bảng A:

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ %
23,3	100,00
14,3	83,70
9,4	78,08
18,6	61,70
16,3	60,41
21,5	39,61
12,4	38,89
26,1	38,18
19,8	35,71
27,4	31,12

Bảng A

Mười pic nhiễu xạ tia X của dạng A

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng A, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 23,3° và 14,3°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng A, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 23,3°, 14,3°, 9,4°, 18,6°, 16,3°, 21,5°, 12,4°, 26,1°, 19,8°, 27,4°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng A có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.1.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng A, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 23,3° và 14,3° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng A, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 23,3°, 14,3°, 9,4°, 18,6°, 16,3°, 21,5°, 12,4°, 26,1°, 19,8°, 27,4° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Phân tích DSC của dạng A có đường thu nhiệt nóng chảy bắt đầu ở 192,4°C và một pic ở 195,8°C (Fig.2).

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể, dạng E

Dạng E được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một trong số các trị số 2θ dưới đây đo được bằng cách sử dụng bức xạ CuKa: 7,3° và 13,7°. Dạng E được đặc trưng ở chỗ có mẫu nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.3. Chín pic nhiễu xạ tia X được thể hiện trong bảng B:

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ %
7,3	100,00
13,7	81,83
13,4	74,07
17,6	28,89
5,6	28,02
10,8	19,08
21,7	19,04
26,5	17,10
28,4	13,41

Bảng B

Chín pic nhiễu xạ tia X của dạng E

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng E, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,3° và 13,7°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng E, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,3°, 13,7°, 13,4°, 17,6°, 5,6°, 10,8°, 21,7°, 26,5°, 28,4°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng E có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.3.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng E, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,3° và 13,7°, trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng E, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,3°, 13,7°, 13,4°, 17,6°, 5,6°, 10,8°, 21,7°, 26,5°, 28,4°, trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Phân tích DSC của dạng E có đường thu nhiệt nóng chảy bắt đầu ở 194,2°C và một pic ở 196,3°C (Fig.4).

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể, dạng I

Dạng I được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một trong số các trị số 2θ dưới đây đo được bằng cách sử dụng bức xạ CuKa: 3,5° và 7,0°. Dạng I được đặc trưng ở chỗ có mẫu nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.5. Mười pic nhiễu xạ tia X được thể hiện trong bảng C:

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ %
3,5	100,00
7,0	41,22
9,5	32,57
6,4	32,54
14,3	25,70
18,0	24,80
16,4	22,12
15,3	10,95
4,7	7,05
21,3	4,54

Bảng C

Mười pic nhiễu xạ tia X của dạng I

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng I, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất ba đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta 3,5°, 7,0° và 9,5°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng I, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 3,5°, 7,0°, 9,5°, 6,4°, 14,3°, 18,0°, 16,4°, 15,3°, 4,7°, 21,3°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng I có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.5.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng I, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất ba đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 3,5°, 7,0° và 9,5°, trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng I, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 3,5°, 7,0°, 9,5°, 6,4°, 14,3°, 18,0°, 16,4°, 15,3°, 4,7°, 21,3°, trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Phân tích DSC của dạng I có đường thu nhiệt nóng chảy bắt đầu ở 193,3°C và một pic ở 195,9°C (Fig.6).

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể, dạng J

Dạng J được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một trong số dưới đây 2θ trị số đo được bằng cách sử dụng bức xạ CuKa: 7,8° và 7,0°. Dạng J được đặc trưng ở chỗ có mẫu nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.7. Mười pic nhiễu xạ tia X được thể hiện trong bảng D:

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ %
7,8	100,00
7,0	49,36
4,9	45,57
15,9	27,11
17,7	20,89
3,4	17,30
20,7	16,71
9,8	14,59
13,9	14,11
12,7	10,83

Bảng D

Mười pic nhiễu xạ tia X của dạng J

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng J, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,8° và 7,0°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng J, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,8°, 7,0°, 4,9°, 15,9°, 17,7°, 3,4°, 20,7°, 9,8°, 13,9°, 12,7°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng J có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.7.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng J, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,8° và 7,0° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, dạng J, có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,8°, 7,0°, 4,9°, 15,9°, 17,7°, 3,4°, 20,7°, 9,8°, 13,9°, 12,7° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Phân tích DSC của dạng J có đường thu nhiệt nóng chảy bắt đầu ở 193,3°C và một pic ở 195,8°C (Fig.8).

Muối 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat hyđroclorua ở các dạng tinh thể, muối mono-HCl dạng A_1

Muối mono-HCl dạng A_1 được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một trong số các trị số 2θ dưới đây đo được bằng cách sử dụng bức xạ CuKa: 12,3° và 13,9°. Muối mono-HCl dạng A_1 được đặc trưng ở chỗ có mẫu nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.9. Chín pic nhiễu xạ tia X được thể hiện trong bảng E:

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ %
12,3	100,00
13,9	40,45
9,3	29,34
23,3	26,42
18,7	20,54
16,0	17,94
24,6	10,24
26,8	8,94
28,0	7,90

Bảng E

Chín pic nhiễu xạ tia X của muối mono-HCl dạng A_1

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối mono-HCl dạng A_1 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 12,3° và 13,9°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối mono-HCl dạng A_1 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 12,3°, 13,9°, 9,3°, 23,3°, 18,7°, 16,0°, 24,6°, 26,8°, 28,0°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối mono-HCl dạng A_1 có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.9.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối mono-HCl dạng A_1 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 12,3° và 13,9° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối mono-HCl dạng A_1 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 12,3°, 13,9°, 9,3°, 23,3°, 18,7°, 16,0°, 24,6°, 26,8°, 28,0°, trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta.

Phân tích DSC của muối mono-HCl dạng A_1 có đường thu nhiệt nóng chảy bắt đầu ở 259,6°C và một pic ở 261,4°C (Fig.10).

Muối 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat suxinat ở các dạng tinh thể, muối suxinat dạng A_8

Muối suxinat dạng A_8 được đặc trưng ở chỗ có ít nhất một trong số các trị số 2θ dưới đây đo được bằng cách sử dụng bức xạ CuKa: 6,5 và 17,7. Muối suxinat dạng A_8 được đặc trưng ở chỗ có mẫu nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản là như được thể hiện trên Fig.11. Chín pic nhiễu xạ tia X được thể hiện trong bảng F:

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ %
6,5	100,00
17,7	31,30
14,7	24,91
9,2	21,73
26,5	14,13
20,2	12,03
13,1	11,74
27,3	9,72
24,0	5,56

Bảng F

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối suxinat dạng A_8 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất ba đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 6,5°, 17,7° và 14,7°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối suxinat dạng A_8 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 6,5°, 17,7°, 14,7°, 9,2°, 26,5°, 20,2°, 13,1°, 27,3°, 24,0°.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối suxinat dạng A_8 có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.11.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối suxinat dạng A_8 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất ba đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 6,5°, 17,7° và 14,7° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ $0,2^o$ 2-theta.

Sáng chế đề xuất các dạng tinh thể, muối suxinat dạng A_8 có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 6,5°, 17,7°, 14,7°, 9,2°, 26,5°, 20,2°, 13,1°, 27,3°, 24,0° trong đó các trị số này có thể là cộng hoặc trừ $0,2^o$ 2-theta.

Phân tích DSC chỉ ra rằng muối suxinat dạng A_8 có đường thu nhiệt nóng chảy bắt đầu ở 191,8°C và một pic ở 194,2°C (Fig.12).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng A

Fig.2: Biểu đồ nhiệt DSC của dạng A

Fig.3: Mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng E

Fig.4: Biểu đồ nhiệt DSC của dạng E

Fig.5: Mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng I

Fig.6: Biểu đồ nhiệt DSC của dạng I

Fig.7: Mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng J

Fig.8: Biểu đồ nhiệt DSC của dạng J

Fig.9: Mẫu nhiễu xạ bột tia X của muối mono-HCl dạng A_1

Fig.10: Biểu đồ nhiệt DSC của muối mono-HCl dạng A_1

Fig.11: mẫu nhiễu xạ bột tia X của muối suxinat dạng A_8

Fig.12: Biểu đồ nhiệt DSC của muối suxinat dạng A_8

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong bản mô tả này, sáng chế đề cập đến các dạng tinh thể, tốt hơn nếu mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 60%, tốt hơn nữa là lớn hơn khoảng 80%, tốt hơn là lớn hơn khoảng 90% và tốt hơn nữa là lớn hơn khoảng 95%. Tốt nhất, nếu mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 98%.

Đã biết rằng các trị số 2-theta của mẫu nhiễu xạ bột tia X có thể thay đổi không đáng kể từ máy này sang máy khác hoặc từ mẫu này sang mẫu khác, và sao cho các trị số đã nêu không được hiểu theo cách tuyệt đối. Đã biết rằng mẫu nhiễu xạ bột tia X có thể thu được có một hoặc nhiều sai số đo tùy thuộc vào các điều kiện đo (như thiết bị hoặc máy đã dùng). Cụ thể, thông thường đã biết rằng cường độ trong mẫu nhiễu xạ bột tia X có thể dao động tùy thuộc vào các điều kiện đo. Do đó, cần phải hiểu rằng các dạng đa hình theo sáng chế là không chỉ giới hạn ở các tinh thể có mẫu nhiễu xạ bột tia X là giống so với mẫu nhiễu xạ bột tia X như đã được thể hiện trên các hình vẽ, và các tinh thể bất kỳ có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương tự như các phổ được thể hiện trên các hình vẽ, là nằm trong phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực về nhiễu xạ tia X có thể đánh giá được tính đồng nhất cơ bản của các mẫu nhiễu xạ bột tia X.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực về nhiễu xạ tia X sẽ nhận thấy rằng cường độ tương đối của các pic có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ, các hạt có kích cỡ lớn hơn 30 micro và tỷ lệ co không đồng nhất, có thể ảnh hưởng tới việc phân tích mẫu. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng nhận thấy rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi độ cao chính xác mà tại đó mẫu đặt trong nhiễu xạ kế và hiệu chuẩn ở mức 0 của nhiễu xạ kế. Mức độ phẳng bề mặt của mẫu cũng có thể bị ảnh hưởng nhỏ. Do đó, dữ liệu của phổ nhiễu xạ đã thể hiện không được đưa ra ở dạng trị số tuyệt đối. (Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Power 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).

Nói chung, sai số đo góc nhiễu xạ ở mẫu nhiễu xạ bột tia X là khoảng cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, và mức độ sai số đo này cần được xem xét khi xem xét các mẫu nhiễu xạ bột tia X đã được thể hiện trên các hình vẽ và bảng. Ngoài ra, cần phải hiểu rằng cường độ có thể dao động tùy thuộc vào các điều kiện thử nghiệm và quy trình điều chế mẫu (hướng được ưu tiên).

Do đó, theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất muối dược dụng của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất muối hyđroclorua của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng A.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng E.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng I.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng J.

Theo một khía cạnh sáng chế, muối hyđroclorua của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng muối mono-HCl dạng A_1.

Theo một khía cạnh sáng chế, muối suxinat của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng muối suxinat dạng A_8.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng A và về cơ bản không chứa các dạng khác bất kỳ.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng E và về cơ bản không chứa các dạng khác bất kỳ.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng I và về cơ bản không chứa các dạng khác bất kỳ.

Theo một khía cạnh sáng chế, 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng J và về cơ bản không chứa các dạng khác bất kỳ.

Theo một khía cạnh sáng chế muối hyđroclorua 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng muối mono-HCl dạng A_1 và về cơ bản không chứa các dạng khác bất kỳ.

Theo một khía cạnh sáng chế muối suxinat của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat ở các dạng tinh thể là dạng muối suxinat dạng A_8 và về cơ bản không chứa các dạng khác bất kỳ.

Thuật ngữ "về cơ bản là không chứa" nghĩa là chứa ít hơn 10% dạng hoặc các dạng khác, chất đồng phân đối ảnh hoặc các chất đồng phân đối ảnh, đặc biệt là ít hơn 5%. Theo một khía cạnh khác, "về cơ bản là không chứa" nghĩa là chứa ít hơn 1% dạng hoặc các dạng khác, chất đồng phân đối ảnh hoặc các chất đồng phân đối ảnh. Trong bản mô tả này, ở dạng cũng bao gồm dạng vô định hình.

Như đã nêu trên, các hợp chất, hoặc muối dược dụng của chúng, đã xác định trong sáng chế có hoạt tính chống lại bệnh ung thư mà được biết là có nguồn gốc từ hoạt tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa, và các đặc tính khác, của các hợp chất, hoặc muối dược dụng của chúng. Các đặc tính này có thể được đánh giá, ví dụ, bằng cách sử dụng các phương pháp được nêu dưới đây.

Thử nghiệm 1: Thử nghiệm phosphoryl hóa tế bào

Dòng tế bào phổi NCI-H3255 (L858R) của người thu được từ Ngân hàng giống chuẩn Hoa kỳ (the American Type Culture Collection). Các tế bào NCI-H3255 được giữ trong môi trường BEBM (Lonza; CC-3171), chứa 10% bào thai bò (fetal bovine serum - FBS) (Gibco; 10099-141), có kèm theo kit BEGM (Lonza; CC-4175). Dòng tế bào phổi PC-9 (EGFR khuyết Exon 19) của người thu được từ Ngân hàng giống chuẩn Hoa kỳ. Các tế bào PC-9 được giữ trong RPMI 1640 (Gibco; 22400-089), chứa 10% bào thai bò. Dòng tế bào phổi NCI-H838 (EGFR kiểu hoang) của người thu được từ Ngân hàng giống chuẩn Hoa kỳ. Các tế bào NCI-H838 được giữ trong RPMI 1640 (Gibco; 22400-089), chứa 10% bào thai bò.

Tất cả các tế bào này được phát triển trong tủ ủ được làm ẩm ở 37°C chứa 5% CO_2. Các thử nghiệm để xác định quá trình phosphoryl hóa tế bào của p-EGFR nội sinh trong các

dịch phân giải tế bào được thực hiện theo quy trình đã mô tả trong kit ELISA Sandwich của thụ thể phospho-EGF PathScan® (Tyr1068) thuộc (Số mục của kit dẫn truyền tín hiệu tế bào #7240).

