



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0039123

(51)^{2020.01} C07D 487/04; A61K 31/519; A61P
35/00

(13) B

(21) 1-2020-05624

(22) 26/02/2016

(62) 1-2017-03601

(86) PCT/US2016/019741 26/02/2016

(87) WO 2016/138363 01/09/2016

(30) 62/121,697 27/02/2015 US

(45) 25/03/2024 432

(43) 25/02/2021 395

(73) INCYTE HOLDINGS CORPORATION (US)

1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, Delaware 19803, United States of America

(72) QIAO, Lei (US); WENG, Lingkai (US); SHI, ChongSheng Eric (US); MELONI, David (US); LIN, Qiyan (CN); XIA, Michael (US); SHARIEF, Vaqar (US); FRIETZE, William (US); JIA, Zhongjiang (US); PAN, Yongchun (US); LIU, Pingli (GB); YUE, Tai-Yuen (US); ZHOU, Jiacheng (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ CHẤT ỨC CHẾ PI3K

(57) Sáng chế đề xuất quy trình điều chế (R)-4-(3 -((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrolidin-2-on, là hữu ích làm chất ức chế phosphoinositide 3-kinaza-delta (PI3Kδ), cũng như dạng muối và các hợp chất trung gian liên quan.

Đơn này hưởng quyền ưu tiên của đơn Mỹ số 62/121,697, nộp ngày 27 tháng 2 năm 2015, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất quy trình điều chế (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on, là hữu ích làm chất ức chế phosphoinositide 3-kinaza-delta (PI3K δ), cũng như dạng muối và các hợp chất trung gian liên quan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Phosphoinositide 3-kinaza (PI3K) thuộc họ lớn các kinaza truyền tín hiệu lipid mà phosphoryl hóa các phosphoinositide ở vị trí D3 của vòng inositol (Cantley, Science, 2002, 296(5573):1655-7). PI3K được chia thành ba nhóm (nhóm I, II, và III) theo cấu trúc, sự điều hòa và tính đặc hiệu cơ chất của chúng. PI3K nhóm I, mà bao gồm PI3K α , PI3K β , PI3K γ , và PI3K δ , là họ của lipid đặc hiệu kép và protein kinaza mà xúc tác quá trình phosphoryl hóa của phosphatidylinosito-4,5-bisphosphat (PIP₂) làm tăng phosphatidylinosito-3,4,5-trisphosphat (PIP₃). PIP₃ có chức năng làm chất truyền tin thứ hai để kiểm soát số quy trình tế bào, bao gồm sự tăng trưởng, sự sống sót, sự bám dính và sự di trú. Tất cả bốn đồng dạng PI3K nhóm I tồn tại ở dạng heterodime gồm cấu trúc dưới phân tử xúc tác (p110) và cấu trúc dưới phân tử điều hòa được kết hợp chặt chẽ để kiểm soát sự biểu hiện, hoạt hóa và khoanh vùng dưới mức tế bào của chúng. PI3K α , PI3K β , và PI3K δ kết hợp với cấu trúc dưới phân tử điều hòa được gọi là p85 và được hoạt hóa bởi các yếu tố tăng trưởng và xytokin nhờ cơ chế phụ thuộc tyrosin kinaza (Jimenez, et al., J Biol Chem., 2002, 277(44):41556-62) trong khi PI3K γ kết hợp với hai cấu trúc dưới phân tử điều hòa (p101 và p84) và sự hoạt hóa của nó được thực hiện nhờ sự hoạt hóa của các thụ thể bắt cặp với G-protein (Brock, et al., J Cell Biol., 2003, 160(1):89-99). PI3K α và PI3K β được biểu hiện khắp nơi. Trái

lại, PI3K γ và PI3K δ được biểu hiện chủ yếu ở bạch cầu (Vanhaesebroeck, et al., Trends Biochem Sci., 2005, 30(4):194-204).

Sự phân bố mô phân hóa của PI3K tạo đồng dạng các yếu tố ở các chức năng sinh học riêng biệt của chúng. Sự tách di truyền của PI3K α hoặc PI3K β dẫn đến khả năng gây chết phôi, chỉ ra rằng PI3K α và PI3K β có các chức năng cơ bản và không thừa, ít nhất là trong quá trình phát triển (Vanhaesebroeck, et al., 2005). Trái lại, chuột mà thiếu PI3K γ và PI3K δ có thể tồn tại, có khả năng sinh sản và có vòng quay cuộc sống bình thường mặc dù chúng thể hiện hệ miễn dịch biến đổi. Sự thiếu PI3K γ dẫn đến suy giảm sự bổ sung các đại thực bào và bạch cầu trung tính vào các vị trí viêm cũng như suy giảm sự hoạt hóa tế bào T (Sasaki, et al., Science, 2000, 287(5455):1040-6). Chuột đột biến PI3K δ có thiếu hụt đặc hiệu trong quá trình truyền tín hiệu tế bào B mà dẫn đến sự phát triển tế bào B suy giảm và sự đáp ứng kháng thể giảm sau khi kích thích kháng nguyên (Clayton, et al., J Exp Med. 2002, 196(6):753-63; Jou, et al., Mol Cell Biol. 2002, 22(24):8580-91; Okkenhaug, et al., Science, 2002, 297(5583):1031-4).

Kiểu hình của chuột đột biến PI3K γ và PI3K δ đề xuất rằng các enzym này có thể đóng vai trò trong bệnh viêm và các bệnh nền miễn dịch khác và điều này được xác minh trong các mô hình cận lâm sàng. Chuột đột biến PI3K γ được bảo vệ lớn khỏi bệnh ở mô hình chuột bị bệnh viêm khớp dạng thấp (rheumatoid arthritis: RA) và bệnh hen (Camps, et al., Nat Med. 2005, 11(9):936-43; Thomas, et al., Eur. J. Immunol. 2005, 35(4):1283-91). Ngoài ra, việc điều trị cho chuột kiểu đại bằng chất ức chế chọn lọc PI3K γ được chứng minh là làm giảm bệnh viêm thận tiểu cầu và kéo dài sự sống ở mô hình MRL-lpr bị bệnh viêm thận do luput ban đỏ hệ thống (systemic lupus nephritis: SLE) và để ức chế bệnh viêm khớp và tổn thương ở mô hình RA (Barber, et al., Nat Med. 2005, 11(9):933-5; Camps, et al., 2005). Tương tự, cả chuột đột biến PI3K δ và chuột kiểu đại được điều trị bằng chất ức chế chọn lọc PI3K δ đều được chứng minh là có bệnh viêm khí đạo dị ứng và độ nhạy quá mức được làm giảm ở mô hình chuột bị bệnh hen (Ali, et al., Nature. 2004,

431(7011):1007-11; Lee, et al., FASEB J. 2006, 20(3):455-65) và có bệnh được giảm ở mô hình RA (Randis, et al., Eur. J. Immunol., 2008, 38(5):1215-24).

Sự tăng sinh tế bào B đã thể hiện vai trò chính trong việc phát triển các bệnh viêm tự miễn (Puri, *Frontiers in Immunology* (2012), 3(256), 1-16; Walsh, *Kidney International* (2007) 72, 676–682). Ví dụ, tế bào B hỗ trợ khả năng tự phản ứng của tế bào T, một thành phần quan trọng của các bệnh viêm tự miễn. Khi được hoạt hóa và trưởng thành, tế bào B có thể di chuyển đến vị trí viêm và phục hồi các tế bào viêm hoặc phân hóa thành nguyên bào bạch cầu. Do đó, hoạt tính của tế bào B có thể được thực hiện bằng việc nhắm đích các xytokin kích thích tế bào B, các thụ thể bề mặt tế bào B, hoặc thông qua sự suy kiệt tế bào B. Rituximab—một kháng thể đơn dòng khảm ở chuột/người IgG1 κ chống lại thụ thể bề mặt tế bào B CD20—đã được chứng minh là làm suy kiệt tế bào B CD20+. Việc sử dụng rituximab đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc điều trị bệnh ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, thiếu máu mất hồng cầu tự miễn, hoặc bệnh viêm mạch. Ví dụ, việc điều trị bằng rituximab dẫn đến sự miễn giảm bệnh ở bệnh nhân đang trải qua bệnh viêm mạch hệ thống kết hợp với kháng thể bào tương kháng bạch cầu trung tính (anti-neutrophil cytoplasm antibody: ANCA) (AASV) với sự suy kiệt tế bào B ngoại vi được chứng minh (Walsh, 2007; Lovric, *Nephrol Dial Transplant* (2009) 24: 179–185). Tương tự, sự đáp ứng tuyệt đối đã được báo cáo ở một phần ba đến hai phần ba bệnh nhân có bệnh viêm mạch cryoglobulin huyết hỗn hợp sau khi điều trị bằng rituximab, bao gồm các bệnh nhân mắc thể nặng của bệnh viêm mạch mà kháng hoặc không dung nạp với các điều trị khác (Cacoub, *Ann Rheum Dis* 2008;67:283–287). Tương tự, rituximab đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc điều trị các bệnh nhân mắc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát (hoặc xuất huyết giảm tiểu cầu miễn dịch) (Garvey, *British Journal of Haematology*, (2008) 141, 149–169; Godeau, *Blood* (2008), 112(4), 999-1004; Medeo, *European Journal of Haematology*, (2008) 81, 165–169) và thiếu máu mất hồng cầu tự miễn (Garvey, *British Journal of Haematology*, (2008) 141, 149–169).

Truyền tín hiệu PI3K δ đã được ràng buộc với sự sống sót, di trú, và hoạt hóa tế bào B (Puri, *Frontiers in Immunology*, 2012, 3(256), 1-16, at pages 1-5; and

Clayton, *J Exp Med*, 2002, 196(6):753-63). Ví dụ, PI3K δ được yêu cầu cho việc hoạt hóa tế bào B phụ thuộc kháng nguyên được thực hiện bởi thụ thể tế bào B. Bằng cách chặn sự bám dính, sự sống sót, sự hoạt hóa, và tăng sinh tế bào B, việc ức chế PI3K δ có thể làm giảm khả năng của tế bào B để hoạt hóa tế bào T, ngăn sự hoạt hóa và giảm tiết thể tự kháng và xytokin tiền viêm của chúng. Do đó, nhờ khả năng của chúng ức chế sự hoạt hóa tế bào B, chất ức chế PI3K δ sẽ được mong đợi để điều trị các bệnh gián tiếp gây ra bởi tế bào B mà có thể điều trị được bằng các phương pháp tương tự như làm suy kiệt tế bào B bằng rituximab. Thực vậy, chất ức chế PI3K δ đã được chứng minh là hữu ích trong mô hình chuột có các bệnh tự miễn khác nhau mà cũng có thể điều trị được bằng rituximab như bệnh viêm khớp (Puri (2012)). Ngoài ra, tế bào B bẩm sinh, mà được gắn kết với tính tự miễn là nhạy với hoạt tính PI3K δ , vì tế bào MZ và B-1 gần như vắng mặt ở chuột thiếu gen p110 δ (Puri (2012)). Chất ức chế PI3K δ có thể làm giảm sự vận chuyển và hoạt hóa của tế bào MZ và B-1, mà được nhắc đến ở các bệnh tự miễn.

