



(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)



1-0031178

(51)⁸ C07D 471/04; A61K 31/437; A61P
35/00

(13) B

(21) 1-2018-01361

(22) 15/09/2016

(86) PCT/EP2016/071782 15/09/2016

(87) WO 2017/046216 23/03/2017

(30) 1516504.6 17/09/2015 GB

(45) 25/02/2022 407

(43) 25/09/2018 366A

(73) ASTRAZENECA AB (SE)

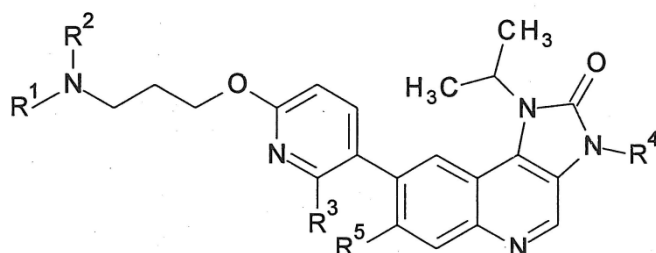
SE-151 85 Södertälje, Sweden

(72) PIKE, Kurt, Gordon (GB); BARLAAM, Bernard, Christophe (FR); HUNT, Thomas, Anthony (GB); EATHERTON, Andrew, John (GB).

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

(54) DẪN XUẤT 8-[6-[3-(AMINO)PROPOXY]-3-PYRIDYL]-1-ISOPROPYL-IMIDAZO[4,5-C]QUINOLIN-2-ON LÀM CHẤT ĐIỀU BIẾN CHỌN LỌC CỦA KINAZA CHỨNG MẤT ĐIỀU HÒA GIÃN MẠCH ĐỘT BIẾN (ATAXIA TELANGIECTASIA MUTATED - ATM) ĐỂ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG

(57) Sáng chế đề cập chung đến hợp chất có Công thức (I):



(I)

và muối dược dụng của chúng, trong đó **R¹**, **R²**, **R³**, **R⁴** và **R⁵** có nghĩa bất kỳ được xác định trong bản mô tả này. Hợp chất có Công thức (I) và muối của chúng hữu ích để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh qua trung gian ATM, bao gồm ung thư. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm có chứa hợp chất imidazo[4,5-c]quinolin-2-on được thế và muối dược dụng của chúng; bộ kit có chứa hợp chất và muối này; phương pháp sản xuất hợp chất và muối này; và hợp chất trung gian hữu dụng trong việc sản xuất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất imidazo[4,5-c]quinolin-2-on được thể và muối được dụng của chúng. Các hợp chất này và muối của chúng điều biến chọn lọc kinaza chứng mất điều hòa giãn mạch đột biến (ataxia telangiectasia mutated - "ATM"), và do đó hợp chất imidazo[4,5-c]quinolin-2-on được thể và muối của chúng là hữu ích để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh qua trung gian ATM, bao gồm bệnh ung thư. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm có chứa hợp chất imidazo[4,5-c]quinolin-2-on được thể và muối được dụng của chúng; bộ kit có chứa hợp chất và muối này; phương pháp sản xuất hợp chất và muối này; và hợp chất trung gian hữu dụng trong việc sản xuất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

ATM kinaza là serin threonin kinaza ban đầu được xác định là sản phẩm của gen bị đột biến ở chứng mất điều hòa giãn mạch. Chứng mất điều hòa giãn mạch nằm trên nhiễm sắc thể người 11q22-23 và mã hóa cho protein lớn bằng khoảng 350 kDa, mà được đặc trưng bởi sự có mặt của miền serin/threonin kinaza giống phosphatidylinositol ("PI") 3-kinaza được củng cố bên lề bởi các miền FRAP-ATM-TRRAP và FATC mà điều biến hoạt tính và chức năng của ATM kinaza. ATM kinaza đã được xác định là đóng vai trò chính trong đáp ứng hư hỏng ADN gây ra bởi sự đứt gãy sợi kép. Nó hoạt động chủ yếu trong các quá trình chuyển tiếp chu trình tế bào S/G2/M và tại các chạc sao chép bị gãy để khởi đầu các điểm kiểm tra chu trình tế bào, sự cải biến chất nhiễm sắc, sự sửa chữa HR và các tăng phát tín hiệu tiền sống sót để duy trì tính toàn vẹn tế bào sau sự sai hỏng ADN (Lavin, M. F.; *Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, 759-769).

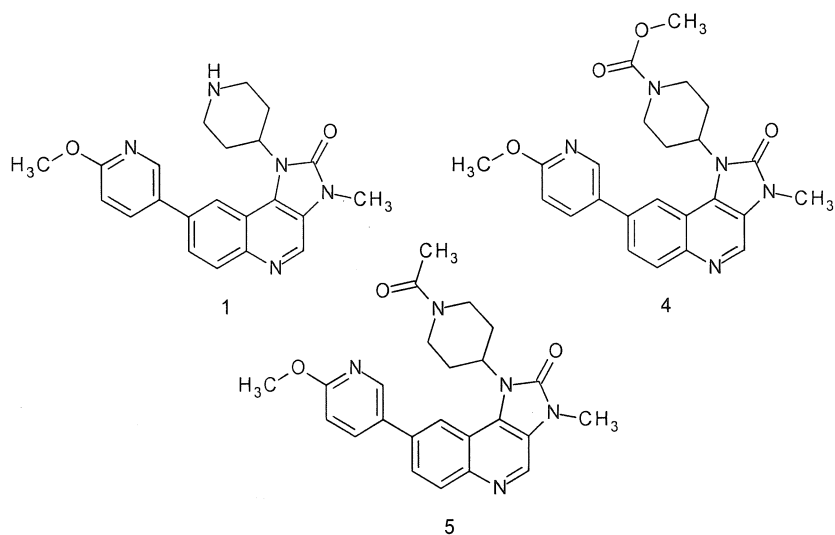
Sự phát tín hiệu ATM kinaza có thể đại thể được chia làm hai loại: con đường chính tắc, mà tín hiệu cùng với phức hợp Mre11-Rad50-NBS1 từ sợi kép phá vỡ và hoạt hóa điểm kiểm

tra sai hỏng ADN, và một vài phương thức không chính tắc của sự hoạt hóa, mà được hoạt hóa bởi các dạng khác của căng thẳng tế bào (Cremona *et al.*, *Oncogene* **2013**, 3351-3360).

ATM kinaza được kích hoạt nhanh chóng và mạnh mẽ để đáp ứng với sự phá vỡ sợi kép và đã được báo cáo là có thể phosphoryl hóa hơn 800 chất nền (Matsuoka *et al.*, *Science* **2007**, 1160-1166), phối hợp nhiều con đường đáp ứng căng thẳng (Kurz and Lees Miller, *DNA Repair* **2004**, 889-900). ATM kinaza có mặt chủ yếu là trong nhân tế bào ở dạng homodime bất hoạt nhưng nó tự động hóa phosphoryl hóa bản thân nó ở Ser1981 khi cảm nhận sự phá vỡ ADN sợi kép (con đường chính tắc), dẫn đến sự phân tách thành monome có hoạt tính kinaza đầy đủ (Bakkenist *et al.*, *Nature* **2003**, 499-506). Đây là sự kiện hoạt hóa then chốt, và do đó ATM phospho-Ser1981 đều là chất đánh dấu sinh học được động học trực tiếp và chọn lọc bệnh nhân đối với sự phụ thuộc con đường khối u.

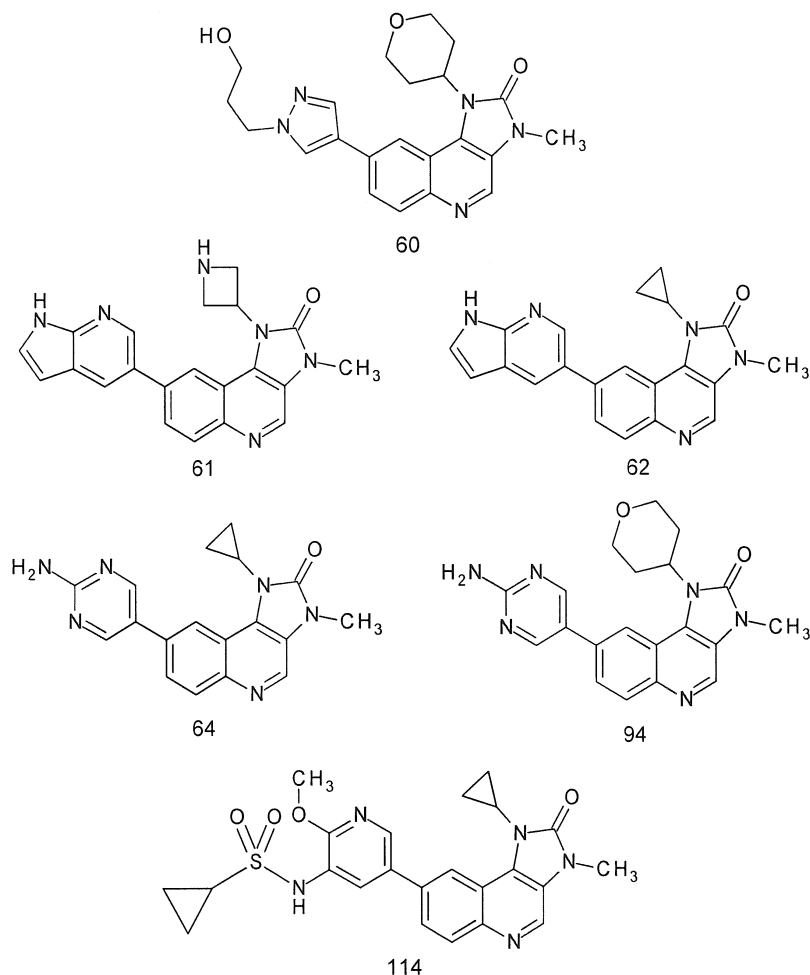
ATM kinaza đáp ứng với sự phá vỡ sợi kép trực tiếp gây ra bởi việc điều trị kháng ung thư thông thường chẳng hạn như sự bức xạ ion hóa và các chất ức chế topoisomeraza-II (doxorubicin, etoposid) nhưng cũng như là với các chất ức chế topoisomeraza-I (ví dụ irinotecan và topotecan) *thông qua* sự chuyển đổi sự phá vỡ sợi đơn thành sự phá vỡ sợi kép trong quá trình sao chép. Sự ức chế ATM kinaza có thể làm tăng hoạt tính của các chất bất kỳ này, và kết quả là các chất ức chế ATM kinaza được mong đợi là hữu dụng trong việc điều trị ung thư.

CN102372711A báo cáo hợp chất imidazo[4,5-c]quinolin-2-on nhất định mà đã được đề cập đến là chất ức chế kép của PI 3-kinaza α và đích ở động vật có vú của rapamycin (mammalian target of rapamycin - "mTOR") kinaza. Trong số các hợp chất được báo cáo trong CN102372711A là các hợp chất sau đây:



Các hợp chất nhất định được báo cáo trong CN102372711A

CN102399218A báo cáo các hợp chất imidazo[4,5-c]quinolin-2-on nhất định mà đã được nêu là các chất ức chế PI 3-kinaza α . Trong số các hợp chất được báo cáo trong CN102399218A là các hợp chất sau đây:



Các hợp chất nhất định được báo cáo trong CN102399218A

Mặc dù các hợp chất hoặc CN102372711A và CN102399218A được báo cáo là có hoạt tính chống lại PI 3-kinaza α và trong một số trường hợp chống lại mTOR kinaza, vẫn có nhu cầu để phát triển hợp chất mới hữu hiệu hơn để chống lại các enzym kinaza khác, chẳng hạn như ATM kinaza. Vẫn còn có nhu cầu đối với hợp chất mới mà hoạt động chống lại các enzym kinaza nhất định, như ATM kinaza, theo kiểu chọn lọc cao (*tức là* bằng cách điều biến ATM hữu hiệu hơn các đích sinh học khác).

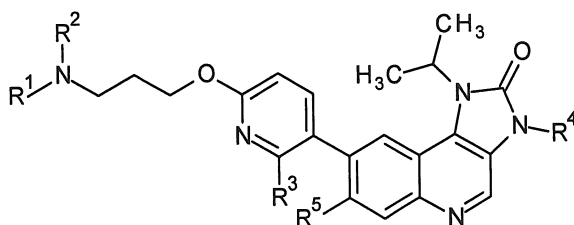
Như đã chứng minh nơi nào đó trong bản mô tả (ví dụ trong các thử nghiệm dựa trên tế bào đã được mô tả trong phần thí nghiệm), các hợp chất theo sáng chế này thường có hoạt tính ức chế ATM kinaza rất hiệu nghiệm, nhưng hoạt tính ít hiệu nghiệm hơn nhiều chống lại các

enzym tyrosin kinaza khác, chẳng hạn như PI 3-kinaza α , mTOR kinaza và kinaza loại protein liên quan đến Rad3 và chứng mất điều hòa giãn mạch ("ATR"). Như vậy, các hợp chất theo sáng chế không chỉ ức chế ATM kinaza, mà có thể được coi là chất ức chế chọn lọc cao của ATM kinaza.

Do bản chất chọn lọc cao của chúng, các hợp chất theo sáng chế được mong đợi là đặc biệt hữu dụng trong việc điều trị các bệnh mà ATM kinaza có liên quan (ví dụ, trong việc điều trị ung thư), nhưng mà điều mong muốn là giảm thiểu hiệu ứng lệch đích hoặc độc tính có thể phát sinh do sự ức chế các enzym tyrosin kinaza khác, chẳng hạn như nhóm PI 3-kinaza α , mTOR kinaza và ATR kinaza.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Một cách vắn tắt, sáng chế đề cập, một phần, đến hợp chất có Công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng của chúng, trong đó:

R¹ là metyl;

R² là hydro hoặc metyl; hoặc R¹ và R² cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidiny, vòng pyrrolidiny hoặc vòng piperidiny;

R³ là hydro hoặc flo;

R⁴ là hydro hoặc metyl; và

R^5 là hydro hoặc flo.

Sáng chế cũng đề cập, một phần, đến được phẩm mà có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và có ít nhất một tá được dụng.

Sáng chế cũng đề cập, một phần, đến hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong trị liệu.

Sáng chế cũng đề cập, một phần, đến hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư.

Sáng chế cũng đề cập, một phần, đến việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc điều trị ung thư.

Sáng chế cũng đề cập, một phần, đến phương pháp điều trị ung thư ở động vật máu nóng cần điều trị, mà bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: Mẫu Nhiễu Xạ Bột Tia X của Dạng A của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Hình 2: Biểu Đồ Nhiệt DSC của Dạng A của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

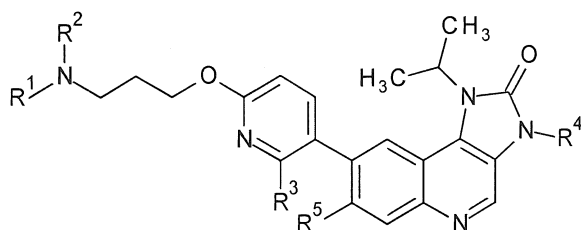
Hình 3: Mẫu Nhiễu Xạ Bột Tia X của Dạng B của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Hình 4: Biểu Đồ Nhiệt DSC của Dạng B của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Mô tả chi tiết sáng chế

Nhiều phương án theo sáng chế được nêu chi tiết trong bản mô tả này và sẽ trở nên rõ ràng đối với người đọc có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Sáng chế này không được hiểu theo nghĩa là bị giới hạn ở (các) phương án cụ thể bất kỳ của sáng chế.

Theo phương án thứ nhất sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I):



(I)

hoặc muối được dụng của chúng, trong đó:

R^1 là metyl;

R^2 là hydro hoặc metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidiny, vòng pyrrolidiny hoặc vòng piperidiny;

R^3 là hydro hoặc flo;

R^4 là hydro hoặc metyl; và

R^5 là hydro hoặc flo.

Nhóm "hydro" tương đương với nguyên tử hydro. Các nguyên tử với nhóm hydro gắn vào chúng có thể được coi là không thế.

Khi nêu rằng " R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidiny, vòng pyrrolidiny hoặc vòng piperidiny", điều này có nghĩa nhóm R^1 và nhóm R^2 được kết hợp *thông qua* liên kết cộng hóa trị cacbon-cacbon để tạo thành mạch alkylen không

thể có chiều dài thích hợp để tạo thành vòng tương ứng. Ví dụ, khi R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng pyrrolidinyl, R^1 và R^2 cùng nhau thể hiện mạch butylen không thể được gắn vào nguyên tử nitơ thích hợp trong Công thức (I) ở cả hai cacbon ở đầu tận cùng.

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

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, trong đó muối dược dụng là muối của axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulphuric, axit phosphoric, axit trifloaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit succinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic hoặc muối của axit *para*-toluensulfonic. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, trong đó muối dược dụng là muối của axit metansulfonic. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, trong đó muối dược dụng là muối của axit *mono*-metansulfonic, tức là hợp chất có hệ số tỷ lệ giữa hợp chất có Công thức (I) và axit metansulfonic là 1:1.

Phương án khác đề xuất phương án bất kỳ trong các phương án được xác định trong bản mô tả này (ví dụ phương án theo điểm 1) với điều kiện là một hoặc nhiều Ví dụ cụ thể (chẳng hạn như một, hai hoặc ba Ví dụ cụ thể) mà được chọn từ nhóm gồm có Ví dụ 1, Ví dụ 2, Ví dụ 3, Ví dụ 4, Ví dụ 5, Ví dụ 6, Ví dụ 7, Ví dụ 8, Ví dụ 9, Ví dụ 10, Ví dụ 11, Ví dụ 12, Ví dụ 13, Ví dụ 14, Ví dụ 15, Ví dụ 16, Ví dụ 17 và Ví dụ 18 là bị loại bỏ riêng rẽ.

Một số giá trị của các nhóm biến đổi trong Công thức (I) như sau. Các giá trị này có thể được sử dụng kết hợp với định nghĩa, yêu cầu bảo hộ (ví dụ như điểm 1), hoặc phương án bất kỳ được xác định trong bản mô tả này để tạo ra phương án khác.

- a) R^1 là metyl.
- b) R^2 là metyl.
- c) R^2 là hydro.
- d) R^1 là metyl và R^2 là hydro hoặc metyl.
- e) R^1 và R^2 đều là metyl.
- f) R^1 và R^2 đều là metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl.
- g) R^1 và R^2 đều là metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl.
- h) R^1 và R^2 đều là metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng pyrrolidinyl.
- i) R^1 và R^2 đều là metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng piperidinyl.
- j) R^1 và R^2 đều là metyl.

k) R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl.

l) R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl.

m) R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng pyrrolidinyl.

n) R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng piperidinyl.

o) R^3 và R^5 đều là hydro.

p) R^3 và R^5 đều là flo.

q) R^3 là hydro.

r) R^3 là flo.

s) R^4 là hydro.

t) R^4 là metyl.

u) R^5 là hydro.

v) R^5 là flo.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, trong đó:

R^1 là metyl;

R^2 là hydro hoặc metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl;

R^3 là hydro hoặc flo;

R^4 là hydro hoặc metyl; và

R^5 là hydro hoặc flo.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, trong đó:

R^1 là metyl;

R^2 là hydro hoặc metyl;

R^3 là hydro;

R^4 là hydro hoặc metyl; và

R^5 là hydro.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, trong đó hợp chất được chọn từ nhóm gồm có:

8-[6-[3-(Đimetylaminopropoxy)-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

1-Isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(dimetylamino)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

1-isopropyl-3-metyl-8-[6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(Azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[2-Flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(dimetylamino)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(dimetylamino)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[2-flo-6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-flo-8-[2-flo-6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-flo-8-[2-flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(Dimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on; và

7-Flo-1-isopropyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất muối dược dụng của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất muối dược dụng của 8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-[6-[3-(dimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-[6-[3-(dimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất muối được dụng của 8-[6-[3-(dimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-oxidopiperidin-1-ium-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-oxidopiperidin-1-ium-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất muối được dụng của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-oxidopiperidin-1-ium-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Các hợp chất và muối được mô tả trong bản mô tả này có thể tồn tại ở dạng solvat hóa và dạng không solvat hóa. Ví dụ, dạng solvat hóa có thể là dạng hydrat hóa, chẳng hạn như hemi-hydrat, mono-hydrat, di-hydrat, tri-hydrat hoặc lượng thay thế của chúng. Sáng chế bao hàm tất cả các dạng solvat hóa và dạng không solvat hóa của hợp chất có Công thức (I) này, cụ thể là đến mức độ mà các dạng này có hoạt tính ức chế ATM kinaza, ví dụ như được đo bằng cách sử dụng các thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả này.

Các nguyên tử của các hợp chất và muối được mô tả trong bản mô tả này có thể tồn tại dưới dạng các chất đồng vị của chúng. Sáng chế bao hàm tất cả các hợp chất có Công thức (I) trong đó nguyên tử được thay thế bằng một hoặc nhiều chất đồng vị trong số các chất đồng vị của nó (ví dụ hợp chất có Công thức (I) mà trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon là chất đồng vị cacbon ^{11}C hoặc ^{13}C , hoặc trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro là chất đồng vị ^2H hoặc ^3H).

Các hợp chất và muối được mô tả trong bản mô tả này có thể tồn tại dưới dạng hỗn hợp của các chất hỗn biến. "Chất hỗn biến" là các chất đồng phân về mặt cấu trúc tồn tại cân bằng tạo

thành từ sự di chuyển của nguyên tử hydro. Sáng chế bao gồm tất cả các chất hỗ biến của hợp chất có Công thức (I) cụ thể là đến mức độ mà các chất hỗ biến này có hoạt tính ức chế ATM kinaza.

Các hợp chất và muối được mô tả trong bản mô tả này có thể kết tinh, và có thể thể hiện một hoặc nhiều dạng tinh thể. Sáng chế bao hàm dạng tinh thể hoặc dạng vô định hình bất kỳ của hợp chất có Công thức (I), hoặc hỗn hợp của các dạng này, mà có hoạt tính ức chế ATM kinaza.

Đã biết rằng nguyên liệu kết tinh có thể được xác định đặc điểm bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường chẳng hạn như Nhiễu Xạ Bột Tia X (X-Ray Powder Diffraction - XRPD), Phép Đo Nhiệt Lượng Quét Vi Sai (Differential Scanning Calorimetry - DSC), Phân Tích Nhiệt Trọng Lượng (Thermal Gravimetric Analysis - TGA), quang phổ Hồng Ngoại Phản Xạ Khuếch Tán Biến Đổi Fourier (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform - DRIFT), quang phổ Cận Hồng Ngoại (Near Infrared - NIR), quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân trạng thái dung dịch và/hoặc trạng thái rắn. Hàm lượng nước của nguyên liệu kết tinh có thể được xác định bằng phân tích Karl Fischer.

Dạng tinh thể được mô tả trong bản mô tả này tạo ra các mẫu XRPD về cơ bản giống như các mẫu XRPD được thể hiện trên các Hình vẽ, và có các giá trị 2-teta khác nhau như được thể hiện trong các Bảng đã nêu trong bản mô tả này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng có thể thu được mẫu XRPD hoặc biểu đồ nhiễu xạ mà có một hoặc nhiều sai số đo tùy thuộc vào điều kiện ghi lại, chẳng hạn như thiết bị hoặc máy móc được dùng. Tương tự, đã biết rằng cường độ trong mẫu XRPD có thể dao động tùy thuộc vào điều kiện đo hoặc sự điều chế mẫu bởi vì sự định hướng được ưu tiên. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực XRPD cũng sẽ nhận ra rằng cường độ tương đối của các đỉnh cũng có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ, hạt có kích thước trên 30 μm và tỷ lệ các mặt không đồng nhất. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi chiều cao chính xác mà tại đó mẫu nằm trong nhiễu xạ kế, và còn sự định cỡ ở mức không của nhiễu xạ kế. Tính phẳng bề mặt của mẫu cũng có thể có ảnh hưởng nhỏ.

Bởi vì các sự cân nhắc này, dữ liệu mẫu nhiễu xạ được thể hiện không được lấy dưới dạng giá trị tuyệt đối (Jenkins, R & Snyder, R.L. '*Introduction to X-Ray Powder Diffraction*' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), '*Chemical Crystallography*', Clarendon Press, London; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), '*X-Ray Diffraction Procedures*'). Do đó, cần hiểu rằng các dạng rắn không chỉ giới hạn ở tinh thể tạo ra các mẫu XRPD so với mẫu XRPD được thể hiện trên các Hình vẽ, và các tinh thể bất kỳ tạo ra các mẫu XRPD về cơ bản giống như các tinh thể được thể hiện trên các Hình vẽ thuộc phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực XRPD có thể đánh giá sự giống nhau thực chất của các mẫu XRPD. Thông thường, sai số đo của góc nhiễu xạ trong XRPD bằng xấp xỉ 2θ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$, và mức độ sai số đo này cần được tính đến khi xem xét mẫu nhiễu xạ bột tia X trên các Hình vẽ và khi đọc dữ liệu được chứa trong các Bảng đã nêu trong bản mô tả này.

Hợp chất của Ví dụ 2 thể hiện tính chất kết tinh, và một dạng tinh thể này đã được xác định đặc điểm.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\theta = 22,7^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\theta = 23,4^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\theta = 22,7$ và $23,4^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 3,7$ và $14,8^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 3,7; 11,3; 13,1; 14,8; 18,0; 18,4; 19,4; 21,0; 22,3$ và $23,2^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản giống như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Hình 1.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 22,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 23,4^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 22,7$ và $23,4^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 14,8^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-teta}$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,7$ và $14,8^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta .

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,7; 11,3; 13,1; 14,8; 18,0; 18,4; 19,4; 21,0; 22,3$ và $23,2^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta .

Phân tích DSC của Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với điểm bắt đầu ở nhiệt độ $141,5^\circ\text{C}$ và đỉnh ở nhiệt độ $144,2^\circ\text{C}$ (Hình 2).