100µL tế bào được nuôi cấy (32000 tế bào/lỗ) trong RPMI 1640+1% bào thai bò trong Corning Costar - đĩa môi trường nuôi cấy tế bào có 96 lỗ và được ủ ở 37°C chứa 5% CO_2 qua đêm. Các tế bào này được định liều bằng âm thanh nhờ sử dụng Tecan, với các hợp chất được pha loãng theo dãy trong 100% DMSO. Các đĩa tế bào được ủ trong 4 giờ nữa sau khi các hợp chất được bổ sung vào, (đối với NCI-H838: rhEGF (Số mục R&D 236-EG) được bổ sung vào đĩa tế bào với nồng độ cuối bằng 100ng/ml rhEGF để kích thích trong 5 phút), sau đó hút môi trường, 110µL dung dịch đệm phân giải IP (Dung dịch đệm phân giải IP: bổ sung cốc-tai ức chế phosphataza 2&3 với tỷ lệ 1:100 (Số mục Sigma P5726&P0044), cốc-tai ức chế proteaza với tỷ lệ 1:100 (Số mục Sigma P8340) vào dung dịch đệm phân giải Pierce IP (số mục Thermo #87788)) được bổ sung vào mỗi lỗ. Các đĩa này được đặt ở 4°C với tốc độ quay 300 vòng/phút trong 0,5-1 giờ. 100µl dịch phân giải tế bào/lỗ được chuyển vào các đĩa đã phủ (Số mục của kit dẫn truyền tín hiệu tế bào 7240) và được ủ qua đêm ở 4°C với tốc độ quay 300 vòng/phút. Các đĩa được để ở nhiệt độ từ 4°C tăng lên 37°C với tốc độ quay 300 vòng/phút trong 1 giờ. Sau khi hút và rửa các đĩa 1 lần bằng dung dịch đệm rửa, 100µl kháng thể phát hiện (Số mục của kit dẫn truyền tín hiệu tế bào 7240) được bổ sung vào mỗi lỗ. Đĩa được bịt kín bằng dải băng và được ủ trong 2 giờ ở 37°C với tốc độ quay 300 vòng/phút. Sau khi hút và rửa các đĩa 1 lần bằng dung dịch đệm rửa, 100µl kháng thể thứ cấp đã liên kết với HRP (Số mục của kit dẫn truyền tín hiệu tế bào 7240) được bổ sung vào mỗi lỗ. Đĩa được bịt kín bằng dải băng và được ủ trong 1 giờ ở 37°C với tốc độ quay 300 vòng/phút. Sau khi hút và rửa các đĩa 1 lần bằng dung dịch đệm rửa, 100µl cơ chất TMB (Kit dẫn truyền tín hiệu tế bào, số mục 7240) được bổ sung vào mỗi lỗ. Đĩa được bịt kín bằng dải băng và được ủ trong 30 phút ở 37°C với tốc độ 300 vòng/phút. 100µl dung dịch dừng (Số mục của kit dẫn truyền tín hiệu tế bào 7240) được bổ sung vào các đĩa và độ hấp phụ được đọc ở 450nm trong vòng 30 phút trên thiết bị đọc đĩa SpectraMax M5e.

Dữ liệu thu được đối với mỗi hợp chất được đưa vào gói phần mềm thích hợp (như H-BASE) để thực hiện phân tích điều chỉnh đường cong. Từ dữ liệu này, trị số IC_{50} được xác định bằng cách tính nồng độ của hợp chất cần để tạo ra 50% tác dụng.

Dữ liệu thử nghiệm (μM) trong thử nghiệm 1 trong thử nghiệm của sáng chế này cũng như dữ liệu thu được đối với gefitinib và erlotinib được thể hiện trong bảng dưới đây (trong đó n = số lần thử nghiệm lặp lại):

Hợp chất	IC_{50} (NCI-H3255)	IC_{50} (PC-9)	IC_{50} (NCI-H838)
Ví dụ 1	0,0072 ± 0,0013 (n = 12)	0,0074 ± 0,0013 (n = 12)	0,065 ± 0,009 (n = 13)
Ví dụ 3	0,005 (n =1)	0,008 (n =1)	0,04 (n =1)
Ví dụ 4	0,001 (n =1)	0,004 (n =1)	0,04 (n =1)
gefitinib	0,0065 ± 0,002 (n= 42)	0,0062 ± 0,0019 (n = 42)	0,03 ± 0,01 (n = 42)
erlotinib	0,0081 ± 0,0019 (n = 10)	0,0061 ± 0,0019 (n = 10)	0,033 ± 0,007 (n = 10)

Bảng này chỉ ra rằng các hợp chất ở ví dụ 1, ví dụ 2, và ví dụ 3 có tác dụng tương tự như gefitinib và erlotinib.

Thử nghiệm 2: Thử nghiệm về khả năng thẩm thấu qua hàng rào máu não

Cả $K_{p,uu}$ não lẫn $K_{p,uu}$ CSF đều là các thông số chính được đo và được tối ưu hóa trong nghiên cứu phát minh thuốc qua CNS (Di L et al., Journal of Medicinal Chemistry [2013], 56: 2-12). $K_{p,uu}$ não, thể hiện mối liên quan giữa các nồng độ của thuốc không gắn kết trong não và trong máu, dự đoán tác dụng của thuốc ở các khối u di căn trong não. Di căn màng não mềm (leptomeningeal metastasis - LM) là do di căn lan tỏa của bệnh ung thư tới màng não, dẫn tới rối loạn chức năng của hệ thần kinh trung ương. $K_{p,uu}$ CSF thể hiện khả năng phân bố thuốc trong CSF so với khả năng này trong máu, tạo ra đáp ứng của thuốc trong quá trình điều trị di căn màng não mềm.

Thử nghiệm gắn kết ở máu và não in vitro được thực hiện trên đĩa thẩm tách HT (Gales Ferry, CT) có màng bán thấm. Máu pha loãng (tỷ lệ 1:1 bằng DPBS có độ pH = 7,4) và dịch não đồng nhất (tỷ lệ 1:3 bằng DPBS có độ pH = 7,4) được trộn bằng que với 5 μM hợp chất thử nghiệm (lặp lại ba lần) và được thẩm tách đối với thể tích tương đương bằng 150 μL dung dịch đệm PBS 100 mM (độ pH = 7,4) ở 37°C trong 4 giờ ở đĩa quay chậm. Ở

cuối giai đoạn ủ, 50 µL dung dịch từ một bên khoang nhận và 5 µL dung dịch từ buồng cho được lấy ra. 5 µL mẫu được pha loãng tiếp bằng 45 µL máu trống hoặc dịch não đồng nhất. Các mẫu theo cặp được sóng đôi kiểu ma trận với chất đệm hoặc máu trống/dịch não đồng nhất và được trộn trong 2 phút, và sau đó được kết tủa bằng 150 µL axetonitril lạnh chứa 100 ng/mL tolbutamit làm chất chuẩn nội. Sau khi ly tâm ở 4000 vòng/phút trong 20 phút, dịch nổi trên bề mặt được pha loãng với 0,1% dung dịch nước axit formic và được phân tích LC/MS/MS (API 4000, Applied Biosystems, Foster City). Phân đoạn không gắn kết (Unbound fraction - fu) của hợp chất thử nghiệm trong dịch não đồng nhất và máu pha loãng được tính toán bằng tỷ lệ giữa đáp ứng bên của chất đệm với đáp ứng bên của dịch não đồng nhất/máu, và phân đoạn không gắn kết ($f_{u,bl}$ và $f_{u,br}$) của hợp chất thử nghiệm trong máu không pha loãng và mô được tính toán từ fu đo được trong máu đồng nhất và máu pha loãng theo phương trình sau: $f_{u,bl}$ ($f_{u,br}$) = (1/D) / [(1/fu -1) + 1/D)]. D là hệ số pha loãng.

Mô hình về mức độ hấp thu nhanh (short oral absorption - SOA) là mô hình sàng lọc in-vivo để xác định khả năng thẩm thấu của hợp chất vào não. Sáu con chuột đực Han Wistar được mua từ Beijing Vital River được cho dùng liều qua đường miệng với hợp chất với hàm lượng 2 mg/kg trong 1% metylxenluloza. Ở các thời điểm 0,25, 0,5, 1, 2, 4 và 7 giờ sau khi dùng liều, dịch não tủy (CSF) được thu gom từ bể lớn, và các mẫu máu (>60µL/thời điểm/mỗi vị trí) được lấy ra bằng cách chọc dò tim, đưa vào các ống đã đông tụ EDTA riêng rẽ, và sau đó được pha loãng ngay bằng 3 lần thể tích nước. Mô não được thu gom và được làm đồng nhất trong 3 lần thể tích chứa dung dịch nước muối đệm phosphat 100mM (độ pH = 7,4). Tất cả các mẫu được bảo quản ở ~ -70°C trước khi phân tích LC/MS/MS.

Các mẫu chuẩn được điều chế bằng cách trộn bằng que máu trống, dịch não đồng nhất và CSF nhân tạo có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 500 ng/mL. Mô não đồng nhất cùng với mẫu máu được kết tủa bằng cách bổ sung 3 lần thể tích axetonitril lạnh chứa chất chuẩn nội (40 ng/mL đexametason và 40 ng/mL điclofenac), và 10µL mẫu CSF được kết tủa bằng 100 µL axetonitril lạnh chứa chất chuẩn nội. Sau khi xoáy 2 phút và ly tâm 5 phút ở 14.000 vòng/phút, dịch nổi trên bề mặt được phân tích bằng LC/MS/MS (API 4000, Applied Biosystems, Foster City). Hai bộ đường cong chuẩn được chạy ở thời điểm bắt đầu và kết thúc phân tích mỗi mẻ chứa mẫu máu. Đối với các mẫu não và mẫu CSF, một đường cong chuẩn được phân tích cùng với các mẫu thử nghiệm.

Nồng độ não toàn phần, được biểu hiện bằng tỷ lệ não/máu ($Kp_{,não}$) được đo bằng $AUC_{não}/AUC_{máu}$ ở loài gặm nhấm sau khi dùng qua đường miệng. Phân đoạn trống chứa hợp chất thử nghiệm trong ma trận sinh học được xác định bằng thử nghiệm gắn kết ở máu và não in vitro. $K_{p,uu\ não}$ và $K_{p,uu\ CSF}$ được tính toán bằng phương trình sau: $K_{p,uu\ não} = AUC_{não}/AUC_{máu}$ x $(f_{u,não}/f_{u.máu})$ và $K_{p,uu\ CSF} = AUC_{CSF}/(AUC_{máu}$ x $f_{u.máu})$.

Dữ liệu thử nghiệm ở thử nghiệm 2 đối với các ví dụ của đơn sáng chế này cũng như dữ liệu thu được đối với sapitinib (dạng bazơ tự do) được thể hiện trong bảng dưới đây:

Hợp chất	$K_{p,uu\ não}$	$K_{p,uu\ CSF}$
Ví dụ 1	0,8-1,3 (n = 2)	1,0-1,3 (n = 2)
Ví dụ 3	1,6 (n = 1)	2,6 (n = 1)
sapitinib	0,13 (n = 1)	Nằm dưới giới hạn định lượng

chứng tỏ rằng các đặc tính thẩm thấu qua hàng rào não của các hợp chất theo sáng chế, là vượt trội hơn so với sapitinib.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Dược phẩm có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng, ví dụ, ở dạng viên nén hoặc viên nang, để tiêm ngoài đường tiêu hóa (bao gồm tĩnh mạch, dưới da, trong cơ, trong mạch hoặc tiêm truyền) như dung dịch, huyền phù hoặc nhũ tương vô trùng, để dùng khu trú như thuốc mỡ hoặc kem bôi hoặc để dùng theo đường trực tràng như viên đạn. Đặc biệt, dược phẩm có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng.

Nói chung, các dược phẩm nêu trên có thể được bào chế theo cách thông thường bằng cách sử dụng các tá dược thông thường.

Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng cho động vật máu nóng với liều đơn vị nằm trong khoảng 0,01 đến 2000 mg/kg, đặc biệt là 2,5-1000mg/kg, đặc biệt là 5-500mg/kg, và đây là liều hiệu quả có tác dụng điều trị. Tuy nhiên, liều lượng hằng ngày cần thay đổi tùy thuộc vào vật chủ cần điều trị, đường dùng thuốc cụ thể, và mức độ trầm trọng của bệnh cần điều trị. Do đó, liều tối ưu có thể được xác định bởi thầy thuốc đang điều trị cho bệnh nhân cụ thể.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây để dùng trong phương pháp điều trị cho người hoặc động vật bằng cách trị liệu.

Do hoạt tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa của nó, nên mong muốn các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, có tác dụng điều trị các bệnh hoặc các tình trạng bệnh lý trong y khoa chỉ liên quan tới hoặc một phần liên quan tới EGFR đột biến hoạt hóa, ví dụ, bệnh ung thư. Các loại bệnh ung thư có thể nhạy với việc điều trị bằng cách sử dụng các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô. Theo phương án cụ thể của sáng chế, loại bệnh ung thư có thể nhạy với việc điều trị bằng cách sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng là bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC). Theo phương án cụ thể khác, các tế bào NCSLC ở động vật máu nóng đã có hoặc trước đó đã có các thể đột biến hoạt hóa ở gen EGFR.

Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, có tác dụng điều trị các tình trạng bệnh lý, trong đó EGFR đột biến hoạt hóa được bao hàm trong sáng chế. Theo một khía cạnh của sáng chế, trong đó EGFR đột biến hoạt hóa được dùng để chỉ một hoặc nhiều thể đột biến ở vị trí gắn kết ATP (miền kinaza) của gen EGFR, đặc biệt là xung quanh các Exon 18-21, như các thể đột biến được mô tả trong WO 2005/094357. Theo một khía cạnh của sáng chế, trong đó EGFR đột biến hoạt hóa được dùng để chỉ EGFR đột biến hoạt hóa L858R và/hoặc EGFR đột biến hoạt hóa khuyết Exon 19. Theo một khía cạnh của sáng chế, trong đó EGFR đột biến hoạt hóa được dùng để chỉ EGFR đột biến hoạt hóa L858R và EGFR đột biến hoạt hóa khuyết Exon 19. Theo một khía cạnh của sáng chế, trong đó EGFR đột biến hoạt hóa được dùng để chỉ EGFR đột biến hoạt hóa L858R. Theo một khía cạnh khác của sáng chế, trong đó EGFR đột biến hoạt hóa được dùng để chỉ EGFR đột biến hoạt hóa khuyết Exon 19.

Dự định rằng đối với các phương pháp điều trị bệnh ung thư nêu trong bản mô tả này, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng cho động vật có vú, cụ thể hơn là người. Tương tự, việc sử dụng các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, để điều trị bệnh ung thư đã nêu trong bản mô tả này, dự định rằng các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng cho động vật có vú, cụ thể hơn là người.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây để dùng làm thuốc.

Tiếp theo, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây trong việc sản xuất thuốc ức chế EGFR đột biến hoạt hóa ở động vật máu nóng như người.

Về mặt này, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây trong việc sản xuất thuốc để tạo ra tác dụng chống ung thư ở động vật máu nóng như người.

Tiếp theo, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây trong việc sản xuất thuốc để dùng trong việc điều trị bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô.

Tiếp theo, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây trong việc sản xuất thuốc để dùng trong việc điều trị NSCLC.

Mặt khác, sáng chế mô tả phương pháp ức chế EGFR đột biến hoạt hóa ở động vật máu nóng, như người, có nhu cầu cần điều trị bao gồm bước cho động vật này dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây.