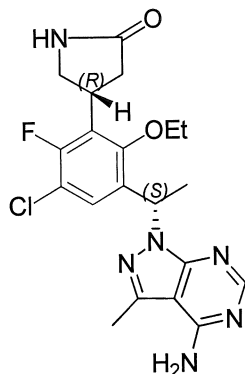
Ngoài vai trò tiềm năng của chúng ở các bệnh viêm, cả bốn đồng dạng PI3K nhóm I đều có thể có vai trò trong bệnh ung thư. Gen mã hóa p110 α bị đột biến thường xuyên ở bệnh ung thư nói chung, bao gồm ung thư vú, tuyến tiền liệt, ruột kết và nội mạc tử cung (Samuels, et al., *Science*, 2004, 304(5670):554; Samuels, et al., *Curr Opin Oncol*. 2006, 18(1):77-82). Tám mươi phần trăm các đột biến này được đại diện bởi một trong ba sự thay thế axit amin ở vùng xoắn ốc hoặc kinaza của enzym và dẫn đến sự điều hòa ngược đáng kể hoạt tính kinaza dẫn đến sự biến đổi gây ung thư ở môi trường nuôi tế bào và ở mô hình động vật (Kang, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005, 102(3):802-7; Bader, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006, 103(5):1475-9). Không có đột biến nào như vậy đã được nhận dạng ở các đồng dạng PI3K khác mặc dù có bằng chứng rằng chúng có thể góp phần vào sự phát triển và tiến triển ác tính. Sự biểu hiện quá mức chắc chắn của PI3K δ được quan sát ở bệnh bạch cầu nguyên tủy bào cấp tính (Sujobert, et al., *Blood*, 2005, 106(3):1063-6) và chất ức chế PI3K δ có thể ngăn sự phát triển các tế bào bạch cầu (Billottet, et al., *Oncogene*. 2006, 25(50):6648-59). Sự biểu hiện tăng của PI3K γ

được thấy ở bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (Hickey, et al., J Biol. Chem. 2006, 281(5):2441-50). Sự thay đổi về biểu hiện PI3K β , PI3K γ và PI3K δ cũng được quan sát ở bệnh ung thư não, ruột kết và bàng quang (Benistant, et al., Oncogene, 2000, 19(44):5083-90; Mizoguchi, et al., Brain Pathol. 2004, 14(4):372-7; Knobbe, et al., Neuropathol Appl Neurobiol. 2005, 31(5):486-90). Ngoài ra, các đồng dạng này đều được chứng minh là gây bệnh ung thư ở môi trường nuôi tế bào (Kang, et al., 2006).

Vì những lý do này, nên có nhu cầu phát triển chất ức chế PI3K mới có thể được sử dụng trong các rối loạn viêm, các bệnh tự miễn và bệnh ung thư. Sáng chế này nhằm đến nhu cầu này và các nhu cầu khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức I:



I.

hoặc muối được dụng của chúng, là hữu ích làm chất ức chế PI3K δ .

Sáng chế còn đề xuất muối của axit clohydric của hợp chất có công thức I.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa muối của axit clohydric được mô tả ở đây và chất mang được dụng.

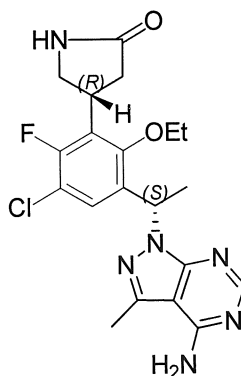
Sáng chế còn đề xuất phương pháp ức chế hoạt tính của PI3K kinaza, bao gồm cho kinaza tiếp xúc với muối của axit clohydric của hợp chất có công thức I.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị bệnh ở bệnh nhân, trong đó bệnh này được kết hợp với sự biểu hiện hoặc hoạt tính không bình thường của PI3K kinaza, bao gồm việc sử dụng cho bệnh nhân lượng có hiệu lực điều trị của muối của axit clohydric của hợp chất có công thức I.

Sáng chế còn đề xuất muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** để sử dụng trong phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả ở đây.

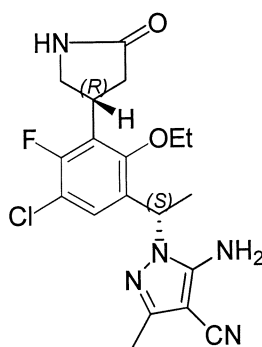
Sáng chế còn đề xuất việc sử dụng muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** để sản xuất thuốc để sử dụng trong phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả ở đây.

Sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I**, bao gồm cho hợp chất có công thức **I**:

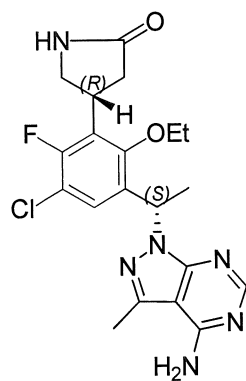
**I**

phản ứng với axit clohydric để tạo thành muối nêu trên.

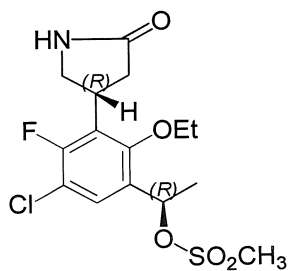
Sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức **I**, bao gồm cho hợp chất có công thức **XVI**:

**XVI**

phản ứng với formamidin axetat để tạo thành hợp chất có công thức **I** nêu trên:

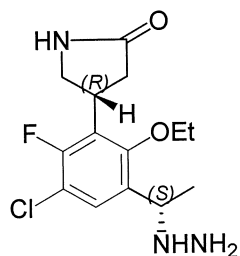
**I.**

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XIV**:

**XIV**

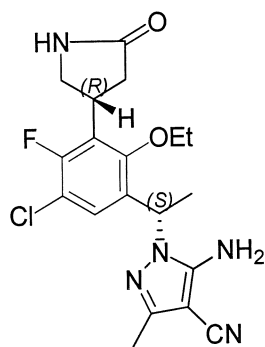
hoặc muối dược dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XV**:

**XV**

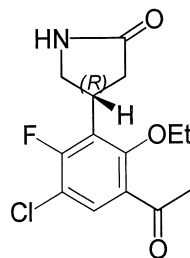
hoặc muối dược dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XVI**:

**XVI**

hoặc muối được dụng của chúng.

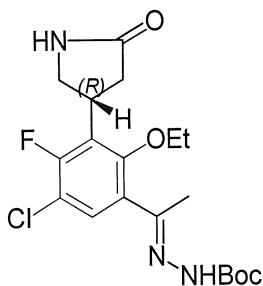
Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XIX**:



XIX

hoặc muối được dụng của chúng.

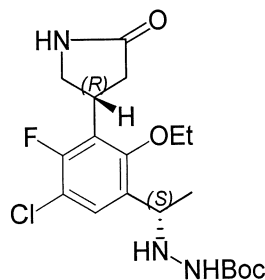
Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XX**:



XX

hoặc muối được dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XXI**:



XXI

hoặc muối được dụng của chúng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 thể hiện biểu đồ nhiệt DSC điển hình của muối của ví dụ 3.

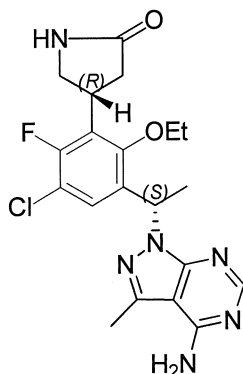
FIG. 2 thể hiện số liệu TGA điển hình của muối của ví dụ 3.

FIG. 3 thể hiện mẫu XRPD điển hình của muối của ví dụ 3.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hợp chất và muối

Sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức I:



I

hoặc muối được dụng của chúng, là hữu ích làm chất ức chế PI3K δ , trong đó Et là etyl.

Sáng chế còn đề xuất muối của hợp chất có công thức I.

Do đó, theo một vài phương án, sáng chế đề xuất muối của axit clohydric của 4-(3-(1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on. Theo một vài phương án, sáng chế đề xuất muối của axit clohydric của (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on. Theo một vài phương án, muối là theo hệ số tỷ lượng 1:1 của (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on trên axit clohydric.

Các dạng khác nhau của cùng một chất có đặc tính chung khác nhau liên quan đến, ví dụ, độ hút ẩm, tính tan, tính ổn định, và tương tự. Các dạng với điểm nóng chảy cao thường có tính ổn định nhiệt động học tốt mà là thuận lợi trong dược phẩm có thời hạn sử dụng kéo chứa dạng rắn. Các dạng với điểm nóng chảy thấp hơn thì ít ổn định về nhiệt động học hơn, nhưng là thuận lợi ở chỗ chúng làm tăng tính tan trong nước, biến đổi thành độ sinh khả dụng dược chất tăng. Các dạng có độ hút ẩm kém được mong muốn về tính ổn định của chúng với nhiệt và độ ẩm và chống lại được sự thoái biến trong quá trình bảo quản lâu dài.

Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** được đề xuất ở đây là dạng tinh thể. Như được sử dụng ở đây, “tinh thể” hoặc “dạng tinh thể” được hiểu là dùng để chỉ cấu hình mạng nhất định của chất dạng tinh thể. Các dạng tinh thể khác nhau của cùng một chất thường có mạng tinh thể khác nhau (ví dụ, ô đơn vị) mà được cho là do các tính chất vật lý khác nhau đặc trưng của mỗi dạng tinh thể. Trong một số trường hợp, các cấu hình mạng khác nhau có hàm lượng nước hoặc dung môi khác nhau.

Các dạng muối khác nhau có thể được nhận dạng nhờ phương pháp xác định trạng thái rắn như bằng phép đo nhiễu xạ bột tia X (X-ray powder diffraction: XRPD). Các phương pháp xác định khác như phép đo nhiệt lượng bằng cách quét vi phân (differential scanning calorimetry: DSC), phân tích nhiệt trọng (thermogravimetric analysis: TGA), hấp thụ hơi động (dynamic vapor sorption: DVS), và các phương pháp tương tự còn giúp nhận dạng cũng như giúp xác định tính ổn định và hàm lượng dung môi/nước.

Mẫu XRPD trong sự phản xạ (các đỉnh) thường được coi là dấu chỉ điểm của dạng tinh thể cụ thể. Biết rõ rằng cường độ tương đối của các đỉnh XRPD có thể thay đổi nhiều tùy thuộc vào, không kể những yếu tố khác, kỹ thuật điều chế mẫu, sự phân bố cỡ tinh thể, các bộ lọc khác nhau được sử dụng, quy trình lắp mẫu, và thiết bị cụ thể được sử dụng. Trong một số trường hợp, các đỉnh mới có thể được quan sát hoặc các đỉnh đang tồn tại có thể biến mất, tùy thuộc vào loại thiết bị hoặc sự điều chỉnh. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đỉnh” chỉ sự phản xạ có độ cao/cường độ tương đối của ít nhất khoảng 4% độ cao/cường độ đỉnh tối đa. Hơn nữa, sự thay đổi thiết bị và các yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến giá trị 2-theta. Do đó, sự phân định đỉnh, như được báo cáo ở đây, có thể thay đổi cộng hoặc trừ khoảng 0,2° (2-theta), và thuật ngữ “gần như” và “khoảng” như được sử dụng trong phạm vi XRPD ở đây được hiểu là bao gồm các biến đổi nêu trên.

Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có ít nhất một đỉnh XRPD, tính theo 2-theta, được chọn từ khoảng 11,3°, khoảng 16,4°, khoảng 21,0°, khoảng 23,0°, khoảng 28,1°, khoảng 31,2°, và khoảng 32,8°. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có ít

nhất hai đỉnh XRPD, tính theo 2-theta, được chọn từ khoảng $11,3^\circ$, khoảng $16,4^\circ$, khoảng $21,0^\circ$, khoảng $23,0^\circ$, khoảng $28,1^\circ$, khoảng $31,2^\circ$, và khoảng $32,8^\circ$. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có ít nhất ba đỉnh XRPD, tính theo 2-theta, được chọn từ khoảng $11,3^\circ$, khoảng $16,4^\circ$, khoảng $21,0^\circ$, khoảng $23,0^\circ$, khoảng $28,1^\circ$, khoảng $31,2^\circ$, và khoảng $32,8^\circ$. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có ít nhất bốn đỉnh XRPD, tính theo 2-theta, được chọn từ khoảng $11,3^\circ$, khoảng $16,4^\circ$, khoảng $21,0^\circ$, khoảng $23,0^\circ$, khoảng $28,1^\circ$, khoảng $31,2^\circ$, và khoảng $32,8^\circ$. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có ít nhất năm đỉnh XRPD, tính theo 2-theta, được chọn từ khoảng $11,3^\circ$, khoảng $16,4^\circ$, khoảng $21,0^\circ$, khoảng $23,0^\circ$, khoảng $28,1^\circ$, khoảng $31,2^\circ$, và khoảng $32,8^\circ$. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có profiln XRPD gần như được thể hiện trên Fig.3.