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng giá trị hoặc các khoảng giá trị quan sát được trong Biểu đồ nhiệt DSC của hợp chất cụ thể sẽ thể hiện sự thay đổi giữa các mẻ có độ tinh sạch khác nhau. Do đó, mặc dù đối với một hợp chất này khoảng giá trị có thể nhỏ, đối với các hợp chất khác khoảng giá trị có thể khá lớn. Thông thường, sai số đo của góc nhiễu xạ trong biến cố nhiệt DSC xấp xỉ là cộng hoặc trừ 5°C , và mức độ sai số đo này cần được tính đến khi xem xét dữ liệu DSC đã nêu trong bản mô tả này.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có sự thu nhiệt DSC với điểm bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ khoảng $141,5^\circ\text{C}$ và đỉnh ở nhiệt độ khoảng $144,2^\circ\text{C}$.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có sự thu nhiệt DSC với điểm bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ $141,5^\circ\text{C}$ cộng hoặc trừ 5°C và đỉnh ở nhiệt độ $144,2^\circ\text{C}$ cộng hoặc trừ 5°C .

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có sự thu nhiệt DSC với điểm bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ 141,5°C và đỉnh ở nhiệt độ 144,2°C.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng A của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản như được thể hiện trên Hình 2.

Theo một phương án sáng chế đề xuất Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 14,8^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 21,0^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 14,8$ và $21,0^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 3,4$ và $11,7^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-teta} = 3,4; 11,7; 13,1; 13,5; 17,5; 18,1; 19,0; 22,7; 23,4$ và $24,0^\circ$.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản giống như mẫu nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Hình 3.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 14,8^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 21,0^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 14,8$ và $21,0^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,4^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 11,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,4$ và $11,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, mà có mẫu nhiễu xạ bột tia X có đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,4; 11,7; 13,1; 13,5; 17,5; 18,1; 19,0; 22,7; 23,4$ và $24,0^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta.

Phân tích DSC của Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với điểm bắt đầu ở nhiệt độ 144,7°C và đỉnh ở nhiệt độ 145,8°C (Hình 4).

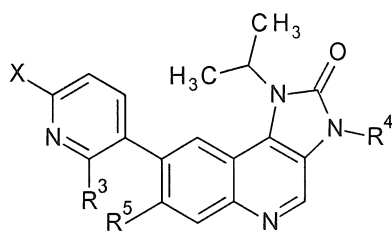
Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có sự thu nhiệt DSC với điểm bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ khoảng 144,7°C và đỉnh ở nhiệt độ khoảng 145,8°C.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có sự thu nhiệt DSC với điểm bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ 144,7°C cộng hoặc trừ 5°C và đỉnh ở nhiệt độ 145,8°C cộng hoặc trừ 5°C.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có sự thu nhiệt DSC với điểm bắt đầu nóng chảy ở nhiệt độ 144,7°C và đỉnh ở nhiệt độ 145,8°C.

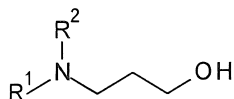
Theo một phương án sáng chế đề xuất dạng tinh thể, Dạng B của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on mà có biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản như được thể hiện trên Hình 4.

Khi nói rằng phương án đề cập đến dạng tinh thể, mức độ kết tinh có thể là lớn hơn khoảng 60%. Theo một số phương án mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 80%. Theo một số phương án mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 90%. Theo một số phương án mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 95%. Theo một số phương án mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 98%. Hợp chất có Công thức (I) ví dụ có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có Công thức (II):



(II)

hoặc muối của chúng, trong đó R^3 , R^4 và R^5 như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này và X là nhóm rời chuyển (ví dụ nguyên tử halogen, hoặc theo cách khác là nguyên tử flo) với hợp chất có Công thức (III):



(III)

hoặc muối của chúng, trong đó R^1 và R^2 như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này. Phản ứng được thực hiện thuận tiện trong dung môi thích hợp (ví dụ như DMF, DMA hoặc THF) và trong sự có mặt của bazơ (ví dụ natri hydrua) tại nhiệt độ thích hợp (ví dụ nhiệt độ nằm trong khoảng 20-50°C).

Do đó, hợp chất có Công thức (II), và muối của chúng, hữu dụng để làm chất trung gian trong việc điều chế các hợp chất có Công thức (I) và tạo ra phương án khác nữa. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (II), hoặc muối của chúng, trong đó:

R^3 là hydro hoặc flo;

R^4 là hydro hoặc methyl;

R^5 là hydro hoặc flo; và

X là nhóm dời chuyển. Theo một phương án **X** là nguyên tử halogen hoặc nhóm triflat. Theo một phương án **X** là nguyên tử flo.

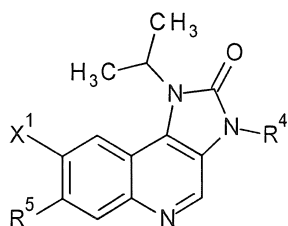
Theo một phương án sáng chế đề xuất 7-flo-8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối của chúng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối của chúng.

Theo phương án bất kỳ trong đó hợp chất có Công thức (II) hoặc muối của chúng được nêu trong sáng chế cần hiểu rằng các muối này không cần phải là muối được dụng. Muối thích hợp của hợp chất có Công thức (II) là, ví dụ, muối cộng axit. Muối cộng axit của hợp chất có Công thức (II) có thể được tạo thành bằng cách cho hợp chất này tiếp xúc với axit hữu cơ hoặc axit vô cơ thích hợp trong điều kiện đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Muối cộng axit có thể được tạo thành ví dụ như bằng cách sử dụng axit vô cơ được chọn từ nhóm gồm có axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulphuric và axit phosphoric. Muối cộng axit cũng có thể được tạo thành bằng cách sử dụng axit hữu cơ được chọn từ nhóm gồm có axit trifloaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit succinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic và axit *para*-toluensulfonic.

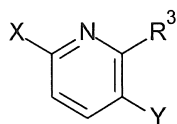
Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (II) hoặc muối của chúng, trong đó muối là muối của axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulphuric, axit phosphoric, axit trifloaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit succinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic hoặc muối của *axit para*-toluensulfonic.

Các hợp chất có Công thức (II) ví dụ có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có Công thức (IV):



(IV)

trong đó R^4 và R^5 như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này và X^1 là nhóm dời chuyển (ví dụ nguyên tử iot, nguyên tử brom, hoặc nguyên tử clo hoặc nhóm triflat, hoặc theo cách khác là nguyên tử brom) với hợp chất có công thức (V):



(V)

hoặc muối của chúng, trong đó R^3 và X như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này và Y là nhóm axit boronic, boronic este hoặc kali trifloborat (ví dụ axit boronic, axit boronic pinacol este, hoặc kali trifloborat). Phản ứng có thể được thực hiện trong các điều kiện tiêu chuẩn đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, ví dụ trong sự có mặt của nguồn paladi (ví dụ tetrakis triphenylphosphin paladi hoặc paladi(II) axetat), tùy ý phối tử phosphin (ví dụ Xantphos hoặc S-phos), và bazơ thích hợp (ví dụ xesi cacbonat hoặc trietylamin).

Do đó, hợp chất có Công thức (IV) hữu dụng để làm chất trung gian trong việc điều chế các hợp chất có Công thức (I) và tạo ra phương án khác. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (IV), hoặc muối của chúng, trong đó:

R^4 là hydro hoặc metyl;

R^5 là hydro hoặc flo; và

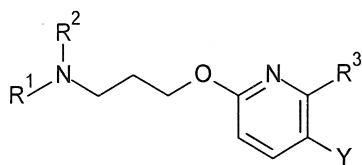
X^1 là nhóm dời chuyển. Theo một phương án X^1 là nguyên tử iot, nguyên tử brom, hoặc nguyên tử clo hoặc nhóm triflat. Theo một phương án X^1 là nguyên tử brom.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối của chúng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất 8-bromo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối của chúng.

Hợp chất có công thức (IV) có thể được điều chế bằng các phương pháp tương tự với các phương pháp được thể hiện trong phần Ví dụ.

Hợp chất có Công thức (I) cũng có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có Công thức (IV) như được mô tả ở trên với hợp chất có công thức (VI):



(VI)

trong đó R^1 , R^2 và R^3 như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này và Y là nhóm axit boronic, boronic este hoặc kali trifloborat (ví dụ axit boronic, axit boronic pinacol este, hoặc kali trifloborat). Phản ứng có thể được thực hiện trong các điều kiện tiêu chuẩn đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, ví dụ trong sự có mặt của nguồn paladi (ví dụ tetrakis triphenylphosphin paladi hoặc paladi(II) axetat), tùy ý phối tử phosphin (ví dụ Xantphos hoặc S-phos), và bazơ thích hợp (ví dụ xesi cacbonat hoặc triethylamin).

Hợp chất có công thức (VI) có thể được điều chế bằng phương pháp tương tự với các phương pháp được thể hiện trong phần Ví dụ.

Theo một phương án sáng chế đề xuất một trong các chất trung gian mới bất kỳ được mô tả trong phần thí nghiệm.

Do hoạt tính ức chế ATM kinaza của chúng, các hợp chất có Công thức (I), và muối được dụng của chúng được mong đợi là hữu dụng trong trị liệu, ví dụ trong việc điều trị các bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được điều biến ít nhất một phần bởi ATM kinaza, bao gồm ung thư.

Khi "ung thư" được đề cập, nó bao gồm cả ung thư không di căn và ung thư di căn, sao cho việc điều trị ung thư bao gồm việc điều trị của cả khối u nguyên phát và cũng như là khối u di căn.

"Hoạt tính ức chế ATM kinaza" dùng để chỉ độ giảm hoạt tính của ATM kinaza như là sự đáp ứng trực tiếp hoặc gián tiếp đối với sự có mặt của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, so với hoạt tính của ATM kinaza khi có mặt hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Độ giảm hoạt tính này có thể là do sự tương tác trực tiếp của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng với ATM kinaza, hoặc do sự tương tác của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng với một hoặc nhiều yếu tố khác mà có ảnh hưởng đến hoạt tính ATM kinaza. Ví dụ như, hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng có thể làm giảm ATM kinaza bằng cách liên kết trực tiếp với ATM kinaza, bằng cách gây ra (trực tiếp hoặc gián tiếp) yếu tố khác để làm giảm hoạt tính ATM kinaza, hoặc bằng cách làm giảm (trực tiếp hoặc gián tiếp) hàm lượng ATM kinaza có mặt trong tế bào hoặc cơ thể sinh vật.

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

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

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

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong trị liệu.

Theo một phương án sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sản xuất thuốc.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị bệnh bị điều biến bởi ATM kinaza. Theo một phương án, bệnh bị điều biến bởi ATM kinaza này là ung thư. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu và ung thư phổi. Theo một phương án, ung thư này là ung thư kết trực tràng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị bệnh Huntington.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng làm tác nhân bảo vệ thần kinh.

"Tác nhân bảo vệ thần kinh" là tác nhân hỗ trợ sự bảo toàn tương đối của cấu trúc và/hoặc chức năng của neuron.

Theo một phương án sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sản xuất thuốc để điều trị bệnh bị điều biến bởi ATM kinaza. Theo một phương án, bệnh bị điều biến bởi ATM kinaza này là ung thư. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu và ung thư phổi. Theo một phương án, ung thư này là ung thư kết trực tràng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sản xuất thuốc để điều trị ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sản xuất thuốc để điều trị bệnh Huntington.

Theo một phương án sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sản xuất thuốc cho việc sử dụng làm tác nhân bảo vệ thần kinh.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh mà trong đó sự ức chế ATM kinaza là có lợi ở động vật máu nóng cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này với lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một phương án, bệnh này là ung thư. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng

trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu và ung thư phổi. Theo một phương án, ung thư này là ung thư kết trực tràng.

Theo phương án bất kỳ, bệnh mà trong đó sự ức chế ATM kinaza là có lợi có thể là bệnh Huntingdon.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp ảnh hưởng sự bảo vệ thần kinh ở động vật máu nóng cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này với lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu để điều trị" dùng để chỉ hàm lượng của hợp chất có Công thức (I) như đã mô tả theo phương án bất kỳ trong bản mô tả này mà hữu hiệu để mang lại "liệu pháp điều trị" ở đối tượng, hoặc để "điều trị" bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng. Trong trường hợp ung thư, lượng hữu hiệu để điều trị có thể gây ra sự thay đổi bất kỳ có thể quan sát được hoặc có thể đo được ở đối tượng như được mô tả trong định nghĩa về "liệu pháp điều trị", ""điều trị" và "phòng bệnh" ở trên. Ví dụ như, lượng hữu hiệu có thể làm giảm số lượng tế bào ung thư hoặc tế bào khối u; làm giảm kích thước khối u toàn phần; ức chế hoặc ngăn chặn sự thâm nhập của tế bào khối u vào các cơ quan ngoại vi bao gồm, ví dụ, mô mềm và xương; ức chế và ngăn chặn sự di căn của khối u; ức chế và ngăn chặn sự phát triển khối u; làm thuyên giảm đến mức độ nào đó một hoặc nhiều triệu chứng có liên quan với ung thư; làm giảm tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong; cải thiện chất lượng cuộc sống; hoặc kết hợp của các hiệu quả này. Lượng hữu hiệu có thể là lượng đủ để làm giảm triệu chứng của bệnh đáp ứng với sự ức chế hoạt tính ATM kinaza. Đối với liệu pháp ung thư, hiệu quả *in-vivo* có thể, ví dụ như, được đo bằng cách đánh giá thời gian sống, thời gian tiến triển bệnh (TTP), tỷ lệ đáp ứng (RR), thời gian đáp ứng, và/hoặc chất lượng cuộc sống. Theo như những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này nhận thấy, lượng hữu hiệu có thể thay đổi tùy thuộc vào đường dùng, việc sử dụng tá dược,

và việc sử dụng cùng với các tác nhân khác. Ví dụ, trong đó trị liệu kết hợp được sử dụng, hàm lượng của hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng được mô tả trong bản mô tả này và hàm lượng của (các) tác nhân có hoạt tính được khác, khi được kết hợp, cùng có hiệu quả để điều trị rối loạn đích ở con vật mắc bệnh. Trong trường hợp này, lượng kết hợp là trong "lượng hữu hiệu để điều trị" nếu chúng, khi được kết hợp, đủ để làm giảm triệu chứng của bệnh đáp ứng với sự ức chế hoạt tính ATM như được mô tả ở trên. Thông thường, các hàm lượng này có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực xác định bằng cách, ví dụ, bắt đầu bằng giới hạn liều lượng được mô tả trong bản mô tả này đối với hợp chất có Công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và (các) giới hạn liều lượng đã được phê chuẩn hoặc được công bố theo cách khác của (các) hợp chất có hoạt tính được khác.

"Động vật máu nóng" bao gồm, ví dụ, con người.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị ung thư ở động vật máu nóng cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này với lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một phương án, ung thư này được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu và ung thư phổi. Theo một phương án, ung thư này là ung thư kết trực tràng.

Theo phương án bất kỳ trong đó ung thư được nêu theo nghĩa chung, ung thư này có thể được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư phổi tế bào nhỏ và ung thư phổi tế bào không nhỏ. Ung thư này cũng có thể được chọn từ nhóm gồm có ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư

buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu và ung thư phổi.

Theo phương án bất kỳ trong đó ung thư được nêu theo nghĩa chung các phương án sau đây có thể áp dụng:

Theo một phương án ung thư là ung thư kết trực tràng.

Theo một phương án ung thư là u nguyên bào đệm.

Theo một phương án ung thư là ung thư dạ dày.

Theo một phương án ung thư là ung thư thực quản.

Theo một phương án ung thư là ung thư buồng trứng.

Theo một phương án ung thư là ung thư nội mạc tử cung.

Theo một phương án ung thư là ung thư cổ tử cung.

Theo một phương án ung thư là u lympho tế bào-B lớn lan tỏa.

Theo một phương án ung thư là bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính.

Theo một phương án ung thư là bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính.

Theo một phương án ung thư là ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu.

Theo một phương án ung thư là ung thư vú. Theo một phương án ung thư là ung thư vú âm tính bộ ba.

"Ung thư vú âm tính bộ ba" là ung thư vú bất kỳ mà không biểu hiện các gen cho thụ thể estrogen, thụ thể progesteron và Her2/neu.

Theo một phương án ung thư là ung thư biểu mô tế bào gan.

Theo một phương án ung thư là ung thư phổi. Theo một phương án ung thư phổi là ung thư phổi tế bào nhỏ. Theo một phương án ung thư phổi là ung thư phổi tế bào không nhỏ.

Theo một phương án ung thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

"Sự di căn màng não mềm" xảy ra khi ung thư lan ra đến màng não, các lớp mô phủ ngoài não và tủy sống. Sự di căn có thể lan ra đến màng não thông qua máu hoặc chúng có thể di chuyển từ sự di căn ở não, được mang bởi dịch não tủy (cerebrospinal fluid - CSF) chảy qua màng não. Theo một phương án ung thư là ung thư không di căn.

Việc điều trị kháng ung thư được mô tả trong bản mô tả này có thể hữu dụng để làm trị liệu duy nhất, hoặc có thể bao gồm, ngoài bước dùng hợp chất có Công thức (I), phẫu thuật, xạ trị hoặc hóa trị thông thường; hoặc kết hợp các trị liệu khác. Phẫu thuật, xạ trị hoặc hóa trị thông thường này có thể được dùng một cách đồng thời, tuần tự hoặc riêng rẽ để điều trị với hợp chất có Công thức (I).

Xạ trị có thể bao gồm một hoặc nhiều loại trị liệu sau đây:

- i. Liệu pháp xạ trị bên ngoài sử dụng bức xạ điện từ, và liệu pháp xạ trị trong khi phẫu thuật sử dụng bức xạ điện từ;
- ii. Liệu pháp xạ trị bên trong hoặc xạ trị áp sát; bao gồm liệu pháp xạ trị kẽ hoặc liệu pháp xạ trị nội phân tử; hoặc
- iii. Liệu pháp xạ trị hệ thống, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở iot 131 và stronti 89.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, và xạ trị, để sử dụng trong việc điều trị ung thư. Theo một phương án ung thư

là u nguyên bào đệm. Theo một phương án, ung thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng kết hợp với xạ trị. Theo một phương án ung thư là u nguyên bào đệm. Theo một phương án, ung thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và xạ trị, để sử dụng trong việc điều trị ung thư đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự. Theo một phương án ung thư được chọn từ u nguyên bào đệm, ung thư phổi (ví dụ ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc ung thư phổi tế bào không nhỏ), ung thư vú (ví dụ ung thư vú âm tính bộ ba), ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư thực quản, ung thư cổ tử cung và ung thư nội mạc tử cung. Theo một phương án ung thư là u nguyên bào đệm. Theo một phương án, ung thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng một cách đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự với xạ trị. Theo một phương án ung thư được chọn từ u nguyên bào đệm, ung thư phổi (ví dụ ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc ung thư phổi tế bào không nhỏ), ung thư vú (ví dụ ung thư vú âm tính bộ ba), ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư thực quản, ung thư cổ tử cung và ung thư nội mạc tử cung. Theo một phương án ung thư là u nguyên bào đệm. Theo một phương án, ung

thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị ung thư ở động vật máu nóng mà cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng và xạ trị, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và xạ trị cùng có hiệu quả trong việc tạo ra tác dụng kháng ung thư. Theo một phương án ung thư được chọn từ u nguyên bào đệm, ung thư phổi (ví dụ ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc ung thư phổi tế bào không nhỏ), ung thư vú (ví dụ ung thư vú âm tính bộ ba), ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư thực quản, ung thư cổ tử cung và ung thư nội mạc tử cung. Theo một phương án ung thư là u nguyên bào đệm. Theo một phương án, ung thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị ung thư ở động vật máu nóng mà cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng và bước dùng xạ trị một cách đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và xạ trị cùng có hiệu quả trong việc tạo ra tác dụng kháng ung thư. Theo một phương án ung thư là u nguyên bào đệm. Theo một phương án, ung thư là ung thư di căn. Theo một phương án ung thư di căn có gồm sự di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn ở não. Theo một phương án sự di căn của hệ thần kinh trung ương có gồm sự di căn màng não mềm.

Theo phương án bất kỳ xạ trị được chọn từ nhóm gồm có một hoặc nhiều loại xạ trị được liệt kê trong các điểm từ (i) đến (iii) ở trên.

Hóa trị có thể bao gồm một hoặc nhiều loại chất kháng khối u sau đây:

i. Chất chống tạo khối u và dạng kết hợp của chúng, chẳng hạn như các chất alkyl hóa ADN (ví dụ cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, cyclophosphamid, các nitơ mustard như ifosfamid, bendamustin, melphalan, clorambuxil, busulfan, temozolamid và nitrosoure như carmustin); chất chống chuyển hóa (ví dụ gemxitabin và kháng folat chẳng hạn như flopyrimidin như 5-flouraxin và tegafur, raltitrexed, methotrexat, xytosin arabinosit, và hydroxyure); kháng sinh kháng khối u (ví dụ anthracyclin như adriamycin, bleomycin, doxorubixin, doxorubixin của liposom, pirarubixin, daunomycin, valrubixin, epirubixin, idarubixin, mitomycin-C, dactinomycin, amrubixin và mithramycin); chất chống phân bào (ví dụ vinca alkaloid như vincristin, vinblastin, vindesin và vinorelbin và taxoit như taxol và taxotere và chất ức chế polokinaza); và chất ức chế topoisomeraza (ví dụ epipodophyllotoxin như etoposid và teniposid, amsacrin, irinotecan, topotecan và camptothecin); chất ức chế của cơ chế sửa chữa ADN chẳng hạn như kinaza CHK; chất ức chế protein kinaza phụ thuộc ADN; chất ức chế của poly (ADP-riboza) polymeraza (chất ức chế PARP, bao gồm olaparib); và chất ức chế Hsp90 chẳng hạn như tanespimycin và retaspimycin, chất ức chế của ATR kinaza (chẳng hạn như AZD6738); và chất ức chế của kinaza WEE1 (chẳng hạn như AZD1775/MK-1775);

ii. Chất chống tạo mạch chẳng hạn như các chất mà ức chế ảnh hưởng của các yếu tố tăng trưởng tế bào nội mạc mạch máu, ví dụ kháng thể kháng yếu tố tăng trưởng tế bào nội mạc mạch máu bevacizumab và ví dụ như, chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza VEGF chẳng hạn như vandetanib (ZD6474), sorafenib, vatalanib (PTK787), sunitinib (SU11248), axitinib (AG-013736), pazopanib (GW 786034) và cediranib (AZD2171); các hợp chất chẳng hạn như hợp chất được công bố trong các Đơn Sáng Chế Quốc Tế WO97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 và WO 98/13354; và hợp chất mà hoạt động theo cơ chế khác (ví dụ linomit, chất ức chế chức năng integrin $\alpha\beta3$ và angiostatin), hoặc chất ức chế angiopoietin và các thụ thể của chúng (Tie-1 và Tie-2), chất ức chế PLGF, chất ức chế phối tử như delta (DLL-4);

iii. Phương pháp trị liệu miễn dịch, bao gồm ví dụ như các phương pháp *ex-vivo* và *in-vivo* để làm tăng khả năng gây miễn dịch của các tế bào khối u của bệnh nhân, chẳng hạn như sự chuyển nạp bằng xytokin chẳng hạn như interleukin 2, interleukin 4 hoặc yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt-đại thực bào; các phương pháp để làm giảm sự suy nhược tế bào T hoặc chức năng của tế bào T điều hòa; các phương pháp tăng cường đáp ứng của tế bào T với khối u, chẳng hạn như kháng thể ức chế với CTLA4 (ví dụ ipilimumab và tremelimumab), B7H1, PD-1 (ví dụ BMS-936558 hoặc AMP-514), PD-L1 (ví dụ MEDI4736) và kháng thể chủ vận với CD137; các phương pháp sử dụng tế bào miễn dịch đã được chuyển nạp chẳng hạn như tế bào tua đã được chuyển nạp xytokin; các phương pháp sử dụng dòng tế bào khối u đã được chuyển nạp xytokin, các phương pháp sử dụng kháng thể đối với kháng nguyên kết hợp khối u, và kháng thể mà làm suy yếu loại tế bào đích (ví dụ, kháng thể kháng CD20 không liên hợp chẳng hạn như Rituximab, kháng thể kháng CD20 được đánh dấu phóng xạ Bexxar và Zevalin, và kháng thể kháng CD54 Campath); các phương pháp sử dụng kháng thể kháng idiotyp; các phương pháp tăng cường chức năng của tế bào Giết Tự Nhiên; và các phương pháp mà dùng thể liên hợp kháng thể-độc tố (ví dụ kháng thể kháng CD33 Mylotarg); độc tố miễn dịch chẳng hạn như moxetumumab pasudotox; chất chủ vận của thụ thể giống toll 7 hoặc thụ thể giống toll 9;

iv. Chất tăng cường hiệu quả, chẳng hạn như leucovorin.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung, để sử dụng trong việc điều trị ung thư. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng được dùng kết hợp với chất kháng khối u bổ sung. Theo một phương án sáng chế có một chất kháng khối u bổ sung. Theo một phương án sáng chế có hai chất kháng khối u bổ sung. Theo một phương án sáng chế có ba hoặc nhiều hơn ba chất kháng khối u bổ sung.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung để sử dụng trong việc điều trị ung thư

đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng một cách đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự với chất kháng khối u bổ sung.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị ung thư ở động vật máu nóng mà cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung, trong đó hàm lượng của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và hàm lượng của chất kháng khối u bổ sung cùng có hiệu quả trong việc tạo ra tác dụng kháng ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất phương pháp điều trị ung thư ở động vật máu nóng mà cần điều trị, bao gồm bước dùng cho động vật máu nóng này hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và bước dùng một cách đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự ít nhất một chất kháng khối u bổ sung cho động vật máu nóng này, trong đó hàm lượng của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và hàm lượng của chất kháng khối u bổ sung cùng có hiệu quả trong việc tạo ra tác dụng kháng ung thư.