Tiếp theo, sáng chế mô tả phương pháp tạo ra tác dụng chống ung thư ở động vật máu nóng, như người, có nhu cầu cần điều trị bao gồm bước cho động vật này dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây.

Tiếp theo, sáng chế mô tả phương pháp tạo ra tác dụng chống ung thư ở động vật máu nóng, như người, có nhu cầu cần điều trị bao gồm các bước (1) xác định xem động vật máu nóng có thể đột biến EGFR hoạt hóa ở tế bào khối u hay không và (2) và nếu có thực hiện cho động vật này dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây.

Tiếp theo, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô, ở động vật máu nóng, như người, có nhu cầu cần điều trị bao gồm bước cho động vật này dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây.

Tiếp theo, sáng chế mô tả phương pháp điều trị NSCLC, ở động vật máu nóng, như người, có nhu cầu cần điều trị bao gồm bước cho động vật này dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây để dùng trong việc ức chế EGFR đột biến hoạt hóa ở động vật máu nóng như người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây để dùng trong việc tạo ra tác dụng chống ung thư ở động vật máu nóng như người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây để dùng trong việc điều trị bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch

cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây để dùng trong việc điều trị NSCLC.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để dùng trong việc ức chế EGFR đột biến hoạt hóa ở động vật máu nóng như người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để dùng trong việc tạo ra tác dụng chống ung thư ở động vật máu nóng như người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để dùng trong việc điều trị bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô ở động vật máu nóng như người.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như được xác định trên đây, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để dùng trong việc điều trị NSCLC ở động vật máu nóng như người.

Theo khía cạnh hoặc phương án bất kỳ trong số các khía cạnh hoặc phương án đã nêu trong bản mô tả này, trong đó bệnh ung thư được đề cập là bệnh ung thư có thể được chọn từ bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh

ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô.

Theo khía cạnh hoặc phương án bất kỳ trong số các khía cạnh hoặc phương án đã nêu trong bản mô tả này, trong đó bệnh ung thư được đề cập, đặc biệt là bệnh ung thư này có thể được chọn từ bệnh ung thư phổi. Theo một khía cạnh khác nữa, đặc biệt là bệnh ung thư này có thể được chọn từ bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Theo một khía cạnh khác nữa, đặc biệt là bệnh ung thư này có thể được chọn từ bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ không di căn. Theo một khía cạnh khác nữa, đặc biệt là bệnh ung thư này có thể được chọn từ bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ di căn.

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng với chất bổ trợ và/hoặc thuốc điều trị ưu tiên và/hoặc thuốc điều trị thay thế cho các bệnh nhân bị NSCLC mang EGFR đột biến hoạt hóa, có và không có di căn CNS, đặc biệt là di căn não và/hoặc di căn màng não mềm.

Theo một khía cạnh khác, bệnh ung thư ở tình trạng không di căn.

Theo một khía cạnh khác, bệnh ung thư ở tình trạng di căn.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt di căn là di căn CNS.

Theo một khía cạnh khác, đặc biệt di căn CNS là di căn não.

Theo một khía cạnh khác, đặc biệt di căn CNS là di căn màng não mềm. Một số bệnh nhân bị NSCLC có di căn CNS nhất định, đặc biệt là di căn não và/hoặc di căn màng não mềm, có các triệu chứng CNS, như chứng nhức đầu và chứng nôn. Đối với các bệnh nhân này, việc xạ trị toàn bộ não (whole brain radiation therapy - WBRT) có thể được sử dụng để cải thiện các triệu chứng này. Hợp chất theo sáng chế có thể có khả năng tăng cường tác dụng kháng khối u của WBRT cũng như cải thiện tiếp các triệu chứng CNS khi được sử dụng kết hợp với WBRT.

Phương pháp điều trị thông qua hoạt tính của EGFR đột biến hoạt hóa đã được xác định trên đây có thể được dùng làm phương pháp trị liệu duy nhất hoặc có thể bao gồm, ngoài hợp chất theo sáng chế, thường phẫu thuật hoặc xạ trị (ví dụ, WBRT như đã nêu trên)

hoặc hóa trị liệu. Phương pháp hóa trị liệu này có thể bao gồm một hoặc nhiều tác nhân chống tạo khối u dưới đây:

(i) kháng thể kháng CTLA-4;

(ii) (2-hyđroxy-etoxy)-amit của axit 6-(4-bromo-2-clo-phenylamino)-7-flo-3-metyl-3H-benzoimiđazol-5-carboxylic (như được bộc lộ trong WO 2007/076245) hoặc muối dược dụng của chúng;

(iii) kháng thể kháng PD-L1;

(iv) 1-[(1S)-1-(imiđazo[1,2-a]pyriđin-6-yl)etyl]-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyrazin (Hợp chất 270 of WO 2011/079804) hoặc muối dược dụng của chúng;

(v) kháng thể kháng PD-1; hoặc

(vi) kháng thể chủ vận OX40.

Đặc biệt, kháng thể kháng CTLA-4 là tremelimumab (như được bộc lộ trong US 6,682,736). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt là kháng thể kháng CTLA-4 là ipilimumab (được bán trên thị trường bởi Bristol Myers Squib dưới tên YERVOY®).

Đặc biệt, "(2-hyđroxy-etoxy)-amit của axit 6-(4-bromo-2-clo-phenylamino)-7-flo-3-metyl-3H-benzoimiđazol-5-carboxylic (như được bộc lộ trong WO 2007/076245) hoặc muối dược dụng của chúng" là muối hyđro sulphat của (2-hyđroxy-etoxy)-amit của axit 6-(4-bromo-2-clo-phenylamino)-7-flo-3-metyl-3H-benzoimiđazol-5-carboxylic. Cụ thể hơn, muối hyđro sulphat là hợp chất:H_2SO_4 với tỷ lệ 1:1.

Đặc biệt, kháng thể kháng PD-L1 là kháng thể như được bộc lộ trong US 20130034559 (MedImmune). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt là kháng thể kháng PD-L1 là kháng thể như đã được bộc lộ trong US 2010/0203056 (Genentech/Roche). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt là kháng thể kháng PD-L1 là kháng thể như đã được bộc lộ trong US 20090055944 (Medarex). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt là kháng thể kháng PD-L1 là kháng thể như đã được bộc lộ US 20130323249 (Sorrento Therapeutics).

Đặc biệt, kháng thể kháng PD-1 là MRK-3475 như được bộc lộ trong WO 2009/114335 và US 8,168,757 (Merck). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt là Nivolumab, kháng thể kháng PD-1 như được bộc lộ trong WO 2006/121168 hoặc US 8,008,449 (Medarex). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt kháng thể kháng PD-1

là kháng thể như được bộc lộ trong WO2009/101611 (CureTech). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt kháng thể kháng PD-1 là kháng thể như được bộc lộ trong WO2012/145493 (Amplimmune). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt là kháng thể kháng PD-1 là kháng thể như được bộc lộ trong US 7,488,802 (Wyeth/MedImmune).

Đặc biệt, kháng thể kháng OX40 là kháng thể như được bộc lộ trong US20110123552 (Crucell). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt kháng thể kháng PD-1 là kháng thể như được bộc lộ trong US 20130280275 (Board of Regents, Univ. of Texas). Theo một khía cạnh khác của sáng chế, đặc biệt kháng thể kháng PD-1 là kháng thể như được bộc lộ trong WO 99/42585 (Agonox) và WO 95/12673 và WO 95/21915.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dạng kết hợp thích hợp để dùng trong việc điều trị bệnh ung thư bao gồm hợp chất có công thức (I) như được xác định trên đây hoặc muối dược dụng của chúng và bất kỳ một trong số các tác nhân chống tạo khối u đã liệt kê trong các mục (i) – (iv) nêu trên.

Do đó, theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã được liệt kê trong các mục (i) – (iv) nêu trên, trong đó thuật ngữ "dạng kết hợp" được sử dụng thì cần phải hiểu rằng thuật ngữ này dùng để chỉ việc dùng đồng thời, riêng rẽ hoặc lần lượt. Theo một khía cạnh của sáng chế, "dạng kết hợp" được dùng để chỉ việc dùng đồng thời. Theo một khía cạnh khác của sáng chế, "dạng kết hợp" được dùng để chỉ việc dùng riêng rẽ. Theo một khía cạnh khác của sáng chế, "dạng kết hợp" được dùng để chỉ việc dùng lần lượt. Khi dùng lần lượt hoặc riêng rẽ, thì việc dùng trì hoãn thành phần thứ hai là không nên để tránh làm giảm tác dụng có lợi của dạng kết hợp.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng dùng để tạo ra hoạt tính EGFR đột biến hoạt hóa.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng dùng để tạo ra tác dụng chống ung thư.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để dùng trong việc điều trị bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tụy, u thần kinh đệm, u nguyên bào xốp, u melanin, bệnh ung thư tiền liệt tuyến, bệnh ung thư bạch cầu, u bạch huyết, u bạch huyết không phải Hodgkin, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư dạ dày, khối u đệm dạ dày-ruột non, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư ống mật, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư thận, u bạch huyết tế bào lớn tự ghép, bệnh ung thư bạch cầu tủy bào cấp tính, u đa tủy, u melanin và u trung biểu mô.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để dùng trong việc điều trị NSCLC.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kit bao gồm hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kit bao gồm:

a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng ở dạng liều đơn vị thứ nhất;

b) tác nhân chống tạo khối u được chọn từ một tác nhân đã liệt kê ở các mục (i) - (iv) nêu trên; ở dạng liều đơn vị thứ hai; và

c) đồ chứa để chứa các dạng liều đơn vị thứ nhất và thứ hai này.

Ngoài việc sử dụng chúng để điều trị trong y khoa, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, là cũng hữu ích làm các công cụ dược lý trong việc phát triển và chuẩn hóa các hệ thống thử nghiệm in vitro và in vivo để đánh giá tác dụng của hoạt

tính ức chế EGFR đột biến hoạt hóa trong các động vật thử nghiệm như mèo, chó, thỏ, khỉ, chuột và chuột nhắt, là một phần nghiên cứu đối với các tác nhân trị liệu mới.

Trong các dấu hiệu về dược phẩm, quy trình, phương pháp, sử dụng và sản xuất thuốc nêu trên, các phương án về các hợp chất theo sáng chế khác và được ưu tiên được nêu trong bản mô tả cũng được dùng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa trong thử nghiệm dưới đây, trong đó thông thường là:

(i) nói chung, chuỗi các phản ứng được thực hiện bằng phổ khối sắc ký lỏng (liquid chromatography - LCMS) hoặc sắc ký mỏng chậm (thin later chromatography -TLC); thời gian phản ứng đưa ra không nhất thiết phải đạt được mức tối thiểu;

(ii) nếu cần, các dung dịch hữu cơ được làm khô trên magie sulfat khan hoặc natri sulfat khan, các quy trình xử lý được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật tách lớp truyền thống, quá trình bay hơi được thực hiện bằng cách bay hơi kiểu quay trong điều kiện áp suất thấp hoặc trong Genevac HT-4/EZ-2.

(iii) hiệu suất, khi cần, không nhất thiết phải đạt hiệu suất tối đa, và nếu cần, các phản ứng được thực hiện lặp lại nếu cần lượng sản phẩm phản ứng lớn hơn;

(iv) nói chung, cấu trúc của các thành phẩm được xác nhận bằng các kỹ thuật cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và/hoặc phổ khối; dữ liệu phổ khối phun điện thu được bằng cách sử dụng Waters ZMD hoặc Waters ZQ LC/quang phổ khối kế thu được cả dữ liệu ion dương và âm, Nói chung, chỉ có các ion liên quan tới cấu trúc gốc được đưa ra; trị số dịch chuyển hóa học proton NMR được đo theo thang delta ở 400 MHz bằng cách sử dụng quang phổ kế Bruker NMR hoặc quang phổ kế Varian NMR. Các chữ viết tắt dưới đây được sử dụng: s, vạch đơn; d, vạch đôi; pd, vạch đôi một phần; t, vạch ba; q, vạch bốn; m, vạch bội; br, rộng. Các proton có thể trao đổi được thường không quan sát được hoặc được thông báo trong NMR của thành phẩm do nó trao đổi với dung môi đã được đơtori hóa hoặc nước đã được đơtori hóa thích hợp trong dung môi hoặc tín hiệu được phân giải yếu và/hoặc rất rộng;

(v) sản phẩm trung gian không cần được tinh chế hoàn toàn nhưng cấu trúc và độ tinh khiết của chúng được đánh giá bằng TLC, HPLC phân tích và/hoặc phân tích NMR;

(vi) trừ khi có chỉ dẫn khác, cột sắc ký (bằng cách diễn ra nhanh) và sắc ký lỏng hiệu suất trung bình (MPLC) được thực hiện trên silic oxit Merck Kieselgel (Art. 9385) hoặc

bằng cách sử dụng các hộp silic oxit đã đóng gói sơ bộ trên thiết bị sắc ký nhanh (SFC) bán tự động (ví dụ, CombiFlash Companion); và

(vii) các chữ viết tắt dưới đây được sử dụng:

Boc	tert-butyloxycacbonyl;
CD_3OD	đơterometanol;
DMSO-d_6	hexađơterođimetylsulfoxit;
$CDCl_3$	đơterocloform;
PE	ete dầu mỏ;
IPA	isopropanol;
iPrOAc	isopropyl axetat;
MTBE	metyl tert-butyl ete;
DCM	điclometan;
THF	tetrahyđrofuran;
RT	nhiệt độ trong phòng;
MeOH	metanol;
EtOH	etanol; và
EtOAc	etyl axetat.

Nhiễu xạ tia X trên mẫu bột

Thiết bị phân tích: Panalytical Empyrean. Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột được xác định bằng cách đưa mẫu chứa nguyên liệu tinh thể lên dụng cụ giữ tinh thể đơn Si và dát mỏng mẫu lên lớp mỏng với sự trợ giúp của tấm kính của kính hiển vi. Vị trí 2θ được định cỡ theo tiêu chuẩn bột Si Panalytical 640. Mẫu được bức xạ bằng các tia X tạo ra bởi ống hội tụ lớn, dài bằng đồng vận hành ở 45kV và 40mA với bước sóng Kα1 = 1,540598 ăngxtrom và Kα2 = 1,544426 ăngxtrom (tỷ lệ cường độ Kα2/ Kα1 bằng 0,50). Nguồn tia X chuẩn trực được cho đi qua bộ khe phân kỳ chạy theo chương trình ở 10 mm và việc phát tia phản xạ trực tiếp qua khe chống tán xạ 5,5 mm. Mẫu được tiếp xúc trong 12,7 giây trên số gia 2-theta là 0,0167° (mô hình quét liên tục) trong khoảng từ 3 đến 40 độ 2-theta theo kiểu theta-theta. Thời gian chạy là 3 phút và 57 giây. Thiết bị được trang bị bộ dò RTMS (X'Celerator). Việc bắt giữ đối chứng và dữ liệu được thực hiện bằng Dell Optiplex 780 XP xử lý bằng phần mềm thu thập dữ liệu. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực về nhiễu xạ tia X trên

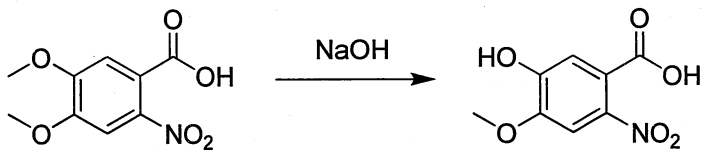
mẫu bột sẽ biết rằng cường độ tương đối của các pic có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ, các hạt có kích cỡ lớn hơn 30 micro và tỷ lệ co không đơn nhất có thể ảnh hưởng tới việc phân tích các mẫu. Các Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng sẽ biết rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi độ cao chính xác mà tại đó mẫu được đặt trong nhiễu xạ kế và hiệu chuẩn ở mức 0 của nhiễu xạ kế. Mức độ phẳng bề mặt mẫu cũng có thể có ảnh hưởng nhỏ. Do đó, dữ liệu của phổ nhiễu xạ có mặt không được đưa ra ở dạng trị số tuyệt đối.