Theo cùng một cách, việc đọc nhiệt độ liên quan đến DSC, TGA, hoặc thử nghiệm nhiệt khác có thể thay đổi khoảng $\pm 3^\circ\text{C}$ tùy thuộc vào thiết bị, sự điều chỉnh cụ thể, điều chế mẫu, v.v.. Do đó, dạng tinh thể được báo cáo ở đây có biểu đồ nhiệt DSC “gần như” như được thể hiện trong hình vẽ bất kỳ hoặc thuật ngữ “khoảng” được hiểu là chứa các biến đổi này. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có biểu đồ nhiệt DSC có đỉnh thu nhiệt ở khoảng 207°C . Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có biểu đồ nhiệt DSC gần như được thể hiện trên Fig.1. Theo một vài phương án, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** có biểu đồ nhiệt TGA gần như được thể hiện trên Fig.2.

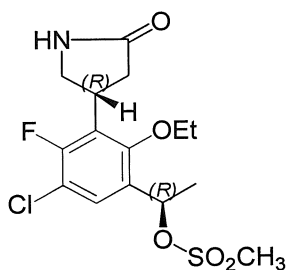
Theo một vài phương án, muối và hợp chất được mô tả ở đây (ví dụ, hợp chất có công thức **I** hoặc muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I**) gần như được tách riêng. Thuật ngữ “gần như được tách riêng” được hiểu là muối hoặc hợp chất ít nhất là được tách một phần hoặc gần như được tách khỏi môi trường trong đó nó được tạo ra hoặc được phát hiện. Tách một phần có thể bao gồm, ví dụ, chế phẩm được làm giàu trong muối được mô tả ở đây. Tách đáng kể có thể bao gồm chế phẩm chứa ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%,

ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% theo trọng lượng của muối được mô tả ở đây, hoặc muối của chúng. Các phương pháp để tách hợp chất và muối của chúng là thông thường trong lĩnh vực này.

Hợp chất trung gian

Sáng chế còn đề xuất hợp chất trung gian mà là hữu ích để điều chế hợp chất có công thức **I**.

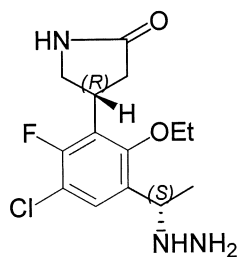
Do đó, theo một vài phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức **XIV**:



XIV

hoặc muối dược dụng của chúng.

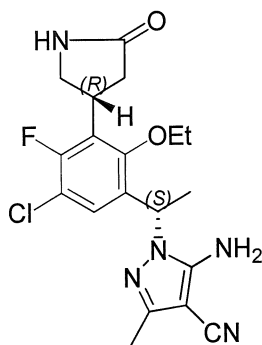
Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XV**:



XV

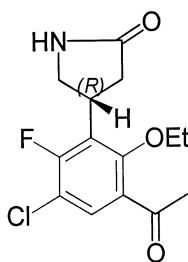
hoặc muối dược dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XVI**:

**XVI**

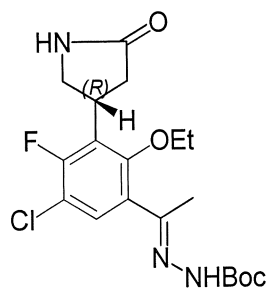
hoặc muối được dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XIX**:

**XIX**

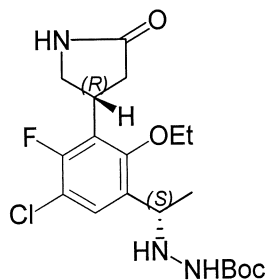
hoặc muối được dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XX**:

**XX**

hoặc muối được dụng của chúng.

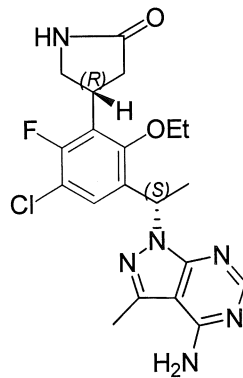
Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức **XXI**:

**XXI**

hoặc muối được dụng của chúng.

Quy trình

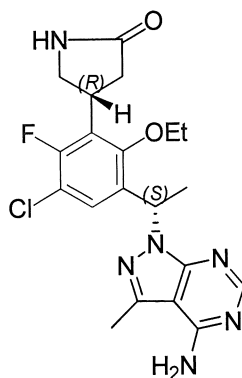
Sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế muối của công thức **I**:



I.

Theo một vài phương án, quy trình này bao gồm cho hợp chất có công thức

I:



I

phản ứng với axit clohydric để tạo thành muối nêu trên.

Theo một vài phương án, axit clohydric là dung dịch axit clohydric 1M.

Theo một vài phương án, khoảng 3,3 đến 3,7 đương lượng của axit clohydric được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **I**.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45°C đến 55°C.

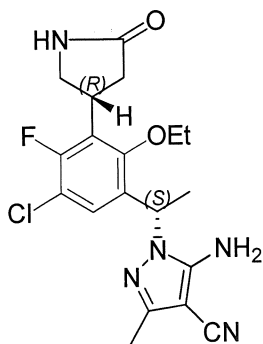
Theo một vài phương án, quy trình này bao gồm các bước:

bổ sung axit clohydric vào hợp chất có công thức **I** ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành huyền phù đặc;

đun nóng huyền phù đặc này đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45°C đến 55°C để tạo thành dung dịch; và

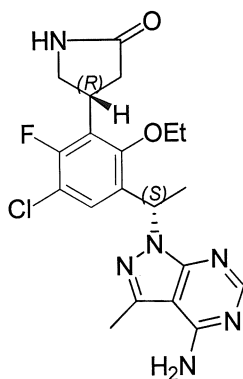
làm lạnh dung dịch đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 5°C để kết tinh muối này

Theo một vài phương án, quy trình này bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XVI**:



XVI

phản ứng với formamidin axetat để tạo thành hợp chất có công thức **I**:



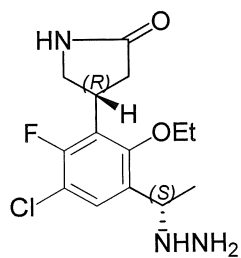
I.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XVI** với formamidin axetat được thực hiện trong thành phần dung môi chứa 1,2-ethandiol.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XVI** với formamidin axetat được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 105°C.

Theo một vài phương án, khoảng 8 đến 10 đương lượng của formamidin axetat được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XVI**.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XVI** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XV**:

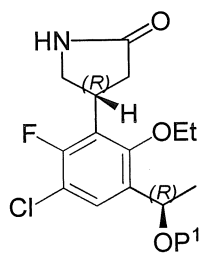
**XV**

phản ứng với (1-etoxyetyliden)malononitril với sự có mặt của amin bậc ba.

Theo một vài phương án, amin bậc ba là *N*-metylpyrrolidinon.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XV** với (1-etoxyetyliden)malononitril được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XV** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XIV-a**:

**XIV-a**

phản ứng với hydrazin với sự có mặt của amin bậc ba, trong đó P¹ là C₁₋₆ alkylsulfonyl.

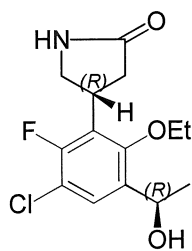
Theo một vài phương án, amin bậc ba là *N*-metylpyrrolidinon.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XIV-a** với hydrazin được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 35°C đến 60°C.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XIV-a** với hydrazin được thực hiện trong thành phần dung môi chứa diclometan.

Theo một vài phương án, P¹ là nhóm metansulfonyl.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XIV** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XIII**:

**XIII**

phản ứng với C₁₋₆ alkylsulfonylhalogenua với sự có mặt của amin bậc ba.

Theo một vài phương án, C₁₋₆ alkylsulfonylhalogenua là metansulfonyl clorua.

Theo một vài phương án, amin bậc ba là *N,N*-diisopropyletylamin.

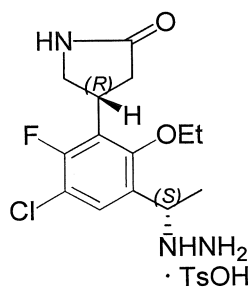
Theo một vài phương án, khoảng 1,1 đến 1,5 đương lượng của alkylsulfonylhalogenua được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XIII**.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XIII** với C₁₋₆ alkylsulfonylhalogenua được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 5°C.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XIII** với C₁₋₆ alkylsulfonylhalogenua được thực hiện trong thành phần dung môi chứa diclometan.

Theo một vài phương án, các bước: (i) phản ứng của hợp chất có công thức **XIII** với C₁₋₆ alkylsulfonylhalogenua; (ii) phản ứng của hợp chất có công thức **XIV-a** với hydrazin với sự có mặt của amin bậc ba để tạo thành hợp chất có công thức **XV**; và (iii) phản ứng của hợp chất có công thức **XV** với formamidin axetat để tạo thành hợp chất có công thức **XVI** được thực hiện trong cùng một bình mà không tách hợp chất có công thức **XIV-a** hoặc hợp chất có công thức **XV**.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XVI** bằng quy trình bao gồm bước cho muối của công thức **XV-a**:

**XV-a**

phản ứng với (1-etoxyetyliden)malononitril với sự có mặt của amin bậc ba, trong đó TsOH là axit p-toluensulfonic.

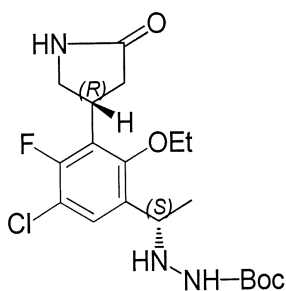
Theo một vài phương án, amin bậc ba là *N,N*-diisopropyletylamin.

Theo một vài phương án, phản ứng của muối của công thức **XV-a** với (1-etoxyetyliden)malononitril được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

Theo một vài phương án, khoảng 1,3 đến 1,6 đương lượng của (1-etoxyetyliden)malononitril được sử dụng tính theo 1 đương lượng của muối của công thức **XV-a**.

Theo một vài phương án, phản ứng của muối của công thức **XV-a** với (1-etoxyetyliden)malononitril được thực hiện trong thành phần dung môi chứa etanol.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm bước điều chế muối của công thức **XV-a** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XXI**:

**XXI**

phản ứng với axit p-toluensulfonic, trong đó Boc là *tert*-butoxycarbonyl.

Theo một vài phương án, axit p-toluensulfonic là monohydrat của axit p-toluensulfonic.

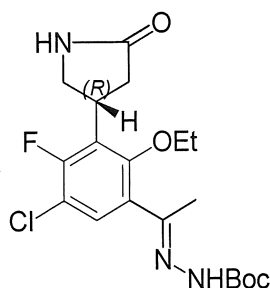
Theo một vài phương án, khoảng 1,3 đến 1,6 đương lượng của axit p-toluensulfonic được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XXI**.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XXI** với axit p-toluensulfonic được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45°C đến 65°C.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XXI** với axit p-toluensulfonic được thực hiện trong thành phần dung môi chứa etanol.

Theo một vài phương án, các bước: (i) phản ứng của hợp chất có công thức **XXI** với axit p-toluensulfonic để tạo thành muối của công thức **XV-a**; và (ii) phản ứng của muối của công thức **XV-a** với (1-etoxyetylidene)malononitril được thực hiện trong cùng một bình mà không cần tách muối của công thức **XV-a**.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XXI** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XX**:



XX

phản ứng với khí hydro với sự có mặt của một hoặc nhiều chất xúc tác hydro hóa độc lập được chọn, trong đó Boc là *tert*-butoxycarbonyl.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XX** với khí hydro được thực hiện với sự có mặt của hai chất xúc tác hydro hóa độc lập được chọn.

Theo một vài phương án, một chất xúc tác hydro hóa là bis(1,5-xyclooctadien)rodi(I)tetrafloroborat và chất còn lại là (*R*)-(-)-1-{(S)-2-[bis(4-triflometylphenyl)phosphin]feroxenyl}etyl-di-*t*-butylphosphin.

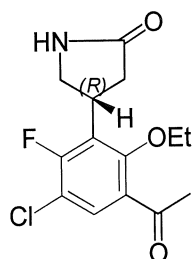
Theo một vài phương án, khoảng 13,5 đến 14,5 đương lượng của bis(1,5-xyclooctadien)rodi(I)tetrafloroborat được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XX**.