Theo phương án bất kỳ chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có một hoặc nhiều chất kháng khối u bổ sung được liệt kê trong các điểm từ (i) đến (iv) ở trên.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một chất chống tạo khối u để sử dụng trong việc điều trị ung thư. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng kết hợp với ít nhất một chất chống tạo khối u. Theo một phương án chất chống tạo khối u được chọn từ danh sách của các chất chống tạo khối u trong điểm (i) ở trên.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một chất chống tạo khối u để sử dụng trong việc điều trị ung thư đồng

thời, riêng rẽ hoặc tuần tự. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng một cách đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự với ít nhất một chất chống tạo khối u. Theo một phương án chất chống tạo khối u được chọn từ danh sách của các chất chống tạo khối u trong điểm (i) ở trên.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, valrubicin, idarubicin, doxorubicin, pirarubicin, irinotecan, topotecan, amrubicin, epirubicin, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan, bleomycin, olaparib, MEDI4736, AZD1775 và AZD6738, để sử dụng trong việc điều trị ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, doxorubicin, pirarubicin, irinotecan, topotecan, amrubicin, epirubicin, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan, bleomycin, olaparib, AZD1775 và AZD6738, để sử dụng trong việc điều trị ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng kết hợp với ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, valrubicin, idarubicin, doxorubicin, pirarubicin, irinotecan, topotecan, amrubicin, epirubicin, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan, bleomycin, olaparib, MEDI4736, AZD1775 và AZD6738.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có doxorubicin,

irinotecan, topotecan, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan, bleomycin và olaparib để sử dụng trong việc điều trị ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có doxorubicin, irinotecan, topotecan, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan, bleomycin và olaparib.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, và ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có doxorubicin, irinotecan, topotecan, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan và bleomycin, để sử dụng trong việc điều trị ung thư.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có doxorubicin, irinotecan, topotecan, etoposít, mitomycin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamid, carmustin, melphalan và bleomycin.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với ít nhất một chất kháng khối u bổ sung được chọn từ nhóm gồm có doxorubicin, pirarubicin, amrubicin và epirubicin. Theo một phương án ung thư là bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính. Theo một phương án ung thư là ung thư vú (ví dụ ung thư vú âm tính bộ ba). Theo một phương án ung thư là ung thư biểu mô tế bào gan.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, và irinotecan, để sử dụng trong việc điều trị ung thư. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, để sử dụng trong việc điều

trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng kết hợp với irinotecan. Theo một phương án ung thư là ung thư kết trực tràng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và FOLFIRI, để sử dụng trong việc điều trị ung thư. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng kết hợp với FOLFIRI. Theo một phương án ung thư là ung thư kết trực tràng.

FOLFIRI là chế độ liều lượng bao gồm sự kết hợp của leucovorin, 5-flouraxin và irinotecan.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng kết hợp với olaparib. Theo một phương án ung thư là ung thư dạ dày.

Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng kết hợp với topotecan. Theo một phương án ung thư là ung thư phổi tế bào nhỏ. Theo một phương án sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị ung thư, trong đó hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, được dùng kết hợp với trị liệu miễn dịch. Theo một phương án trị liệu miễn dịch là một hoặc nhiều chất trong các chất được liệt kê trong điểm (iii) ở trên. Theo một phương án trị liệu miễn dịch là kháng thể kháng PD-L1 (ví dụ MEDI4736).

Theo phương án khác sáng chế đề xuất bộ kit có chứa:

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

b) Chất kháng khối u bổ sung khác ở dạng liều lượng đơn vị khác;

c) Vật chứa để chứa các liều lượng đơn vị thứ nhất và liều lượng đơn vị khác; và tùy ý

d) Hướng dẫn sử dụng. Theo một phương án chất kháng khối u có chứa chất chống tạo khối u.

Theo phương án bất kỳ trong đó chất chống tạo khối u được đề cập, chất chống tạo khối u là một hoặc nhiều chất trong các chất được liệt kê trong điểm (i) ở trên.

Các hợp chất có Công thức (I), và muối dược dụng của chúng, có thể được dùng dưới dạng dược phẩm, có chứa một hoặc nhiều tá dược dược dụng.

Do đó, theo một phương án sáng chế đề xuất dược phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và ít nhất một tá dược dược dụng.

(Các) tá dược mà được chọn lọc để đưa vào dược phẩm cụ thể sẽ phụ thuộc vào các yếu tố chẳng hạn như phương thức sử dụng và dạng dược phẩm được tạo ra. Tá dược dược dụng thích hợp đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và được mô tả, ví dụ như, trong tài liệu *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Sixth edition, Pharmaceutical Press, hiệu đính bởi Rowe, Ray C; Sheskey, Paul J; Quinn, Marian. Tá dược dược dụng có thể đóng vai trò làm, ví dụ như, chất hỗ trợ, chất pha loãng, chất mang, chất làm ổn định, chất tạo hương vị, chất tạo màu, chất độn, chất kết dính, chất phân rã, chất bôi trơn, chất làm trượt, chất làm đặc và chất phủ ngoài. Theo như người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rõ, tá dược dược dụng nhất định có thể có nhiều hơn một chức năng và có thể có các chức năng khác tùy thuộc vào việc có bao nhiêu tá dược có mặt trong dược phẩm và có các tá dược khác nào có mặt trong dược phẩm.

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

trong nước tiệt trùng để dùng trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ hoặc dùng liều lượng trong cơ), hoặc dưới dạng thuốc đạn để dùng liều lượng qua trực tràng. Dược phẩm có thể thu được bằng quy trình thông thường đã được biết rõ trong lĩnh vực. Dược phẩm nhằm để dùng qua đường miệng có thể chứa các thành phần bổ sung, ví dụ, một hoặc nhiều chất tạo màu, chất làm ngọt, chất tạo hương vị và/hoặc chất bảo quản.

Hợp chất có Công thức (I) sẽ thường được dùng cho động vật máu nóng ở liều lượng đơn vị nằm trong khoảng từ 2,5 đến 5000 mg/m² diện tích cơ thể của động vật, hoặc xấp xỉ từ 0,05 đến 100 mg/kg, và điều này thường tạo ra liều lượng hữu hiệu để điều trị. Dạng liều lượng đơn vị chẳng hạn như viên nén hoặc viên nang sẽ thường chứa, ví dụ từ 0,1 đến 250 mg thành phần hoạt tính. Liều lượng hằng ngày sẽ cần phải thay đổi tùy thuộc vào vật chủ được điều trị, đường dùng cụ thể, các liệu pháp trị liệu bất kỳ đang được dùng cùng nhau, và mức độ nghiêm trọng của bệnh đang được điều trị. Theo đó người hành nghề mà đang điều trị bệnh nhân cụ thể bất kỳ có thể xác định liều lượng tối ưu.

Dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và do đó được mong đợi là hữu dụng trong trị liệu.

Như vậy, theo một phương án sáng chế đề xuất dược phẩm để sử dụng trong trị liệu, có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và ít nhất một tá dược được dụng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dược phẩm để sử dụng trong việc điều trị bệnh mà trong đó sự ức chế ATM kinaza là có lợi, có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và ít nhất một tá dược được dụng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất dược phẩm để sử dụng trong việc điều trị ung thư, có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và ít nhất một tá dược được dụng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng trong việc điều trị ung thư mà trong đó sự ức chế ATM kinaza là có lợi, có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một tá được dụng.

Theo một phương án sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng trong việc điều trị ung thư kết trực tràng, u nguyên bào đệm, ung thư dạ dày, ung thư buồng trứng, u lympho tế bào-B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu tế bào lympho mãn tính, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính, ung thư biểu mô tế bào vảy ở cổ và đầu, ung thư vú, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc ung thư phổi tế bào không nhỏ, có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một tá được dụng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các phương án khác nhau của sáng chế được minh họa bằng các Ví dụ sau đây. Sáng chế không được hiểu theo nghĩa là bị giới hạn ở các Ví dụ này. Trong quá trình điều chế theo Ví dụ, thông thường:

- i. Các hoạt động được thực hiện ở nhiệt độ môi trường xung quanh, *tức là* nằm trong khoảng từ 17 đến 30°C và dưới khí trơ chẳng hạn như khí nitơ trừ khi có chỉ dẫn khác;
- ii. Sự làm bay hơi được thực hiện bằng cách làm bay hơi quay hoặc sử dụng thiết bị Genevac *trong chân không* và các quy trình phụ được thực hiện sau khi loại bỏ chất rắn dư bằng cách lọc;
- iii. Việc tinh chế bằng sắc ký nhanh được thực hiện trên Armen Glider Flash tự động hóa : Spot II Ultimate (Armen Instrument, Saint-Ave, Pháp) hoặc hệ thống sắc ký nhanh tích hợp Presearch tự động hóa sử dụng hộp chứa silic oxit Si60 pha thường Merck đã đóng gói sẵn (phép đo độ hạt: 15-40 hoặc 40-63 μm) thu được từ hãng Merck, Darmstad, Đức, hộp chứa silicycle silic oxit hoặc hộp chứa silic oxit graceresolv;
- iv. , Sắc ký điều chế được thực hiện trên thiết bị Waters (600/2700 hoặc 2525) được lắp với khối phổ kế ZMD hoặc khối phổ kế ZQ ESCi và cột pha đảo Waters X-Terra hoặc cột

pha đảo Waters X-Bridge hoặc cột pha đảo Waters SunFire (C-18, silic oxit 5 micromet, đường kính 19 mm hoặc 50 mm, chiều dài 100 mm, tốc độ dòng chảy bằng 40 ml/phút) sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa 1% amoni) và axetonitril hoặc hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa 0,1% axit formic) và axetonitril làm chất rửa giải;

v. Hiệu suất, khi có mặt, có thể không cần phải là giá trị có thể đạt được lớn nhất;

vi. Cấu trúc của sản phẩm cuối có Công thức (I) được xác nhận bằng quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), với giá trị dịch chuyển hóa học NMR được đo theo thang delta. Phổ cộng hưởng từ hạt proton được xác định bằng thiết bị Bruker cải tiến 700 (700MHz), Bruker Avance 500 (500 MHz), Bruker 400 (400 MHz) hoặc Bruker 300 (300 MHz); ¹⁹F NMR được xác định ở tần số 282 MHz hoặc 376 MHz; ¹³C NMR được xác định ở tần số 75 MHz hoặc 100 MHz; số đo được lấy vào lúc nhiệt độ nằm trong khoảng 20 - 30°C trừ khi có chỉ dẫn khác; các chữ viết tắt sau đây được sử dụng: s, mức đơn; d, mức đôi; t, mức ba; q, mức tư; m, mức bội; dd, mức đôi của mức đôi; ddd, mức đôi của mức đôi của mức đôi; dt, mức đôi của mức ba; bs, tín hiệu rộng;

vii. Sản phẩm cuối có Công thức (I) cũng được xác định đặc điểm bằng sắc ký lỏng sau khi quang khối phổ (mass spectroscopy following liquid chromatography - LCMS); LCMS được thực hiện bằng cách sử dụng Waters Alliance HT (2790 & 2795) được lắp với khối phổ kế Waters ZQ ESCi hoặc khối phổ kế ZMD ESCi và cột C-18 5 µm X Bridge (2,1 x 50 mm) ở tốc độ dòng chảy bằng 2,4 ml/phút, sử dụng hệ dung môi từ 95% A + 5% C đến 95% B + 5% C trong thời gian hơn 4 phút, trong đó A = nước, B = metanol, C = metanol:nước 1:1 (chứa 0,2% amoni cacbonat); hoặc bằng cách sử dụng UFLC Shimadzu hoặc UHPLC kết hợp với bộ phát hiện DAD, bộ phát hiện ELSD và khối phổ kế 2020 EV (hoặc tiêu chuẩn) được lắp với cột C18 3,0x50 mm, 3,0 µM Phenomenex Gemini-NX hoặc tiêu chuẩn (điều kiện bazơ) hoặc cột 3,0 x 50 mm, 2,2 µM Shim pack XR – ODS hoặc cột C18 2,1 x 50 mm, 1,7 µM Waters BEH hoặc tiêu chuẩn có sử dụng hệ dung môi từ 95% D + 5% E đến 95% E + 5% D trong vòng hơn 4 phút, trong đó D = nước (chứa 0,05% TFA), E = axetonitril (chứa 0,05% TFA) (điều kiện axit) hoặc hệ dung môi từ 90% F + 10% G đến 95% G + 5% F trong vòng hơn 4 phút, trong đó F =

nước (chứa 6,5 mM amoni hydro cacbonat và điều chỉnh độ pH10 bằng cách bổ sung amoni),
G = axetonitril (điều kiện bazơ);

viii. Chất trung gian thông thường xác định đặc điểm một cách đầy đủ và độ tinh sạch được đánh giá bằng phân tích sắc ký lớp mỏng, khối phổ, HPLC và/hoặc phân tích NMR;

ix. Phổ nhiễu xạ bột tia X được xác định (sử dụng Thiết Bị Phân Tích Bruker D4) bằng cách đặt mẫu của nguyên liệu kết tinh lên trên bề mặt tinh thể silic đơn (single silicon crystal - SSC) Bruker và trải mẫu ra thành lớp mỏng với sự hỗ trợ của lam kính kính hiển vi. Quay mẫu ở tốc độ 30 vòng quay trên mỗi phút (để cải thiện việc đếm các số liệu thống kê) và được chiếu xạ bằng tia X được tạo ra bởi ống tụ tiêu dài bằng đồng hoạt động ở 40kV và 40mA với chiều dài bước sóng bằng 1,5418 ăngstrom. Nguồn tia X chuẩn trực được cho đi qua khe phân kỳ khả biến tự động đặt ở V20 và tia bức xạ phản xạ trực tiếp qua khe chống phân tán 5,89 mm và khe dò phát hiện 9,55 mm. Mẫu được để lộ ra trong khoảng 0,03 giây trên mỗi gia lượng 2-teta 0,00570° (phương thức quét liên tục) trong khoảng giá trị 2-teta từ 2 độ đến 40 độ theo phương thức teta-teta. Thời gian chạy là 3 phút và 36 giây. Thiết bị được trang bị với bộ phát hiện cảm biến Positron (Lynxeye). Việc kiểm soát và thu gom dữ liệu thông qua Dell Optiplex 686 NT 4.0 Workstation hoạt động cùng với phần mềm Difffrac+;

x. Phép Đo Nhiệt Lượng Quét Vi Sai được thực hiện trên Thiết Bị Q1000 DSC TA. Thông thường, có ít hơn 5 mg nguyên liệu mà được chứa trong bộ nhôm tiêu chuẩn có lắp với nắp được gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng nhiệt độ từ 25°C đến 300°C ở tốc độ gia nhiệt không đổi bằng 10°C trên mỗi phút. Khí sạch bằng khí nitơ được sử dụng ở tốc độ dòng chảy 50 ml trên mỗi phút

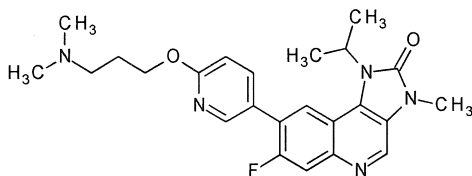
xi. Các chữ viết tắt sau đây được sử dụng: h = giờ; r.t. = nhiệt độ trong phòng (~18-25°C); conc. = cô đặc; FCC = sắc ký cột nhanh bằng silic oxit; DCM = điclorometan; DIPEA = diisopropyletylamin ; DMA = *N,N*-dimetylxetamid; DMF = *N,N*-dimetylformamid; DMSO = đimetylsulfoxit; Et₂O = dietyl ete; EtOAc = etyl axetat; EtOH = etanol; K₂CO₃ = kali cacbonat; MeOH = metanol; MeCN = axetonitril; MTBE = Metylttertbutylete; MgSO₄ = magie sulfat

khan; Na₂SO₄ = natri sulfat khan; THF = tetrahydrofuran; sat. = dung dịch bão hòa trong nước; và

xii. Tên IUPAC được tạo ra bằng chương trình phù hợp "Canvas" hoặc 'IBIS', AstraZeneca. Như được nêu trong phần giới thiệu, các hợp chất theo sáng chế có chứa lỗi imidazo[4,5-c]quinolin-2-on. Tuy nhiên, trong Ví dụ tên IUPAC nhất định mô tả lỗi là imidazo[5,4-c]quinolin-2-on. Tuy vậy lỗi imidazo[4,5-c]quinolin-2-on và lỗi imidazo[5,4-c]quinolin-2-on là giống nhau, với quy ước về tên khác nhau do nhóm ngoại vi.

Ví dụ 1

8-[6-[3-(Đimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-fluoro-1-isopropyl-3-methyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

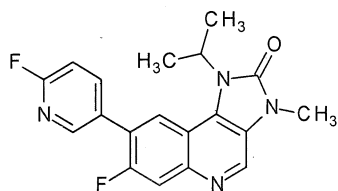


Bổ sung từ từ 3-(đimethylamino)propan-1-ol (0,433 ml; 3,66 mmol) vào dịch sền sệt của natri hydrua (0,333 g; 8,33 mmol) trong THF (10 ml) và khuấy dung dịch ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung dung dịch này vào dung dịch của 7-fluoro-8-(6-fluoro-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-methyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (1,18 g; 3,33 mmol) trong THF (20 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ và được làm lạnh bằng nước. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm và được chiết bằng DCM (2 x 100 ml). Pha hữu cơ được rửa bằng nước (50 ml), được làm khô trong thiết bị tách pha và dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 10% trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn. Gia nhiệt chất rắn trong MeCN (15 ml) và để nguội xuống nhiệt độ trong phòng qua đêm. Chất rắn màu trắng được lọc trong chân không và được làm khô trong lò chân không trong thời gian 3 giờ để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (1,79 g; 41 %). *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,65 (6H, d), 1,90 (2H, p), 2,17 (6H, s), 2,38 (2H, t),

3,50 (3H, s), 4,38 (2H, t), 5,29 (1H, hept), 6,99 (1H, dd), 7,92 (1H, d), 8,05 (1H, dt), 8,33 (1H, d), 8,50 (1H, dd), 8,91 (1H, s). $^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 1,76 (6H, d), 1,96 - 2,06 (2H, m), 2,28 (6H, s), 2,44 - 2,51 (2H, m), 3,58 (3H, s), 4,44 (2H, t), 5,22 (1H, s), 6,89 (1H, dd), 7,86 - 7,92 (2H, m), 8,21 (1H, d), 8,41 (1H, d), 8,69 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 438.

Nguyên liệu mong muốn cũng có thể được tách ra dưới dạng muối của axit metan sulfonic như được mô tả dưới đây: Bỏ sung từng phần axit metansulfonic 1M trong DCM (0,660 ml; 0,66 mmol) vào bazơ tự do đã được phân tách (275 mg; 0,63 mmol) trong DCM (5 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khoảng thời gian 1 phút. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 1 giờ sau đó cô đặc *trong chân không* và phần cặn được làm khô trong chân không để tạo ra muối của axit metansulfonic mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (336 mg; 100 %). *Phổ NMR*: $^1\text{H NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,65 (6H, d), 2,05 - 2,21 (2H, m), 2,32 (3H, s), 2,76 (6H, s), 3,04 - 3,21 (2H, m), 3,51 (3H, s), 4,43 (2H, t), 5,29 (1H, hept), 7,02 (1H, dd), 7,93 (1H, d), 8,09 (1H, dt), 8,32 (1H, d), 8,53 (1H, dd), 8,92 (1H, s), 9,36 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 438.

Chất trung gian A1: 7-Flo-8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



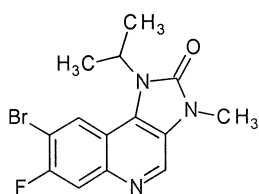
Điclobis(đi-tert-butyl(3-sulfopropyl)phosphonio)palladat(II) (dung dịch 0,05 M trong nước; 11,83 ml; 0,59 mmol) được bỏ sung vào hỗn hợp đã khử khí của 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (4,0 g; 11,83 mmol), axit (6-flopyridin-3-yl)boronic (2,0 g; 14,19 mmol) và dung dịch kali cacbonat 2 M (17,74 ml; 35,48 mmol) trong 1,4-dioxan (50 ml) và nước (12,5 ml). Hỗn hợp được sục bằng khí nitơ và được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C trong thời gian 1 giờ sau đó được để nguội và cô đặc dưới áp suất giảm để loại

bỏ. Pha loãng dung dịch còn lại bằng DCM (250 ml), rửa bằng nước (200 ml) và lớp hữu cơ được làm khô bằng hộp chứa tách pha và được làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 10% trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (3,70 g; 88 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 1,77 (6H, dd), 3,58 (3H, d), 5,20 (1H, s), 7,11 (1H, ddd), 7,93 (1H, d), 8,06 - 8,14 (1H, m), 8,22 (1H, d), 8,46 - 8,51 (1H, m), 8,72 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 355,3.

Điclobis(đi-tert-butyl(3-sulfopropyl)phosphonio)palladat(II) (dung dịch 0,05 M trong nước) có thể được điều chế như đã được mô tả dưới đây:

Bổ sung nước đã được khử khí (30 ml) vào natri tetraclopalat(II) (0,410 g; 1,39 mmol) và axit 3-(đi-tert-butylphosphino)propan-1-sulfonic (0,748 g; 2,79 mmol) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ. Khuấy huyền phù trong thời gian 5 phút, sau đó chất rắn được loại ra bằng cách lọc và được thải bỏ ra khỏi chất phản ứng mong muốn dưới dạng dung dịch màu nâu-đỏ.

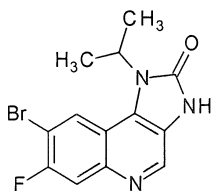
Chất trung gian A2: 8-Bromo-7-flu-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Bổ sung dung dịch của natri hydroxit (11,29 g; 282,28 mmol) trong nước (600 ml) vào hỗn hợp đã được khuấy trộn của 8-bromo-7-flu-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (61 g, 188,19 mmol), tetrabutylamoni bromua (6,07 g, 18,82 mmol) và metyl iotua (23,53 ml, 376,37 mmol) trong DCM (1300 ml) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 17 giờ. Lặp lại cùng quy trình như vậy theo tỷ lệ giống như vậy và các hỗn hợp phản ứng được kết hợp, cô đặc và pha loãng bằng MeOH (750 ml). Chất kết tủa được thu gom

bằng cách lọc, được rửa bằng MeOH (500 ml) và chất rắn được làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (108 g, 85%). *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,76 (6H, d), 3,57 (3H, s), 5,13 (1H, t), 7,83 (1H, d), 8,41 (1H, d), 8,69 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 380.

Chất trung gian A3: 8-Bromo-7-fluoro-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Triethylamin (164 ml, 1173,78 mmol) được bổ sung một phần vào axit 6-bromo-7-fluoro-4-(isopropylamino)quinolin-3-carboxylic (128 g, 391,26 mmol) trong DMF (1500 ml) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ trong thời gian 30 phút. Diphenylphosphoryl azit (101 ml, 469,51 mmol) được bổ sung và khuấy dung dịch thêm 30 phút nữa ở nhiệt độ môi trường xung quanh sau đó trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ 60°C. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá, chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng nước (1 l) và làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu vàng (122 g, 96 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,62 (6H, d), 5,12-5,19 (1H, m), 7,92 (1H, d), 8,57 (1H, d), 8,68 (1H, s), 11,58 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 324.

8-Bromo-7-fluoro-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on cũng có thể được điều chế như được mô tả dưới đây.

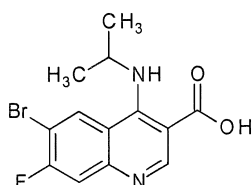
Bổ sung từng phần 1,3,5-Tricloro-1,3,5-triazinane-2,4,6-trion (5,91 g, 25,45 mmol) vào huyền phù có khuấy của 6-bromo-7-fluoro-4-(isopropylamino)quinolin-3-carboxamid (16,6 g, 50,89 mmol) và 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (15,22 ml, 101,79 mmol) trong metanol (200 ml) ở nhiệt độ 5°C. Khuấy huyền phù thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và làm khô chất rắn trong lò chân không trong thời gian 2 giờ để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (14,18 g, 86 %).

Thu được nguyên liệu bổ sung sau khi tách khỏi dịch lọc để yên trong thời gian 2 ngày và sau đó lọc. Chất rắn bổ sung mà đã được tách ra được gia nhiệt trong EtOH (50 ml) trong thời gian 30 phút sau đó để nguội và lọc để tạo ra nguyên liệu mong muốn bổ sung dưới dạng chất rắn màu trắng (2,6 mg). Dữ liệu phân tích thống nhất với các dữ liệu thu được từ các chế phẩm khác đã được mô tả trước đây.

Điều chế quy mô lớn của 8-bromo-7-fluoro-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on cũng được thực hiện như sau. Axit 6-bromo-7-fluoro-4-(isopropylamino)quinolin-3-carboxylic (3,910 kg, 11,15 mol, 93,3% khối lượng) được nạp vào bình chứa trong khí nitơ, sau đó bằng DMF (22 l). Khuấy dịch sền sệt thu được và bổ sung triethylamin (4,7 l) vào trong thời gian 2 phút. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ từ 21°C đến 23°C, sau đó làm ấm đến nhiệt độ 56°C. Diphenyl phosphoryl azit (2,9 l, 13 mol, 99,5 % khối lượng) được bổ sung trong thời gian 1 giờ, giữ nhiệt độ của hỗn hợp nằm trong khoảng từ 56°C đến 61°C bằng cách thay đổi tốc độ bổ sung và điểm thiết lập vỏ (sự bổ sung tỏa nhiệt - điểm thiết lập vỏ 50-57°C). Bình chứa bổ sung được rửa qua vào bình phản ứng bằng DMF (0,75 l) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 55°C trong vòng 1 giờ, sau đó được phân tích bằng HPLC cho thấy sự hoàn thành phản ứng để tạo ra hợp chất trung gian 8-bromo-7-fluoro-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on. Sau đó bổ sung *N,N*-dimethylformamid dimetyl axetal (7,29 l, 54,4 mol, 99,2% khối lượng) trong thời gian 5 phút, và hỗn hợp được làm ấm đến 100°C – quan sát thấy sự kết tủa khi nhiệt độ đạt đến 94°C và tốc độ khuấy tăng từ 150 lên 300 vòng/phút. Khuấy hỗn hợp trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ 100°C và phân tích bằng HPLC cho thấy 1,2% diện tích của chất trung gian (đích < 0,5% diện tích của chất trung gian) có gia nhiệt được tiếp tục ở nhiệt độ 99°C trong thời gian 16 giờ nữa sau thời gian đó hỗn hợp phản ứng được đánh giá xem có đạt đến mức độ hoàn thành thỏa mãn (0,45 % diện tích của chất trung gian còn lại). Sau đó làm lạnh hỗn hợp đến nhiệt độ 22°C và nước (23 l) được bổ sung trong thời gian 25 phút. Giữ nhiệt độ dưới 30°C (thiết lập vỏ ban đầu ở nhiệt độ từ 0°C đến 5°C đối với phần bổ sung thứ nhất mà là tỏa nhiệt-các thành phần bình chứa được giữ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 22°C đến 26°C trong suốt quá trình bổ sung). Khuấy dịch sền sệt thu được ở nhiệt độ từ 25°C đến 26°C trong thời gian 50 phút, sau đó lọc và rửa hai lần bằng nước (11,2 và 11,5 l) mà được bổ sung vào bánh lọc thông qua bình chứa phản ứng. Hút cạn khô chất rắn thu gom được trên máy lọc trong vòng 1 giờ sau

đó chuyển sang lò chân không và được làm khô *trong chân không* ở nhiệt độ 60°C trong thời gian xấp xỉ 26 giờ để tạo ra sản phẩm mong muốn (3,445 kg, 9,41 mol, 92,4 % khối lượng, Hiệu suất 84,4%).