Đo nhiệt lượng quét phân biệt

Thiết bị phân tích: Các thiết bị TA Q200 hoặc Q2000 DSC. Nguyên liệu thường ít hơn 5mg được đựng trong khay nhôm tiêu chuẩn được đậy bằng nắp được gia nhiệt trong khoảng nhiệt độ từ 25°C đến 300°C với tốc độ gia nhiệt cố định bằng 10°C trên một phút. Khí sạch sử dụng nitơ được sử dụng ở tốc độ chảy 50ml trên một phút.

Hợp chất trung gian 1

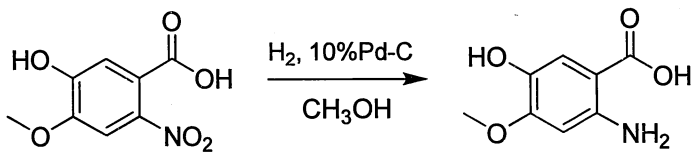
Axit 5-hyđroxy-4-metoxy-2-nitrobenzoic



Axit 4,5-đimetoxy-2-nitrobenzoic (145 g, 0,639 mol) được hoà tan trong dung dịch chứa natri hyđroxit (6N, 600mL) và được gia nhiệt ở 100°C trong 3 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, và được rót vào hỗn hợp chứa axit clohyđric đậm đặc và nước đá đập nhỏ (độ pH<2). Hỗn hợp này được lọc, và bánh lọc được làm khô để tạo ra hợp chất trung gian 1 (149 g, thô) ở dạng chất rắn màu vàng, được sử dụng tiếp mà không cần tinh chế thêm. ^{1}H NMR (DMSO-d_6 400MHz): δ7,34 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 3,80 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 2

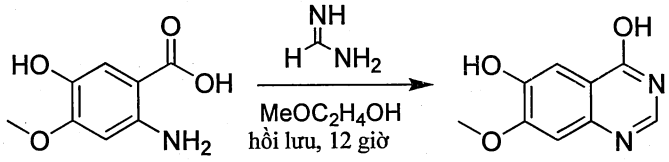
Axit 2-amino-5-hyđroxy-4-metoxybenzoic



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 1 (50 g, 93,85mmol) và 10% Pd/C (5 g) trong MeOH (1,2 L) được khuấy trong môi trường khí H_2 (50 psi) ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp được lọc và được rửa bằng MeOH (10 x 1 L). Các phần chiết MeOH đã gom lại được cô để thu được hợp chất trung gian 2 (27,7 g, hiệu suất 64%) ở dạng chất rắn màu đen được sử dụng tiếp mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian 3

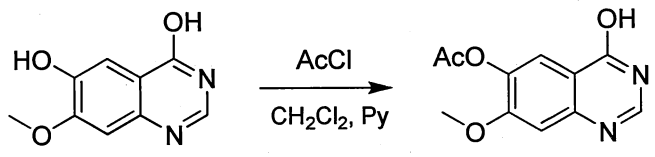
7-Metoxyquinazolin-4,6-điol



Bổ sung formamiđin (101 g, 0,96 mol) vào huyền phù chứa hợp chất trung gian 2 (88g, 0,48 mol) trong 2-metoxyetanol (2 L) và hỗn hợp phản ứng được hồi lưu qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô, được pha loãng bằng nước (1,5 L) và được trung hoà (đến độ pH = 7) bằng amoniac. Hỗn hợp này được lọc và phần kết tủa được rửa bằng nước. Phần kết tủa này được làm khô trong điều kiện áp suất thấp để thu được hợp chất trung gian 3 ở dạng chất rắn màu nâu (62 g, hiệu suất 67%). ^{1}H NMR (DMSO-d_6 400MHz): δ 7,89 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 3,88 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 4

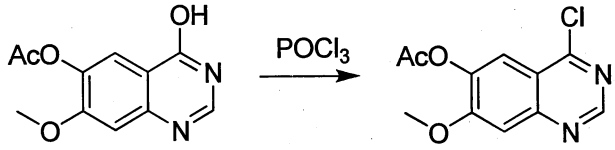
4-Hyđroxy-7-metoxyquinazolin-6-yl axetat



Bổ sung từng giọt axetic clorua (52,9 g, 0,68 mol) vào huyền phù chứa hợp chất trung gian 3 (52 g, 0,27 mol) và pyriđin (53,6 g, 0,68 mol) trong DCM khan (1 L) và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được rót vào nước (1 L) và được chiết một vài lần bằng DCM. Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4, được cô để thu được hợp chất trung gian 4 là chất rắn màu đen (63,2 g, hiệu suất 100%). ^{1}H NMR (DMSO-d_6 400MHz): δ 8,62 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 3,95 (s, 3H), 2,74 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 5

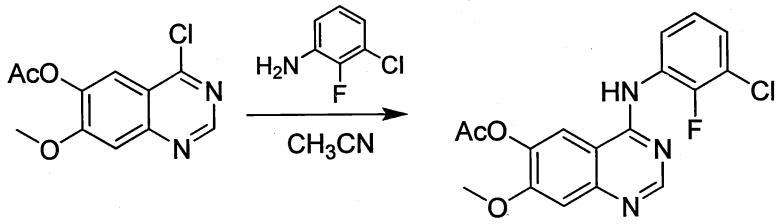
4-clo-7-metoxyquinazolin-6-yl axetat



Huyền phù chứa hợp chất trung gian 4 (75,6 g, 0,323 mol) trong $POCl_3$ (287mL) được gia nhiệt tới hồi lưu trong 0,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô và được pha loãng bằng DCM (500mL), được rót vào nước (500mL), được lọc và được rửa bằng DCM. Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 và được cô. Tinh chế bằng sắc ký (PE/EtOAc = 1/1) để thu được hợp chất trung gian 5 (55 g, hiệu suất 67%) ở dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR ($CDCl_3$ 400MHz): δ 8,95 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 2,39 (s, 1H).

Hợp chất trung gian 6

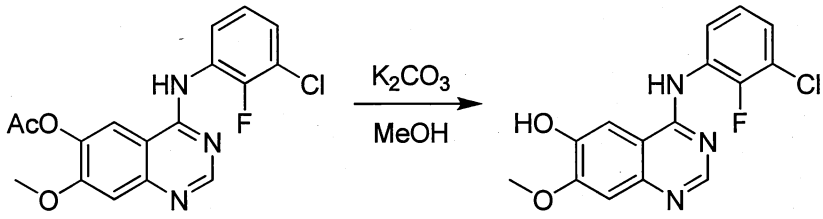
4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl axetat



Bổ sung 2-flo-3-cloanilin (60,5 g, 0,416 mol) vào huyền phù chứa hợp chất trung gian 5 (100 g, 0,396 mol) trong axetonitril (4 L) và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt tới 80°C qua đêm. Phần kết tủa được thu gom bằng cách lọc và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất trung gian 6 (181 g, độ tinh khiết 80%) ở dạng chất rắn màu trắng được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế. ^1H NMR (DMSO-d_6 400MHz): δ 8,93 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 7,67-7,63 (m, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,56-7,52 (m, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 4,02 (s, 3H), 2,39 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 7

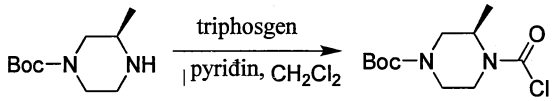
4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-ol



Bổ sung kali cacbonat (138 g, 1 mol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 6 (181g, 0,396 mol) trong MeOH (2 L) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc và chất rắn được rửa bằng MeOH. Phần lọc được cô trong chân không để thu được hợp chất trung gian 7 (280 g, độ tinh khiết 60%, chứa kali cacbonat). ^{1}H NMR (DMSO-d_6 400MHz): δ 8,01 (s, 1H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,27-7,24 (m, 1H), 7,17-7,13 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 3,79 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 8

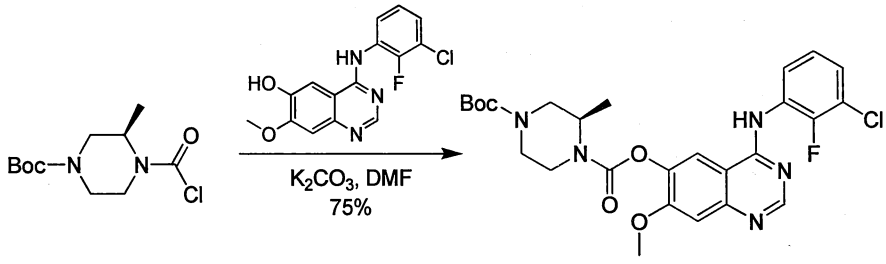
tert-Butyl (3R)-4-(clocacbonyl)-3-metylpiperazin-1-carboxylat



Bổ sung từng giọt pyriđin (18 g, 225mmol), tiếp đó là bổ sung tert-butyl (3R)-3-metylpiperazin-1-carboxylat (15 g, 75mmol) vào hỗn hợp chứa triphosgen (23 g, 75mmol) trong DCM khan (250mL) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. TLC chỉ rằng ra nguyên liệu ban đầu được tiêu thụ. Hỗn hợp này được cô để thu được hợp chất trung gian 8 ở dạng chất rắn màu vàng, được sử dụng tiếp mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian 9

4-tert-butyl 1-{4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl} (2R)-2-metyl-piperazin-1,4-đicarboxylat

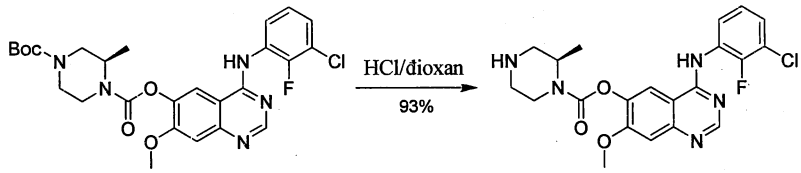


Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 7 (19,2 g, 60mmol), hợp chất trung gian 8 được điều chế theo quy trình nêu trên và kali cacbonat (16,6 g, 120mmol) trong DMF khan

(300mL) được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (250mL) và được lọc, và bánh lọc được làm khô trong chân không để thu được hợp chất trung gian 9 (25 g, hiệu suất 75%) ở dạng chất rắn màu vàng. HPLC: t_R = 2,68 phút trong sắc ký đồ 10-80AB_6 phút (Ultimate XB-C18, 3,0*50 mm, 3 um). LCMS: t_R = 0,792 phút trong sắc ký đồ 5-95AB_1,5 phút (Welch Xtimate C18, 2,1*30 mm, 3 um), MS (ESI) m/z 546,0 $[M+H]^+$.

Hợp chất trung gian 10

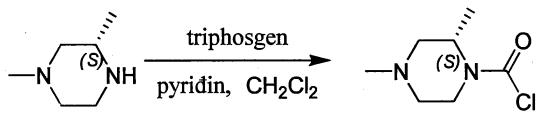
4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2-metylpiperazin-1-carboxylat



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 9 (8,3 g, 15mmol) trong DCM (100mL) và HCl/đioxan (10mL, 4M) được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc, phần rắn được gom lại và tái hòa tan trong nước, và sau đó được điều chỉnh đến độ pH = 8 bằng $NaHCO_3$ bão hoà. Phần kết tủa được thu gom và được rửa bằng CH_2Cl_2. Chất rắn được làm khô trong chân không để tạo ra sản phẩm trung gian 10 (8 g, độ tinh khiết 85%) ở dạng chất rắn màu vàng. Sản phẩm thô này được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế.

Hợp chất trung gian 11

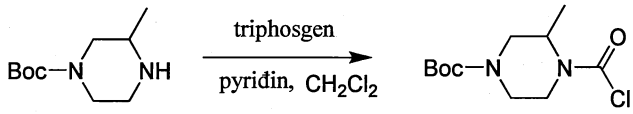
(S)-2,4-đimetylpiperazin-1-cacbonyl clorua



Bổ sung từng giọt pyriđin (2,3 g, 28,0mmol) ở 0°C tiếp đó là bổ sung (S)-1,3-đimetylpiperazin (800 mg, 7,0mmol) trong DCM (30mL) vào dung dịch chứa triphosgen (1,04 g, 3,5mmol) trong DCM (20mL) trong điều kiện nitơ, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm như được kiểm tra bằng TLC (R_f = 0,9, PE: EtOAc = 1:1). Hỗn hợp được cô để tạo ra hợp chất trung gian 11 (3 g, thô) được sử dụng mà không cần tinh chế.

Hợp chất trung gian 12

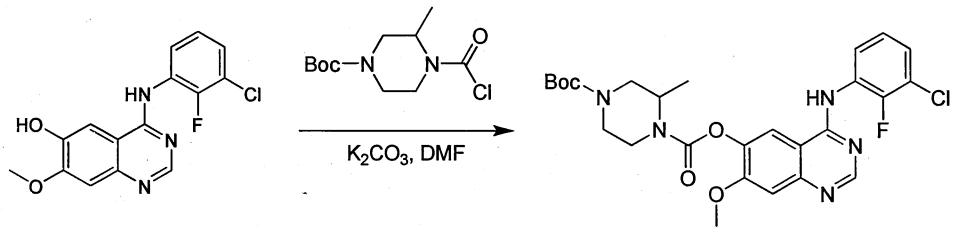
(±)-tert-Butyl (4-(clocacbonyl)-3-metylpiperazin-1-carboxylat



Bổ sung từng giọt pyriđin (18 g, 225mmol,) tiếp đó là bổ sung (±)-tert-butyl 3-metylpiperazin-1-carboxylat (15 g, 75mmol) ở 0°C vào hỗn hợp chứa triphosgen (23 g, 75mmol) trong DCM khan (250mL). Hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. TLC chỉ ra rằng nguyên liệu ban đầu được tiêu thụ. Hỗn hợp này được cô để thu được hợp chất trung gian 12 ở dạng chất rắn màu vàng, được sử dụng tiếp mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian 13

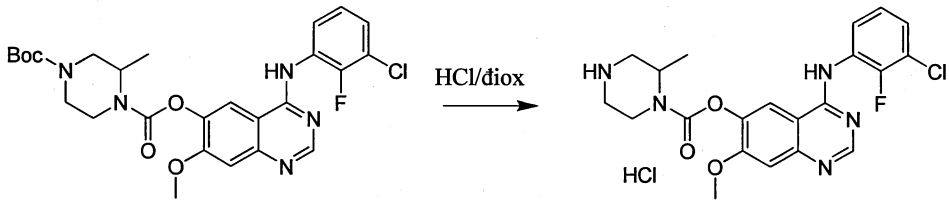
(±)-4-tert-Butyl 1-{4-[(2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl}2-metylpiperazin-1,4-đicarboxylat



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 7 (19,2 g, 60mmol), hợp chất trung gian 12 được điều chế theo quy trình nêu trên và kali cacbonat (16,6 g, 120mmol) trong DMF khan (300mL) được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (250mL) và được lọc, và bánh lọc được làm khô trong chân không để thu được hợp chất trung gian 13 (25 g, hiệu suất 75%) ở dạng chất rắn màu vàng. HPLC: t_R = 2,68 phút trong sắc ký đồ 10-80AB_6 phút (Ultimate XB-C18, 3,0*50 mm, 3 um). LCMS: t_R = 0,792 phút trong sắc ký đồ 5-95AB_1,5 phút (Welch Xtimate C18, 2,1*30 mm, 3 um), MS (ESI) m/z 546,0 $[M+H]^+$.