Theo một vài phương án, khoảng 12 đến 13 đương lượng của (*R*)-(-)-1-{(S)-2-[bis(4-triflometylphenyl)phosphin]feroxenyl}etyl-di-*t*-butylphosphin được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XX**.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XX** với khí hydro được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XX** với khí hydro được thực hiện trong thành phần dung môi chứa metanol.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XX** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XIX**:

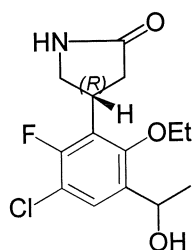
**XIX**

phản ứng với t-butyl carbazat.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XIX** với t-butyl carbazat được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 70°C.

Theo một vài phương án, phản ứng của hợp chất có công thức **XIX** với t-butyl carbazat được thực hiện trong thành phần dung môi chứa metanol.

Theo một vài phương án, quy trình này còn bao gồm việc điều chế hợp chất có công thức **XIX** bằng quy trình bao gồm bước oxy hóa hợp chất có công thức **XIII-a**:

**XIII-a**

với sự có mặt của chất oxy hóa.

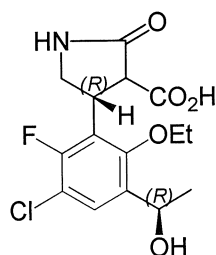
Theo một vài phương án, chất oxy hóa là Dess-Martin periodinan.

Theo một vài phương án, khoảng 1,2 đến 1,7 đương lượng của chất oxy hóa được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XIII-a**.

Theo một vài phương án, phản ứng oxy hóa hợp chất có công thức **XIII-a** được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

Theo một vài phương án, phản ứng oxy hóa hợp chất có công thức **XIII-a** được thực hiện trong thành phần dung môi chứa diclometan.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **XIII** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước đun nóng hợp chất có công thức **XII**:

**XII**

với sự có mặt của thành phần dung môi.

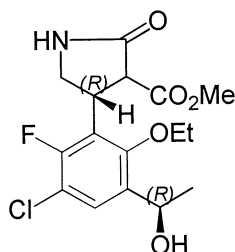
Theo một vài phương án, bước đun nóng được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 95°C đến 105°C.

Theo một vài phương án, thành phần dung môi gồm 1,4-dioxan.

Theo một vài phương án, thành phần dung môi gồm toluen.

Theo một vài phương án, thành phần dung môi gồm 1,4-dioxan và toluen.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **XII** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XI**:

**XI**

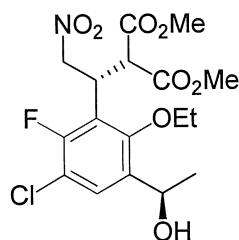
phản ứng với sự có mặt của bazơ mạnh.

Theo một vài phương án, bazơ mạnh là natri hydroxit.

Theo một vài phương án, bazơ mạnh là dung dịch natri hydroxit 1M.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

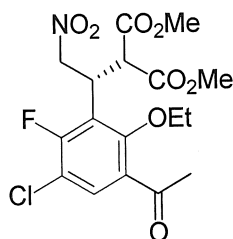
Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **XI** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **X**:

**X**

phản ứng với khí hydro với sự có mặt của niken Raney.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 70°C.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **X** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **IX**:

**IX**

phản ứng với sự có mặt của bo triflorua eterat, chất xúc tác (3a*S*)-1-metyl-3,3-diphenyltetrahydro-3*H*-pyrolo[1,2-*c*][1,3,2]oxazaborole ((*S*)-MeCBS), và phức chất boran.

Theo một vài phương án, khoảng 0,03 đến 0,07 đương lượng của bo triflorua eterat được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **IX**.

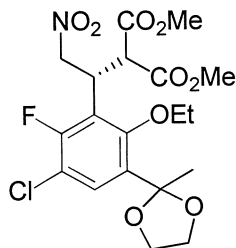
Theo một vài phương án, khoảng 0,05 đến 0,15 đương lượng của chất xúc tác (3a*S*)-1-metyl-3,3-diphenyltetrahydro-3*H*-pyrolo[1,2-*c*][1,3,2]oxazaborole ((*S*)-MeCBS) được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **IX**.

Theo một vài phương án, phức chất boran là phức chất boran-THF 1,0M trong THF.

Theo một vài phương án, khoảng 0,9 đến 1,1 đương lượng của phức chất boran được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **IX**.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **IX** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **VIII**:

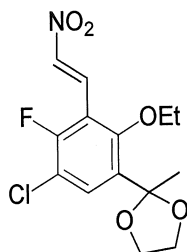
**VIII**

phản ứng với iot với sự có mặt của thành phần dung môi.

Theo một vài phương án, thành phần dung môi gồm axeton.

Theo một vài phương án, khoảng 0,75 đến 1,25 đương lượng của iot được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **VIII**.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **VIII** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **VII**:

**VII**

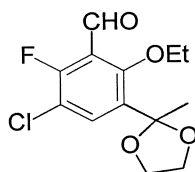
phản ứng với dimethyl malonat với sự có mặt của chất xúc tác.

Theo một vài phương án, chất xúc tác là (1*S*,2*S*)-*N,N'*-dibenzylxyclohexan-1,2-diamin-dibromoniken (chất xúc tác Evans).

Theo một vài phương án, khoảng 1,1 đến 1,3 đương lượng của dimethyl malonat được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **VII**.

Theo một vài phương án, khoảng 0,02 đến 0,03 đương lượng của chất xúc tác kim loại chuyển tiếp được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **VII**.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **VII** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **VI**:

**VI**

phản ứng với nitrometan với sự có mặt của axit hữu cơ để tạo thành hỗn hợp thứ nhất.

Theo một vài phương án, axit hữu cơ là axit axetic băng.

Theo một vài phương án, khoảng 9,5 đến 10,5 đương lượng của nitrometan được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **VI**.

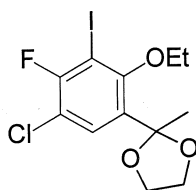
Theo một vài phương án, phản ứng này còn bao gồm bước bổ sung amin bazơ vào hỗn hợp thứ nhất nêu trên để tạo thành hỗn hợp thứ hai.

Theo một vài phương án, amin bazơ là benzylamin.

Theo một vài phương án, khoảng 0,2 đến 0,3 đương lượng của amin bazơ được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **VI**.

Theo một vài phương án, hỗn hợp thứ hai nêu trên được đun nóng ở nhiệt độ từ khoảng 55°C đến 65°C.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **VI** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **V**:

**V**

phản ứng với phức chất (C₁₋₄ alkyl)magiehalogenua để tạo thành hỗn hợp thứ nhất.

Theo một vài phương án, phức (C₁₋₄ alkyl)magie halogenua là phức isopropylmagie clorua lithi clorua 1,3M.

Theo một vài phương án, khoảng 1,1 đến 1,3 đương lượng của phức chất (C₁₋₄ alkyl)magiehalogenua được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức V.

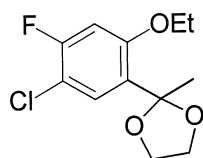
Theo một vài phương án, phản ứng này còn bao gồm bước bổ sung *N*-formylmorpholin vào hỗn hợp thứ nhất để tạo thành hỗn hợp thứ hai.

Theo một vài phương án, khoảng 1,8 đến 2,2 đương lượng của *N*-formylmorpholin được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức V.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -5°C đến 10°C.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức V được điều chế theo quy trình được mô tả trong công bố đơn Mỹ số 2013-0059835A1.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức VI được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức V-a:



V-a

phản ứng với *N,N*-dimethylformamit với sự có mặt của lithi diisopropylamit.

Theo một vài phương án, lithi diisopropylamit được điều chế bằng cách cho *N,N*-diisopropylamin phản ứng với sự có mặt của *n*-butyllithi.

Theo một vài phương án, lithi diisopropylamit được điều chế ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -75°C đến 5°C.

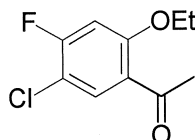
Theo một vài phương án:

- (ii) hợp chất có công thức V-a được cho phản ứng với lithi diisopropylamit để tạo thành hỗn hợp thứ nhất; và
- (ii) *N,N*-dimethylformamit được bổ sung vào hỗn hợp thứ nhất để tạo thành hỗn hợp thứ hai.

Theo một vài phương án, khoảng 1,2 đến 1,3 đương lượng của amin bazo được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức V-a.

Theo một vài phương án, khoảng 1,4 đến 1,6 đương lượng của *N,N*-dimetylformamit được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **V-a**.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **V-a** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **IV-a**:



IV-a

phản ứng với 1,2-etandiol với sự có mặt của axit p-toluensulfonic.

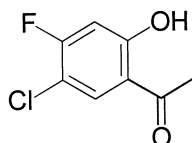
Theo một vài phương án, axit p-toluensulfonic là monohydrat của axit p-toluensulfonic.

Theo một vài phương án, khoảng 2,2 đến 2,7 đương lượng của 1,2-etandiol được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **IV-a**.

Theo một vài phương án, khoảng 0,05 đến 0,1 đương lượng của axit p-toluensulfonic được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **IV-a**.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở khoảng hồi lưu.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **IV-a** được điều chế bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **II**:



II

phản ứng với $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-X}^1$ với sự có mặt của bazơ cacbonat kim loại kiềm, trong đó:

X^1 là halogenua.

Theo một vài phương án, X^1 là iot.

Theo một vài phương án, bazơ cacbonat kim loại kiềm là kali cacbonat.

Theo một vài phương án, khoảng 1,1 đến 1,3 đương lượng của $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-X}^1$ được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **II**.

Theo một vài phương án, khoảng 1,8 đến 2,2 đương lượng của bazo cacbonat kim loại kiềm được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **II**.

Theo một vài phương án, phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ từ khoảng 55°C đến 65°C.

Theo một vài phương án, hợp chất có công thức **II** được điều chế theo quy trình được mô tả trong công bố đơn Mỹ số 2013-0059835A1.

Đánh giá rằng các dấu hiệu nhất định của sáng chế, mà để rõ ràng, được mô tả trong phạm vi các phương án riêng biệt, cũng có thể được đề xuất kết hợp trong một phương án riêng lẻ (trong khi các phương án được dự định để được kết hợp như thể được viết ở nhiều dạng phụ thuộc). Trái lại, các dấu hiệu khác nhau của sáng chế mà, để ngắn gọn, được mô tả trong phạm vi của phương án riêng lẻ, cũng có thể được đề xuất riêng biệt hoặc trong các dạng kết hợp phụ thích hợp bất kỳ.

Muối và hợp chất được mô tả ở đây có thể là bất đối xứng (ví dụ, có một hoặc nhiều tâm lập thể). Nếu không có hóa học lập thể được chỉ ra, thì tất cả các chất đồng phân lập thể, như chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân không đối quang, được dự định trừ khi có quy định khác bởi cấu trúc hoặc tên gọi. Muối và hợp chất theo sáng chế chứa nguyên tử cacbon được thể bất đối xứng có thể được tách ở dạng có hoạt tính quang học hoặc dạng raxemic. Phương pháp để điều chế dạng có hoạt tính quang học từ nguyên liệu ban đầu không có hoạt tính quang học được biết trong lĩnh vực này, như bằng cách phân giải hỗn hợp hoặc bằng cách tổng hợp chọn lọc lập thể. Nhiều chất đồng phân hình học của olefin, liên kết đôi $\text{C}=\text{N}$, và tương tự cũng có thể có mặt ở dạng muối và hợp chất được mô tả ở đây, và tất cả các chất đồng phân ổn định này được dự định trong sáng chế. Chất đồng phân hình học *cis* và *trans* của muối và hợp chất theo sáng chế được mô tả và có thể được tách ở dạng hỗn hợp các chất đồng phân hoặc ở dạng chất đồng phân được tách.