Chất trung gian A4: Axit 6-bromo-7-flo-4-(isopropylamino)quinolin-3-cacboxylic

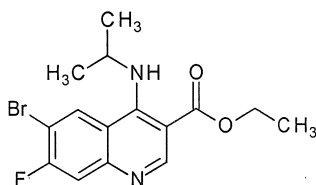


Dung dịch natri hydroxit 2N (833 ml, 1666,66 mmol) được bổ sung từng phần vào etyl 6-bromo-7-flo-4-(isopropylamino)quinolin-3-cacboxylat (148 g, 416,66 mmol) trong THF (1500 ml) ở nhiệt độ 15°C và hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc, được pha loãng bằng nước (2 l) và axit hóa hỗn hợp bằng axit clohydric 2M. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng nước (1 l) và được làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (128 g, 94 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,24-1,36(6H, m), 4,37(1H, s), 7,78(1H, t), 8,55(1H, s), 8,90(1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 327.

Axit 6-bromo-7-flo-4-(isopropylamino)quinolin-3-cacboxylic cũng được điều chế trên quy mô lớn theo quy trình sau đây. Gia nhiệt huyền phù có khuấy của etyl 6-bromo-4-clo-7-floquinolin-3-cacboxylat (4 kg, 12,00 mol, 99,8 % khối lượng) trong THF (24 l) đến nhiệt độ 52°C trong khí nitơ. Sau đó isopropyl amin (2,10 l, 25,60 mol, 99,9 % khối lượng) được bổ sung trong thời gian 1 giờ 30 phút. Nhiệt độ tăng lên đến 54°C sau khi bổ sung xấp xỉ một nửa của isopropyl amin, tạm ngưng bổ sung, áp dụng làm lạnh, và tiếp tục bổ sung khi nhiệt độ giảm xuống đến 48°C. Bình chứa bổ sung được súc rửa bằng THF (4 l) và dịch súc rửa bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Khuấy hỗn hợp trong thời gian 18,5 giờ ở nhiệt độ 50°C và sau đó phân tích bằng HPLC biểu thị còn lại xấp xỉ 4% của cloeste bắt đầu (đích < 0,5%). Isopropyl amin khác (150 ml, 1,830 mol, 99,9 % khối lượng) được bổ sung và khuấy trộn hỗn hợp trong thời gian 22,5 giờ nữa lúc đó phản ứng được đánh giá đã hoàn thành. Dung dịch natri hydroxit

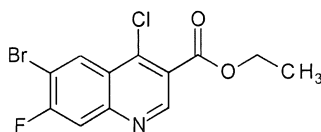
(1,99M trong nước; 13,3 l, 26,50 mol) được nạp vào hỗn hợp trong thời gian 5 phút để tạo ra hỗn hợp màu vàng nhạt mà đã được gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C và khuấy ở nhiệt độ này trong thời gian 22,5 giờ, sau đó được phân tích bằng HPLC biểu thị việc hoàn thành thỏa mãn của thủy phân este. Làm lạnh hỗn hợp đến nhiệt độ 18°C sau đó được xả ra từ bình chứa đến bình chứa nhận và được nạp trở lại vào bình chứa phản ứng thông qua bộ lọc nội dòng. THF (12 l) được nạp vào bình nhận và chuyển sang bình phản ứng thông qua bộ lọc nội dòng. Nhiệt độ vỏ bình chứa được thiết lập đến 15°C và bổ sung axit phosphoric (1,250 l, 85 % khối lượng) trong thời gian 1 giờ; nhiệt độ của hỗn hợp nằm trong khoảng từ 17 đến 18°C trong quá trình bổ sung, dẫn đến sự kết tủa sản phẩm thô. Khuấy dịch sền sệt thu được trong thời gian 20 giờ ở nhiệt độ 20°C, sau đó lọc và rửa bằng nước (2 X 20 l) được bổ sung vào bánh lọc thông qua bình chứa phản ứng. Hút cạn khô chất rắn thu gom được trên máy lọc sau đó chuyển sang lò chân không và được làm khô *trong chân không* ở nhiệt độ 60°C trong thời gian xấp xỉ 52 giờ để tạo ra sản phẩm mong muốn (3,935 Kg, 11,22 mol, 93,3 % khối lượng, Hiệu suất 93,5%).

Chất trung gian A5: Ethyl 6-bromo-7-fluoro-4-(isopropylamino)quinolin-3-carboxylat



DIPEA (154 ml, 884,07 mmol) được bổ sung từng phần vào propan-2-amin (39,2 g, 663,05 mmol) và ethyl 6-bromo-4-clo-7-floquinolin-3-cacboxylat (147 g, 442,04 mmol) trong DMA (600 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá, thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng nước (1 l) và làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu nâu sáng (148 g, 94 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,26-1,33 (9H, m), 4,17-4,25 (1H, m), 4,32-4,37 (2H, m), 7,28 (1H, d), 8,50 (1H, d), 8,59 (1H, d), 8,86 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 355.

Chất trung gian A6: Ethyl 6-bromo-4-clo-7-floquinolin-3-cacboxylat



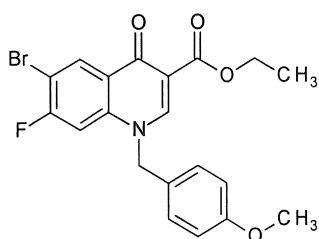
DMF (0,535 ml, 6,91 mmol) được bổ sung vào ethyl 6-bromo-7-flo-1-[(4-metoxypheyl)metyl]-4-oxo-quinolin-3-cacboxylat (200 g, 460,56 mmol) trong thionyl clorua (600 ml) ở nhiệt độ 10°C trong khí trơ và hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 3 giờ. Hỗn hợp được làm bay hơi đến khô và đồng sôi phần cặn với toluen (300 ml) để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô được tinh chế bằng việc kết tinh từ hexan để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (147 g, 96 %).

Phổ NMR: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,49 (3H, t), 4,51-4,56 (2H, m), 7,91 (1H, d), 8,71 (1H, d), 9,26 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 334.

Etyl 6-bromo-4-clo-7-floquinolin-3-cacboxylat cũng được điều chế trên quy mô lớn theo quy trình sau đây. DMF (0,235 l, 2,56 mol) được bổ sung vào ethyl 6-bromo-7-flo-1-[(4-metoxypheyl)metyl]-4-oxo-quinolin-3-cacboxylat (13,53 kg, 30,43 mol, 97,7 % khối lượng) trong toluen (90 l) trong khí trơ. Huyền phù thu được được khuấy và gia nhiệt đến nhiệt độ 88°C trong thời gian 48 phút. Sau đó dung dịch của thionyl clorua (3,32 l, 45,7 mol) trong toluen (1,65 l) được bổ sung vào hỗn hợp trong thời gian 4 giờ 10 phút, duy trì nhiệt độ của hỗn hợp nằm trong khoảng từ 89°C đến 91°C. Hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ 89°C trong thời gian 50 phút sau đó được phân tích bằng HPLC cho thấy sự hoàn thành phản ứng (không phát hiện thấy nguyên liệu bắt đầu). Làm lạnh hỗn hợp đến nhiệt độ 20°C trong thời gian 1 giờ và giữ qua đêm ở nhiệt độ này. Xả hỗn hợp ra từ bình chứa phản ứng và súc rửa bình chứa bằng toluen (13 l). Dịch súc rửa được bổ sung vào mẻ chính. Mẻ được chia thành hai nửa bằng nhau và nửa đầu tiên được xử lý như sau: làm bay hơi đến khô trong thời gian xấp xỉ 5 giờ trên máy làm bay hơi quay 50 l (mẻ được bổ sung từng phần khi tiến hành làm bay hơi, nhiệt độ bể 60°C, điểm thiết lập chân không 50 mbar) và phần cặn được xử lý bằng heptan (13,2 l) và được làm bay hơi (nhiệt độ bể 60°C, điểm thiết lập chân không 100 mbar). Việc xử lý heptan (13,2 l) được lặp lại để tạo ra dịch sền sệt đặc mà được pha loãng bằng cách bổ sung thêm từng phần heptan (53 l) và dịch sền sệt heptan được chuyển từng phần sang bình chứa sạch. Nửa thứ hai của hỗn hợp

toluen được thực hiện theo cùng cách và được kết hợp với nửa đầu tiên để tạo ra dịch sền sệt sản phẩm thô trong heptan (xấp xỉ 106 l). Dịch sền sệt heptan được gia nhiệt đến nhiệt độ 91°C trong thời gian 2 giờ 20 phút lúc đó sản phẩm thô đã được hòa tan; sau đó hỗn hợp được chuyển sang bình chứa sạch, được gia nhiệt sơ bộ (điểm thiết lập vào 90°C) thông qua bộ lọc nội dòng để loại bỏ hạt. Sau đó dòng rửa của heptan (5 l) được áp dụng thông qua bình chứa nguồn. Áp dụng chân không (450 mbar) vào bình chứa đích và loại bỏ heptan (46 l) bằng cách chưng cất (nhiệt độ mẻ 77-78°C, nhiệt độ đầu 72-73°C). Giải phóng chân không bằng khí nitơ và làm nguội các thành phần bình chứa đến nhiệt độ 49°C trong thời gian 45 phút, dẫn đến sự kết tinh của sản phẩm. Dịch sền sệt được giữ ở 48-49°C trong thời gian 30 phút sau đó làm nguội đến nhiệt độ 20°C trong thời gian 1 giờ và được giữ ở 20°C qua đêm. Dịch sền sệt được lọc, và súc rửa bình chứa nguồn bằng heptan (14 l) trong thời gian 5 phút, sau đó dịch súc rửa được áp dụng làm dịch rửa vào bánh sản phẩm. Sau đó dịch rửa và dịch súc rửa khác của heptan được áp dụng (14 l) và bánh được hút cạn khô trong thời gian 1 giờ. Chất rắn thu gom được chuyển sang lò chân không và được làm khô *trong chân không* ở nhiệt độ 50°C để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng ngà (8,915 kg, 26,75 mol, 99,8 % khối lượng, Hiệu suất 87,9 %).

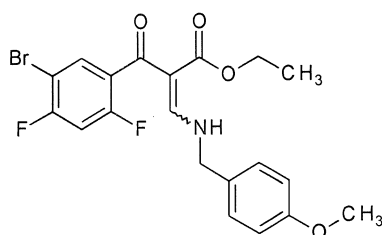
Chất trung gian A7: Ethyl 6-bromo-7-fluor-1-[(4-methoxyphenyl)methyl]-4-oxo-quinolin-3-carboxylat



DBU (76 ml, 506,32 mmol) được bổ sung từ từ vào ethyl-2-(5-bromo-2,4-difluorobenzoyl)-3-[(4-methoxyphenyl)methylamino]prop-2-enoat (230 g, 506,32 mmol) trong axeton (800 ml) ở nhiệt độ 10°C trong khoảng thời gian 5 phút trong khí trơ và hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 16 giờ. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng Et₂O (3 x 500 ml) và được làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu

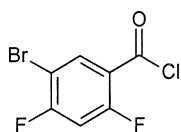
mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (166 g, 75 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,29 (3H, t), 3,72 (3H, s), 4,22-4,27 (21H, m), 5,57 (2H, s), 6,92-6,95 (2H, m), 7,24 (2H, d), 7,79 (1H, d), 8,40 (1H, d), 8,89 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 434.

Chất trung gian A8: Ethyl-2-(5-bromo-2,4-điflo-benzoyl)-3-[(4-metoxyphenyl)methylamino]prop-2-enoat



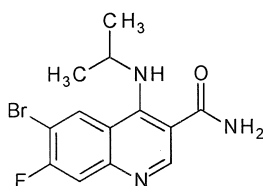
(E)-Ethyl 3-(đimethylamino)acrylat (80 ml, 555,50 mmol) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp của DIPEA (132 ml, 757,50 mmol) và 5-bromo-2,4-điflo-benzoyl clorua (129 g, 505,00 mmol) trong toluen (600 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 17 giờ sau đó để nguội. (4-Metoxypheyl)methanamin (66,0 ml, 505,29 mmol) được bổ sung từng phần vào hỗn hợp và phản ứng được khuấy trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (2 l), được rửa một cách tuần tự bằng nước (4 x 200 ml), nước muối bão hòa (300 ml), lớp hữu cơ được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu nâu sáng (230 g, 100 %) mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,09 (3H, t), 3,82 (3H, s), 4,00-4,10 (2H, m), 4,55 (2H, t), 6,84-6,96 (3H, m), 7,20-7,29 (2H, m), 7,55 (1H, d), 8,18 (1H, t). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 454.

Chất trung gian A9: 5-Bromo-2,4-điflo-benzoyl clorua



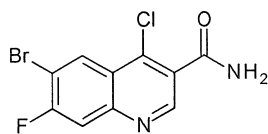
Thionyl clorua (55,4 ml, 759,50 mmol) được bổ sung từng phần vào hỗn hợp của DMF (7,84 ml, 101,27 mmol) và axit 5-bromo-2,4-điflobenzoic (120 g, 506,33 mmol) trong toluen (600 ml) ở nhiệt độ 15°C trong khoảng thời gian 5 phút trong khí trơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 4 giờ sau đó làm bay hơi đến khô và đồng sôi phần cặn với toluen để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu màu nâu (129 g, 100 %) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà cần không tinh chế. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 7,04-7,09 (1H, m), 8,34-8,42 (1H, m).

Chất trung gian A10: 6-Bromo-7-flu-4-(isopropylamino)quinolin-3-carboxamit



Propan-2-amin (2,80 ml, 32,62 mmol) được bổ sung vào huyền phù của 6-bromo-4-clo-7-flu-quinolin-3-carboxamit (10 g, 29,65 mmol) và kali cacbonat (8,20 g, 59,31 mmol) trong axetonitril (250 ml) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 95°C trong thời gian 4 giờ. Propan-2-amin (2 ml) thêm nữa được bổ sung và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 95°C trong thời gian 4 giờ nữa sau đó để ở nhiệt độ môi trường xung quanh qua đêm. Bổ sung nước vào hỗn hợp và thu gom chất rắn bằng cách lọc và làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (8,25 g, 85 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,25 (6H, d), 4,17 (1H, d), 7,51 (1H, s), 7,69 (1H, d), 8,11 (2H, s), 8,61 (1H, s), 8,67 (1H, d). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 236.

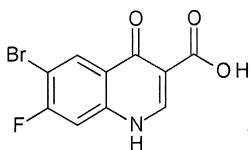
Chất trung gian A11: 6-Bromo-4-clo-7-flu-quinolin-3-carboxamit



DMF (0,5 ml) được bổ sung vào huyền phù có khuấy của axit 6-bromo-7-flu-4-oxo-1H-quinolin-3-carboxylic (22,5 g, 78,66 mmol) trong thionyl clorua (140 g, 1179,85 mmol) và gia

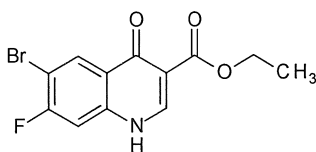
nhiệt hỗn hợp đến hồi lưu trong thời gian 2 giờ. Phản ứng được để nguội, cô đặc *trong chân không* và đồng sôi phần cặn hai lần bằng toluen để tạo ra chất rắn màu vàng. Chất rắn này được bổ sung từng phần vào dung dịch của amoni hydroxit (147 ml, 1179,85 mmol) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy huyền phù màu trắng trong thời gian 15 phút sau đó lọc chất rắn, rửa bằng nước và làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (23,80 g, 100 %) dưới dạng bột màu trắng. *Phổ NMR*: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,92 (1H, s), 8,59 (1H, d), 8,21 (1H, s), 8,09 (1H, d), 7,98 (1H, s). *Phổ khối*: *m/z* (ES⁺)[M+H]⁺ = 304,8.

Chất trung gian A12: Axit 6-bromo-7-flo-4-oxo-1H-quinolin-3-cacboxylic



Dung dịch của natri hydroxit (18,34 g, 458,44 mmol) trong nước (100 ml) được bổ sung vào huyền phù có khuấy của etyl 6-bromo-7-flo-4-oxo-1H-quinolin-3-cacboxylat (28,8 g, 91,69 mmol) trong EtOH (500 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Sau đó khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 75°C trong thời gian 2 giờ, để nguội và điều chỉnh độ pH đến 4 bằng axit clohydric 2N. Thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (23,30 g, 89 %) dưới dạng bột màu trắng. *Phổ NMR*: ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 14,78 (1H, s), 13,45 (1H, s), 8,93 (1H, s), 8,46 (1H, d), 7,70 (1H, d). *Phổ khối*: *m/z* (ES⁺)[M+H]⁺ = 287,8.

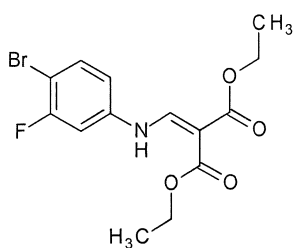
Chất trung gian A13: Etyl 6-bromo-7-flo-4-oxo-1H-quinolin-3-cacboxylat



Dung dịch của diethyl 2-[(4-bromo-3-flo-anilino)metylen]propandioat (90 g, 249,88 mmol) trong diphenyl ete (600 ml, 3,79 mol) được khuấy ở nhiệt độ 240°C trong thời gian 2,5

giờ. Hỗn hợp được để nguội xuống nhiệt độ 70°C, thu gom chất rắn bằng cách lọc và làm khô trong lò chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (50g, 64%) dưới dạng chất rắn màu trắng mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6 , (100°C)) δ 1,26 - 1,33 (3H, m), 4,25 (2H, q), 7,52 (1H, d), 8,37 (1H, d), 8,48 (1H, s), 12,05 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 314.

Chất trung gian A14: Diethyl 2-[(4-bromo-3-fluorophenyl)amino]propandioat



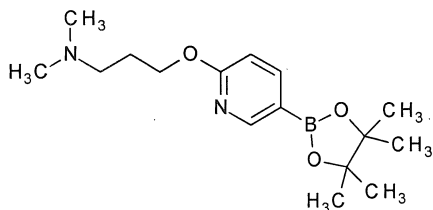
Dung dịch của 4-bromo-3-fluorophenylamin (56,6 g, 297,87 mmol) và 1,3-diethyl 2-(etoxymetylidene)propandioat (72,45 g, 335,06 mmol) trong EtOH (560 ml) được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được để nguội, thu gom chất rắn bằng cách lọc và làm khô trong lò để tạo ra nguyên liệu mong muốn (90g, 84%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,26 (6H, q), 4,14 (2H, q), 4,22 (2H, q), 7,18 - 7,25 (1H, m), 7,57 (1H, dd), 7,64 - 7,7 (1H, m), 8,33 (1H, d), 10,62 (1H, d). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 360.

8-[6-[3-(Đimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-fluoro-1-isopropyl-3-methylimidazo[4,5-c]quinolin-2-on cũng có thể được điều chế trực tiếp từ 8-bromo-7-fluoro-1-isopropyl-3-methylimidazo[4,5-c]quinolin-2-on bằng phương pháp được mô tả dưới đây.

Axit 3-(đi-tert-butylphosphino)propan-1-sulfonic (0,467 mg, 1,77 mmol) được bổ sung vào monopaladi(IV) dinatri tetraclorea (0,261 g, 0,89 mmol) trong nước (50 ml) trong khí trơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 20 phút, sau đó hỗn hợp phản ứng được bổ sung một phần vào 8-bromo-7-fluoro-1-isopropyl-3-methylimidazo[4,5-c]quinolin-2-on, *N,N*-đimethyl-3-[5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-2-

yl]oxypropan-1-amin (42,4 g, 110,89 mmol) và kali cacbonat (36,8 g, 266,13 mmol) trong dioxan (500 ml) và nước (100 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 2 giờ. Dung dịch phản ứng được cô đặc trong chân không và được pha loãng bằng DCM. Pha hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng silic, gradien rửa giải từ 0 đến 2% MeOH (amoni 7M trong MeOH) trong DCM, để tạo ra chất rắn mà được nghiền thành bột với MeCN để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu vàng (25,00 g, 64,4 %). Nguyên liệu tinh khiết được kết hợp với nguyên liệu bổ sung được điều chế theo kiểu tương tự (tổng số 38,6 g) và được gia nhiệt trong MeCN (100 ml) trong thời gian 10 phút sau đó để nguội xuống nhiệt độ 0°C và khuấy trong thời gian 2 giờ. Chất rắn được lọc trong chân không và được làm khô trong lò chân không trong thời gian 16 giờ để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn kết tinh màu vàng nhạt (35,5 g). Dữ liệu phân tích thống nhất với dữ liệu từ nguyên liệu đã được điều chế trước đây.

Chất trung gian B1: *N,N*-Đimetyl-3-[5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-2-yl]oxypropan-1-amin

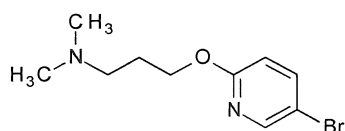


n-Butyllithi (2,5 M, 0,147 l, 368,21 mmol) được bổ sung từng giọt vào 3-(5-bromopyridin-2-yl)oxy-*N,N*-đimetylpropan-1-amin (73,4 g, 283,24 mmol) và 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (68,5 g, 368,21 mmol) trong THF (1 l) được làm lạnh đến nhiệt độ -78°C trong khoảng thời gian 10 phút trong khí trơ. Để hỗn hợp thu được ấm lên đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng dung dịch bão hòa trong nước của amoni clorua (50 ml). Loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm và pha loãng bằng EtOAc (2l), lớp hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và làm bay hơi

để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu màu vàng (98 g, 113 %). Sản phẩm được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Phổ NMR: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 1,30 (12H, s), 1,93 - 2,09 (2H, m), 2,33 (6H, s), 2,49 - 2,61 (2H, m), 4,37 (2H, t), 6,69 (1H, dd), 7,91 (1H, dd), 8,51 (1H, d).

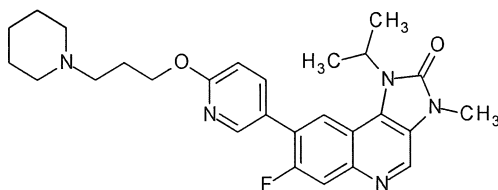
Chất trung gian B2: 3-(5-Bromopyridin-2-yl)oxy-*N,N*-dimetylpropan-1-amin



Bổ sung từng phần natri hydrua (17,05 g, 426,17 mmol) vào 3-(dimethylamino)propan-1-ol (35,2 g, 340,94 mmol) trong THF (500 ml) ở nhiệt độ 5°C và để hỗn hợp ấm lên đến nhiệt độ môi trường. Bổ sung 5-bromo-2-pyridin (50 g, 284,11 mmol) và khuấy dung dịch ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Dung dịch phản ứng được bổ sung cẩn thận vào nước đá và pha nước được chiết bằng DCM (3 x 700 ml). Pha hữu cơ được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu màu vàng (73,6 g, 100 %). Nguyên liệu được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 1,92 - 2,01 (2 H, m), 2,28 (6 H, s), 2,45 (2 H, t), 4,33 (2 H, t), 6,67 (1 H, dd), 7,65 (1 H, dd), 8,20 (1 H, d). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 259.

Ví dụ 2

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



3-(Piperidin-1-yl)propan-1-ol (1,051 g, 7,34 mmol) trong THF (15 ml) được bổ sung từ từ vào dịch sền sệt của natri hydrua (0,587 g, 14,67 mmol) trong THF (15 ml) và khuấy dung dịch ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 40 phút. Hỗn hợp của 7-flo-8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (2,0 g, 5,64 mmol) trong THF (15 ml) được bổ sung và khuấy phản ứng trong thời gian 6 giờ ở nhiệt độ 50°C sau đó để nguội xuống nhiệt độ trong phòng và được làm dừng bằng nước. Kết tủa rắn được quan sát thấy khi để yên và được thu gom bằng cách lọc. Nguyên liệu được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 10% trong DCM, sau đó bằng HPLC điều chế (cột C18 vàng redisep, 80 g), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa 0,1% amoni) và MeCN làm chất rửa giải, để tạo ra nguyên liệu mong muốn. Sản phẩm được tái kết tinh lại từ EtOH sôi để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (1,512 g, 56,1 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 1,34 - 1,44 (2H, m), 1,50 (4H, p), 1,65 (6H, d), 1,91 (2H, p), 2,29 - 2,37 (4H, m), 2,39 (2H, q), 3,51 (3H, s), 4,37 (2H, t), 5,29 (1H, p), 6,99 (1H, dd), 7,92 (1H, d), 8,05 (1H, dt), 8,33 (1H, d), 8,50 (1H, s), 8,91 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 478.

Nguyên liệu mong muốn cũng có thể được tách ra dưới dạng muối của axit metan sulfonic như sau. Axit metansulfonic (0,026 g, 0,27 mmol) trong DCM (0.5 ml) được bổ sung vào bazơ tự do đã được phân tách (127 mg, 0,27 mmol) ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 15 phút sau đó cô đặc *trong chân không* và phần cặn được làm khô trong chân không để tạo ra muối của axit metansulfonic mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (336 mg, 100 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, CDCl $_3$) δ 1,78 (6H, d), 1,86 - 1,99 (4H, m), 2,11 - 2,25 (2H, m), 2,37 - 2,48 (2H, m), 2,6 - 2,74 (2H, m), 2,84 (3H, s), 3,22 - 3,31 (2H, m), 3,59 (3H, s), 3,69 (2H, d), 4,48 - 4,56 (2H, m), 5,17 - 5,27 (1H, m), 6,90 (1H, dd), 7,90 (1H, dt), 7,96 (1H, d), 8,23 (1H, d), 8,39 (1H, d), 8,76 (1H, s), 10,75 (1H, s).