Hợp chất trung gian 14:

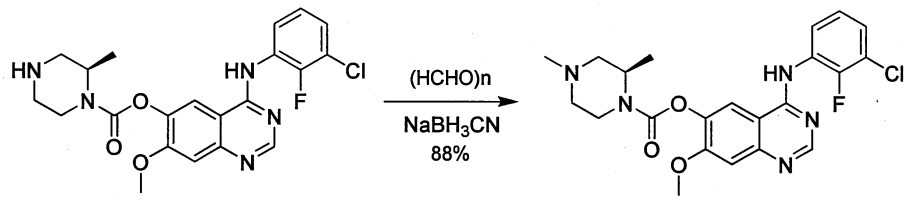
(±)-4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl-2-metylpiperazin-1-carboxylat



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 13 (25 g, 46mmol) trong dung dịch chứa HCl/đioxan (250mL, 4M) được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Chất rắn được thu gom và tái hòa tan trong nước, và sau đó được điều chỉnh đến độ pH = 8 with bão hoà $NaHCO_3$. Phần kết tủa được thu gom và được rửa bằng CH_2Cl_2. Chất rắn được làm khô trong chân không để tạo ra sản phẩm (19 g, hiệu suất 93%) ở dạng chất rắn màu vàng. HPLC: t_R = 1,58 phút trong sắc ký đồ 10-80AB_6 phút (Ultimate XB-C18, 3,0*50 mm, 3 um). LCMS: t_R = 0,638 phút trong sắc ký đồ 5-95AB_1,5 phút (Welch Xtimate C18, 2,1*30 mm, 3 um), MS (ESI) m/z 445,1 $[M+H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD 400 MHz): δ 8,44 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,60 (t, 1H), 7,39 (t, 1H), 7,27-7,20 (m, 2H), 4,41 (s, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,08-2,79 (m, 4H), 1,43 (brs, 3H).

Ví dụ 1

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat



Bổ sung natri xyanoborohyđrit (2 g, 32mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 10 (8 g, 15mmol, độ tinh khiết 85%) và paraformalđehyt (1 g, 32mmol) trong MeOH (100mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không, phần cặn lắng được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc (3x100mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng nước muối, được làm khô trên natri sulfat khan và được cô trong điều kiện áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo (cột: synergi 77*250,10um, građien: 5-35% B (A = nước/0,05% axit formic, B = axetonitril), tốc độ chảy: 140mL/phút). Sản phẩm mong muốn chứa phân đoạn này được trung hòa bằng dung dịch kali cacbonat bão hoà và được chiết bằng EtOAc. Lớp

hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được đông khô để tạo ra hợp chất ở ví dụ 1 (4 g, hiệu suất 58% trong 2 bước) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS: t_R = 1,406 phút trong sắc ký đồ 4 phút, MS (ESI) m/z 460,0 $[M+H]^+$

SFC: t_R = 1,637 phút trong sắc ký đồ 3 phút (Chiralpak AD-3 50*4,6mm I.D, 3um), MS (ESI) m/z 460,1 $[M+H]^+$

^1H NMR ($CDCl_3$ 400MHz): δ 8,76 (s, 1H), 8,53-8,48 (m, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,44 (brs, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,19 - 7,15 (m, 2H), 4,51-4,50 (m, 1H), 4,20-4,05 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,50-3,30 (m, 1H), 2,87 (d, 1H), 2,73 (d, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,35-2,25 (m, 1H), 2,13-2,11 (m, 1H), 1,47 (s, 3H).

Ví dụ 1, dạng A

Nguyên liệu dạng A được tạo ra bằng cách gia nhiệt hợp chất ở ví dụ 1 tới 140°C. Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được đặt vào khay nhôm. Khay này được gia nhiệt tới 140°C với tốc độ gia nhiệt 10°C/phút bằng cách sử dụng phương pháp đo nhiệt lượng quét phân biệt (DSC) và sau đó được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng trong điều kiện khí nitơ.

Nguyên liệu dạng A cũng được tạo ra bằng cách làm bay hơi chậm hợp chất ở ví dụ 1 trong IPA. Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được cân vào lọ nhỏ dung tích 3 mL, 0,25mL IPA được bổ sung để hòa tan chất rắn. Sau khi làm bay hơi ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ, hợp chất ở ví dụ 1 (dạng A) thu được.

Nguyên liệu dạng A cũng được tạo ra bằng cách tạo huyền phù đặc hợp chất ở ví dụ 1 trong MTBE trong 24 giờ ở 50°C. Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được cân vào lọ nhỏ dung tích 3 mL, 1mL MTBE được bổ sung và sau đó huyền phù được khuấy trong 24 giờ ở 50 °C để thu được hợp chất ở ví dụ 1 (dạng A).

Nguyên liệu dạng A cũng được tạo ra bằng cách bổ sung kháng dung môi EtOAc/heptan. Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được cân vào lọ nhỏ dung tích 5 mL, 1mL EtOAc được bổ sung để hòa tan chất rắn và 4mL kháng dung môi heptan được bổ sung từ từ vào lọ nhỏ này. Hỗn hợp này được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng để thu được hợp chất ở ví dụ 1 (dạng A).

Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của hợp chất ở ví dụ 1 (dạng A) chứng tỏ rằng nguyên liệu là ở dạng tinh thể. Nguyên liệu này có điểm nóng chảy bằng 192,4°C (ban đầu).

Ví dụ 1, dạng E

Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được cân vào lọ nhỏ dung tích 5mL, 0,25mL THF được bổ sung để hòa tan chất rắn, sau đó 4mL kháng dung môi heptan được bổ sung vào lọ nhỏ này và hỗn hợp được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi tách riêng chất rắn. Mẫu (dạng E) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 194,2°C (ban đầu).

Ví dụ 1, dạng I

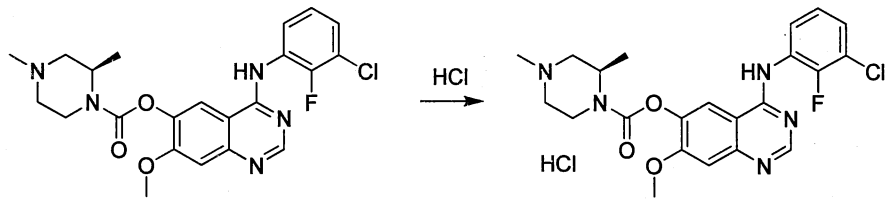
Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được cân vào lọ nhỏ dung tích 3mL, bổ sung 1mL H_2O vào lọ nhỏ này và huyền phù được khuấy trong 24 giờ ở 50°C trước khi tách riêng chất rắn. Mẫu (dạng I) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 193,3°C (ban đầu).

Ví dụ 1, dạng J

Khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 được cân vào lọ nhỏ dung tích 3mL, bổ sung 1mL H_2O vào lọ nhỏ này và huyền phù được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi tách riêng chất rắn. Mẫu (dạng J) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 193,3°C (ban đầu).

Ví dụ 2

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat hyđroclorua



12 12A

Hợp chất ở ví dụ 1 (1,8 g) được hoà tan trong axetonitril (5mL), sau đó bổ sung từ từ HCl 1N (5mL), dung dịch được làm khô bằng cách đông khô để tạo ra hợp chất ở ví dụ 2 (1,93 g) ở dạng chất rắn màu vàng. LC-MS: t_R = 1,355 phút trong sắc ký đồ 4 phút, MS (ESI) m/z 460,1 $[M+H]^+$. SFC: t_R = 1,773 phút trong sắc ký đồ 3 phút (Chiralpak AD-3 50*4,6mm I.D, 3um), MS (ESI) m/z 460,1 $[M+H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD 400 MHz): δ 8,55 (s, 1H), 8,33 -

8,16 (m, 1H), 7,56 (t, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,33 (s, 1H), 7,28 - 7,20 (m, 1H), 4,81 - 4,59 (m, 1H), 4,52 - 4,15 (m, 1H), 4,10 - 3,95 (m, 3H), 3,74 - 3,48 (m, 3H), 3,35 (br. s., 1H), 3,24 - 3,09 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 1,54 (br. s., 3H). $[\alpha]_D^{25}$ = -14,96 (c10, DMSO).

Tạo ra muối mono-HCl dạng A_1 ở ví dụ 2

Bổ sung 0,35mL oIPA, tiếp đó là 0,217mL axit clohyđric vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1. Dung dịch được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khoảng 24 giờ, mẫu được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng bằng chân không. Dạng (muối mono-HCl dạng A_1) này được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 259,6 °C (ban đầu).

Muối mono-HCl dạng A_1 cũng được tạo ra bằng phản ứng kết tinh của hợp chất ở ví dụ 1 và axit clohyđric trong EtOH ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 0,35mL EtOH vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 để hòa tan chất rắn, sau đó 0,217mL axit clohyđric được bổ sung vào dung dịch này. Dung dịch được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khoảng 24 giờ, mẫu được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng bằng chân không. Dạng (muối mono-HCl dạng A_1) này được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 259,6 °C (ban đầu).

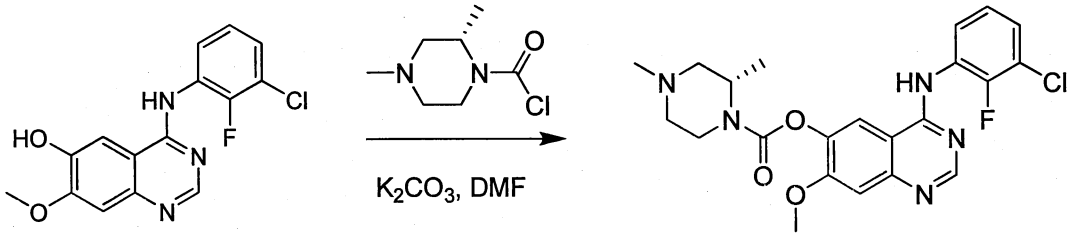
Muối mono-HCl dạng A_1 cũng được tạo ra bằng phản ứng kết tinh của hợp chất ở ví dụ 1 và axit clohyđric trong axeton ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 0,35mL axeton vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1, để hòa tan chất rắn, tiếp đó là 0,217mL axit clohyđric. Dung dịch này được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khoảng 24 giờ, mẫu được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng bằng chân không. Dạng (muối mono-HCl dạng A_1) này được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 259,6°C (ban đầu).

Muối mono-HCl dạng A_1 cũng được tạo ra bằng phản ứng kết tinh hợp chất ở ví dụ 1 và axit clohyđric trong THF ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 0,35mL THF vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 để hòa tan chất rắn, sau đó 0,217mL axit clohyđric được bổ sung. Dung dịch được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khoảng 24 giờ, mẫu được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng bằng chân không. Dạng (muối mono-HCl dạng A_1) này được xác

định là dạng tinh thể bằng XRPD và nhận thấy có sự khác biệt so với các dạng trước đó. Nguyên liệu này có điểm nóng chảy bằng 259,6°C (ban đầu).

Ví dụ 3

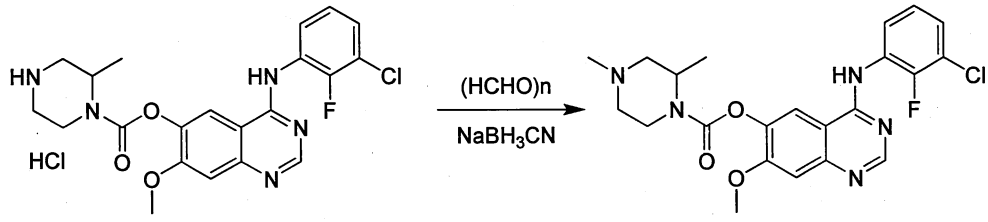
4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2S)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat



Dung dịch chứa hợp chất trung gian 7 (150 mg, 0,47mmol), hợp chất trung gian 11 (1 g, thô) và K_2CO_3 (130 mg, 0,94mmol) trong N,N-đimetyl-formamit (10mL) được khuấy ở 30°C qua đêm như được kiểm tra bằng LCMS. Dung dịch này được lọc và được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo (cột: ASB 150*25mm*5um, gradien: 3-28% B (A = nước/0,05% HCl, B = axetonitril), tốc độ chảy: 30mL/phút) để tạo ra hợp chất ở ví dụ 3 (21,0 mg). LC-MS t_R = 1,156 phút trong sắc ký đồ 4 phút, MS (ESI) m/z 460,0 $[M+H]^+$ SFC: t_R = 2,084 phút trong sắc ký đồ 3 phút (Chiralpak AD-3 50*4,6mm I.D, 3um), MS (ESI) m/z 460,1 $[M+H]^+$; ^1H NMR (CD_3OD, 400MHz): δ8,77 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 7,57-7,50 (m, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,32-7,28 (m, 1H), 4,51-4,21 (m, 1H), 4,10 (s, 3H), 3,77-3,35 (m, 5H), 3,27-3,17 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 1,58-1,49 (m, 3H).

Ví dụ 4

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (±) 2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 14 (1,0 g, 2,0mmol, độ tinh khiết 96%), paraformalđehyt (200 mg, 6,6mmol), axit axetic (400 mg, 6,6mmol) trong MeOH (15mL) được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Natri xyanoborohyđrit (400 mg, 6,6mmol)

được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy trong 2 giờ tiếp. Hỗn hợp được xử lý và được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo (cột: ASB, građien: 5-30% B (A = nước/0,05% HCl, B = axetonitril), tốc độ chảy: 30mL/phút) để tạo ra hợp chất ở ví dụ 4 (300 mg, 27%) ở dạng chất rắn màu trắng. LC-MS t_R = 1,099 phút trong sắc ký đồ 4 phút, MS (ESI) m/z 460,1 $[M+H]^+$; ^1H NMR (CD_3OD 400 MHz): δ 8,79 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,58-7,52 (dd, 2H), 7,45 (s, 1H), 7,34-7,30 (t, 1H), 4,71-4,30 (m, 2H), 4,13 (s, 3H), 3,75-3,58 (m, 3H), 3,55-3,42 (m, 1H), 3,27 (s, 1H), 3,02 (s, 3H), 1,62-1,53 (m, 3H).