Việc phân giải hỗn hợp raxemic của muối và hợp chất có thể được thực hiện bằng phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Phương pháp ví dụ bao gồm tái kết tinh phân đoạn bằng cách sử dụng axit phân giải bất đối xứng là axit hữu cơ tạo muối, có hoạt tính quang học. Các chất phân giải thích hợp cho phương pháp tái kết tinh phân đoạn là, ví dụ, axit có hoạt tính quang học, như dạng D và L của axit tartric, axit diaxetyltartric, axit dibenzoyltartric, axit mandelic, axit malic, axit lactic hoặc các axit camphorsulfonic có hoạt tính quang học khác nhau như axit β -camphorsulfonic. Các chất phân giải khác thích hợp cho phương pháp kết tinh phân đoạn bao gồm dạng tinh khiết về mặt đồng phân lập thể của α -metylbenzylamin (ví dụ, dạng *S* và *R*, hoặc dạng tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang), 2-phenylglyxinol, norephedrin, ephedrin, N-metylephedrin, xyclohexyletylamin, 1,2-diaminoxyclohexan, và tương tự.

Việc phân giải hỗn hợp raxemic cũng có thể được thực hiện bằng cách rửa giải trên cột được nhồi chất phân giải có hoạt tính quang học (ví dụ, dinitrobenzoylphenylglyxin). Chế phẩm dung môi rửa giải thích hợp có thể được xác định bởi chuyên gia trong lĩnh vực này.

Muối và hợp chất theo sáng chế cũng có thể bao gồm tất cả các chất đồng vị của các nguyên tử tồn tại trong hợp chất trung gian hoặc muối hoặc hợp chất cuối cùng. Các chất đồng vị bao gồm các nguyên tử có cùng nguyên tử số nhưng số khối khác nhau. Ví dụ, chất đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri.

Theo một vài phương án, hợp chất hoặc muối có thể được phát hiện cùng với các chất khác như nước và dung môi (ví dụ, hydrat và solvat) hoặc có thể được tách riêng.

Theo một vài phương án, hợp chất được mô tả ở đây, hoặc muối của chúng (ví dụ, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức I), gần như được tách riêng. Thuật ngữ “gần như được tách riêng” được hiểu là hợp chất này ít nhất là được tách một phần hoặc gần như được tách khỏi môi trường mà nó được tạo ra hoặc được phát hiện. Tách một phần có thể bao gồm, ví dụ, chế phẩm được làm giàu hợp chất theo sáng chế. Tách đáng kể có thể bao gồm chế phẩm chứa ít nhất

khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% theo trọng lượng của hợp chất theo sáng chế, hoặc muối của chúng. Phương pháp để tách hợp chất và muối của chúng là thông thường trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “được dụng” được sử dụng ở đây dùng để chỉ hợp chất, nguyên liệu, dược phẩm, và/hoặc dạng phân liều mà, trong phạm vi của đánh giá y học có cơ sở, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô của người và động vật mà không có tính độc, kích ứng, đáp ứng dị ứng, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác quá mức, phù hợp với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Như sẽ được đánh giá, hợp chất được đề xuất ở đây, bao gồm muối của chúng, có thể được điều chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật tổng hợp hữu cơ đã biết và có thể được tổng hợp theo cách bất kỳ trong số nhiều cách tổng hợp có thể. Các quy trình được mô tả ở đây có thể được kiểm tra theo phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, việc tạo sản phẩm có thể được kiểm tra bằng kính quang phổ, như quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân (ví dụ, ^1H hoặc ^{13}C), quang phổ hồng ngoại, hoặc phép đo quang phổ (ví dụ, UV-khả kiến); hoặc bằng phép sắc ký như sắc ký lỏng tính năng cao (high performance liquid chromatography: HPLC) hoặc sắc ký lớp mỏng (thin layer chromatography: TLC) hoặc các kỹ thuật liên quan khác.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “phản ứng” được sử dụng như đã biết trong lĩnh vực này và thường dùng để chỉ sự mang đến cùng nhau của các chất phản ứng hóa học theo cách sao cho cho phép sự tương tác của chúng ở mức phân tử để đạt được sự biến đổi hóa học hoặc vật lý. Theo một vài phương án, phản ứng này bao gồm hai chất phản ứng, trong đó một hoặc nhiều đương lượng của chất phản ứng thứ hai được sử dụng so với chất phản ứng thứ nhất. Các bước phản ứng của các quy trình được mô tả ở đây có thể được thực hiện trong thời gian và trong các điều kiện thích hợp để điều chế sản phẩm đồng nhất.

Các phản ứng của các quy trình được mô tả ở đây có thể được thực hiện trong dung môi thích hợp mà có thể được chọn dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các dung môi thích hợp có thể gần như

không phản ứng với nguyên liệu ban đầu (chất phản ứng), hợp chất trung gian, hoặc các sản phẩm ở nhiệt độ mà tại đó phản ứng được thực hiện, ví dụ, nhiệt độ mà có thể thay đổi từ nhiệt độ đông lạnh của dung môi thành nhiệt độ sôi của dung môi. Phản ứng được nêu có thể được thực hiện trong một dung môi hoặc hỗn hợp của nhiều hơn một dung môi. Tùy thuộc vào bước phản ứng cụ thể, dung môi thích hợp cho bước phản ứng cụ thể có thể được chọn.

Dung môi thích hợp có thể bao gồm dung môi được halogen hóa như cacbon tetrachlorua, bromodichlometan, dibromodichlometan, bromofom, clorofom, bromodichlometan, dibromometan, butyl clorua, dichlometan, tetrachloetylen, trichloetylen, 1,1,1-trichloetan, 1,1,2-trichloetan, 1,1-dichloetan, 2-clopropan, 1,2-dichloetan, 1,2-dibromoetan, hexaflorobenzen, 1,2,4-trichlobenzen, 1,2-dichlobenzen, clorobenzen, florobenzen, hỗn hợp của chúng và tương tự.

Các dung môi ete thích hợp bao gồm: dimetoxymetan, tetrahydrofuran, 1,3-dioxan, 1,4-dioxan, furan, dietylen ete, etylen glycol dimetyl ete, etylen glycol dietylen ete, dietylen glycol dimetyl ete, dietylen glycol dietylen ete, trietylen glycol dimetyl ete, anisol, t-butyl metyl ete, hỗn hợp của chúng và tương tự.

Dung môi proton có thể bao gồm, bằng ví dụ và không giới hạn ở, nước, metanol, etanol, 2-nitroetanol, 2-fluorotanol, 2,2,2-trifluorotanol, etylen glycol, 1-propanol, 2-propanol, 2-metoxietanol, 1-butanol, 2-butanol, rượu i-butyl, rượu t-butyl, 2-etoxietanol, dietylen glycol, rượu 1-, 2-, hoặc 3-pentanol, neo-pentyl, rượu t-pentyl, dietylen glycol monometyl ete, dietylen glycol monoetyl ete, cyclohexanol, rượu benzylic, phenol, hoặc glyxerol.

Dung môi không proton có thể bao gồm, bằng ví dụ và không giới hạn ở, tetrahydrofuran (THF), N,N-dimetylformamit (DMF), N,N-dimetylaxetamit (DMA), 1,3-dimetyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon (DMPU), 1,3-dimetyl-2-imidazolidinon (DMI), N metylpyrrolidinon (NMP), formamit, N-metylaxetamit, N-metylformamit, axetonitril, dimetyl sulfoxit, propionitril, etyl format, metyl axetat, hexaaxeton, axeton, etyl metyl keton, etyl axetat, sulfolan, N,N-dimetylpropionamit, tetrametylurea, nitrometan, nitrobenzen, hoặc hexametylphosphoramit.

Dung môi hydrocacbon thích hợp bao gồm benzen, xyclohexan, pentan, hexan, toluen, xycloheptan, metylxyclohexan, heptan, etylbenzen, m-, o-, hoặc p-xylen, octan, indan, nonan, hoặc naphtalen.

Các phản ứng của các quy trình được mô tả ở đây có thể được thực hiện ở nhiệt độ thích hợp mà có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình. Nhiệt độ phản ứng sẽ tùy thuộc vào, ví dụ, các điểm nóng chảy và điểm sôi của chất phản ứng và dung môi, nếu có; nhiệt động học của phản ứng (ví dụ, phản ứng tỏa nhiệt mãnh liệt có thể cần được thực hiện ở nhiệt độ giảm); và động học của phản ứng (ví dụ, rào năng lượng hoạt hóa cao có thể cần nhiệt độ tăng).

Thuật ngữ “nhiệt độ môi trường” và “nhiệt độ trong phòng” hoặc “rt” như được sử dụng ở đây, được hiểu trong lĩnh vực này, và thường dùng để chỉ nhiệt độ, ví dụ, nhiệt độ phản ứng, tức là khoảng nhiệt độ của phòng trong đó phản ứng được thực hiện, ví dụ, nhiệt độ từ 20°C đến 30°C.

Các phản ứng của các quy trình được mô tả ở đây có thể được thực hiện trong không khí hoặc trong môi trường trơ. Thông thường, phản ứng bao gồm chất phản ứng hoặc sản phẩm mà gần như phản ứng với không khí có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật tổng hợp nhạy không khí mà được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình.

Phương pháp sử dụng

Muối và hợp chất theo sáng chế có thể điều biến hoạt tính của một hoặc nhiều kinaza khác nhau bao gồm, ví dụ, phosphoinositide 3-kinaza (PI3K). Thuật ngữ “điều biến” được hiểu là dùng để chỉ khả năng làm tăng hoặc giảm hoạt tính của một hoặc nhiều thành viên họ PI3K. Do đó, muối và hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong phương pháp điều biến PI3K bằng cách cho PI3K tiếp xúc với một hoặc nhiều muối, hợp chất hoặc được phẩm bất kỳ được mô tả ở đây. Theo một vài phương án, muối và hợp chất theo sáng chế có thể làm chất ức chế một hoặc nhiều PI3K. Theo các phương án khác, muối và hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều biến hoạt tính của PI3K ở đối tượng có nhu cầu điều biến thụ thể bằng cách sử dụng lượng có tác dụng điều biến của hợp chất theo sáng

chế, hoặc muối được dụng của chúng. Theo một vài phương án, việc điều biến là ức chế.

Căn cứ vào sự phát triển của tế bào ung thư và sự sống sót bị tác động bởi nhiều quá trình truyền tín hiệu, sáng chế là hữu ích để điều trị các tình trạng bệnh đặc trưng bởi các đột biến kinaza kháng được chất. Ngoài ra, chất ức chế kinaza khác nhau, thể hiện sự ưu tiên khác nhau trong các kinaza mà chúng điều biến hoạt tính, có thể được sử dụng kết hợp. Cách tiếp cận này có thể chứng minh là có hiệu lực cao trong việc điều trị các tình trạng bệnh bằng cách nhắm đích nhiều quá trình truyền tín hiệu, làm giảm khả năng xuất hiện sự kháng được chất ở tế bào, và làm giảm độc tính của việc điều trị bệnh.

Các kinaza mà muối và hợp chất gắn kết với và/hoặc điều biến (ví dụ, ức chế) bao gồm thành viên bất kỳ của họ PI3K. Theo một vài phương án, PI3K là PI3K α , PI3K β , PI3K δ , hoặc PI3K γ . Theo một vài phương án, PI3K là PI3K δ hoặc PI3K γ . Theo một vài phương án, PI3K là PI3K δ . Theo một vài phương án, PI3K là PI3K γ . Theo một vài phương án, PI3K bao gồm đột biến. Đột biến có thể được thay thế một axit amin cho một axit amin khác, hoặc mất một hoặc nhiều axit amin. Theo các phương án này, đột biến có thể có mặt ở vùng kinaza của PI3K.

Theo một vài phương án, nhiều hơn một muối hoặc hợp chất theo sáng chế được sử dụng để ức chế hoạt tính của một kinaza (ví dụ, PI3K δ hoặc PI3K γ).

Theo một vài phương án, nhiều hơn muối hoặc hợp chất theo sáng chế được sử dụng để ức chế nhiều hơn một kinaza, như ít nhất hai kinaza (ví dụ, PI3K δ và PI3K γ).