Phổ khối: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 478.

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on cũng có thể được điều chế trực tiếp từ 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on bằng phương pháp được mô tả dưới đây.

Axit 3-(di-tert-butylphosphino)propan-1-sulfonic (0,555 mg, 2,07 mmol) được bổ sung vào monopaladi(IV) đinatri tetraclorea (0,304 g, 1,03 mmol) trong nước (12 ml) trong khí trơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 10 phút, sau đó hỗn hợp phản ứng được bổ sung một phần vào 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (35,0 g, 103,50 mmol), 2-[3-(1-piperidyl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-di-oxaborolan-2-yl)pyridin (62,2 g, 129,37 mmol) và kali cacbonat (42,9 g, 310,49 mmol) trong đioxan (450 ml) và nước (90 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 16 giờ và làm bay hơi phản ứng. Hòa tan nguyên liệu thô trong DCM (500 ml), rửa bằng nước muối (2 x 100 ml), pha hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và làm bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 10% (0,1% amoni trong MeOH) trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu nâu (40,5 g, 82 %). Nguyên liệu được kết hợp với nguyên liệu mà thu được từ các điều chế tương tự (tổng cộng 51,3 g) và tạo dịch sền sệt trong MeCN (100 ml). Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng MeCN (100 ml) và làm khô trong chân không thành nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (32,0 g, 62,4 %). Dữ liệu phân tích thống nhất với dữ liệu từ các mẫu được điều chế trước đây.

Nguyên liệu thu được từ dịch sền sệt MeCN được phát hiện thấy là dạng tinh thể A của Ví dụ 2. Ví dụ 2 Dạng A được xác định đặc điểm bằng việc tạo ra mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản như được thể hiện trên Hình 1. Mười đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: Đỉnh nhiễu xạ bột tia X đặc trưng đối với Dạng A của Ví dụ 2, 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

Góc 2-teta (2θ)	Cường độ %
3,7	100
14,8	77

Góc 2-teta (2 θ)	Cường độ %
18,4	57
21,0	56
11,3	44
19,4	34
22,3	34
18,0	33
23,2	30
13,1	30

Ví dụ 2 Dạng A thể hiện sự thu nhiệt nóng chảy với điểm bắt đầu ở nhiệt độ 141,5°C và đỉnh ở nhiệt độ 144,2°C khi được phân tích bằng phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) ở tốc độ quét bằng 10°C/phút (Hình 2).

Một phương pháp khác để điều chế 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on như sau. Bình thốt cổ 250 ml được súc bằng khí nitơ 3 lần. Natri tetra-clopaladat (2,51 g, 8,5 mmol.), axit 3-(đi-tert-butylphosphino)propan-1-sulfonic (4,36 g, 16,2 mmol.) và nước (95 ml) được nạp. Để lại hỗn hợp phối tử phosphin để khuấy trong khí nitơ ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút. Bình thốt cổ có mép 10 l được súc bằng khí nitơ 3 lần. 8-Bromo-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (281,3 g, 0,83 mol.), 2-[3-(1-piperidyl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin (360,0 g, 1,04 mol.), kali cacbonat (347,2 g, 2,51 mol.), đioxan (3,6 l, 12,9 thể tích) và nước (720 ml, 2,6 thể tích) được nạp vào bình thốt cổ có

mép. Hỗn hợp xúc tác phối tử phosphin đã được trộn sơ bộ được nạp nhanh vào hỗn hợp phản ứng (bình thót cổ có mép 10 l) trong khí nitơ. Sau đó hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 80 °C trong khí nitơ và được theo dõi bằng HPLC. Sau thời gian 2 giờ, phân tích cho thấy phản ứng đã hoàn thành với mức độ (0,30%) của nguyên liệu bắt đầu còn lại. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng (20 °C) trong khí nitơ sau đó cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn tổng hợp được hấp thụ trong DCM (4 l, 14,3 thể tích) tạo thành dung dịch màu xanh lá cây / nâu đậm. Dung dịch được rửa bằng dung dịch nước muối bão hòa (2 x 780 ml), và lớp hữu cơ được tách riêng. Lớp nước được chiết ngược trở lại bằng điclorometan (1250 ml, 4,5 thể tích), và lớp hữu cơ kết hợp được lọc để loại bỏ kết tủa rắn màu xanh lá cây (được giả định là tạp chất có liên quan đến chất xúc tác), trước khi nó được làm khô trên natri sulphat (782,7 g) và cô đặc trong chân không để tạo ra chất rắn màu vàng ẩm điclorometan. Nguyên liệu thô được làm khô trong chân không trong lò ở nhiệt độ 40 °C qua đêm, để tạo ra 492,7 g (335,0 g có hoạt tính) sản phẩm thô. Phân tích chỉ ra rằng nguyên liệu là tinh khiết 95,0% bằng HPLC và có hoạt tính 68% bằng Thử nghiệm NMR. Mẻ thứ hai được hoàn thành trên cùng quy mô để thu được 494,2 g (326,2 g có hoạt tính) sản phẩm thô nữa. Phân tích chỉ ra rằng nguyên liệu là tinh khiết 88,0% bằng HPLC và có hoạt tính 66% bằng Thử nghiệm NMR. Hai mẻ được kết hợp để tạo ra tổng khối lượng thô bằng 968,4 g (661 g có hoạt tính) được cho đi qua silic oxit (12 kg) bằng hỗn hợp dung môi gradien rửa giải của DCM với metanol (0-40%) và amoni (0-0,2%), (tổng lượng dung môi được sử dụng: 285 lít). Các phân đoạn chứa sản phẩm (>97% bằng sắc ký lỏng) được kết hợp và cô đặc trong chân không, được tạo dịch sền sệt trong metanol (2 thể tích) qua đêm và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 50 °C để tạo ra chất rắn màu trắng, 392,9 g, hiệu suất 49,5%. Các phân đoạn chứa sản phẩm (<97% bởi sắc ký lỏng) được kết hợp và cô đặc trong chân không và được tạo dịch sền sệt trong etyl axetat trong thời gian 2 giờ. Sau đó chất rắn thu được được tạo dịch sền sệt trong metanol (2 thể tích) để tạo ra 111,3 g sản phẩm bổ sung. Cả hai mẻ được kết hợp và được tạo dịch sền sệt trong heptan (5 thể tích) trong thời gian 1 giờ 30 phút, trước khi lọc và làm khô trong chân không trong lò ở nhiệt độ 50 °C qua đêm. Điều này đã tạo ra tổng hiệu suất là 487,2 g (61%) với độ tinh sạch bằng 96% bằng Thử nghiệm ^1H NMR.

Nguyên liệu mà thu được từ quá trình điều chế trên được phát hiện thấy là dạng tinh thể B của Ví dụ 2. Dạng B Ví dụ 2 được xác định đặc điểm trong việc tạo ra mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản như được thể hiện trên Hình 3. Mười đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2: Đỉnh nhiễu xạ bột tia X đặc trưng đối với Dạng B của Ví dụ 2, 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

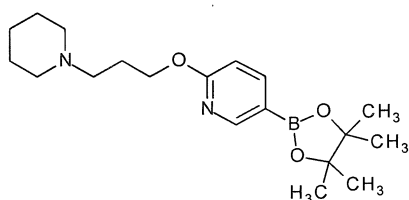
Góc 2-teta (2 θ)	Cường độ %
3,4	42
11,7	67
22,7	100
13,5	64
13,1	45
19,0	42
23,4	30
24,0	21
17,5	18
18,1	15

Dạng B Ví dụ 2 thể hiện sự thu nhiệt nóng chảy với điểm bắt đầu ở nhiệt độ 144,7°C và đỉnh ở nhiệt độ 145,8°C khi được phân tích bằng phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) ở tốc độ quét bằng 10°C/phút (Hình 4).

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on có thể được điều chế trên quy mô lớn bằng quy trình sau đây. Trong khí nitơ, 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (0,800 kg, 2,31 mol, 97,6 % khối lượng) được nạp vào bình sau đó nạp 2-[3-(1-piperidyl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin (0,879 kg, 2,54 mol) và kali cacbonat (0,960 kg, 6,95 mol). Sau đó THF (8 l) và nước (3,9 l) được bổ sung và bắt đầu khuấy hỗn hợp. Áp dụng chân không từ từ đến khi THF chỉ bắt đầu sôi (135 mbar) và sau đó được giải phóng bằng khí nitơ. Quy trình đẩy chân không được lặp lại hai lần nữa (xấp xỉ 0,5 l THF bị mất đi vào bình nhận) và áp dụng nhỏ giọt nitơ chậm cho bình chứa. Diclo[1,1'- bis(di-tertbutylphosphino)ferrocene]paladi(II) (Pd-118, 15 g, 0,023 mol) được bổ sung thông qua túi có bao tay và hỗn hợp được gia nhiệt đến 63-64°C và giữ ở nhiệt độ này trong thời gian 2 giờ sau đó được phân tích bằng HPLC cho thấy sự chuyển hóa thành sản phẩm mong muốn có thể chấp nhận được. Làm nguội hỗn hợp xuống nhiệt độ 20°C, dừng khuấy và để hỗn hợp tách riêng rẽ và bỏ đi pha nước phía dưới để thải ra ngoài. Dung dịch của nước muối được tạo thành từ nước (3,45 l) và natri clorua (0,586 kg) được nạp vào pha hữu cơ trong bình chứa và khuấy hỗn hợp trong thời gian 10 phút sau đó để cho tách riêng. Pha nước được bỏ đi để thải ra ngoài và pha hữu cơ được lọc qua tầng xelit (150g). Bình chứa được súc rửa bằng THF (800 ml) và dịch súc rửa được cho qua bánh xelit và được bổ sung vào dịch lọc hữu cơ. Dịch lọc THF kết hợp (ca. 9,5 l) được nạp vào bình chứa sạch và chất hỗ trợ tẩy tạp kim loại Phosphonics SPM 32 (780 g) được bổ sung. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 21°C trong thời gian 16 giờ sau đó lọc để loại bỏ chất hỗ trợ tẩy tạp không hòa tan. Dịch súc rửa THF (1,6 l) được cho vào bình phản ứng và được cho đi qua máy lọc. Sau đó dịch súc rửa và dịch lọc kết hợp được chuyển sang bình chứa sạch và dung môi (6,9 l) được chưng cất ra ngoài ở áp suất giảm (23-24°C, 150 mbar). Isopropanol (11 l) được bổ sung vào phần cặn trong bình phản ứng, và lượng khác của dung môi (9,2 l) được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất giảm (nhiệt độ mẻ 40-43°C, 150 mbar). Hỗn hợp được cô đặc trong bình chứa được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C và tăng tốc độ khuấy để rửa trôi và hòa tan sản phẩm mà quan sát thấy kết tinh hóa trên thành bình chứa. Dung dịch nóng được chuyển qua bộ lọc nội dòng sang bình chứa nhận được gia nhiệt sơ bộ (nhiệt độ vỏ 80°C), sạch khô, được trang bị với đầu dò Lasentec FBRM. Làm lạnh dung dịch được chuyển sang đến nhiệt độ 60°C và được tạo với sản

phẩm mong muốn (Dạng B, 0,44g) và khuấy ở nhiệt độ từ 58°C - 60°C trong thời gian 5 giờ, sau đó làm lạnh đến nhiệt độ 20°C trong thời gian 14 giờ để kết tinh hóa sản phẩm. Dịch sền sệt được lấy mẫu và được phân tích bằng XRPD cho thấy nó là hỗn hợp của các dạng đa hình (Dạng B và Dạng A – thành phần chính). Hỗn hợp được gia nhiệt từ 48°C đến 50°C và được lấy mẫu lại và được đánh giá vẫn là hỗn hợp của các dạng đa hình. Sau đó dịch sền sệt được pha loãng bằng isopropanol (1,5 l) và được khuấy và được gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian xấp xỉ 67 giờ lúc đó hàm lượng của Dạng B mong muốn được tăng lên xấp xỉ 50 %. 2 l Hỗn hợp được lấy ra để thực hiện các nghiên cứu phòng thí nghiệm và sau đó gia nhiệt khối dịch sền sệt còn lại ở nhiệt độ 56°C trong thời gian xấp xỉ 21 giờ nữa lúc đó nó được chuyển hóa thành Dạng B. Sau đó dịch sền sệt được làm lạnh đến nhiệt độ 10°C trong thời gian 20 giờ và được giữ ở nhiệt độ từ 10°C đến 11°C trong thời gian xấp xỉ 5 giờ sau đó lọc. Dịch rửa isopropanol (2,2 l) được cho vào bánh sản phẩm thông qua bình chứa kết tinh hóa. Hút cạn khô bánh trong thời gian 20 phút trên máy lọc và sau đó làm khô *trong chân không* ở nhiệt độ 50°C trong thời gian xấp xỉ 22 giờ để tạo ra sản phẩm mong muốn dưới dạng dạng đa hình Dạng B của nó, (824 g, 1,729 mol, 100 % khối lượng, Hiệu suất 74,9%).

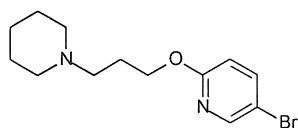
Chất trung gian C1: 2-[3-(1-piperidyl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin



n-butyllithi (139 ml, 347,59 mmol) được bổ sung từng giọt vào 5-bromo-2-[3-(1-piperidyl)propoxy]pyridin (80 g, 267,37 mmol) và 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (64,7 g, 347,59 mmol) trong THF (400 ml) được làm lạnh đến nhiệt độ -78°C trong khoảng thời gian 10 phút trong khí trơ. Để hỗn hợp thu được ấm lên đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong thời gian 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng dung dịch bão hòa trong nước của amoni clorua (100 ml) và cô đặc hỗn hợp dưới áp suất giảm. Hỗn hợp được

chiết bằng EtOAc (2 x 500 ml), lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối bão hòa (2 x 100 ml), được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu màu vàng (92 g, 99 %). Sản phẩm được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,34 (12H, s), 1,60 (5H, p), 1,93 - 2,08 (3H, m), 2,39 - 2,53 (6H, m), 4,34 (2H, dt), 6,67 - 6,77 (1H, m), 7,92 (1H, dd), 8,50 - 8,56 (1H, m).

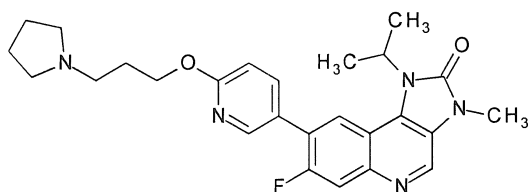
Chất trung gian C2: 5-Bromo-2-[3-(1-piperidyl)propoxy]pyridin



Natri hydrua (20,91 g, 522,77 mmol) được bổ sung từng phần vào 3-(piperidin-1-yl)propan-1-ol (35,8 g, 250,02 mmol) trong THF (400 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ. Khuấy huyền phù thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 phút sau đó để nguội và bổ sung 5-bromo-2-flopyridin (40,0 g, 227,29 mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ sau đó để nguội. Phản ứng được lặp lại theo kiểu tương tự bằng cách sử dụng natri hydrua (5,23 g, 130,69 mmol), 3-(piperidin-1-yl)propan-1-ol (8,95 g, 62,50 mmol), THF (100 ml) và 5-bromo-2-flopyridin (10 g, 56,82 mmol). Hỗn hợp hai phản ứng được kết hợp và được rót vào đá lạnh / nước (1000 ml). Dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm và được chiết bằng DCM (3 x 150 ml), lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối bão hòa (3 x 150 ml), được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu màu nâu (96 g, 113 %). Nguyên liệu được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,43 - 1,49 (2H, m), 1,61 (5H, p), 1,99 (2H, dq), 2,46 (6H, dd), 4,31 (2H, t), 6,65 (1H, d), 7,64 (1H, dd), 8,19 (1H, d). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 299.

Ví dụ 3

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



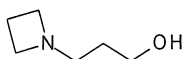
3-(Pyrolidin-1-yl)propan-1-ol (62,0 mg, 0,48 mmol) được bổ sung vào natri hydrua (13,54 mg, 0,56 mmol) trong THF (5 ml) ở nhiệt độ trong phòng trong khí trơ và khuấy phản ứng trong thời gian 20 phút. 7-Flo-8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (100 mg, 0,28 mmol) được bổ sung và khuấy phản ứng trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng NH₄Cl bão hòa (15 ml), được chiết bằng DCM (3 x 15 ml), lớp hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, 5 μ silic oxit, đường kính 19 mm, chiều dài 150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa 0,1 % axit formic) và MeCN làm chất rửa giải, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (85 mg, 61,9 %). *Phổ NMR*: ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1,78 (6H, d), 1,99 - 2,10 (4H, m), 2,31 (2H, dt), 3,03 - 3,15 (6H, m), 3,59 (3H, s), 4,47 (2H, t), 5,23 (1H, s), 6,85 - 6,94 (1H, m), 7,85 - 7,97 (2H, m), 8,21 (1H, d), 8,41 (1H, s), 8,71 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES⁺)[M+H]⁺ = 464.

Hợp chất sau thêm đây được điều chế theo kiểu tương tự.

Ví dụ	Cấu trúc	Tên
4		8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

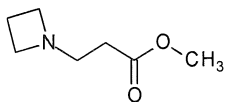
Ví dụ 4: *Phổ NMR:* ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 1,75 - 1,78 (6 H, s), 2,08 - 2,15 (2 H, q), 2,40 - 2,50 (2 H, m), 3,08 - 3,14 (2 H, m), 3,59 (3 H, s), 3,87 - 3,92 (4 H, t), 4,42 - 4,46 (2 H, t), 5,18 - 5,26 (1 H, m), 6,88- 6,91 (1 H, m), 7,87 - 7,93 (2 H, m), 8,21 (1 H, d), 8,41 (1 H, s), 8,71 (1 H, s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 450.

Chất trung gian D1: 3-(Azetidin-1-yl)propan-1-ol



Dung dịch của lithi nhôm hydrua (2,0 M trong THF) (8,38 ml, 16,76 mmol) mà đã được pha loãng thêm trong THF (20 ml) thêm nữa được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp của metyl 3-(azetidin-1-yl)propanoat (2 g, 13,97 mmol) trong THF (5ml) ở nhiệt độ 0°C trong khí trơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 1 giờ sau đó hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng natri sulphat decahydrat và được khuấy trong thời gian 30 phút. Chất rắn được loại ra bằng cách lọc và được thải bỏ và dịch lọc được làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn (1,240 g, 77 %) dưới dạng dầu không màu. *Phổ NMR:* ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,51 - 1,57 (2H, m), 2 - 2,07 (2H, m), 2,6 - 2,66 (2H, m), 3,20 (4H, t), 3,7 - 3,76 (2H, m).

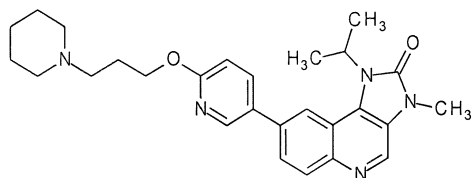
Chất trung gian D2: Metyl 3-(azetidin-1-yl)propanoat



Metyl acrylat (2,082 ml, 23,12 mmol) được bổ sung vào dung dịch của azetidin (1,2 g, 21,02 mmol) trong DCM và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh, trong khí trơ trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi và sản phẩm thô được tinh chế bằng FCC, được rửa giải bằng EtOAc 25% trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn (2,0 g, 66,5 %) dưới dạng dầu không màu. *Phổ NMR:* ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,97 - 2,1 (2H, m), 2,33 (2H, d), 2,67 (2H, d), 3,18 (4H, t), 3,67 (3H, s).

Ví dụ 5

1-Isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



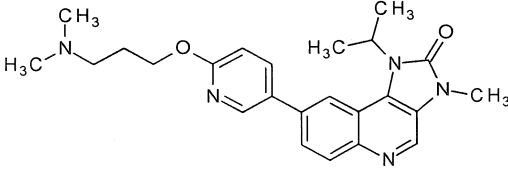
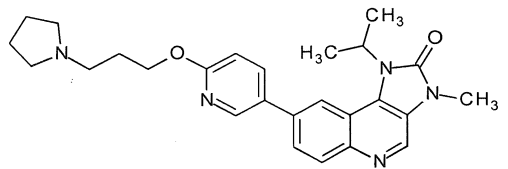
3-(Piperidin-1-yl)propan-1-ol (0,135 ml, 0,89 mmol) được bổ sung từng giọt vào huyền phù có khuấy của natri hydrua (0,071 g, 1,78 mmol) trong THF (0,5 ml) ở nhiệt độ trong phòng và khuấy huyền phù thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút trong khí trơ. 8-(6-Flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (0,15 g, 0,45 mmol) trong DMF (1,5 ml) được bổ sung và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian một giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (40 ml), được rửa hai lần bằng nước (20 ml) sau đó lớp hữu cơ được làm khô trong MgSO_4 , lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradient rửa giải từ 0 đến 3% metanolic amoni 2N trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (0,154 g, 75 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 1,39 - 1,51 (2H, m), 1,60 (4H, p), 1,79 (6H, d), 2,03 (2H, dt), 2,42 (4H, s), 2,47 - 2,58 (2H, m), 3,59 (3H, s), 4,42 (2H, t), 5,19 - 5,41 (1H, m), 6,89 (1H, d), 7,78 (1H, dd), 7,90 (1H, dd), 8,22 (1H, d), 8,32 (1H, s), 8,50 (1H, d), 8,70 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES $^+$)[M+H] $^+$ = 460.

Nguyên liệu phía trên cũng có thể được tách ra dưới dạng muối của axit metan sulfonic bằng cách lấy nguyên liệu như được điều chế ở trên và tùy thuộc vào điều kiện phản ứng dưới đây.

1-Isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (133 mg, 0,29 mmol) được hòa tan trong DCM (2 ml) và được xử lý bằng axit metansulfonic 1M (0,3 ml, 0,30 mmol) trong DCM sau đó làm bay hơi hỗn hợp đến khô. Phần cặn được nghiền thành bột với dietyl ete để tạo ra muối của axit metan sulfonic dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (162 mg). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 1,31 - 1,5 (1H, m),

1,68 (9H, d), 1,83 (2H, d), 2,13 - 2,26 (2H, m), 2,32 (3H, s), 2,84 - 3,01 (2H, m), 3,24 (2H, dt), 3,52 (5H, s), 4,43 (2H, t), 5,38 (1H, p), 7,00 (1H, d), 7,99 (1H, d), 8,17 (1H, d), 8,24 (1H, dd), 8,43 (1H, s), 8,69 (1H, d), 8,95 (1H, s), 9,04 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES⁺)[M+H]⁺ = 460.

Các hợp chất sau đây được điều chế theo kiểu tương tự từ 8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on hoặc 7-flo-8-(6-flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on và rượu thích hợp.

Ví dụ	Cấu trúc	Tên
6		8-[6-[3-(đimetylamin)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on
7*		1-isopropyl-3-metyl-8-[6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

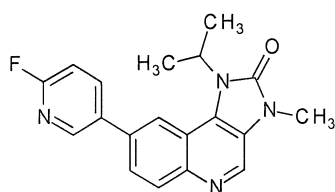
* Khuấy phản ứng trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Ví dụ 6: (Bazơ tự do) *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,68 (6H, d), 1,89 (2H, p), 2,16 (6H, s), 2,37 (2H, t), 3,51 (3H, s), 4,37 (2H, t), 5,36 (1H, p), 6,98 (1H, dd), 7,93 (1H, dd), 8,14 (1H, d), 8,18 (1H, dd), 8,40 (1H, d), 8,66 (1H, dd), 8,88 (1H, s). (Muối của axit metan sulfonic) *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,68 (6H, d), 2,07 - 2,25 (2H, m), 2,33 (3H, s), 2,80 (6H, s), 3,15 - 3,24 (2H, m), 3,51 (3H, s), 4,42 (2H, t), 5,35 (1H, p), 7,00 (1H, dd), 7,94 (1H, dd), 8,15 (1H, d), 8,23 (1H, dd), 8,40 (1H, d), 8,68 (1H, dd), 8,89 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES⁺)[M+H]⁺ = 420.

Ví dụ 7: (Bazơ tự do) *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,61 - 1,77 (10H, m), 1,93 (2H, p), 2,43 - 2,49 (4H, m), 2,53 - 2,59 (2H, m), 3,51 (3H, s), 4,38 (2H, t), 5,29 - 5,43 (1H, m), 6,97 (1H, dd), 7,93 (1H, dd), 8,13 (1H, d), 8,18 (1H, dd), 8,40 (1H, d), 8,65 (1H, dd),

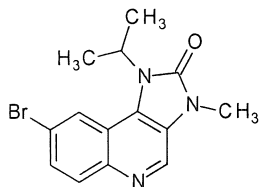
8,88 (1H, s). (Muối của axit metan sulfonic) *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 1,68 (6H, d), 1,88 (4H, s), 2,11 - 2,23 (2H, m), 2,32 (3H, s), 3,08 (2H, s), 3,32 (2H, s), 3,51 (3H, s), 3,60 (2H, s), 4,44 (2H, t), 5,36 (1H, p), 7,01 (1H, d), 7,94 (1H, dd), 8,15 (1H, d), 8,23 (1H, dd), 8,40 (1H, d), 8,68 (1H, d), 8,89 (1H, s), 9,50 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 446.

Chất trung gian E1: 8-(6-Flo-3-pyridyl)-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



8-Bromo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (4,57 g, 14,27 mmol), axit (6-flopyridin-3-yl)boronic (2,61 g, 18,55 mmol) và kali cacbonat 2M (22 ml, 44,00 mmol) được tạo huyền phù trong 1,4-dioxan (90 ml). Hỗn hợp được khử khí sau đó điclo [1,1'- bis(di-tertbutylphosphino)ferrocene] paladi(II) (0,465 g, 0,71 mmol) được bổ sung vào và phản ứng đến nhiệt độ 80°C trong thời gian 2 giờ trong khí trơ. Hỗn hợp để nguội, được pha loãng bằng EtOAc (200 ml) sau đó được rửa bằng nước (50 ml), nước muối, và pha hữu cơ được làm khô trong MgSO_4 , được lọc và cô đặc *trong chân không*. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradient rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mà sau đó được nghiền thành bột với dietyl ete để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng ngà (4,46 g, 93 %). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 1,66 (6H, d), 3,50 (3H, s), 5,36 (1H, p), 7,36 (1H, dd), 7,95 (1H, dd), 8,15 (1H, d), 8,39 - 8,52 (2H, m), 8,72 (1H, d), 8,90 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 337.