Ví dụ 5

Các dạng tinh thể khác của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat

Dạng bazơ tự do	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
Dạng A	Dạng bazơ tự do vô định hình được gia nhiệt tới 135°C (10°C/phút)	23,3, 14,3, 9,4	100,00, 83,70, 78,08	192,4
	Bay hơi từ từ: IPA, iPrOAc			
	Huyền phù đặc trong heptan, MTBE, DCM/heptan (1/4, thể tích/thể tích), THF/heptan (1/4, thể tích/thể tích), iPrOAc/heptan (1/4, thể tích/thể tích) ở nhiệt độ trong phòng			

Dạng bazơ tự do	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
	Huyền phù đặc trong heptan, MTBE, axeton/H_2O (1/4, thể tích/thể tích), MeOH/ H_2O (1/4, thể tích/thể tích), EtOH/H_2O (1/4, thể tích/thể tích), THF/ H_2O (1/4, thể tích/thể tích), DCM/heptan (1/4, thể tích/thể tích), THF/heptan (1/4, thể tích/thể tích), iPrOAc/heptan (1/4, thể tích/thể tích), EtOH/heptan (1/4, thể tích/thể tích) ở 50°C			
	Bổ sung kháng dung môi (dung môi/kháng dung môi): EtOAc/heptan, DCM/heptan			
	Nghiền ẩm: axeton, EtOAc			
Dạng B	Huyền phù đặc trong axeton/ H_2O (1/4, thể tích/thể tích), MeOH/ H_2O (1/4, thể tích/thể tích), EtOH/ H_2O (1/4, thể tích/thể tích), THF/ H_2O (1/4, thể tích/thể tích) ở nhiệt độ trong phòng	6,3, 3,1, 12,6	100,00, 52,07, 35,29	N/A
	Bổ sung kháng dung môi (dung môi/kháng dung môi): MeOH/ H_2O, THF/ H_2O, Đioxan/H_2O			
	Nghiền ẩm: EtOH/ H_2O (1/1, thể tích/thể tích)			
Dạng C	Bay hơi từ từ: THF	15,6, 8,6, 13,9	100,00, 60,20, 34,59	N/A
	Bổ sung kháng dung môi (dung môi/kháng dung môi): đioxan/hepan			

Dạng bazơ tự do	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
Dạng D	Bay hơi từ từ: EtOH Huyền phù đặc trong EtOH/heptan (1/4, thể tích/thể tích) ở nhiệt độ trong phòng Bổ sung kháng dung môi (dung môi/kháng dung môi): EtOH/MTBE	7,3, 11,4, 21,0	100,00, 39,48, 23,59	N/A
Dạng E	Bổ sung kháng dung môi (dung môi/kháng dung môi): THF/heptan	7,3, 13,7, 13,4	100,00, 81,83, 74,07	93,0
Dạng F	Bay hơi từ từ: axeton	9,3, 16,0, 21,6	100,00, 69,50, 57,55	N/A
Dạng G	Bay hơi từ từ: axeton Nghiền ẩm: DCM	5,1, 7,2, 17,0	100,00, 12,14, 8,13	N/A
Dạng H	Bay hơi từ từ: MeOH Nghiền ẩm: MeOH	7,7, 21,2, 19,5	100,00, 41,70, 39,40	N/A
Dạng I	Huyền phù đặc trong H_2O ở 50°C	3,5, 7,0, 9,5	100,00, 41,22, 32,57	193,3
Dạng J	Huyền phù đặc trong H_2O ở nhiệt độ trong phòng	7,8, 7,0, 4,9	100,00, 49,36, 45,57	N/A

Ví dụ 6

Các dạng muối khác của 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat

Dạng muối	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
Muối HCl dạng A_1	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit clohyđric trong IPA, EtOH, axeton hoặc THF ở nhiệt độ trong phòng	12,3, 13,9, 9,3	100,00, 40,45, 29,34	259,6
Muối HCl dạng B_1	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit clohyđric trong EtOH/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	6,6, 13,2, 12,6	100,00, 52,30, 38,68	N/A
Sulfat Dạng A_2	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit sulfuric trong IPA ở nhiệt độ trong phòng	19,8, 20,4, 22,3	100,00, 36,69, 26,58	N/A
Sulfat Dạng B_2	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit sulfuric trong EtOH, axeton, THF hoặc EtOH/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng	7,2, 16,7, 14,5	100,00, 68,32, 45,68	223,7
Phosphat Dạng A_3	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit phosphoric trong EtOH ở nhiệt độ trong phòng	7,0, 16,5, 22,4	100,0, 61,81, 29,12	206,0
Phosphat Dạng B_3	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit phosphoric trong EtOH/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng	5,1, 23,4, 11,9	100,00, 18,27, 16,19	177,8
Maleat Dạng A_4	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit maleic trong IPA ở nhiệt độ trong phòng	4,9, 6,6, 12,6	100,00, 93,00, 30,51	108,1

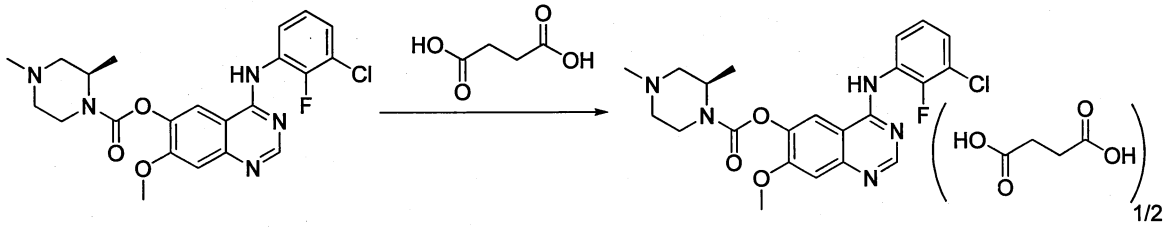
Dạng muối	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit maleic trong axeton ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi			
Maleat Dạng B_4	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit maleic trong DCM hoặc THF ở nhiệt độ trong phòng	6,7, 4,5, 20,2	100,00, 26,67, 11,01	120,0
Maleat Dạng C_4	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit maleic trong EtOH/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	6,3, 8,5, 10,6	100,00, 87,86, 63,25	N/A
Tartrat Dạng A_5	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và tartric axit trong EtOH hoặc EtOH/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng	13,3, 6,6, 17,6	100,00, 63,41, 49,61	158,5
Fumarat Dạng A_6	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit fumaric trong axeton ở nhiệt độ trong phòng	6,6, 5,2, 20,4	100,00, 51,69, 29,49	212,8
	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit fumaric trong IPA ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi			
Fumarat Dạng B_6	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit fumaric trong DCM ở nhiệt độ trong phòng	9,3, 9,8, 26,7	100,00, 58,74, 54,18	205,8

Dạng muối	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
Fumarat Dạng C_6	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit fumaric trong EtOH/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	7,2, 17,0, 6,2	100,00, 86,58, 54,86	199,2
Xitrat Dạng A_7	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit xitric trong DCM ở nhiệt độ trong phòng	28,3, 15,2, 22,2	100,00, 36,42, 26,50	157,9
Muối suxinat dạng A_8	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit sucxinic trong axeton, DCM hoặc EtOAc ở nhiệt độ trong phòng	6,5, 17,7, 14,7	100,00, 31,30, 24,91	191,8
	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit sucxinic trong EtOH ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi			
Muối suxinat dạng B_8	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit sucxinic trong axeton/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	6,0, 24,3, 8,3	100,00, 70,58, 62,41	N/A
Ađipat Dạng A_9	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit ađipic trong DCM ở nhiệt độ trong phòng	5,0, 8,5, 16,6	100,00, 9,38, 6,46	133,4
	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit ađipic trong axeton hoặc EtOAc ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi			

Dạng muối	Phương pháp điều chế	Góc 2-theta (2θ) của XRPD	Cường độ (%) của XRPD	Điểm nóng chảy (°C)
Ađipat Dạng B_9	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit ađipic trong EtOH ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	4,4, 6,2, 15,7	100,00, 43,19, 36,16	N/A
Mesylat Dạng A_{10}	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit metanesulfonic trong axeton ở nhiệt độ trong phòng	13,1, 16,9, 7,2	100,0, 72,46, 63,66	N/A
Mesylat Dạng B_{10}	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit metanesulfonic trong DCM hoặc EtOAc ở nhiệt độ trong phòng	18,6, 23,0, 19,3	100,00, 94,62, 86,41	224,0
Malonat Dạng A_{11}	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit malonic trong DCM hoặc EtOAc ở nhiệt độ trong phòng	15,0, 13,1, 10,2	100,00, 65,81, 50,20,	157,7
	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit malonic trong axeton hoặc EtOH ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi			
Benzoat Dạng A_{12}	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit benzoic trong axeton, THF, EtOH, DCM hoặc axeton/H_2O (thể tích/thể tích, 19/1) ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	5,9, 17,0, 3,7	100,00,38,62, 22,28	N/A
Benzoat Dạng B_{12}	Phản ứng kết tinh giữa dạng bazơ tự do và axit benzoic trong EtOAc ở nhiệt độ trong phòng, sau đó làm bay hơi	6,0, 26,3, 25,9	100,00, 56,07, 47,79	N/A

Ví dụ 7

4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat suxinat



Hợp chất ở ví dụ 1 (10 mg, 0,022mmol) được hoà tan trong 0,44mL axeton trong lọ nhỏ. Axit sucxinic (2,57 mg, 0,022mmol) được bổ sung vào dung dịch này. Hỗn hợp thu được được đậy chặt bằng nút và được khuấy trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khi khoảng 24 giờ, chất rắn màu trắng được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng trong chân không. ^{1}H NMR (400MHz, DMSO-d_6) 9,74 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,51-7,47(m, 2H), 7,34 (s, 1H), 7,30-7,26 (m, 1H), 4,4-4,2 (br, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,9-3,7 (br, 1H), 2,82-2,80 (d, 1H), 2,70-2,67 (s, 1H), 2,42 (s, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,12-2,10 (m, 1H), 1,94-1,89 (m, 1H), 1,34 (s, 3H).

Tạo ra muối suxinat của hợp chất ở ví dụ 7 Dạng A_8

Muối suxinat dạng A_8 được tạo ra theo quy trình như đã nêu trên. Dạng này (muối suxinat dạng A_8) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 191,8°C (ban đầu).

Muối suxinat dạng $\underline{A_8}$ cũng được tạo ra bằng phản ứng kết tinh giữa hợp chất ở ví dụ 1 và axit sucxinic trong EtOH ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 0,59mL EtOH vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 để hòa tan chất rắn, sau đó 2,57 mg axit sucxinic được bổ sung vào dung dịch này. Dung dịch được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Sau khoảng 24 giờ khuấy trộn, dung dịch được làm bay hơi đến khô ở nhiệt độ trong phòng. Dạng này (Muối suxinat dạng A_8) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 191,8°C (ban đầu).

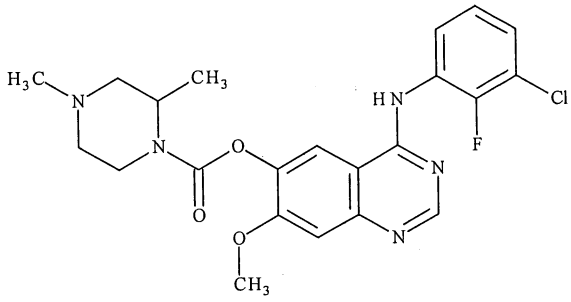
Muối suxinat dạng A_8 cũng được tạo ra bằng phản ứng kết tinh giữa hợp chất ở ví dụ 1 và axit sucxinic trong DCM ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 0,25mL DCM vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1 để hòa tan chất rắn, sau đó 2,57 mg axit sucxinic được bổ sung. Dung dịch này được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy

trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khoảng 24 giờ, mẫu được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng bằng chân không. Dạng này (muối suxinat dạng $\underline{A_8}$) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 191,8°C (ban đầu).

Muối suxinat dạng $\underline{A_8}$ cũng được tạo ra bằng phản ứng kết tinh giữa hợp chất ở ví dụ 1 và axit sucxinic trong EtOAc ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung 0,25mL EtOAc vào khoảng 10 mg hợp chất ở ví dụ 1, để hòa tan chất rắn, sau đó 2,57 mg axit sucxinic được bổ sung. Dung dịch này được đậy chặt bằng nút và cho khuấy trộn trên đĩa máy khuấy từ. Trong khi khuấy trộn, quan sát thấy một số kết tủa trắng. Sau khoảng 24 giờ, mẫu được tách ra và được làm khô ở nhiệt độ trong phòng bằng chân không. Dạng này (muối suxinat dạng $\underline{A_8}$) được xác định là dạng tinh thể bằng XRPD và có điểm nóng chảy bằng 191,8°C (ban đầu).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng của chúng.

2. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat.

3. Muối dược dụng của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó muối này là 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2,4-đimetylpiperazin-1-carboxylat hyđroclorua.

4. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó hợp chất này ở dạng tinh thể.

5. Muối mono-HCl của hợp chất có công thức (I) theo điểm 3, trong đó muối này ở dạng tinh thể có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 12,3° và 13,9° với sai số đo đối với mỗi góc nhiễu xạ là cộng hoặc trừ 0,2°.

6. Muối mono-HCl của hợp chất có công thức (I) theo điểm 3, trong đó muối này ở dạng tinh thể có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 12,3, 13,9, 9,3, 23,3, 18,7, 16,0, 24,6, 26,8, 28,0° với sai số đo đối với mỗi góc nhiễu xạ là cộng hoặc trừ 0,2°.

7. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

8. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó hợp chất này được kết hợp với tác nhân chống tạo khối u được chọn từ:

(i) kháng thể kháng CTLA-4;

(ii) (2-hyđroxy-etoxy)-amit của axit 6-(4-bromo-2-clo-phenylamino)-7-flo-3-metyl-3H-benzoimiđazol-5-carboxylic hoặc muối dược dụng của chúng;

(iii) kháng thể kháng PD-L1;

(iv) 1-[(1S)-1-(imiđazo[1,2-a]pyriđin-6-yl)etyl]-6-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyrazin hoặc muối dược dụng của chúng;

(v) kháng thể kháng PD-1; hoặc

(vi) kháng thể chủ vận OX40.