Theo một vài phương án, một hoặc nhiều muối hoặc hợp chất được sử dụng kết hợp với chất ức chế kinaza khác để ức chế hoạt tính của một kinaza (ví dụ, PI3K δ hoặc PI3K γ).

Theo một vài phương án, một hoặc nhiều muối hoặc hợp chất được sử dụng kết hợp với chất ức chế kinaza khác để ức chế hoạt tính của nhiều hơn một kinaza (ví dụ, PI3K δ hoặc PI3K γ), như ít nhất hai kinaza.

Muối và hợp chất theo sáng chế có thể là chọn lọc. Thuật ngữ “chọn lọc” được hiểu là hợp chất gắn kết hoặc ức chế kinaza lần lượt với ái lực hoặc hiệu lực lớn hơn, so với ít nhất một kinaza khác. Theo một vài phương án, muối và hợp chất theo sáng chế là chất ức chế chọn lọc PI3K δ hoặc PI3K γ so với PI3K α và/hoặc PI3K β . Theo một vài phương án, muối và hợp chất theo sáng chế là chất ức chế chọn lọc PI3K δ (ví dụ, so với PI3K α , PI3K β và PI3K γ). Theo một vài phương án, muối và hợp chất theo sáng chế là chất ức chế chọn lọc PI3K δ (ví dụ, so với PI3K α , PI3K β và PI3K γ). Theo một vài phương án, tính chọn lọc có thể là gấp ít nhất khoảng 2 lần, khoảng 5 lần, khoảng 10 lần, ít nhất khoảng 20 lần, ít nhất khoảng 50 lần, ít nhất khoảng 100 lần, ít nhất khoảng 200 lần, ít nhất khoảng 500 lần hoặc ít nhất khoảng 1000 lần. Tính chọn lọc có thể được xác định bằng các phương pháp thông thường trong lĩnh vực này. Theo một vài phương án, tính chọn lọc có thể được kiểm tra ở nồng độ K_m ATP của mỗi enzym. Theo một vài phương án, tính chọn lọc của muối và hợp chất theo sáng chế có thể được xác định bởi thử nghiệm tế bào kết hợp với hoạt tính PI3K kinaza cụ thể.

Khía cạnh khác của sáng chế liên quan đến việc điều trị bệnh hoặc rối loạn kết hợp với kinaza (như PI3K) ở đối tượng (ví dụ, bệnh nhân) bằng cách sử dụng cho đối tượng có nhu cầu điều trị lượng có hiệu lực điều trị hoặc liều của một hoặc nhiều muối hoặc hợp chất theo sáng chế hoặc dược phẩm của chúng. Bệnh kết hợp với PI3K có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bất kỳ mà liên kết trực tiếp hoặc gián tiếp với sự biểu hiện hoặc hoạt tính của PI3K, bao gồm sự biểu hiện quá mức và/hoặc mức hoạt tính không bình thường. Theo một vài phương án, bệnh có thể liên kết với Akt (protein kinaza B), đích động vật có vú của rapamycin (mammalian target of rapamycin: mTOR), hoặc kinaza phụ thuộc phosphoinositide (phosphoinositide-dependent kinase 1: PDK1). Theo một vài phương án, bệnh liên quan đến mTOR có thể là bệnh viêm, chứng vữa xơ động mạch, bệnh vảy nến, chứng tái phát hẹp, u tuyến tiền liệt lành tính, rối loạn xương, bệnh viêm tụy, sự tạo mạch, bệnh vồng mạc đái tháo đường, chứng vữa xơ động mạch, bệnh viêm khớp, rối loạn miễn dịch học, bệnh thận, hoặc bệnh ung thư. Bệnh kết hợp với PI3K còn có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bất kỳ có thể được ngăn

ngừa, cải thiện, hoặc điều trị bằng cách điều biến hoạt tính của PI3K. Theo một vài phương án, bệnh được đặc trưng bởi hoạt tính không bình thường của PI3K. Theo một vài phương án, bệnh được đặc trưng bởi PI3K đột biến. Theo các phương án này, đột biến có thể có mặt ở vùng kinaza của PI3K.

Ví dụ về bệnh kết hợp với PIK3 bao gồm bệnh nền tự miễn liên quan đến hệ thống bao gồm, ví dụ, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh dị ứng, bệnh hen, bệnh viêm thận tiểu cầu, bệnh lupus, hoặc bệnh viêm liên quan đến bệnh bất kỳ nêu trên.

Ví dụ khác về bệnh kết hợp với PIK3 bao gồm bệnh ung thư như ung thư vú, tuyến tiền liệt, ruột kết, nội mạc tử cung, não, bàng quang, da, tử cung, buồng trứng, phổi, tuyến tụy, thận, dạ dày, hoặc ung thư máu.

Ví dụ khác về bệnh kết hợp với PIK3 bao gồm bệnh phổi như tổn thương phổi cấp tính (acute lung injury: ALI) và hội chứng kiệt sức hô hấp ở người trưởng thành (adult respiratory distress syndrome: ARDS).

Ví dụ khác về bệnh kết hợp với PIK3 bao gồm bệnh thoái hóa khớp, chứng tái phát hẹp, chứng vữa xơ động mạch, rối loạn xương, bệnh viêm khớp, bệnh vồng mạch đái tháo đường, bệnh vảy nến, u tuyến tiền liệt lành tính, bệnh viêm, sự tạo mạch, bệnh viêm tụy, bệnh thận, bệnh viêm ruột, bệnh nhược cơ, bệnh đa xơ cứng, hoặc hội chứng Sjögren, và tương tự.

Ví dụ khác về bệnh kết hợp với PIK3 bao gồm ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát (idiopathic thrombocytopenic purpura: ITP), thiếu máu mất hồng cầu tự miễn (autoimmune hemolytic anemia: AIHA), bệnh viêm mạch, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh thận lupus, bệnh pemphigus, bệnh thận màng, bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính (chronic lymphocytic leukemia: CLL), u lympho không Hodgkin (Non-Hodgkin lymphoma: NHL), bệnh bạch cầu tế bào tóc, u lympho tế bào vỏ, u lympho Burkitt, u lympho lympho bào nhỏ, u lympho nang, u lympho lympho-tương bào, u lympho vùng rìa ngoài nút, u lympho tế bào T lớn lan tỏa giống tế bào B hoạt hóa (ABC), hoặc u lympho tế bào T lớn lan tỏa tế bào B trung tâm mầm (GCB).

Theo một vài phương án, bệnh này được chọn từ ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát (ITP), thiếu máu mất hồng cầu tự miễn, bệnh viêm mạch, bệnh lupus

ban đỏ hệ thống, bệnh thận lupus, bệnh pemphigus, thiếu máu mất hồng cầu tự miễn (AIHA), bệnh thận màng, bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính (CLL), u lympho không Hodgkin (NHL), bệnh bạch cầu tế bào tóc, u lympho tế bào vò, u lympho Burkitt, u lympho lympho bào nhỏ, u lympho nang, u lympho lympho-tương bào, u lympho vùng rìa ngoài nút, u lympho Hodgkin, macroglobulin huyết Waldenstrom, bệnh bạch cầu tiền lympho bào, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính, xơ hóa tủy xương, u lympho mô lympho kết hợp với niêm mạc (mucosa-associated lymphatic tissue: MALT), u lympho tế bào B, u lympho tế bào B lớn trung thất (tuyến ức), bệnh bạch cầu hạt dạng lympho, u lympho vùng rìa của lách, u lympho tràn dịch nguyên phát, u lympho tế bào B lớn nội mạch, bệnh bạch cầu tương bào, u tương bào ngoài tủy, u tủy xương tiềm tàng (còn được gọi là u tủy xương không triệu chứng), bệnh lý gama đơn dòng có ý nghĩa chưa xác định (Monoclonal gammopathy of undetermined significance: MGUS) và u lympho tế bào B.

Theo một vài phương án, phương pháp này là phương pháp điều trị ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát (ITP) được chọn từ ITP tái phát và ITP dai dẳng.

Theo một vài phương án, phương pháp này là phương pháp điều trị bệnh viêm mạch được chọn từ bệnh Behçet, hội chứng Cogan, bệnh viêm động mạch tế bào khổng lồ, đau cơ dạng thấp (polymyalgia rheumatica: PMR), bệnh viêm động mạch Takayasu, bệnh Buerger (viêm thuyên tắc mạch máu), bệnh viêm mạch hệ thần kinh trung ương, bệnh Kawasaki, viêm nút quanh động mạch, hội chứng Churg-Strauss, bệnh viêm mạch cryoglobulin huyết hỗn hợp (bản chất hoặc do virus viêm gan C (hepatitis C virus: HCV) gây ra), ban xuất huyết Henoch-Schönlein (Henoch-Schönlein purpura: HSP), bệnh viêm mạch quá mẫn, viêm nhiều mạch nhỏ, u hạt Wegener, và bệnh viêm mạch hệ thống kết hợp với kháng thể bào tương kháng bạch cầu trung tính (anti-neutrophil cytoplasm antibody: ANCA) (AASV).

Theo một vài phương án, phương pháp này là phương pháp điều trị u lympho không Hodgkin (NHL) được chọn từ NHL tái diễn, NHL dai dẳng, và NHL có nang tái diễn.

Theo một vài phương án, phương pháp này là phương pháp điều trị u lympho tế bào B, trong đó u lympho tế bào B là u lympho tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B cell lymphoma: DLBCL).

Theo một vài phương án, phương pháp này là phương pháp điều trị u lympho tế bào B, trong đó u lympho tế bào B là u lympho tế bào T lớn lan tỏa giống tế bào B hoạt hóa (ABC), hoặc u lympho tế bào T lớn lan tỏa tế bào B trung tâm mầm (GCB).

Theo một vài phương án, bệnh này là bệnh thoái hóa khớp, chứng tái phát hẹp, chứng vữa xơ động mạch, rối loạn xương, bệnh viêm khớp, bệnh vồng mạc đại tháo đường, bệnh vẩy nến, u tuyến tiền liệt lành tính, bệnh viêm, sự tạo mạch, bệnh viêm tụy, bệnh thận, bệnh viêm ruột, bệnh nhược cơ, bệnh đa xơ cứng, hoặc hội chứng Sjögren.

Theo một vài phương án, bệnh này là bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh dị ứng, bệnh hen, bệnh viêm thận tiểu cầu, bệnh lupus, hoặc bệnh viêm liên quan đến bệnh bất kỳ nêu trên.

Theo một vài phương án, bệnh lupus là bệnh lupus ban đỏ hệ thống hoặc bệnh thận lupus.

Theo một vài phương án, bệnh này là bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư não, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư da, bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư dạ dày, hoặc bệnh ung thư máu.

Theo một vài phương án, bệnh ung thư máu là bệnh bạch cầu nguyên tủy bào cấp tính hoặc bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính.

Theo một vài phương án, bệnh ung thư máu là dòng ác tính dạng lympho có nguồn gốc tế bào B bao gồm, u lympho không Hodgkin (NHL) tế bào B không đau / xâm lấn, và u lympho Hodgkin (Hodgkin's lymphoma: HL).