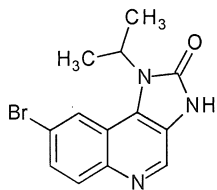
Chất trung gian E2: 8-Bromo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



N,N-dimetylformamit dimetyl axetal (54,2 ml, 408,29 mmol) được bổ sung vào dung dịch của 8-bromo-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (25,00 g, 81,66 mmol) trong DMF (375 ml). Hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C trong thời gian 3 giờ sau đó để nguội xuống nhiệt độ môi trường và được khuấy trong thời gian 16 giờ. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng nước (4 x 300 ml) và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (23,82 g, 91 %). *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,63 (6H, d), 3,49 (3H, s), 5,15 - 5,23 (1H, m), 7,75 (1H, dd), 7,99 (1H, d), 8,44 (1H, d), 8,91 (1H, s).

Phổ khối: *m/z* (ES⁺)[M+H]⁺ = 320.

Chất trung gian E3: 8-Bromo-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

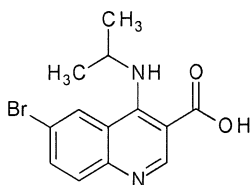


Trietylamin (45,3 ml, 332,06 mmol) được bổ sung vào axit 6-bromo-4-(isopropylamino)quinolin-3-carboxylic (34,22 g, 110,69 mmol) trong DMF (342 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 30 phút, diphenyl phosphorazidat (26,2 ml, 121,76 mmol) được bổ sung và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (1500 ml); thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng nước (2 x 700 ml) và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu be (29,6 g, 87 %), được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 1,64

(6H, d), 5,06 - 5,21 (1H, m), 7,75 (1H, d), 7,98 (1H, d), 8,43 (1H, s), 8,69 (1H, s), 11,57 (1H, s).

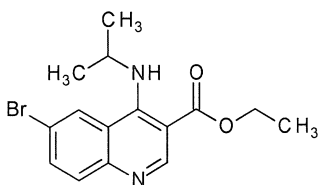
Phổ khối: m/z (ES+)[M+H]⁺ = 306.

Chất trung gian E4: Axit 6-Bromo-4-(isopropylamino)quinolin-3-cacboxylic



Etyl 6-bromo-4-(isopropylamino)quinolin-3-cacboxylat (38,0 g, 112,69 mmol) được tạo huyền phù trong metanol (800 ml) và nước (200 ml). Dung dịch natri hydroxit 10M (33,8 ml, 338,07 mmol) được bổ sung và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 1 giờ. THF (200 ml) được bổ sung và khuấy hỗn hợp thu được trong thời gian 16 giờ. Bổ sung nước (400 ml) và loại bỏ chất hữu cơ dưới áp suất giảm. Axit hóa dung dịch nước thu được đến độ pH từ 4 đến 5 bằng HCl 2M và thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (34,7 g, 100 %). *Phổ NMR:* ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,33 (6H, d), 4,39 (1H, s), 7,78 (1H, d), 7,92 (1H, dd), 8,38 (1H, d), 8,88 (1H, s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H]⁺ = 309.

Chất trung gian E5: Etyl 6-bromo-4-(isopropylamino)quinolin-3-cacboxylat

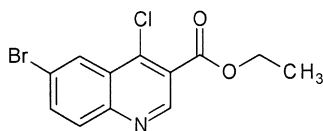


Propan-2-amin (11,00 ml, 128,02 mmol) được bổ sung vào huyền phù của etyl 6-bromo-4-cloquinolin-3-cacboxylat (36,61 g, 116,38 mmol) và kali cacbonat (32,2 g, 232,77 mmol) trong axetonitril (250 ml) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 54°C dưới hồi lưu trong

thời gian 3 giờ. Bổ sung thêm kali cacbonat (10,7 g, 77,6 mmol) và propan-2-amin (3,6 ml, 42,7 mmol) và tiếp tục khuấy ở nhiệt độ 48°C trong thời gian 16 giờ nữa. Dung môi được loại bỏ *trong chân không* và phần cặn thu được được phân chia giữa DCM (400 ml) và nước (500 ml). Lớp nước được chiết ngược trở lại bằng DCM (2 x 200 ml); lớp hữu cơ đã kết hợp được cho đi qua giấy tách pha và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu be (38,6 g, 98 %).

Phổ NMR: ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 1,40 (6H, d), 1,43 (3H, t), 4,32 - 4,37 (1H, m), 4,40 (2H, q), 7,72 (1H, dd), 7,81 (1H, d), 8,29 (1H, d), 8,95 (1H, d), 9,10 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 337.

Chất trung gian E6: Etyl 6-bromo-4-cloquinolin-3-cacboxylat

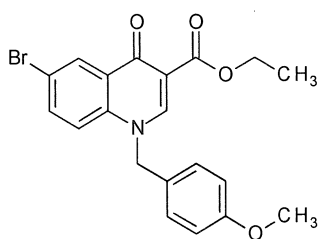


DMF (0,119ml, 1,54mmol) được bổ sung vào etyl 6-bromo-1-[(4-metoxypheyl)metyl]-4-oxoquinolin-3-cacboxylat (160g, 384,37mmol) trong thionyl clorua (800 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong không khí. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 75°C trong thời gian 16 giờ sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Làm đồng sôi hỗn hợp thu được hai lần bằng toluen sau đó bổ sung *n*-hexan (500 ml). Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng *n*-hexan (200 ml) và được làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (100 g, 83%) dưới dạng chất rắn màu nâu. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,47 (3H, t), 4,51 (2H, q), 7,95 (1H, dd), 8,11 (1H, d), 8,60 (1H, d), 9,24 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 314, 316.

Trên quy mô lớn, etyl 6-bromo-1-[(4-metoxypheyl)metyl]-4-oxoquinolin-3-cacboxylat (5765 g, 13,85 mol) được nạp vào bình chứa với thionyl clorua (28,8 l). Quan sát thấy sự tỏa nhiệt từ 20-26°C. DMF (4,4 ml) được bổ sung nếu không quan sát thấy sự tỏa nhiệt và mẻ được gia nhiệt đến nhiệt độ 75°C và khuấy trong thời gian 17 giờ. HPLC thể hiện 1,3% nguyên liệu

bắt đầu còn lại với 98,0% sản phẩm. Cô đặc phản ứng *trong chân không* và đồng sôi phần cặn với toluen (25 l). Sau đó chất rắn thu được được tạo dịch sền sệt trong heptan (18,5 l) trong thời gian 2,5 giờ, được lọc và rửa bằng heptan (3 x 4 l). Làm khô chất rắn trong chân không ở nhiệt độ 35°C để tạo ra 4077 g nguyên liệu mong muốn (hiệu suất thô 93%) chứa ~5% etyl 6-bromo-1-[(4-metoxypheyl)metyl]-4-oxoquinolin-3-cacboxylat trong việc bổ sung vào ~4% sản phẩm thủy phân bằng HPLC (độ tinh khiết 90%). Nguyên liệu thô (4077 g) được đưa trở lại bình chứa và xử lý lại với thionyl clorua (14,5 l) và DMF (2,2 ml). Hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ 75°C trong thời gian 40 giờ. Loại bỏ thionyl clorua *trong chân không* và đồng sôi phần cặn với toluen (10 l). Phần cặn được tạo dịch sền sệt trong heptan (18 l) trong thời gian ~16 giờ ở nhiệt độ 20°C. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, một phần được lọc trong khí nitơ và rửa bằng heptan (3 l) để thu được 2196 g nguyên liệu mong muốn (90% thử nghiệm NMR, 99% bằng HPLC). Phần còn lại của mẻ được lọc trong không khí và rửa bằng heptan (3 l) để thu được 1905 g nguyên liệu mong muốn (88% thử nghiệm NMR, 99% bằng HPLC). Chất rắn màu vàng được kết hợp cho quá trình khác (4101 g, 3653 g có hoạt tính, hiệu suất 83%, 99% bằng HPLC).

Chất trung gian E7: Etyl 6-bromo-1-[(4-metoxypheyl)metyl]-4-oxoquinolin-3-cacboxylat

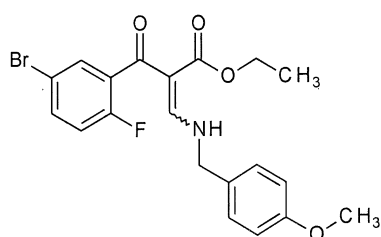


DBU (102ml, 679,62mmol) được bổ sung từng giọt vào etyl 2-(5-bromo-2-flobenzoyl)-3-[(4-metoxypheyl)metylamino]prop-2-enoat (296,5 g, 679,62 mmol), trong axeton (1,2 l) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khoảng thời gian 2 phút. Khuấy dung dịch thu được trong thời gian 16 giờ sau đó chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc và rửa bằng MTBE để tạo ra nguyên liệu mong muốn (180 g, 64%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,30 (3H, t), 3,71 (3H, s), 4,25 (2H, q), 5,60 (2H, s), 6,90-6,95 (2H,

m), 7,12-7,25 (2H, m), 7,67 (1H, d), 7,80-7,90 (1H, m), 8,30 (1H, d), 8,92 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H]⁺ = 418.

Trên quy mô lớn, ethyl 2-(5-bromo-2-flobenzoyl)-3-[(4-metoxypheyl)metylamino]prop-2-enoat (8434 g, (7730 g có hoạt tính giả định), 17,71 mol) được nạp vào bình chứa với axeton (23,2 l) ở nhiệt độ 15°C. DBU (2,8 l, 18,72 mol) được bổ sung trong thời gian 25 phút với sự tỏa nhiệt được quan sát thấy từ 18°C đến 23°C trong việc bổ sung. Chất kết tủa tạo thành sau thời gian ~25 phút và tiếp tục tỏa nhiệt đạt đến nhiệt độ cao nhất bằng 37°C sau thời gian 1 giờ. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 16,5 giờ ở mà ở đó điểm HPLC biểu thị sự tiêu thụ nguyên liệu bắt đầu còn lại và 96,5% sản phẩm. Chất kết tủa thu được được thu gom bằng cách lọc có rửa bằng TBME (4x 3,4 l). Sau đó chất rắn được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 40°C để tạo ra 6033 g nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 81,6% trong 3 bước, độ tinh sạch 99,8% bằng HPLC). Dữ liệu phân tích thống nhất với dữ liệu thu được ở các mẻ trước.

Chất trung gian E8: Ethyl 2-(5-bromo-2-flobenzoyl)-3-[(4-metoxypheyl)metylamino]prop-2-enoat

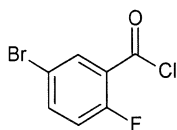


(E)-Ethyl 3-(đimetylamino)acrylat (98 g, 685,00 mmol) được bổ sung từng phần vào 5-bromo-2-flobenzoyl clorua (163 g, 685 mmol) và DIPEA (120 ml, 685,00 mmol) trong toluen (800 ml) ở nhiệt độ 10°C trong khoảng thời gian 10 phút. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 16 giờ sau đó để nguội. (4-Metoxypheyl)methanamin (94 g, 685 mmol) được bổ sung vào hỗn hợp trong khoảng thời gian 20 phút ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Khuấy dung dịch thu được trong thời gian 3 giờ sau đó pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (4 l), và được rửa bằng nước (3 x 1 l). Pha hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc

và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn (300 g, 100%) dưới dạng dầu màu nâu, được sử dụng ngay lập tức trong phản ứng sau mà không cần tinh chế thêm. *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H]⁺ = 436.

Trên quy mô lớn, 5-bromo-2-flobenzoyl clorua (4318 g, 4205 g có hoạt tính, 17,71 mol) được nạp vào bình chứa dưới dạng dung dịch trong toluen (7,5 l). DIPEA (3150 ml, 18,08 mol) được bổ sung nếu không quan sát thấy sự tỏa nhiệt. Etyl-3-(đimetylamin)acrylat (2532 g, 17,71 mol) được bổ sung từng phần trong thời gian 30 phút duy trì nhiệt độ mẻ <40°C. Sự tỏa nhiệt trong khoảng từ 21°C đến 24°C được lưu ý trong quá trình bổ sung 30 phút với nhiệt độ tăng chậm thêm đến 38°C trong thời gian 1 giờ. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong khoảng từ 20°C đến 30°C trong thời gian 16,5 giờ. 4-Metoxybenzylamin (2439 g, 17,78 mol) được bổ sung từng phần trong thời gian 30 phút duy trì nhiệt độ mẻ <40°C. Sự tỏa nhiệt trong khoảng từ 25°C đến 30°C được quan sát thấy trong việc bổ sung với làm lạnh được tạo thành bằng cách làm giảm nhiệt độ vỏ bằng 15°C. Phản ứng được khuấy trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ trong khoảng từ 20°C đến 30°C sau đó HPLC biểu thị 93,2% nguyên liệu mong muốn. Mẻ được tách ra để thực hiện với mỗi một nửa của hỗn hợp mà được pha loãng bằng DCM (28,6 l) và được rửa bằng nước (3 x 7,8 l). Chất hữu cơ được làm khô trong MgSO₄ (~550 g) và được lọc, rửa bằng DCM (4 l). Sau đó pha hữu cơ kết hợp được cô đặc để tạo 8444 g nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu (8434 g, hiệu suất 106%, độ tinh sạch 94,7% bằng HPLC). Dữ liệu phân tích thống nhất với dữ liệu thu được từ các mẻ trước.

Chất trung gian E9: 5-Bromo-2-flobenzoyl clorua



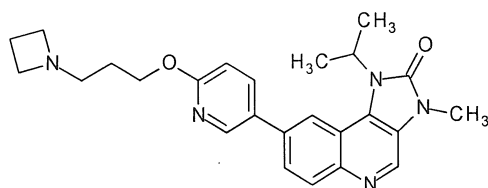
Thionyl clorua (75,0ml, 1027,36mmol) được bổ sung từng giọt vào axit 5-bromo-2-flobenzoic (150g, 684,91mmol), trong toluen (1,2 l) và DMF (12ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khoảng thời gian 1 giờ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 16 giờ sau đó hỗn hợp để nguội và cô đặc *trong chân không* để tạo ra nguyên liệu mong

muốn (160 g, 98%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.
Phổ NMR: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7,26 – 7,31 (1H, m), 7,83 (1H, dd), 8,02 (1H, d).

Trên quy mô lớn, axit 3-bromo-6-flobenzoic (3888 g, 17,75 mol) được nạp vào bình chứa ở nhiệt độ 20°C sau đó là toluen (29,2 l). Thionyl clorua (1950 ml, 26,88 mol) được bổ sung, sau đó là DMF (310 ml) nếu không quan sát thấy sự tỏa nhiệt. Hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ trong khoảng từ 65°C đến 75°C (nhiệt độ dung dịch thu được trên ~45°C) nếu không quan sát thấy sự tỏa nhiệt và sự thoát khí nhẹ. Phản ứng được khuấy trong thời gian 40 giờ ở nhiệt độ này mà tại điểm đó phân tích HPLC thể hiện 87,6% sản phẩm, 3,4% nguyên liệu bắt đầu còn lại. Phản ứng được cô đặc *trong chân không* và được đồng sôi bằng toluen (18 l) để tạo ra 4328 g nguyên liệu mong muốn (hiệu suất 103%, 87,3% bằng HPLC).

Ví dụ 8

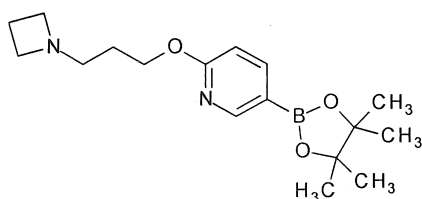
8-[6-[3-(Azetidìn-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Clo(2-đixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (24,55 mg, 0,03 mmol) được bổ sung vào 8-bromo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (100 mg, 0,31 mmol), 2-(3-(azetidìn-1-yl)propoxy)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-đioxaborolan-2-yl)pyridin (149 mg, 0,47 mmol) và xesi cacbonat (204 mg, 0,62 mmol) trong 1,4-đioxan (4 ml), nước (1 ml) ở nhiệt độ trong phòng trong khí trơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 2 giờ sau đó để nguội và dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, 5 μ silic oxit, đường kính 19 mm, chiều dài 150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa 0,1% axit formic) và MeCN làm chất rửa giải, để tạo ra

nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (30,0 mg, 21%). *Phổ NMR*: ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 1,72 (8H, dd), 1,97 (2H, p), 2,50 (2H, s), 3,14 (4H, dd), 3,51 (3H, s), 4,34 (2H, t), 5,36 (1H, p), 6,97 (1H, d), 7,94 (1H, dd), 8,10 - 8,23 (2H, m), 8,40 (1H, d), 8,66 (1H, d), 8,89 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 432.

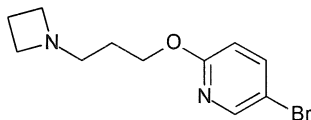
Chất trung gian F1: 2-[3-(Azetidin-1-yl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin



n-Butyl lithi (4,65 ml, 11,62 mmol) được bổ sung vào 2-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-5-bromopyridin (2,1 g, 7,74 mmol) và 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (2,161 g, 11,62 mmol) trong THF (50 ml) ở nhiệt độ -78°C trong khoảng thời gian 10 phút và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 1 giờ. Phản ứng được làm lạnh bằng dung dịch bão hòa trong nước của natri hydro cacbonat (10 ml) và dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Phần cặn được hòa tan trong DCM (100 ml), được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn (2,00 g, 81 %) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Phổ khối: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 319

Chất trung gian F2: 2-[3-(Azetidin-1-yl)propoxy]-5-bromopyridin

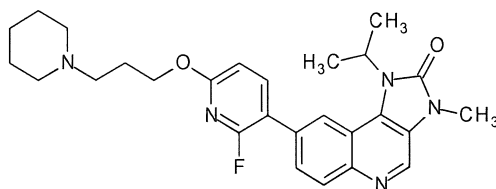


Natri hydrua (1,364 g, 56,82 mmol) được bổ sung vào 3-(azetidin-1-yl)propan-1-ol (2,62 g, 22,73 mmol) trong THF (20 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ và khuấy phản ứng trong thời gian 10 phút. 5-Bromo-2-flopyridin (2,0 g, 11,36 mmol) được bổ

sung và khuấy dung dịch thu được trong thời gian 1 giờ trước khi được làm lạnh bằng nước (20 ml) và được chiết bằng EtOAc (5 x 50 ml). Pha hữu cơ được kết hợp, được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và cô đặc *trong chân không* để tạo ra nguyên liệu mong muốn (3,75 g, 122 %) dưới dạng chất rắn màu trắng. *Phổ NMR*: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 1,80 (2H, m), 2,11 (2H, m), 2,55 (2H, t), 3,18 (4H, t), 4,328 (2H, t), 6,64 (1H, d), 7,62 (1H, dd), 8,16 (1H, d). *Phổ khối*: m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 271.

Ví dụ 9

8-[2-Flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



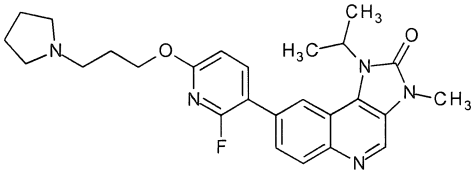
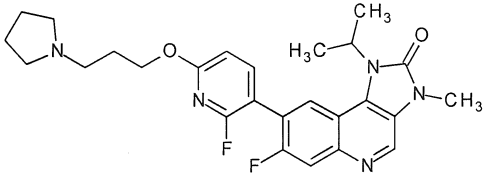
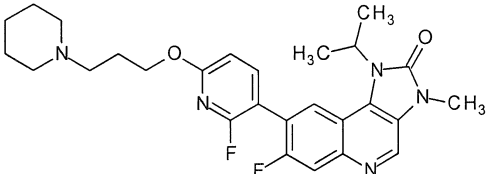
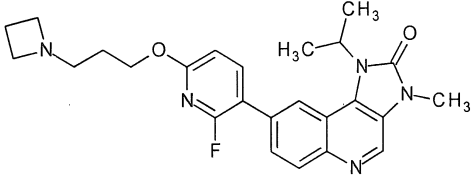
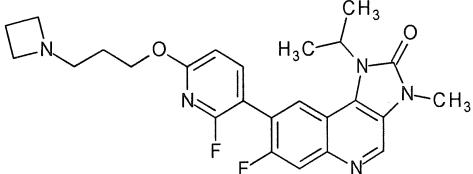
Clo(2-điisopropylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (45,6 mg, 0,06 mmol) được bổ sung vào 2-flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin (hỗn hợp phản ứng thô được giả định là chứa 232 mg, 0,64 mmol), 8-bromo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (186 mg, 0,58 mmol) và xesi cacbonat (567 mg, 1,74 mmol) trong 1,4-dioxan (5 ml) và nước (2,5 ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian ba giờ sau đó để nguội. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (50 ml), được rửa hai lần bằng nước (25 ml), lớp hữu cơ được làm khô trong MgSO_4 , lọc và làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 4% metanolic amoni 2N trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng ngà (168 mg, 61%). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,37 (2H, d), 1,48 (4H, p), 1,64 (6H, d), 1,88 (2H, p), 2,22 - 2,44 (6H, m), 3,49 (3H, s), 4,30 (2H, t), 5,26 (1H, h), 6,93 (1H, dd), 7,80 (1H, dd), 8,12 (1H, d), 8,21 (1H, dd), 8,42 (1H, s), 8,89 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 478.

Nguyên liệu phía trên cũng có thể được tách ra dưới dạng muối của axit metan sulfonic bằng cách lấy nguyên liệu như được điều chế ở trên và tùy thuộc vào điều kiện phản ứng dưới đây.

8-[2-Flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (162 mg, 0,34 mmol) được hòa tan trong DCM (4 ml) và được xử lý bằng axit metansulfonic 1M (0,35 ml, 0,36 mmol) trong DCM sau đó làm bay hơi hỗn hợp đến khô. Phần cặn được nghiền thành bột với dietyl ete để tạo ra muối của axit metan sulfonic dưới dạng chất rắn màu trắng (184 mg). *Phổ NMR*: ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 1,22 - 1,98 (12H, m), 2,06 - 2,24 (2H, m), 2,31 (3H, s), 2,90 (2H, s), 3,19 (2H, s), 3,50 (5H, s), 4,37 (2H, t), 5,25 (1H, p), 6,96 (1H, d), 7,80 (1H, d), 8,13 (1H, d), 8,26 (1H, dd), 8,42 (1H, s), 8,90 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES $^+$)[M+H] $^+$ = 478.

Các hợp chất sau đây được điều chế theo kiểu tương tự từ 8-bromo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on hoặc 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on và boronic este thích hợp.

Ví dụ	Cấu trúc	Tên
10*		8-[6-[3-(đimetyl-amino)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on
11*		8-[6-[3-(đimetyl-amino)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

Ví dụ	Cấu trúc	Tên
12**		8-[2-flo-6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on
13**		7-flo-8-[2-flo-6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on
14***		7-flo-8-[2-flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on
15***		8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on
16****		8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

* Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 5 giờ và được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh và / hoặc HPLC điều chế.

** Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 5 giờ trong hỗn hợp 5:1 của đioxan / nước, và được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh sau đó bằng HPLC điều chế.

*** Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 2 giờ trong hỗn hợp 4:1 của đioxan / nước,

**** Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 4 giờ

Ví dụ 10: *Phổ NMR:* ^1H NMR (400MHz, MeOH- d_4) δ 1,77 (6H, d), 1,98 - 2,10 (2H, m), 2,34 (6H, s), 2,54 - 2,63 (2H, m), 3,61 (3H, s), 4,41 (2H, t), 5,36 (1H, p), 6,88 (1H, dd), 7,87 (1H, dt), 8,08 - 8,21 (2H, m), 8,53 (1H, s), 8,83 (1H, s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 438.

Ví dụ 11: *Phổ NMR:* ^1H NMR (400MHz, MeOH- d_4) δ 1,74 (6H, d), 2,04 (2H, ddt), 2,34 (6H, s), 2,54 - 2,63 (2H, m), 3,60 (3H, s), 4,42 (2H, t), 5,30 (1H, p), 6,88 (1H, dd), 7,84 (1H, d), 8,03 (1H, ddd), 8,42 (1H, d), 8,85 (1H, s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 456.

Ví dụ 12: *Phổ NMR:* ^1H NMR (300MHz, MeOH- d_4) δ 1,76 (6H,d), 2,12-2,30 (4H,m), 2,31-2,35 (2H,m), 2,38-3,47 (6H,m), 3,62 (3H,s), 4,50 (2H,t), 5,32-5,41 (1H,m), 6,92-6,95 (1H,m), 7,89 (1H,d), 8,15-8,20 (2H,m), 8,41 (1H,s), 8,85 (1H,s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 464.

Ví dụ 13: *Phổ NMR:* ^1H NMR (400MHz, MeOH- d_4) δ 1,74 (6H, d), 2,08 - 2,20 (4H, m), 2,24 - 2,36 (2H, m), 3,39 - 3,48 (6H, m), 3,61 (3H, s), 4,51 (2H, t), 5,30 (1H, t), 6,93 (1H, d), 7,86 (1H, d), 8,08 (1H, t), 8,42 (1H, d), 8,87 (1H, s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 482.

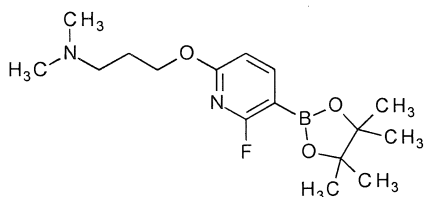
Ví dụ 14: *Phổ NMR:* ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1,39 (2H, d), 1,51 (5H, p), 1,60 (6H, d), 1,93 (2H, q), 2,43 (6H, d), 3,49 (3H, s), 4,32 (2H, t), 5,24 (1H, q), 6,96 (1H, dd), 7,92 (1H, d), 8,07 - 8,22 (2H, m), 8,38 (1H, d), 8,93 (1H, s). *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 496.