9. Hợp chất 4-[(3-clo-2-flophenyl)amino]-7-metoxyquinazolin-6-yl (2R)-2-metylpiperazin-1-carboxylat:

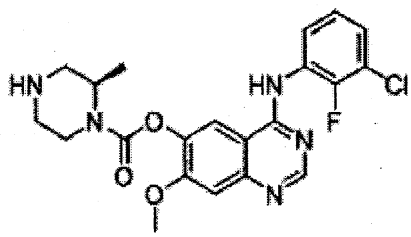


Fig. 1: Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của dạng A

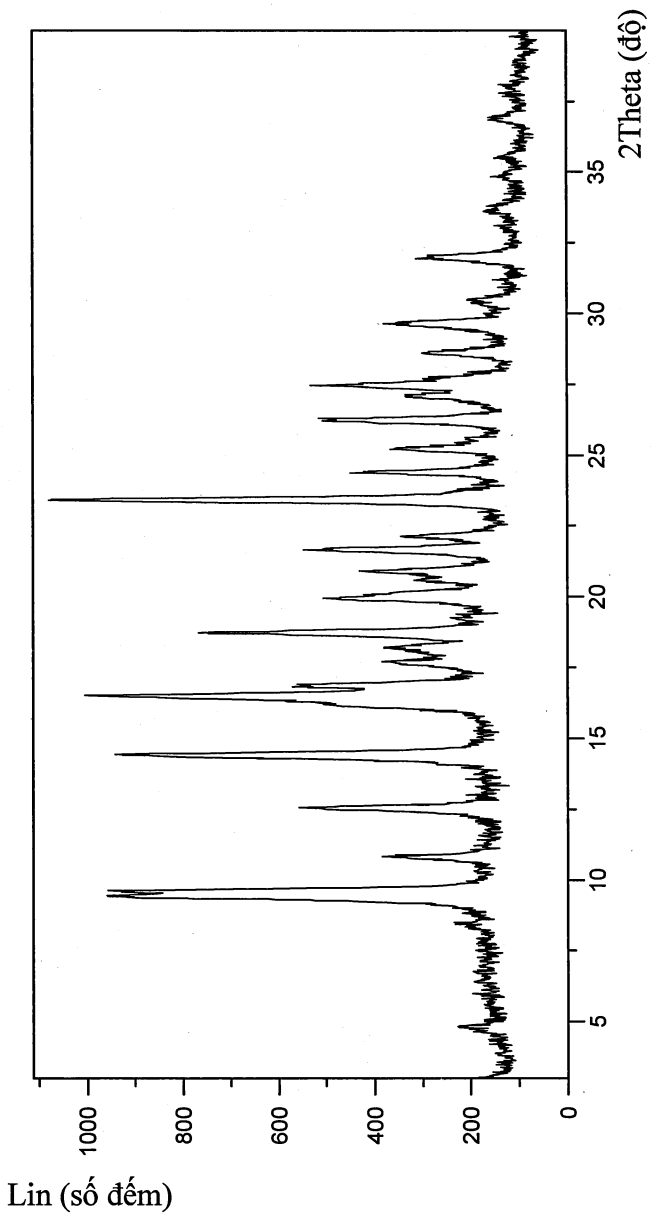


Fig. 2: Biểu đồ thu nhiệt của dạng A

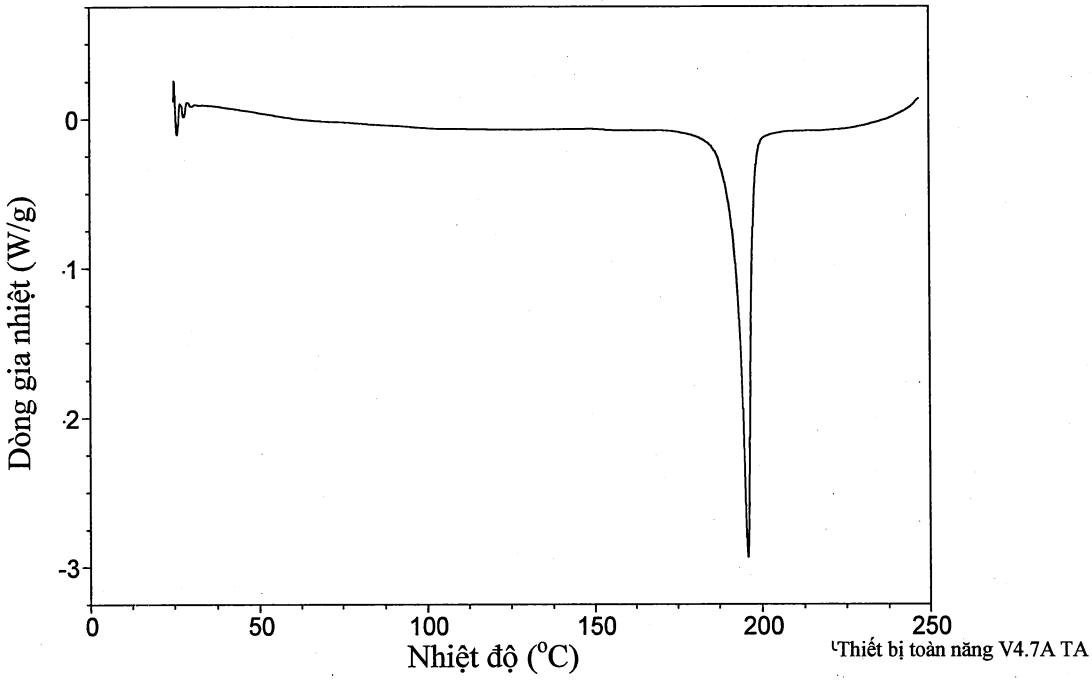


Fig. 3: Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của dạng E

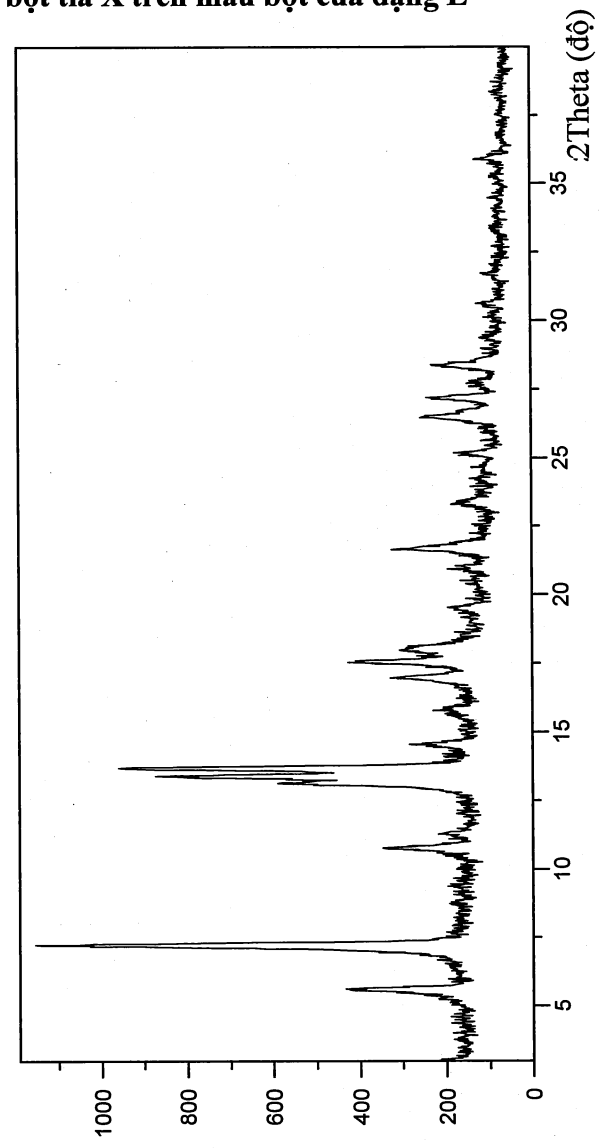


Fig. 4: Biểu đồ thu nhiệt của dạng E

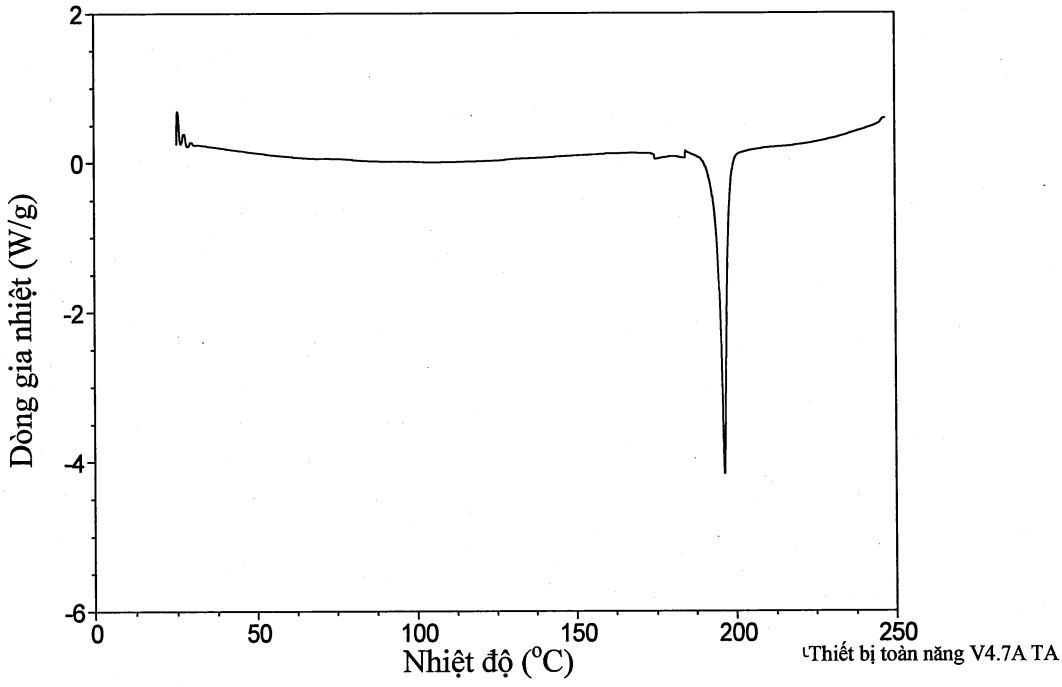


Fig. 5: Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của dạng I

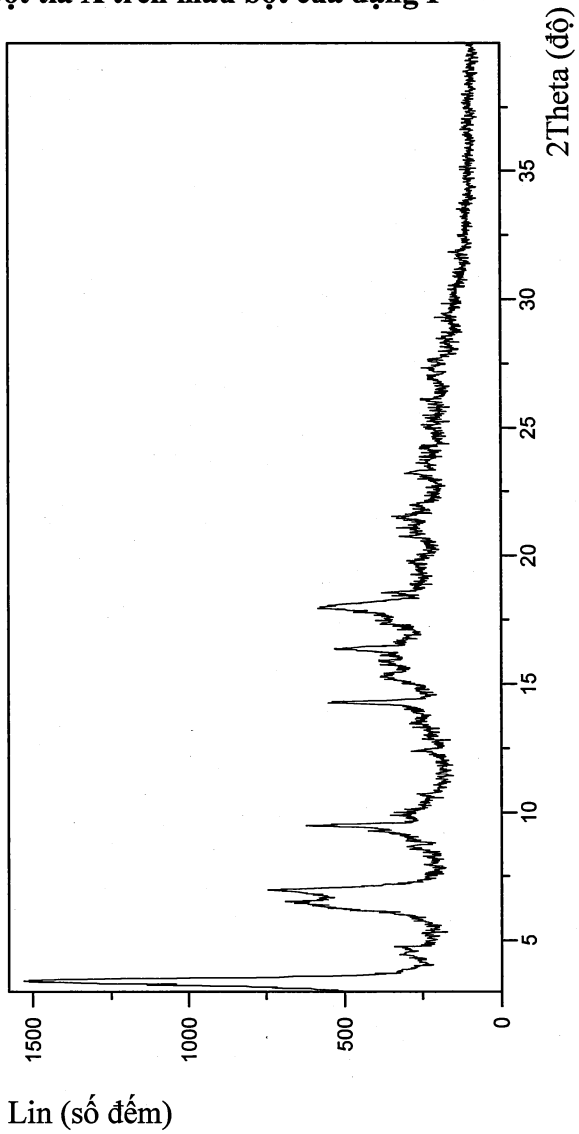


Fig. 6: Biểu đồ thu nhiệt của dạng I