Theo một vài phương án, bệnh này là tổn thương phổi cấp tính (ALI) hoặc hội chứng kiệt sức hô hấp ở người trưởng thành (ARDS).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “tiếp xúc” dùng để chỉ sự mang đến cùng nhau của nhóm được chỉ ra trong hệ *in vitro* hoặc *in vivo*. Ví dụ, “tiếp xúc” PI3K với hợp chất theo sáng chế bao gồm sử dụng hợp chất theo sáng chế cho đối tượng hoặc bệnh nhân, như người, có PI3K, cũng như, ví dụ, đưa hợp chất theo sáng chế vào mẫu chứa tế bào hoặc chế phẩm tinh khiết chứa PI3K.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” hoặc “bệnh nhân,” được sử dụng thay đổi cho nhau, dùng để chỉ động vật bất kỳ, bao gồm động vật có vú, tốt hơn là chuột nhắt, chuột cống, các loài gặm nhấm khác, thỏ, chó, mèo, lợn, gia súc, cừu, ngựa, hoặc động vật linh trưởng, và tốt nhất là người.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “lượng có hiệu lực điều trị” dùng để chỉ lượng hoạt chất hoặc dược chất mà tạo ra đáp ứng sinh học hoặc y học được nhắm vào mô, hệ thống, động vật, đối tượng hoặc người bởi nhà nghiên cứu, bác sĩ thú y, bác sĩ hoặc thầy thuốc lâm sàng khác. Theo một vài phương án, phân liều hợp chất, hoặc muối dược dụng của chúng, được sử dụng cho bệnh nhân hoặc đối tượng nằm trong khoảng từ 1 mg đến 2 g, khoảng 1 mg đến 1000 mg, khoảng 1 mg đến 500 mg, khoảng 1 mg đến 100 mg, khoảng 1 mg đến 50 mg, hoặc khoảng 50 mg đến 500 mg.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” dùng để chỉ một hoặc nhiều hoạt động (1) ngăn ngừa bệnh; ví dụ, ngăn ngừa bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở đối tượng mà có thể có khả năng mắc bệnh, tình trạng hoặc rối loạn nhưng vẫn chưa có hoặc biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng bệnh; (2) ức chế bệnh; ví dụ, ức chế bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở đối tượng đang có hoặc biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng bệnh, tình trạng hoặc rối loạn (tức là, làm ngừng sự phát triển thêm của bệnh lý và/hoặc triệu chứng); và (3) cải thiện bệnh; ví dụ, cải thiện bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở đối tượng đang có hoặc biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng bệnh, tình trạng hoặc rối loạn (tức là, đảo chiều bệnh lý và/hoặc triệu chứng) như làm giảm mức độ nặng của bệnh.

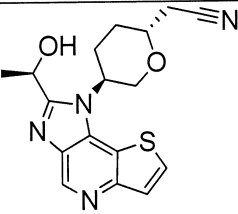
Liệu pháp kết hợp

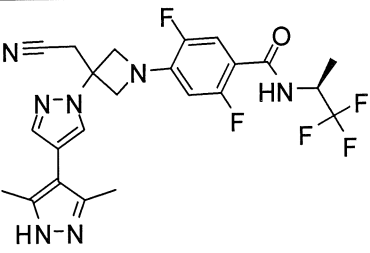
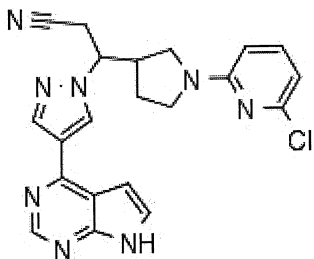
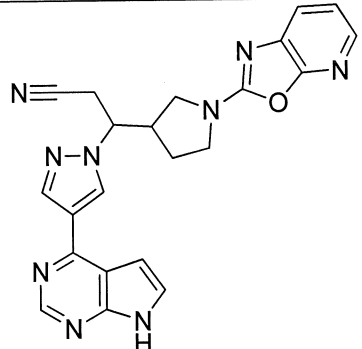
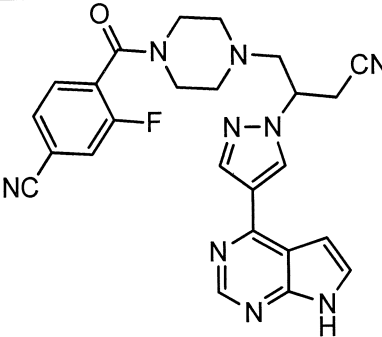
Một hoặc nhiều dược chất khác như, ví dụ, hóa trị liệu, chất chống viêm, steroid, chất ức chế miễn dịch, cũng như chất ức chế kinaza Bcr-Abl, Flt-3, EGFR, HER2, JAK (ví dụ, JAK1 hoặc JAK2), c-MET, VEGFR, PDGFR, cKit, IGF-1R, RAF, FAK, Akt mTOR, PIM, và AKT (ví dụ, AKT1, AKT2, hoặc AKT3) như, ví dụ, các chất được mô tả trong WO 2006/056399, hoặc các chất khác như, kháng thể điều trị có thể được sử dụng kết hợp với muối hoặc hợp chất theo sáng chế để điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng kết hợp với PI3K. Một hoặc nhiều dược chất khác có thể được sử dụng cho bệnh nhân đồng thời hoặc lần lượt.

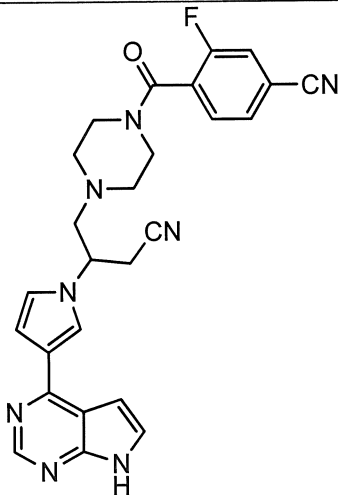
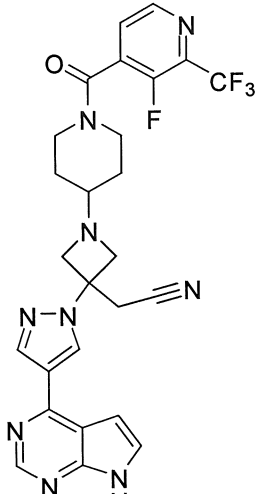
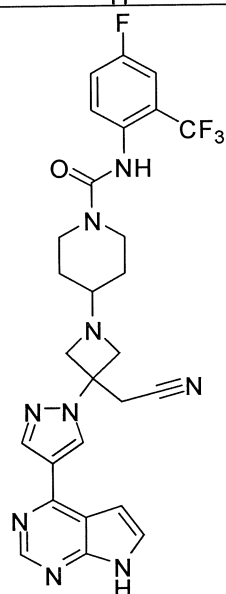
Theo một vài phương án, dược chất khác là chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2. Theo một vài phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh được mô tả ở đây (ví dụ, bệnh ác tính tế bào B, như u lympho tế bào B lan tỏa) ở bệnh nhân bao gồm sử dụng cho bệnh nhân hợp chất được mô tả ở đây, hoặc muối được dụng của chúng, và chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2. Bệnh ác tính tế bào B có thể bao gồm các bệnh được mô tả ở đây và trong đơn Mỹ số 61/976,815, nộp ngày 8 tháng 4 năm 2014.

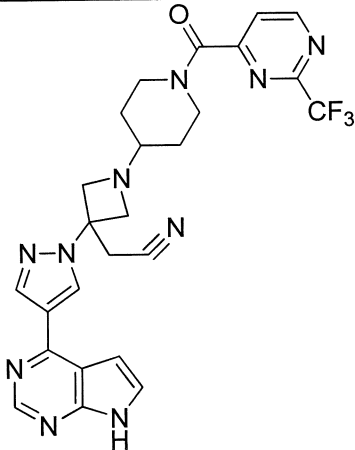
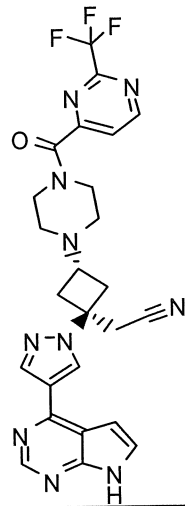
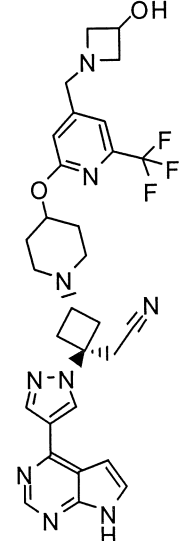
Theo một vài phương án, chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2 là hợp chất trong bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng. Hợp chất trong bảng 1 là chất ức chế JAK1 chọn lọc (chọn lọc so với JAK2, JAK3, và TYK2). IC₅₀ thu được bằng phương pháp thử nghiệm A ở 1mM ATP được thể hiện trên bảng 1.

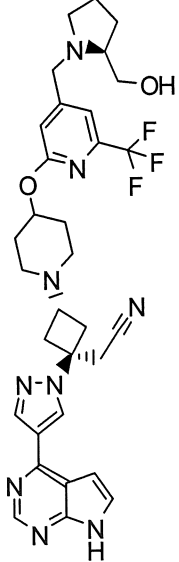
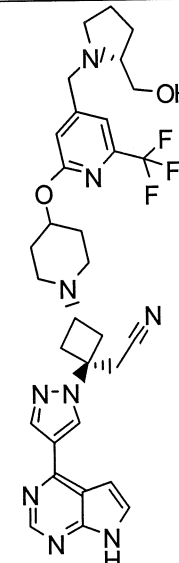
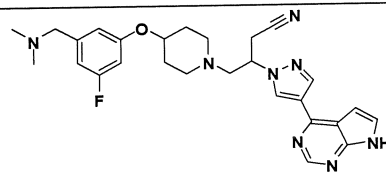
Bảng 1

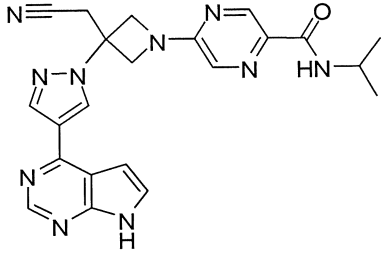
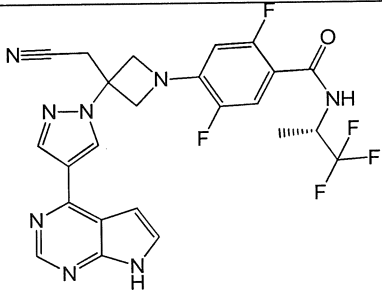
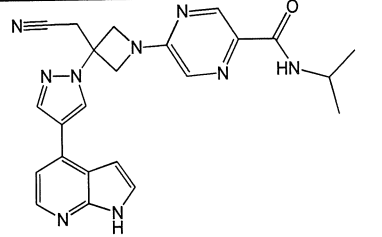
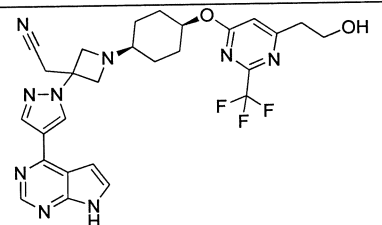
#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/JAK 1
1	US 2014/0121198, (Ví dụ 20)	((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-hydroxyethyl]-1H-imidazo[4,5-d]thieno[3,2-b]pyridin-1-		++	>10

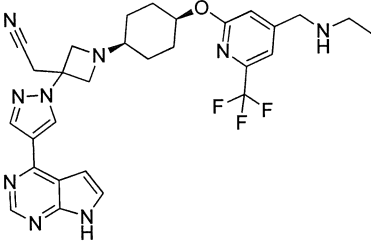
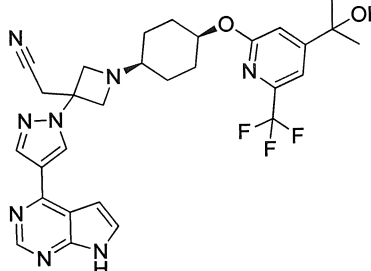
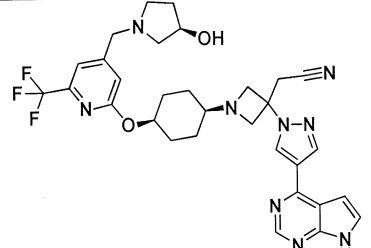
#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
		yl}tetrahydro-2H-pyran-2-yl)axetonitril			
2	US 2014/0343030, (Ví dụ 7)	4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimethyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamidit		+++	>10
3	US 2010/0298334 (Ví dụ 2) ^a	3-[1-(6-clopyridin-2-yl)pyrrolidin-3-yl]-3-[4-(7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propannitril		+	>10
4	US 2010/0298334 (Ví dụ 13c)	3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]pyridin-2-ylpyrrolidin-3-yl)-3-[4-(7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propannitril		+	>10
5	US 2011/0059951 (Ví dụ 12)	4-[(4-{3-xyno-2-[4-(7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propyl}piperazin-1-yl)carbonyl]-3-flobenzonitril		+	>10