Ví dụ 15: *Phổ NMR:* ^1H NMR (400MHz, MeOH- d_4) δ 1,64 (6H, d), 1,73 (2H, t), 1,96 (2H, p), 2,46-2,51 (2H, t), 3,12 (4H, t), 3,50 (3H, s), 4,28 (2H, t), 5,28 (1H, q), 6,94 (1H, dd),

7,76 - 7,86 (1H, m), 8,08 - 8,29 (2H, m), 8,43 (1H, s), 8,90 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H]⁺ = 450

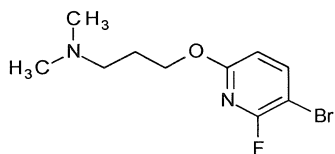
Ví dụ 16: *Phổ NMR*: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 1,60 (6H, d), 1,70 - 1,81 (2H, m), 1,96 - 2,04 (2H, m), 2,55 (2H, s), 3,19 (4H, dt), 3,49 (3H, s), 4,30 (2H, t), 5,22 (1H, q), 6,95 (1H, dd), 7,92 (1H, d), 8,08 - 8,17 (1H, m), 8,38 (1H, d), 8,93 (1H, s). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H]⁺ = 468.

Chất trung gian G1: 3-[[6-Flo-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-2-pyridyl]oxy]-*N,N*-đimetyl-propan-1-amin



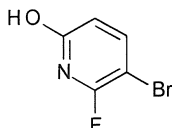
Dung dịch của n-butyllithi (0,693 g, 10,83 mmol) trong n-hexan (4,33 ml) được bổ sung vào hỗn hợp đã được khuấy trộn của 3-(5-bromo-6-flopyridin-2-yl)oxy-*N,N*-đimetylpropan-1-amin (2 g, 7,22mmol) và 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (2,014 g, 10,83 mmol) trong THF (20 ml) ở nhiệt độ -78°C trong khoảng thời gian 20 phút trong khí trơ. Để hỗn hợp thu được ấm lên đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa và được cô đặc *trong chân không*. Sản phẩm thô được tinh chế bằng FCC, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 10% trong DCM, để tạo ra nguyên liệu mong muốn (2,50 g, 107%). *Phổ Khối*: m/z (ES+)[M+H]⁺ = 325.

Chất trung gian G2: 3-(5-Bromo-6-flopyridin-2-yl)oxy-*N,N*-đimetylpropan-1-amin



(E)-Diisopropyl diazen-1,2-dicacboxylat (15,80g, 78,13mmol) được bổ sung từng giọt vào 3-(dimethylamino)propan-1-ol (8,06 g, 78,13 mmol), 5-bromo-6-flopyridin-2-ol (10 g, 52,09 mmol) và triphenylphosphin (20,49 g, 78,13 mmol) trong DCM (150ml) làm lạnh xuống nhiệt độ trong khoảng từ 0°C đến 5°C trong khí trơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 16 giờ sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Phần cặn được pha loãng bằng EtOAc (50 ml) và chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc và được thải bỏ. Axit hóa dịch lọc bằng hydro clorua trong đioxan. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc sau đó được hòa tan trong dung dịch bão hòa trong nước của Na₂CO₃ (200 ml) và được chiết bằng EtOAc (3 x 100ml). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc *trong chân không* để tạo ra nguyên liệu mong muốn (9,00 g, 62,3%). *Phổ NMR*: ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1,89 - 1,98 (2H, m), 2,26 (6H, s), 2,34 (2H, t), 4,30 (2H, t), 6,53 (1H, d), 7,74 (1H, t). *Phổ khối*: *m/z* (ES⁺)[M+H]⁺ = 277.

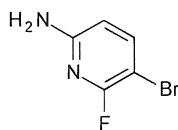
Chất trung gian G3: 5-Bromo-6-flopyridin-2-ol



Dung dịch của natri nitrit (21,67 g, 314,13 mmol) trong nước (150 ml) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp đã được khuấy trộn của 5-bromo-6-flopyridin-2-amin (50 g, 261,78 mmol) và axit sulphuric (1,2ml, 22,51 mmol) trong nước (750 ml) ở nhiệt độ trong khoảng từ 0°C đến 5°C. Khuấy huyền phù thu được trong thời gian 48 giờ ở nhiệt độ môi trường xung quanh sau đó thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, được rửa bằng nước (200 ml) và được làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (40,0 g, 80%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

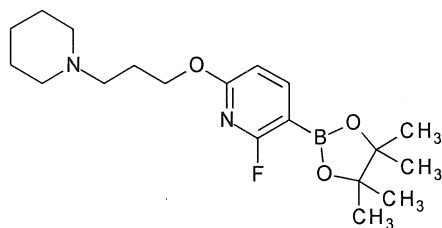
Phổ NMR: ¹H NMR (300MHz, DMSO-d₆) δ 6,55 (1H, d), 8,00 (1H, t), 11,71 (1H, bs). *Phổ khối*: *m/z* (ES⁺)[M+H]⁺ = 192.

Chất trung gian G4: 5-Bromo-6-flopyridin-2-amin



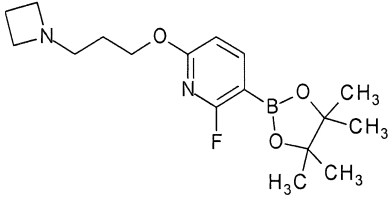
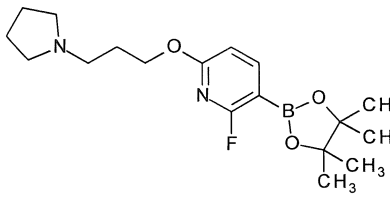
NBS (50,0 g, 28,99 mmol) được bổ sung từ từ vào 6-flopyridin-2-amin (30 g, 267,61 mmol) trong MeCN (300 ml) làm lạnh xuống nhiệt độ trong khoảng từ 10°C đến 20°C trong khoảng thời gian 30 phút. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 60 phút sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Phần cặn được pha loãng bằng nước, thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, được rửa bằng nước (200 ml) và được làm khô trong chân không để tạo ra nguyên liệu mong muốn (50,0 g, 98%) dưới dạng chất rắn màu trắng, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 6,29 (1H, d), 6,57 (2H, bs), 7,65 (1H, t). *Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 191.

Chất trung gian H1: 2-Flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin



$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,692 g, 0,95 mmol) được bổ sung vào 3-bromo-2-flo-6-(3-(piperidin-1-yl)propoxy)pyridin (3 g, 9,46 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (3,60 g, 14,19 mmol) và potassium acetate (1,856 g, 18,92 mmol) trong 1,4-dioxan (60 ml) ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong khí trơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 16 giờ sau đó được làm lạnh và dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradient rửa giải từ 0 đến 100% EtOAc trong ete dầu mỏ, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất lỏng màu đỏ (0,90 g, 26%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ Khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 365.

Chất trung gian boronic este sau đây được điều chế theo kiểu tương tự từ bromua thích hợp.

Chất trung gian	Cấu trúc	Tên
I1*		6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-fluoro-3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin
J1**		2-fluoro-6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)-3-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin

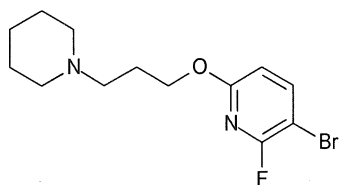
* Nguyên liệu được sử dụng mà không tinh chế

** Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 16 giờ và nguyên liệu được sử dụng mà không cần tinh chế.

Chất trung gian I1: *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H]⁺ = 337.

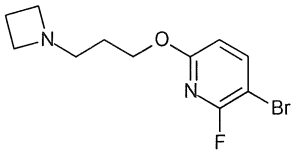
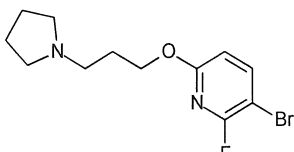
Chất trung gian J1: *Phổ khối:* m/z (ES+)[M+H]⁺ = 351.

Chất trung gian H2: 3-Bromo-2-fluoro-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]pyridin



(E)-Đi-tert-butyl diazen-1,2-dicacboxylat (7,20 g, 31,25 mmol) được bổ sung vào 3-(piperidin-1-yl)propan-1-ol (4,48 g, 31,25 mmol), triphenylphosphin (8,20 g, 31,25 mmol) và 5-bromo-6-flopyridin-2-ol (4,0 g, 20,83 mmol) trong DCM (50 ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh trong thời gian 18 giờ sau đó dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền thành bột với EtOAc (100 ml) và được lọc để loại bỏ chất rắn. Bổ sung 20 ml dung dịch HCl (khí) trong đioxan vào dịch lọc. Thu gom chất rắn bằng cách lọc. Chất rắn được hòa tan trong nước (100 ml), được bazơ hóa bằng dung dịch bão hòa trong nước của Na_2CO_3 và được chiết bằng EtOAc (200 ml). Lớp hữu cơ được tách riêng và được rửa bằng nước muối bão hòa (50 ml), được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng dầu màu vàng (1,50 g, 22,70 %) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. *Phổ NMR*: ^1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 1,46-1,51 (6H,m), 1,82-1,89 (2H,m), 2,30-2,51 (6H,m), 4,21 (2H,t), 6,74 (1H,d), 8,07 (1H,t)..*Phổ khối*: m/z (ES+)[M+H] $^+$ = 317.

Các bromua sau đây được tạo ra theo kiểu tương tự từ 5-bromo-6-flopyridin-2-ol và rượu thích hợp.

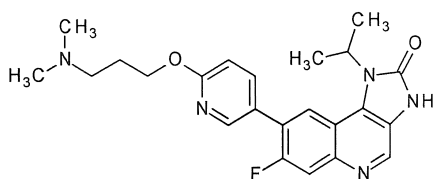
Chất trung gian	Cấu trúc	Tên
I2*		6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-bromo-2-flo-pyridin
J2**		3-bromo-2-flo-6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)pyridin

Chất trung gian I2: *Phổ NMR:* ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,63 - 1,92 (2H, m), 2,08 (2H, p), 2,53 (2H, t), 3,20 (4H, t), 4,27 (2H, t), 6,53 (1H, dd), 7,61 - 7,81 (1H, m); *Phổ khối:* m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 291

Chất trung gian J2: *Phổ khối:* m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 303.

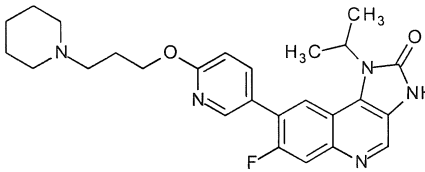
Ví dụ 17

8-[6-[3-(Đimetylamin)propoxy]-3-pyridyl]-7-flu-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Clo(2-điisopropylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (149 mg, 0,19 mmol) được bổ sung vào *N,N*-đimetyl-3-[5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-2-yl]oxypropan-1-amin (680 mg, 2,22 mmol), 8-bromo-7-flu-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (600mg, 1,85 mmol) và Cs_2CO_3 (1508 mg, 4,63 mmol) trong 1,4-đioxan (5 ml) và nước (0,5 ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 5 giờ. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 10 đến 20% MeOH trong DCM, kết hợp các phân đoạn tinh khiết và làm bay hơi đến khô. Sản phẩm được tinh chế thêm bằng sắc ký nhanh-C18nhanh, gradien rửa giải từ 5 đến 40% MeCN trong nước, để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu vàng (260 mg, 33,2 %). *Phổ NMR:* ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 0,72 (6H,d), 2,00-2,15 (2H,m), 2,37 (6H,s), 2,61-2,66 (2H,m), 4,42 (2H,t), 5,27-5,31 (1H,m), 6,94 (1H,d), 7,79 (1H,d), 8,02 (1H,d), 8,32 (1H,d), 8,43 (1H,s), 8,65 (1H,s). *Phổ khối:* m/z (ES^+)[$\text{M}+\text{H}$] $^+$ = 424.

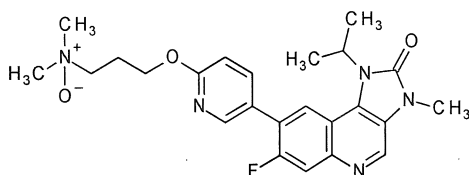
Hợp chất sau đây được điều chế theo kiểu tương tự từ 8-bromo-7-flu-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on và 2-[3-(1-piperidyl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin.

Ví dụ	Cấu trúc	Tên
18		7-Flo-1-isopropyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on

Việc điều chế 8-bromo-7-flo-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, *N,N*-đimetyl-3-[5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-2-yl]oxypropan-1-amin và 2-[3-(1-piperidyl)propoxy]-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin đã được mô tả từ trước.

Chất chuyển hóa A

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-oxidopiperidin-1-ium-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Độ pH của dung dịch kali phosphat, đibazơ (1,74 g, 9,99 mmol) trong nước (100 ml) được điều chỉnh về độ pH9 bằng cách bổ sung axit clohydric 2M. Sau đó, một phần của dung dịch đã được điều chế này (23 ml) được bổ sung vào bình chứa 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on (0,27 g, 0,565 mmol). Propan-2-ol (3,9 ml) được bổ sung vào bình chứa phản ứng sau đó bổ sung BVMPO-P1-D08 (0,27g, 0,000540 mmol), KRED-P1-H10 (54 mg, 0,0011 mmol) và muối của beta-nicotinamit adenin dinucleotit phosphat đinatri (27 mg, 0,034291 mmol). Phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 32°C qua đêm với khuấy mạnh (300 vòng/phút) và khí nén được thổi liên tục vào khoảng không phía trên của bình. Propan-2-ol (3,9 ml) và nước (~10 ml) được bổ sung thêm. Khuấy

hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 30°C bằng máy khuấy (300 vòng/phút) trong thời gian 3 ngày nữa sau đó pha loãng bằng axetonitril (40,5 ml), làm bay hơi lọc và dịch lọc dưới áp suất giảm cho đến khi thể tích còn lại là ~25 ml. Natri clorua (~2 g) được bổ sung và hỗn hợp được chiết với butan-1-ol (2 x 24,3 ml). Dịch chiết được kết hợp, được làm khô trên Na₂SO₄, và cô đặc để tạo ra chất rắn màu nâu. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng sắc ký silic, rửa giải bằng hỗn hợp của DCM/MeOH /cNH₃ (125:10:1), để tạo ra nguyên liệu mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ (0,040 g, 14%). *Phổ NMR*: ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 1,2 - 1,31 (1H, m), 1,44 (2H, d), 1,56 (1H, d), 1,63 (6H, d), 2,04 - 2,17 (2H, m), 2,25 - 2,33 (2H, m), 2,91 (2H, d), 3,10 (2H, td), 3,19 - 3,26 (2H, m), 3,49 (3H, s), 4,44 (2H, t), 5,27 (1H, p), 6,98 (1H, dd), 7,91 (1H, d), 8,05 (1H, dt), 8,31 (1H, d), 8,50 (1H, s), 8,90 (1H, s). *Phổ khối*: *m/z* (ES⁺)[M+H]⁺ = 494.

THỬ NGHIỆM SINH HỌC

Các thử nghiệm sau đây được sử dụng để đo hiệu quả của các hợp chất theo sáng chế: a) thử nghiệm hiệu lực tế bào của ATM; b) thử nghiệm hiệu lực tế bào của PI3K; c) thử nghiệm hiệu lực tế bào của mTOR; d) thử nghiệm hiệu lực tế bào của ATR. Trong quá trình mô tả các thử nghiệm này, thông thường:

i. Các chữ viết tắt sau đây được sử dụng: 4NQO = 4-Nitoquinolin *N*-oxit; Ab = Kháng Thể; BSA = Albumin Huyết Thanh Bò; CO₂ = Cacbon Dioxid; DMEM = Môi Trường Eagle Được Cải Biến của Dulbecco; DMSO =Dimetyl Sulphoxit; EDTA = Axit Etylendiamintetraaxetic; EGTA = Axit Etylen Glycol Tetraaxetic; ELISA = Thử Nghiệm Hấp Thụ Miễn Dịch Liên Kết Enzym; EMEM = Môi Trường Thiết Yếu Tối Thiểu Của Eagle; FBS = Huyết Thanh Thai Bò; h = Giờ; HRP = Peroxidaza Củ Cải Ngựa; i.p. = trong màng bụng; PBS = Nước Muối Đậm Phosphat; PBST = Nước Muối Đậm Phosphat / Tween; TRIS = Tris(Hydroxymetyl)aminometan; chất phản ứng MTS: [3-(4,5-đimetylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymetoxypheyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, muối nội, và chất phản ứng ghép cặp điện tử (phenazin methosulfat) PMS; s.c. = dưới da.

ii. Giá trị IC_{50} được tính bằng mô hình phù hợp thông minh trong Genedata. Giá trị IC_{50} là nồng độ của hợp chất thử nghiệm mà ức chế 50% hoạt tính sinh học.

Thử nghiệm a): Hiệu Lực Tế Bào Của ATM

Lý do cơ bản:

Chiếu xạ tế bào gây ra sự phá vỡ sợi đôi ADN và sự tự động phosphoryl hóa nội phân tử nhanh của serin 1981 gây ra sự phân ly dimer và khởi đầu hoạt tính ATM kinaza của tế bào. Hầu hết các phân tử ATM trong tế bào được phosphoryl hóa một cách nhanh chóng trên vị trí này sau khi liều lượng xạ trị thấp bằng 0,5 Gy, và liên kết của kháng thể đặc hiệu phospho có thể phát hiện được sau khi đưa chỉ một số ít sự phá vỡ sợi đôi ADN vào trong tế bào.

Lý do cơ bản của thử nghiệm pATM là để nhận dạng chất ức chế của ATM trong tế bào. Tế bào HT29 được ủ với hợp chất thử nghiệm trong vòng 1 giờ trước khi chiếu xạ tia X. 1 giờ sau tế bào được cố định và nhuộm màu đối với pATM (Ser1981). Sự phát huỳnh quang được đọc trên nền tảng chụp ảnh quét mảng.

Chi tiết phương pháp:

Tế bào HT29 (ECACC #85061109) được cấy vào đĩa thử nghiệm 384 giếng (Costar #3712) ở mật độ 3500 tế bào / giếng trong 40 μ l môi trường EMEM chứa 1% L glutamin và 10% FBS và được để cho dính lại qua đêm. Hợp chất có Công thức (I) trong 100% DMSO sau đây được bổ sung vào đĩa thử nghiệm bằng cách làm phân tán âm thanh. Sau 1 giờ ủ ở nhiệt độ 37°C và CO₂ 5%, đĩa (lên đến 6 ở thời điểm nào đó) được chiếu xạ bằng thiết bị X-RAD 320 (PXi) bằng tương đương với ~600cGy. Đưa đĩa trở lại vào thiết bị ủ trong thời gian 1 giờ nữa. Sau đó cố định tế bào bằng cách bổ sung 20 μ l của formaldehyt 3,7% trong dung dịch PBS và ủ trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ trong phòng trước khi rửa bằng 50 μ l PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405. Sau đó bổ sung 20 μ l của 0,1% Triton X100 trong PBS và ủ trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ trong phòng, để thẩm hóa tế bào. Sau đó rửa đĩa một lần bằng 50 μ l PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405.

Kháng thể Phospho-ATM Ser1981 (Millipore #MAB3806) được pha loãng 10000 lần trong PBS chứa 0,05% polysorbat/Tween và 3% BSA và 20 μ l được bổ sung vào mỗi giếng và ủ qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Đĩa kế tiếp được rửa 3 lần bằng 50 μ l PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405, và sau đó 20 μ l dung dịch Ab thứ cấp, chứa IgG kháng thể ở Alexa Fluor® 488 được pha loãng 500 lần (Life Technologies, A11001) và 0,002mg/ml thuốc nhuộm Hoeschst (Life technologies #H-3570), trong PBS chứa 0,05% polysorbat/Tween và 3% BSA, được bổ sung. Sau 1 giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng, rửa đĩa 3 lần bằng 50 μ l PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405, và đĩa được đậy kín và giữ trong PBS ở nhiệt độ 4°C đến khi đọc. Đọc đĩa bằng thiết bị VTI ArrayScan, có sử dụng kính lọc XF53 với vật kính 10X. Thiết lập 2 laser được sử dụng để phân tích nhuộm màu nhân với Hoeschst (405 nm) và nhuộm màu kháng thể thứ cấp của pSer1981 (488 nm).

Thử nghiệm b): Hiệu Lực Tế Bào Của ATR

Lý do cơ bản:

ATR là kinaza liên quan đến PI 3-kinaza mà phosphoryl hóa nhiều chất nền trên các gốc threonin hoặc các gốc serin để đáp ứng với sự sai hỏng ADN trong suốt hoặc phong bế quá trình sao chép. Chk1, protein kinaza xuôi dòng của ATR, đóng vai trò then chốt trong điều khiển điểm kiểm tra sự sai hỏng ADN. Việc hoạt hóa Chk1 bao gồm sự phosphoryl hóa của Ser317 và Ser345 (chất sau được coi là đích ưu tiên cho sự phosphoryl hóa/sự hoạt hóa bởi ATR). Đây là thử nghiệm dựa trên tế bào để đo sự ức chế của ATR kinaza, bằng cách đo độ giảm của sự phosphoryl hóa của Chk1 (Ser 345) trong tế bào HT29, sau khi xử lý bằng hợp chất có Công thức (I) và chất giả UV 4NQO (Sigma #N8141).

Chi tiết phương pháp:

Tế bào HT29 (ECACC #85061109) được nạp vào đĩa thử nghiệm 384 giếng (Costar #3712) ở mật độ bằng 6000 tế bào / giếng trong 40 μ l môi trường EMEM chứa 1% L glutamin và 10% FBS và được để cho dính lại qua đêm. Hợp chất có Công thức (I) trong 100% DMSO sau đây được bổ sung vào đĩa thử nghiệm bằng cách làm phân tán âm thanh. Sau 1 giờ ủ ở

nhệt độ 37°C và CO₂ 5%, 40 nl của 4NQO 3mM trong 100% DMSO được bổ sung vào tất cả các giếng bằng cách làm phân tán âm thanh, ngoại trừ các giếng đối chứng tối thiểu được giữ lại mà không được xử lý bằng 4NQO để tạo ra đối chứng không đáp ứng. Đĩa trở lại vào thiết bị ủ trong thời gian 1 giờ nữa. Sau đó tế bào được cố định bằng cách bổ sung 20 µl của formaldehyt 3,7% trong dung dịch PBS và ủ trong vòng 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó bổ sung 10 µl của 0,1% Triton X100 trong PBS và ủ trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ trong phòng, để thấm hóa tế bào. Sau đó rửa đĩa một lần bằng 50 µl PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405.

Kháng thể Phospho-Chk1 Ser 345 (Cell Signalling Technology #2348) được pha loãng 150 lần trong PBS chứa 0,05% polysorbat/Tween và 15 µl được bổ sung vào mỗi giếng và ủ qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Đĩa kế tiếp được rửa 3 lần bằng 50 µl PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405, và sau đó 20 µl của dung dịch Ab thứ cấp, chứa IgG kháng thỏ ở Dê Alexa Fluor 488 được pha loãng 500 lần (Molecular Probes #A-11008) và 0,002 mg/ml thuốc nhuộm Hoeschst (Molecular Probes #H-3570), trong PBST, được bổ sung. Sau 2 giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng, rửa đĩa 3 lần bằng 50 µl PBS / giếng, bằng máy rửa đĩa Biotek EL405, và sau đó đĩa được đậy kín bằng nắp đậy đĩa màu đen đến khi đọc. Đọc đĩa bằng thiết bị VTI ArrayScan, có sử dụng kính lọc XF53 với vật kính 10X. Thiết lập 2 laze được sử dụng để phân tích nhuộm màu nhân với Hoeschst (405 nm) và nhuộm màu kháng thể thứ cấp của pChk1 (488 nm).

Thử nghiệm c): Hiệu Lực Tế Bào Của PI3K

Lý do cơ bản:

Thử nghiệm này được sử dụng để đo sự ức chế PI3K-α trong tế bào. PDK1 được xác định là kinaza vòng hoạt hóa ngược dòng của protein kinaza B (Akt1), nó là thiết yếu để hoạt hóa PKB. Sự hoạt hóa của lipit kinaza phosphoinositit 3 kinaza (PI3K) là hữu hiệu để hoạt hóa PKB bởi PDK1.

Sau khi kích thích phối tử của kinaza tyrosin thụ thể, PI3K được hoạt hóa, nó biến đổi PIP2 thành PIP3, đã được liên kết bởi vùng PH của PDK1 dẫn đến sự tuyển mộ PDK1 đến màng sinh chất nơi mà nó phosphoryl hóa AKT ở Thr308 trong vòng hoạt hóa.

Mục đích của thử nghiệm sự hoạt động theo phương thức dựa trên tế bào này là để nhận dạng hợp chất ức chế hoạt tính PDK hoặc sự tuyển mộ PDK1 đến màng bằng cách ức chế hoạt tính PI3K. Việc phosphoryl hóa phospho-Akt (T308) trong tế bào BT474c sau khi xử lý bằng hợp chất trong thời gian 2 giờ là phép đo trực tiếp hoạt tính PDK1 và phép đo gián tiếp hoạt tính PI3K.

Chi tiết phương pháp:

Tế bào BT474 (ung thư biểu mô ống vú ở người, ATCC HTB-20) được nạp vào đĩa màu đen 384 giếng (Costar, #3712) ở mật độ bằng 5600 tế bào / giếng trong DMEM chứa 10% FBS và 1% glutamin và được để cho dính lại qua đêm.

Hợp chất trong 100% DMSO sau đây được bổ sung vào đĩa thử nghiệm bằng cách làm phân tán âm thanh. Sau khi ủ 2 giờ ở nhiệt độ 37°C và CO₂ 5%, môi trường được hút ra và dung dịch tế bào với đệm chứa Tris 25 mM, EDTA 3 mM, EGTA 3 mM, natri florua 50 mM, natri orthovanadat 2 mM, sucroza 0,27M, β -glyxerophosphat 10 mM, natri pyrophosphat 5 mM, 0,5% Triton X-100 và viên nén của dung dịch hỗn hợp ức chế proteaza hoàn chỉnh (Roche #04 693 116 001, sử dụng 1 viên nén trên mỗi 50 ml đệm dung dịch giải).