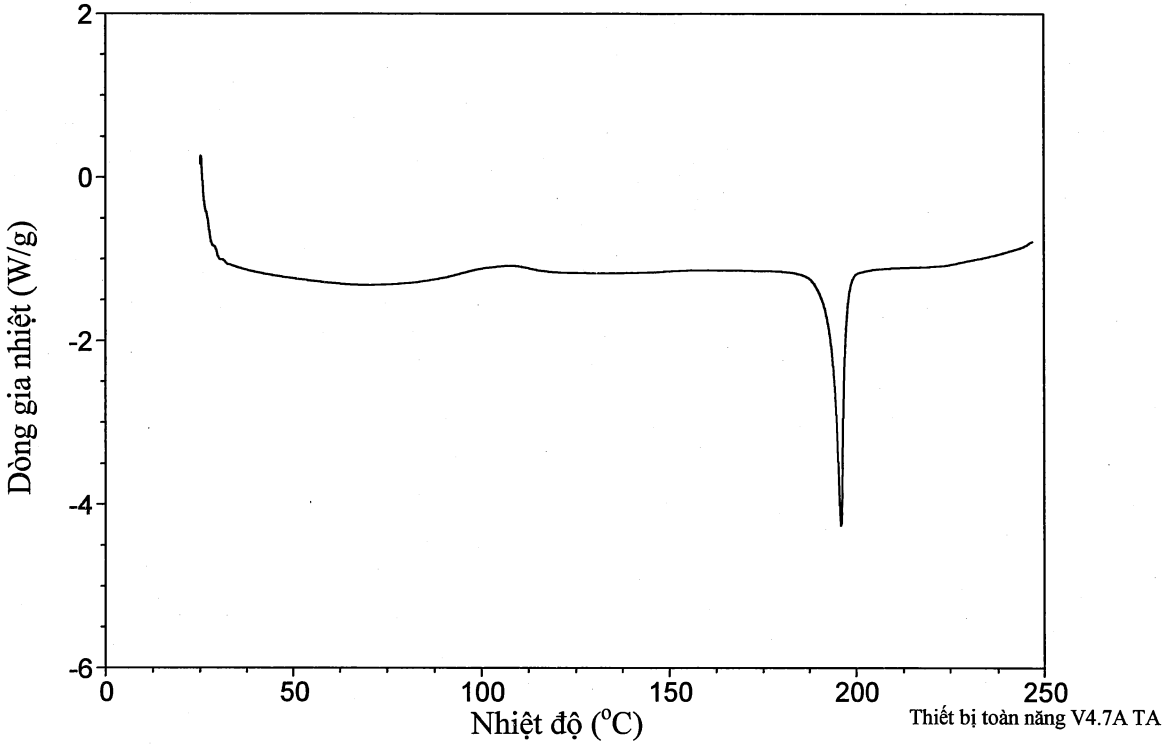


Fig. 7: Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của dạng J

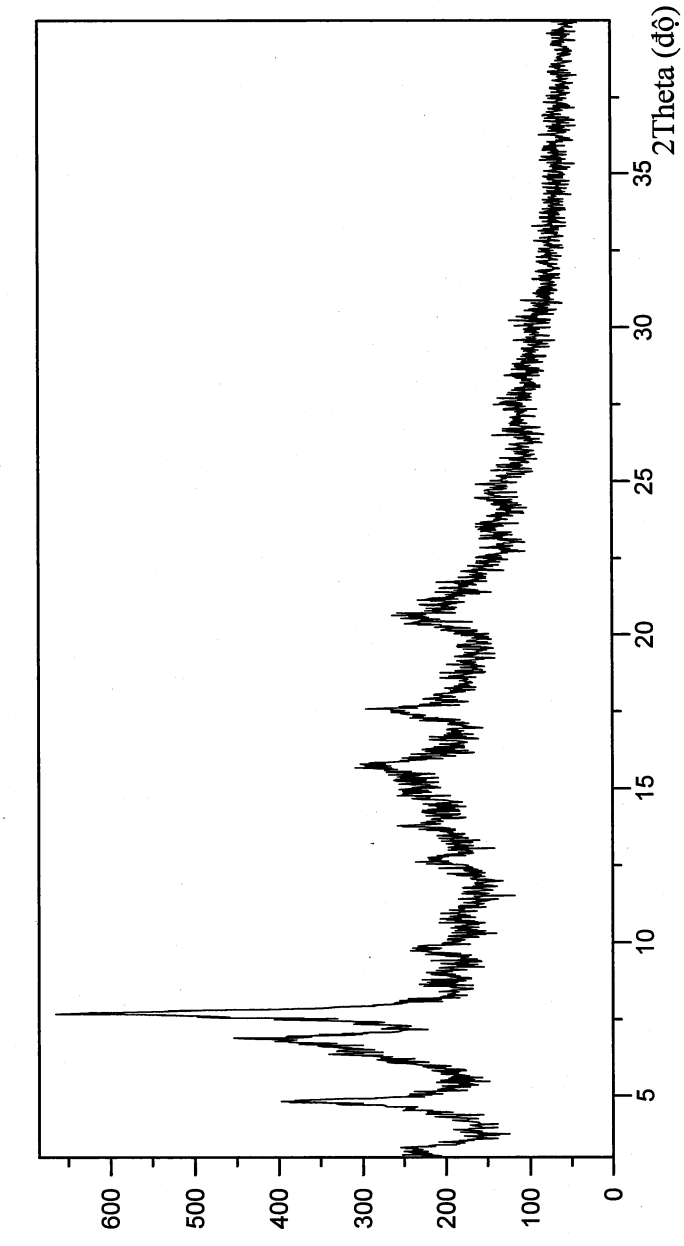


Fig. 8: Biểu đồ thu nhiệt của dạng J

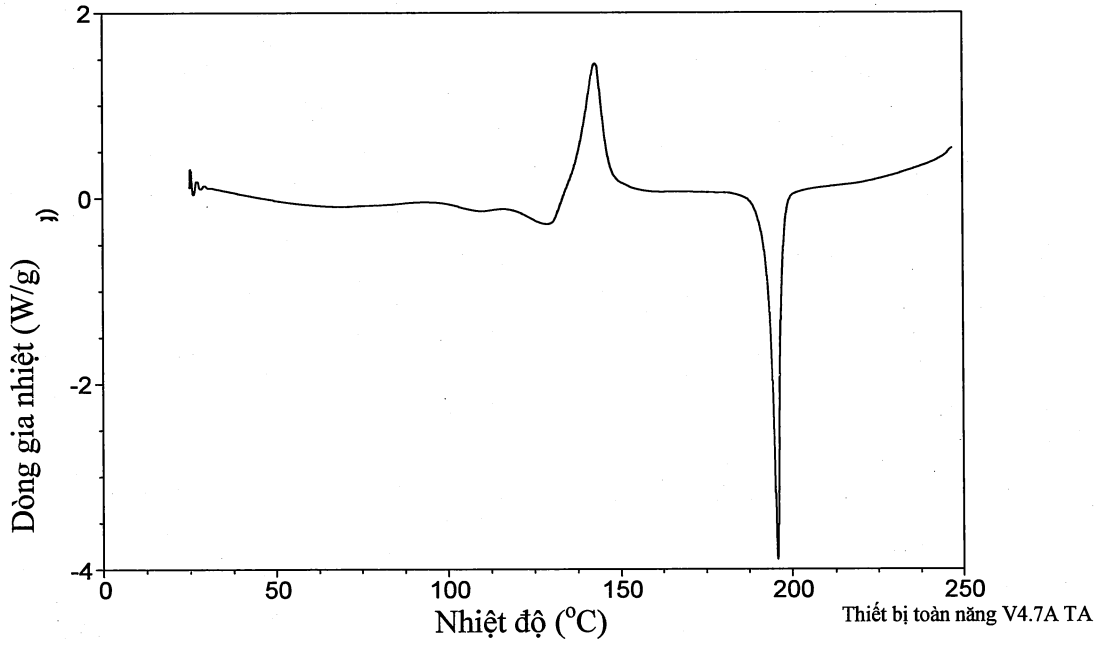


Fig. 9: Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của muối mono-HCl dạng A_1

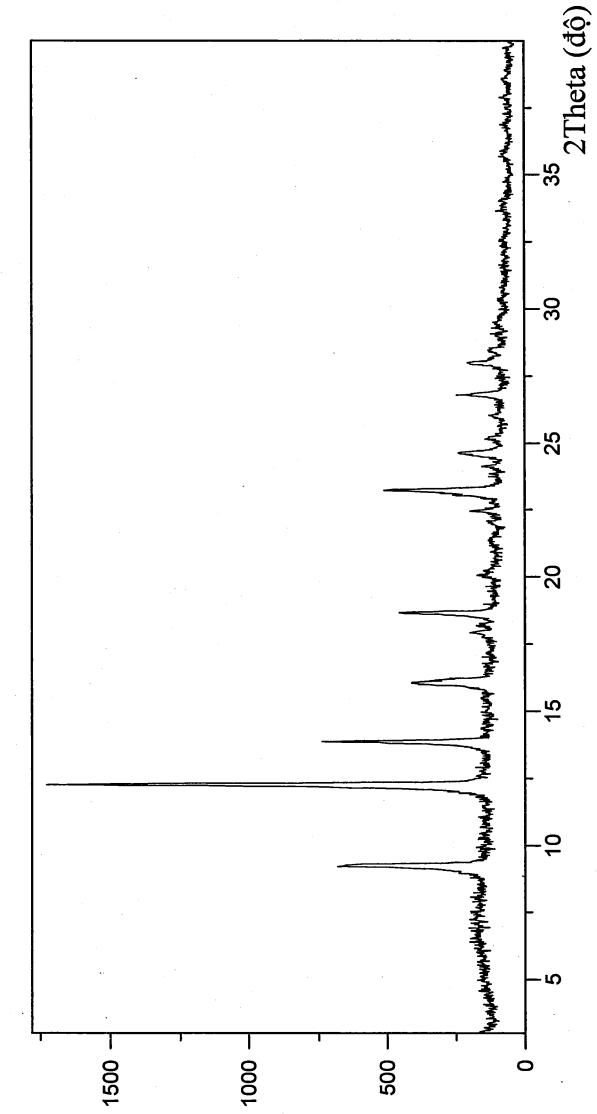


Fig. 10: Biểu đồ thu nhiệt của muối mono-HCl dạng A_1

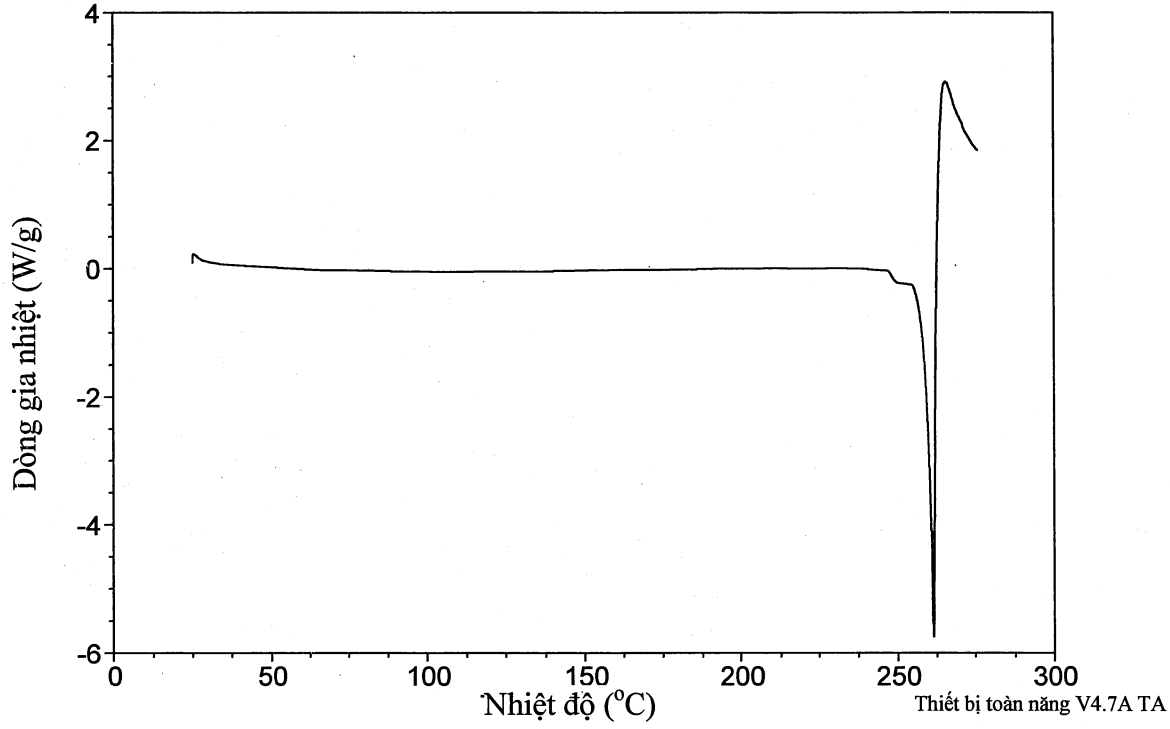


Fig. 11: Mẫu nhiễu xạ bột tia X trên mẫu bột của muối sucxinat dạng A_8

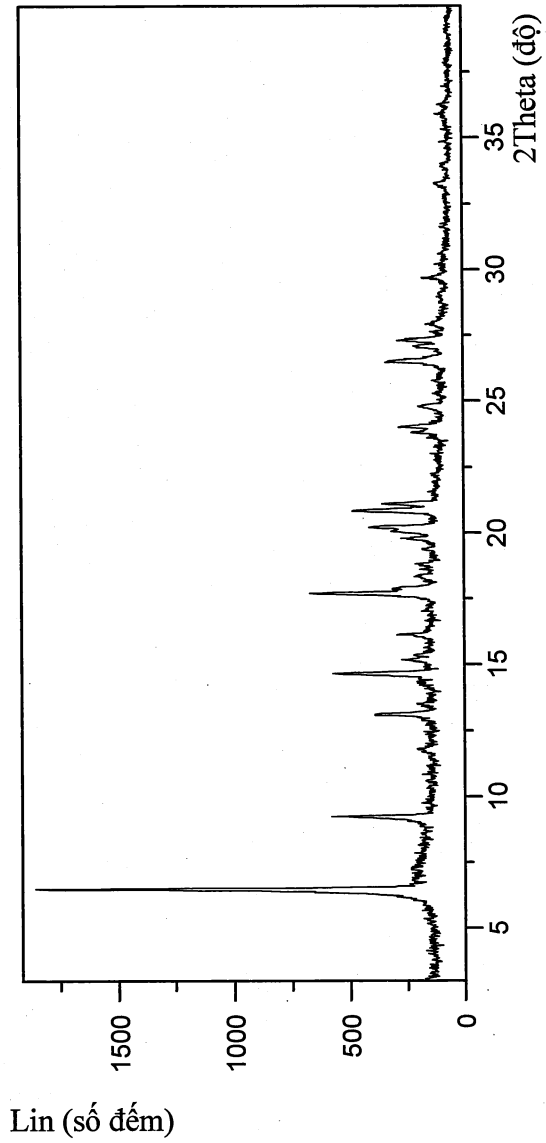
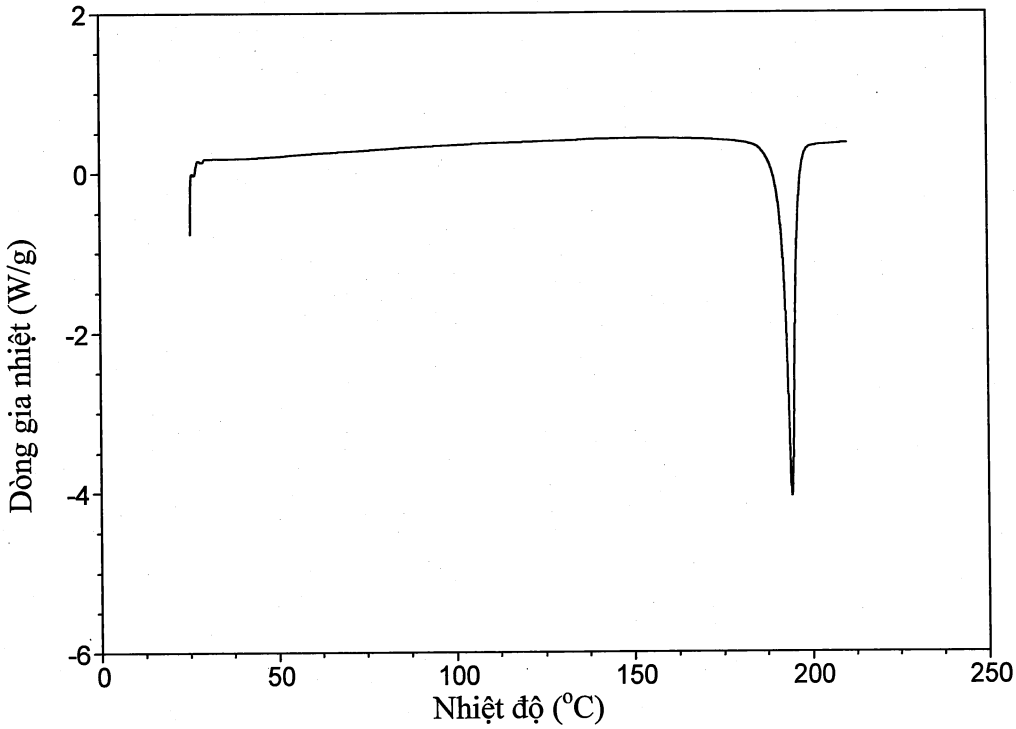



Fig. 12: Biểu đồ thu nhiệt của muối sucxinat dạng A_8