Sau 20 phút, chuyển các chất dung dịch tế bào vào đĩa ELISA (Greiner # 781077) trong đó đã được phủ sơ bộ kháng thể kháng toàn bộ-AKT trong đệm PBS và liên kết không đặc hiệu được phong bế bằng 1% BSA trong PBS chứa 0,05% Tween 20. Ủ đĩa qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Ngày hôm sau rửa đĩa bằng đệm PBS chứa 0,05% Tween 20 và ủ thêm với AKT kháng-phospho đơn dòng ở chuột T308 trong thời gian 2 giờ. Rửa lại đĩa theo như ở trên trước khi bổ sung kháng thể thứ cấp liên hợp HRP-kháng chuột ở ngựa. Sau khi ủ 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, đĩa được rửa và dung dịch hoạt động chất nền QuantaBlu (Thermo Scientific #15169, được điều chế theo hướng dẫn của nhà cung cấp) được bổ sung vào mỗi giếng. Sản phẩm

huỳnh quang đã phát triển được làm dừng sau 60 phút bằng cách bổ sung dung dịch Làm Dừng vào giếng. Đã được đọc bằng thiết bị đọc đĩa Tecan Safire sử dụng lần lượt bước sóng kích thích 325 nm và bước sóng phát ra 420 nm. Trừ khi có chỉ dẫn khác, chất phản ứng mà chứa trong bộ kit ELISA kẹp Path Scan Phospho AKT (Thr308) từ Cell Signalling (#7144) được sử dụng trong thử nghiệm ELISA này.

Thử nghiệm d): Hiệu Lực Tế Bào Của mTOR

Lý do cơ bản:

Thử nghiệm này được sử dụng để đo sự ức chế mTOR trong tế bào. Mục đích của thử nghiệm tác động theo cơ chế dựa trên tế bào phospho-AKT bằng Acumen Explorer là để nhận dạng chất ức chế của PI3K α hoặc mTOR-Rictor (chất tương tự không nhạy Rapamycin của mTOR). Điều này được đo bằng sự giảm xuống bất kỳ trong sự phosphoryl hóa của protein Akt ở Ser473 (AKT nằm xuôi dòng của PI3K α trong con đường truyền tín hiệu) trong tế bào MDA-MB-468 sau khi xử lý bằng hợp chất.

Chi tiết phương pháp:

Tế bào MDA-MB-468 (ung thư biểu mô tuyến vú ở người #ATCC HTB 132) được nạp ở mức 1500 tế bào / giếng trong 40 μ l DMEM chứa 10% FBS và 1% glutamin vào đĩa đáy phẳng màu đen 384 giếng Greiner. Đã tế bào được ủ trong thời gian 18 giờ trong thiết bị ủ 37°C trước khi dùng liều lượng hợp chất có Công thức (I) trong 100% DMSO bằng cách làm phân tán âm thanh. Hợp chất được dùng liều lượng khoảng nồng độ có 12 điểm vào bản đồ đĩa ngẫu nhiên. Giếng đối chứng được tạo ra bằng cách dùng liều lượng của 100% DMSO (tín hiệu lớn nhất) hoặc bổ sung hợp chất tham khảo (chất ức chế PI3K- β) mà triệt tiêu hoàn toàn tín hiệu AKT (đối chứng nhỏ nhất). Sau đó hợp chất được thử nghiệm bằng một trong hai quy trình thử nghiệm A hoặc thử nghiệm B:

Quy trình A:

Đĩa được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 2 giờ; sau đó tế bào được cố định bằng cách bổ sung 10 µl dung dịch formaldehyt 3,7%. Sau 30 phút, rửa đĩa bằng PBS bằng máy rửa đĩa Tecan PW384. Giếng được phong bế và tế bào được thấm hóa bằng cách bổ sung 40µl của PBS chứa 0,5% Tween20 và 1% Marvel™ (bột sữa khô) và ủ trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ trong phòng Rửa đĩa bằng PBS chứa 0,5% (thể tích/thể tích) Tween20 và 20µl AKT Ser473 kháng phospho ở thỏ (Cell Signalling Technologies, #3787) trong cùng PBS-Tween + 1% Marvel™ được bổ sung và ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C.

Rửa đĩa 3 lần bằng PBS + 0,05% Tween 20 bằng máy Tecan PW384. 20 µl của kháng thể thứ cấp Alexa Fluor 488 kháng-Thỏ (Molecular Probes, #A11008) pha loãng trong PBS + 0,05% Tween20 chứa 1% Marvel™ được bổ sung vào mỗi giếng và ủ trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rửa đĩa 3 lần như trước sau đó bổ sung 20 µl PBS vào mỗi giếng và đậy kín đĩa bằng vật đậy đĩa màu đen.

Đĩa được đọc trên máy đọc đĩa Acumen càng sớm càng tốt, đo huỳnh quang màu xanh lá cây sau khi kích thích bằng laze 488 nm. Bằng cách sử dụng hệ thống này, các giá trị IC₅₀ được tạo ra và chất lượng của đĩa được xác định bởi giếng đối chứng. Hợp chất tham khảo được tiến hành mỗi thời điểm để theo dõi việc thực hiện thử nghiệm.

Quy trình B:

Sau đó đĩa tế bào được ủ trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ 37°C trước khi được cố định bằng cách bổ sung 20 µl formaldehyt 3,7% trong PBS/A (1,2% nồng độ cuối cùng), sau đó là ủ 30 phút ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó rửa 2 lần với 150 µl PBS/A bằng máy rửa đĩa BioTek ELx406. Tế bào được thấm hóa và phong bế bằng 20 µl đệm thử nghiệm (0,1% Triton X-100 trong PBS/A + 1% BSA) trong vòng 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó rửa 1 lần bằng 50 µl PBS/A. Kháng thể đơn dòng ở thỏ phospho-AKT (Ser473) D9E XP® sơ cấp (#4060, Cell Signaling Technology) được pha loãng 1:200 trong đệm thử nghiệm, bổ sung 20 µl trên mỗi giếng, và đĩa được ủ ở nhiệt độ 4°C qua đêm. Đĩa tế bào được rửa 3 lần bằng 200 µl PBS/T, sau đó 20 µl dịch pha loãng 1:750 trong đệm thử nghiệm của kháng thể thứ cấp IgG kháng thỏ ở dê Alexa Fluor® 488 (#A11008, Molecular Probes, Life Technologies), với dịch

pha loãng 1:5000 của Hoechst 33342, được bổ sung trên mỗi giếng. Sau khi ủ 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, rửa đĩa 3 lần bằng 200 μ l PBS/T, và 40 μ l PBS w/o Ca, Mg và Na Bicarb (Gibco #14190-094) được bổ sung trên mỗi giếng.

Đĩa tế bào đã nhuộm màu được phủ bằng vật dày kín màu đen, và sau đó đọc trên nền tảng chụp ảnh Cell Insight (Thermo Scientific), với vật kính 10X. Kênh sơ cấp (huỳnh quang màu xanh da trời Hoechst 405 nM, BGRFR_386_23) được sử dụng cho Autofocus và để đếm số lượng sự kiện (điều này cung cấp thông tin về độc tính tế bào của các hợp chất được thử nghiệm). Kênh thứ cấp (Green 488 nM, BGRFR_485_20) được đo nhuộm màu pAKT. Dữ liệu được phân tích và IC₅₀ được tính bằng cách sử dụng phần mềm Genedata Screener®.

Bảng 2 thể hiện kết quả của các Ví dụ thử nghiệm trong các thử nghiệm a) b) c) và d). Kết quả có thể là giá trị trung bình hình học của một vài thử nghiệm.

Bảng 2: Dữ Liệu Hiệu Lực Của Các Ví Dụ 1 - 18 Trong Các Thử Nghiệm a) - d)

Ví dụ	Thử nghiệm a) IC ₅₀ Tế bào ATM (μ M)	Thử nghiệm b) IC ₅₀ Tế bào ATR (μ M)	Thử nghiệm c) IC ₅₀ Tế bào PI3K α (μ M)	Thử nghiệm d) IC ₅₀ Tế bào mTOR (μ M)
1	0,000879	>30	13,4	>30*
2	0,000787	>30	>12	>30*
3	0,000824	>30	11,4	>20§
4	0,00159	>30	4,52	>30§
5	0,000253	17,9	1,24	6,76*
6	0,000398	>20,7	0,184	>3,12§

Ví dụ	Thử nghiệm a) IC ₅₀ Tế bào ATM (μ M)	Thử nghiệm b) IC ₅₀ Tế bào ATR (μ M)	Thử nghiệm c) IC ₅₀ Tế bào PI3K α (μ M)	Thử nghiệm d) IC ₅₀ Tế bào mTOR (μ M)
7	0,000256	>30	0,222	3,19*
8	0,000698		0,661	0,405*
9	<0,000453	>30	5,75	>5,19§
10	0,000686	>30	6,18	3,49*
11	0,00228	>30		23,6§
12	0,000799	>30	2,89	>10*
13	0,00132	>30	22,9	>30*
14	0,00351	>30	>30	>30*
15	0,00214	>30		>0,300*
16	0,00229	>30	9,08	>29,9§
17	0,00461	>30		>10*
18	0,00314	>30	>30	>30§

§ Kết quả thu được bằng Thử nghiệm d) Quy trình A

* Kết quả thu được bằng Thử nghiệm d) Quy trình B

Bảng 3 thể hiện dữ liệu so sánh đối với các Hợp chất nhất định của CN102399218A và CN102372711A trong các thử nghiệm a) b) c) và d). Kết quả có thể là giá trị trung bình hình học của một vài thử nghiệm.

Bảng 3: Dữ Liệu Hiệu Lực Đối Với Các Hợp Chất Nhất Định Của CN102399218A Và CN102372711A Trong Các Thử Nghiệm a) - d)

Hợp Chất Tham Khảo	Thử nghiệm a) IC ₅₀ Tế bào ATM (μ M)	Thử nghiệm b) IC ₅₀ Tế bào ATR (μ M)	Thử nghiệm c) IC ₅₀ Tế bào PI3Ka (μ M)	Thử nghiệm d) IC ₅₀ Tế bào mTOR (μ M)
CN102372711A Hợp chất 1	0,125	0,281	0,188	0,237
CN102372711A Hợp chất 4	0,0112	0,0686	0,102	0,0729
CN102372711A Hợp chất 5	0,0265	0,0644	0,153	0,113
CN102399218A Hợp chất 60	1,76	0,419	4,67	2,31
CN102399218A Hợp chất 61	3,46	1,48	1,73	0,177

Hợp Chất Tham Khảo	Thử nghiệm a) IC ₅₀ Tế bào ATM (μ M)	Thử nghiệm b) IC ₅₀ Tế bào ATR (μ M)	Thử nghiệm c) IC ₅₀ Tế bào PI3Ka (μ M)	Thử nghiệm d) IC ₅₀ Tế bào mTOR (μ M)
CN102399218A Hợp chất 62	0,135	0,0553	0,149	0,0155
CN102399218A Hợp chất 64	0,216	0,162	0,247	0,287
CN102399218A Hợp chất 94	0,494	0,0129	0,0804	0,0414
CN102399218A Hợp chất 114	0,0741	0,0686	0,0131	0,0469

Bảng 4 thể hiện kết quả của Chất chuyển hóa A thử nghiệm trong các thử nghiệm a) b) c) và d). Kết quả có thể là giá trị trung bình hình học của một vài thử nghiệm.

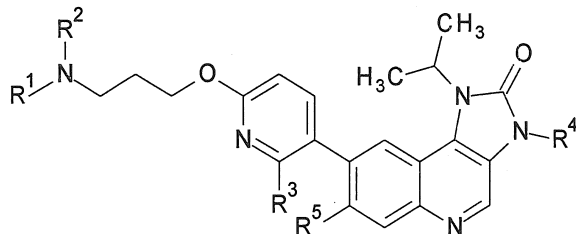
Bảng 4: Dữ Liệu Hiệu Lực Đối Với Chất Chuyển Hóa A Trong Các Thử Nghiệm a) - d)

Hợp chất	Thử nghiệm a) IC ₅₀ Tế bào ATM (μ M)	Thử nghiệm b) IC ₅₀ Tế bào ATR (μ M)	Thử nghiệm c) IC ₅₀ Tế bào PI3K α (μ M)	Thử nghiệm d) IC ₅₀ Tế bào mTOR (μ M)
Chất chuyển hóa A	0,035	9,41	27,8	>30*

* Kết quả thu được bằng Thử nghiệm d) Quy trình B

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất có Công thức (I):



(I)

hoặc muối được dụng của chúng, trong đó:

R¹ là metyl;

R² là hydro hoặc metyl; hoặc **R¹** và **R²** cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl;

R³ là hydro hoặc flo;

R⁴ là hydro hoặc metyl; và

R⁵ là hydro hoặc flo.

2. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, theo điểm 1, trong đó **R¹** và **R²** đều là metyl; hoặc **R¹** và **R²** cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl.

3. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó **R¹** và **R²** cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl.

4. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^3 là hydro.

5. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^4 là metyl.

6. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^5 là flo.

7. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, theo điểm 1, trong đó:

R^1 là metyl;

R^2 là metyl; hoặc R^1 và R^2 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng liên kết với tạo thành vòng azetidinyl, vòng pyrrolidinyl hoặc vòng piperidinyl;

R^3 là hydro hoặc flo;

R^4 là metyl; và

R^5 là hydro hoặc flo.

8. Hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, theo điểm 1, trong đó hợp chất được chọn từ nhóm gồm có:

8-[6-[3-(Dimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-(3-pyrrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

1-Isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(dimethylamino)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

1-isopropyl-3-metyl-8-[6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(Azetidin-1-yl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[2-Flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(dimethylamino)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(dimethylamino)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[2-flo-6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-flo-8-[2-flo-6-(3-pyrolidin-1-ylpropoxy)-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

7-flo-8-[2-flo-6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(azetidin-1-yl)propoxy]-2-flo-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3-metyl-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on;

8-[6-[3-(Dimetylamino)propoxy]-3-pyridyl]-7-flo-1-isopropyl-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on; và

7-Flo-1-isopropyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]-3H-imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

9. Hợp chất có công thức **(I)** theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on, hoặc muối được dùng của nó.

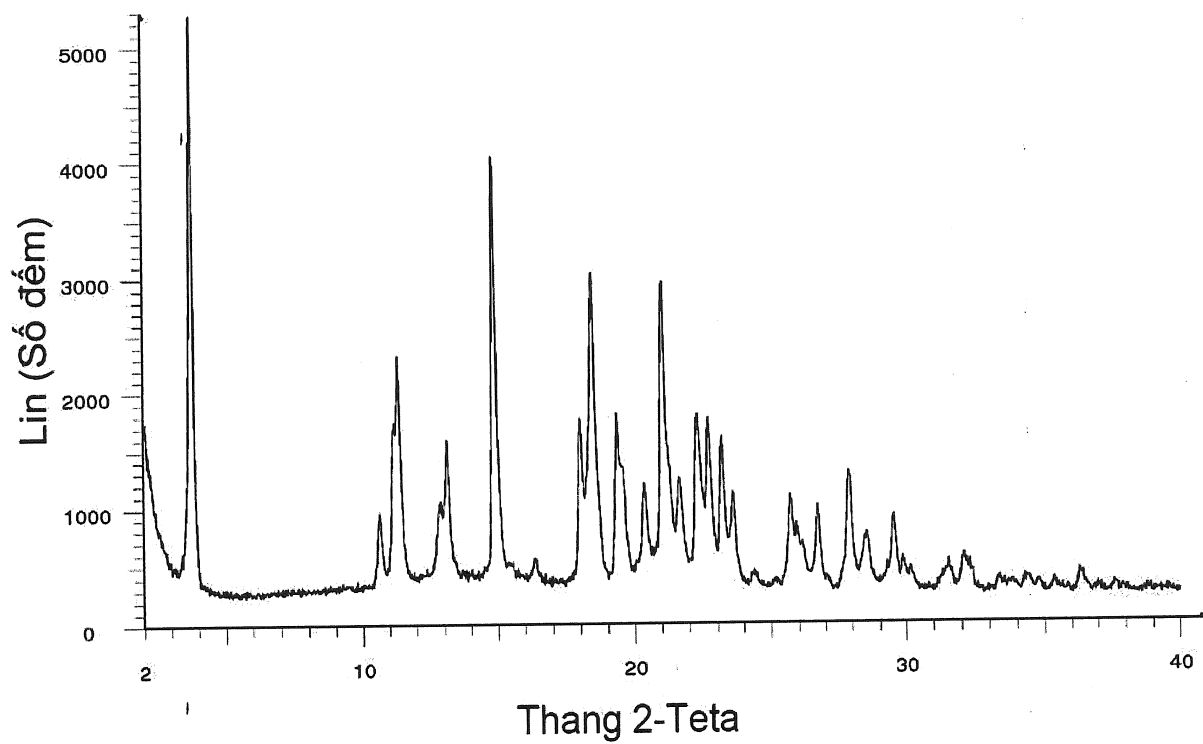
10. Hợp chất có công thức **(I)** theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

11. Hợp chất có công thức **(I)** theo điểm 1, trong đó hợp chất này là muối được dùng của 7-flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on.

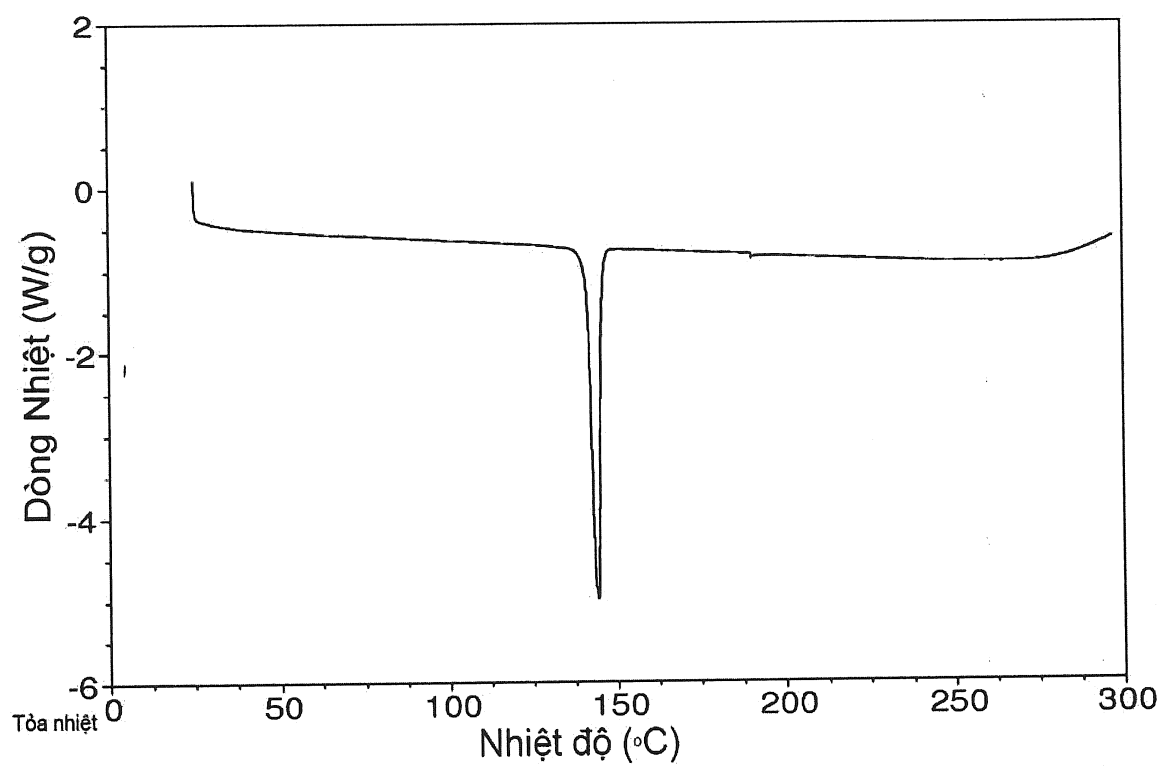
12. Hợp chất theo điểm 10, ở dạng tinh thể, trong đó hợp chất này có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,7$ và $14,8^\circ$.

13. Hợp chất theo điểm 10, ở dạng tinh thể, trong đó hợp chất này có mẫu nhiễu xạ bột tia X có ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-teta} = 3,4$ và $11,7^\circ$.

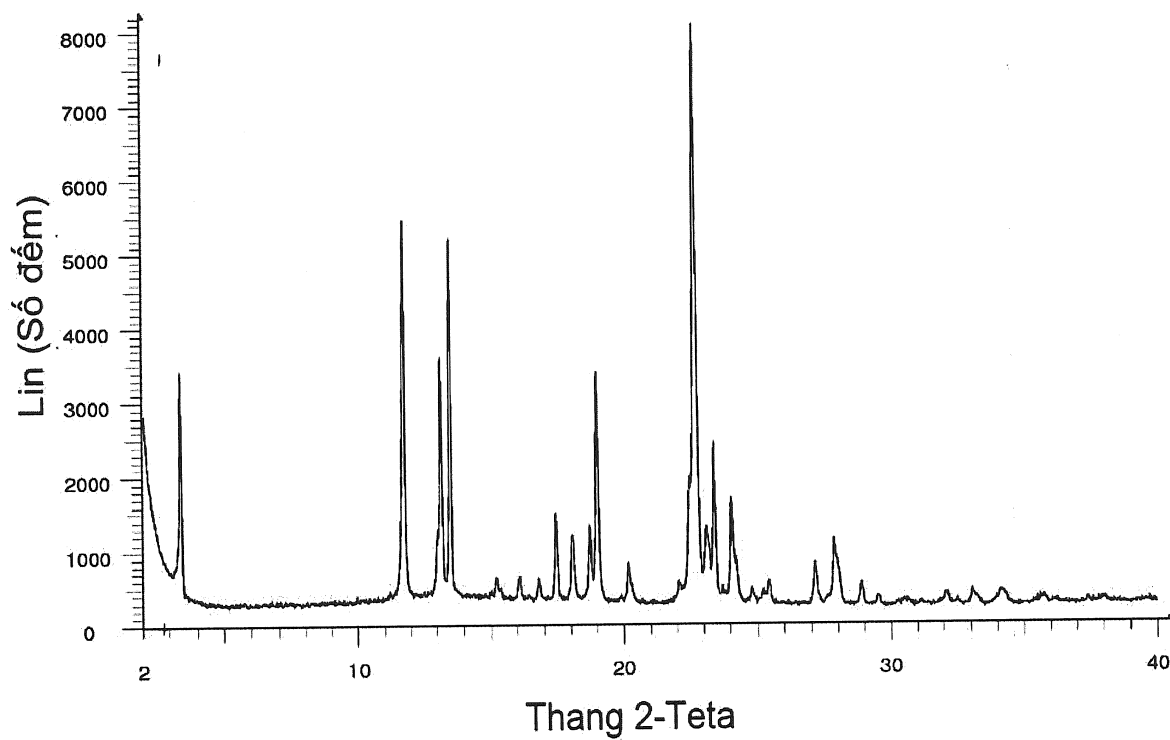
14. Dược phẩm mà có chứa hợp chất có Công thức **(I)**, hoặc muối được dùng của chúng, theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, và ít nhất một tá dược được dùng.



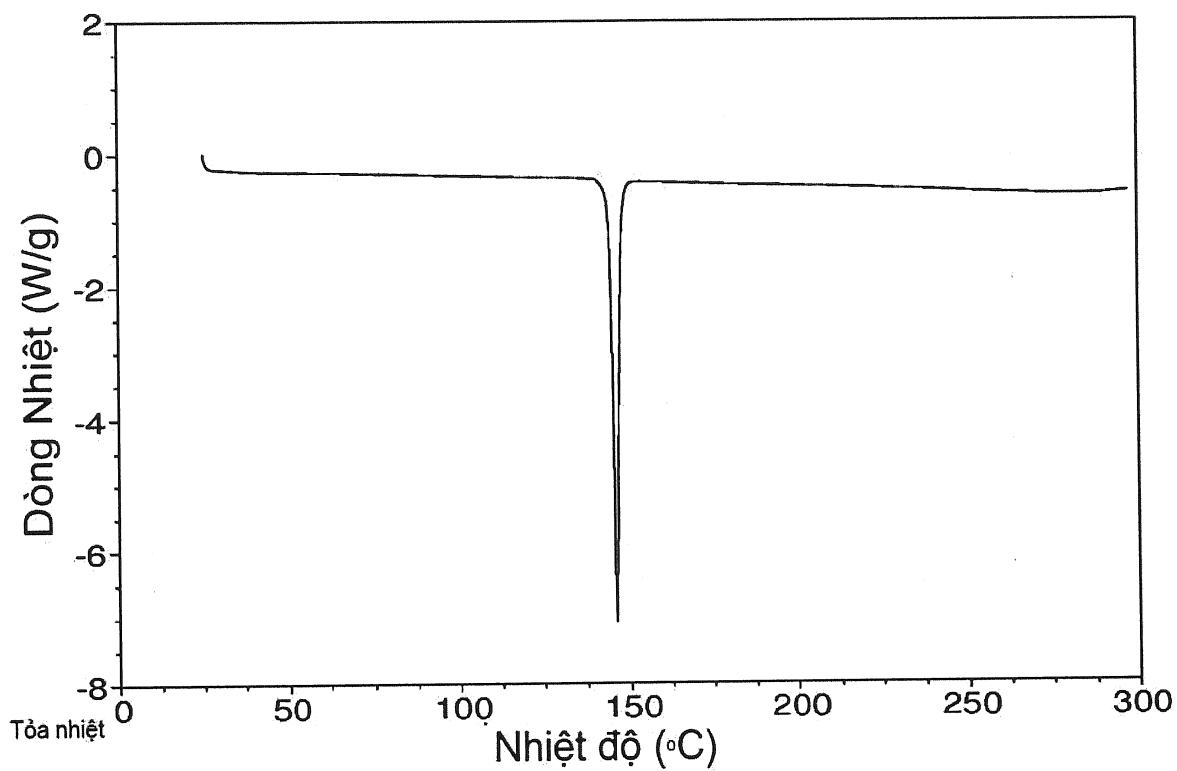
Hình 1: Mẫu Nhiễu Xạ Bột Tia X của Dạng A của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Hình 2: Biểu Đồ Nhiệt DSC của Dạng A của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Hình 3: Mẫu Nhiễu Xạ Bột Tia X của Dạng B của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on



Hình 4: Biểu Đồ Nhiệt DSC của Dạng B của 7-Flo-1-isopropyl-3-metyl-8-[6-[3-(1-piperidyl)propoxy]-3-pyridyl]imidazo[4,5-c]quinolin-2-on