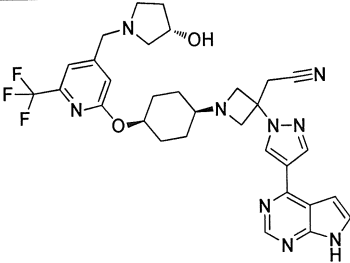
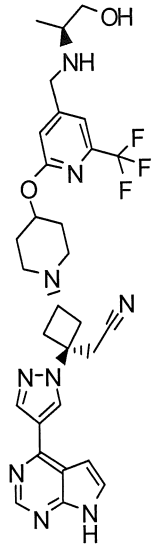
#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
6	US 2011/005995 1 (Ví dụ 13)	4-[(4-{3-xyano-2-[3-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrol-1-yl]propyl}piperazin-1-yl)carbonyl]-3-flobenzonitril		+	>10
7	US 2011/022419 0 (Ví dụ 1)	{1-{1-[3-Flo-2-(triflometyl)isonicotinoyl]piperidin-4-yl}-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril		+	>10
8	US 2011/022419 0 (Ví dụ 154)	4-{3-(Xyanometyl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-[4-flo-2-(triflometyl)phenyl]piperidin-1-carboxamit		+	>10

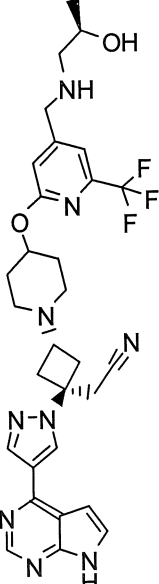
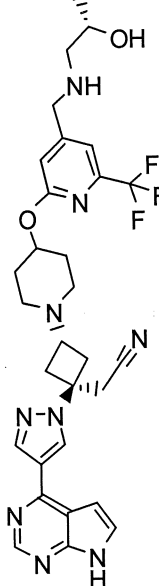
#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
9	US 2011/ 022419 0 (Ví dụ 85)	[3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]-1-(1-{[2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl]carbonyl}piperidin-4-yl)azetidin-3-yl]axetonitril		+	>10
10	US 2012/ 014968 1 (Ví dụ 7b)	[<i>trans</i> -1-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]-3-(4-{[2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl]carbonyl}piperazin-1-yl)xyclobutyl]axetonitril		+	>10
11	US 2012/ 014968 1 (Ví dụ 157)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-[(3-hydroxyazetidin-1-yl)methyl]-6-(triflometyl)pyridin-2-yl]oxy}piperidin-1-yl)-1-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]xyclobutyl}axetonitril		+	>10

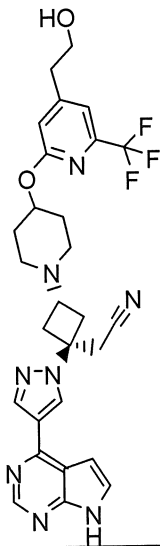
#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
12	US 2012/014968 1 (Ví dụ 161)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4- {[(2S)-2-(hydroxymethyl)pyr- olidin-1-yl]methyl}- 6-(triflometyl)pyridin- 2-yl]oxy}piperidin-1- yl)-1-[4-(7H-pyrol- o[2,3-d]pyrimidin-4-yl)- 1H-pyrazol-1-yl]xyclobutyl}axet- onitril		+	>10
13	US 2012/014968 1 (Ví dụ 162)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4- {[(2R)-2-(hydroxymethyl)pyr- olidin-1-yl]methyl}- 6-(triflometyl)pyridin- 2-yl]oxy}piperidin-1- yl)-1-[4-(7H-pyrol- o[2,3-d]pyrimidin-4-yl)- 1H-pyrazol-1-yl]xyclobutyl}axet- onitril		+	>10
14	US 2012/014968 2 (Ví dụ 20) ^b	4-(4-{3- [(dimethylamino)me- tyl]-5-flophenoxy}piperid- in-1-yl)-3-[4-(7H-pyrol- o[2,3-d]pyrimidin-4-yl)- 1H-pyrazol-1-yl]butanenitril		+	>10

#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
15	US 2013/001803 4 (Ví dụ 18)	5-{3-(xyanometyl)-3-[4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit		+	>10
16	US 2013/001803 4 (Ví dụ 28)	4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid		+	>10
17	US 2013/001803 4 (Ví dụ 34)	5-{3-(xyanometyl)-3-[4-(1H-pyrido[2,3-b]pyridin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit		+	>10
18	US 2013/004596 3 (Ví dụ 45)	{1-(cis-4-{[6-(2-hydroxyetyl)-2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl]oxy}xyclohexyl)-3-[4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril		+	>10

#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
19	US 2013/004596 3 (Ví dụ 65)	{1-(<i>cis</i> -4-{[4-[(etylamino)metyl]-6-(triflometyl)pyridin-2-yl]oxy}xyclohexyl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl} axetonitril		+	>10
20	US 2013/004596 3 (Ví dụ 69)	{1-(<i>cis</i> -4-{[4-(1-hydroxy-1-metyletyl)-6-(triflometyl)pyridin-2-yl]oxy}xyclohexyl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl} axetonitril		+	>10
21	US 2013/004596 3 (Ví dụ 95)	{1-(<i>cis</i> -4-{[4-{[(3R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl]metyl}-6-(triflometyl)pyridin-2-yl]oxy}xyclohexyl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl} axetonitril		+	>10

#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
22	US 2013/ 004596 3 (Ví dụ 95)	{1-(<i>cis</i> -4-{[4- {[(3 <i>S</i>)-3- hydroxypyrolidin- 1-yl]methyl}-6- (triflometyl)pyridin -2- yl]oxy}xyclohexyl) -3-[4-(7H- pyrolo[2,3- d]pyrimidin-4-yl)- 1H-pyrazol-1- yl]azetidin-3- yl}axetonitril		+	>10
23	US 2014/ 000516 6 (Ví dụ 1)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4- ({[(1 <i>S</i>)-2-hydroxy- 1- metyletyl]amino}m etyl)-6- (triflometyl)pyridin -2- yl]oxy}piperidin-1- yl)-1-[4-(7H- pyrolo[2,3- d]pyrimidin-4-yl)- 1H-pyrazol-1- yl]xyclobutyl}axet onitril		+	>10

#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
24	US 2014/0005166 (Ví dụ 14)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-({[(2R)-2-hydroxypropyl]amino}methyl)-6-(triflometyl)pyridin-2-yl]oxy}piperidin-1-yl)-1-[4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]xyclobutyl}axetonitril		+	>10
25	US 2014/0005166 (Ví dụ 15)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-({[(2S)-2-hydroxypropyl]amino}methyl)-6-(triflometyl)pyridin-2-yl]oxy}piperidin-1-yl)-1-[4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]xyclobutyl}axetonitril		+	>10

#	Điều chế	Tên	Cấu trúc	JAK 1 IC ₅₀ (nM)	JAK 2/ JAK 1
26	US 2014/000516 6 (Ví dụ 20)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-(2-hydroxyethyl)-6-(triflormethyl)pyridin-2-yl]oxy}piperidin-1-yl)-1-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]xyclobutyl}axetonitril		+	>10

+ giá trị trung bình <10 nM

++ giá trị trung bình ≤ 100 nM

+++ giá trị trung bình ≤ 300 nM

^aSố liệu cho chất đồng phân đối ảnh 1

^bSố liệu cho chất đồng phân đối ảnh 2

Theo một vài phương án, chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2 là {1-{1-[3-fluoro-2-(triflormethyl)isonicotinoyl]piperidin-4-yl}-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril, hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một vài phương án, chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2 là muối của axit adipic của {1-{1-[3-fluoro-2-(triflormethyl)isonicotinoyl]piperidin-4-yl}-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril.

Theo một vài phương án, chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2 là 4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một vài phương án, chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2 được chọn từ (R)-3-[1-(6-clopyridin-2-yl)pyrrolidin-3-yl]-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propannitril, (R)-3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]pyridin-2-ylpyrrolidin-3-yl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propannitril, (R)-4-[(4-

{3-xyano-2-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propyl}piperazin-1-yl)carbonyl]-3-flobenzonitril, (R)-4-[(4-{3-xyano-2-[3-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrol-1-yl]propyl}piperazin-1-yl)carbonyl]-3-flobenzonitril, hoặc (R)-4-(4-{3-[(dimethylamino)metyl]-5-flophenoxy}piperidin-1-yl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]butanenitril, (S)-3-[1-(6-clopyridin-2-yl)pyrolidin-3-yl]-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propannitril, (S)-3-(1-[1,3]oxazolo[5,4-b]pyridin-2-ylpyrolidin-3-yl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propannitril, (S)-4-[(4-{3-xyano-2-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]propyl}piperazin-1-yl)carbonyl]-3-flobenzonitril, (S)-4-[(4-{3-xyano-2-[3-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrol-1-yl]propyl}piperazin-1-yl)carbonyl]-3-flobenzonitril, (S)-4-(4-{3-[(dimethylamino)metyl]-5-flophenoxy}piperidin-1-yl)-3-[4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)-1H-pyrazol-1-yl]butannitril; và muối được dụng của hợp chất bất kỳ nêu trên.

Theo một vài phương án, chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK2 được chọn từ hợp chất của công bố patent Mỹ số 2010/0298334, nộp ngày 21 tháng 5 năm 2010, công bố patent Mỹ số 2011/0059951, nộp ngày 31 tháng 8 năm 2010, công bố patent Mỹ số 2011/0224190, nộp ngày 9 tháng 3 năm 2011, công bố patent Mỹ số 2012/0149681, nộp ngày 18 tháng 11 năm 2011, công bố patent Mỹ số 2012/0149682, nộp ngày 18 tháng 11 năm 2011, công bố patent Mỹ số 2013/0018034, nộp ngày 19 tháng 6 năm 2012, công bố patent Mỹ số 2013/0045963, nộp ngày 17 tháng 8 năm 2012, và công bố patent Mỹ số 2014/0005166, nộp ngày 17 tháng 5 năm 2013, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Ví dụ về kháng thể để sử dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm nhưng không giới hạn ở trastuzumab (ví dụ, kháng-HER2), ranibizumab (ví dụ, kháng-VEGF-A), bevacizumab (Avastin™, ví dụ, kháng-VEGF), panitumumab (ví dụ, kháng-EGFR), cetuximab (ví dụ, kháng-EGFR), rituximab (Rituxan™, kháng-CD20) và kháng thể nhắm vào c-MET.

Một hoặc nhiều chất sau đây có thể được sử dụng kết hợp với muối hoặc hợp chất theo sáng chế và được trình bày dưới dạng danh sách không giới hạn: chất kìm tế bào, cisplatin, doxorubicin, taxotere, taxol, etoposide, irinotecan, camptostar, topotecan, paclitaxel, docetaxel, epothilon, tamoxifen, 5-flouracil, methoxtrexat, temozolomide, xyclophosphamit, SCH 66336, R115777, L778,123, BMS 214662, Iressa, Tarceva, kháng thể đối với EGFR, Gleevec™, intron, ara-C, adriamycin, cytoxan, gemcitabine, Uracil mustard, Chlormethine, Ifosfamid, Melphalan, Chlorambucil, Pipobroman, Trietylenmelamin, Triethylthiophosphoramin, Busulfan, Carmustine, Lomustine, Streptozocin, Dacarbazine, Floxuridine, Cytarabine, 6-Mercaptopurine, 6-Thioguanine, Fludarabine phosphat, oxaliplatin, leucovirin, ELOXATIN™, Pentostatine, Vinblastine, Vincristine, Vindesine, Bleomycin, Dactinomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Mithramycin, Deoxycoformycin, Mitomycin-C, L-Asparaginase, Teniposide 17, alpha.-Ethinylestradiol, Diethylstilbestrol, Testosterone, Prednison, Fluoxymesterone, Dromostanolone propionate, Testolactone, Megestrolaxetat, Metylprednisolone, Metyltestosterone, Prednisolone, Triamcinolone, Clotrianisene, Hydroxyprogesterone, Aminoglutethimide, Estramustine, Medroxyprogesteroneaxetat, Leuprolide, Flutamit, Toremifene, goserelin, Cisplatin, Carboplatin, Hydroxyurea, Amsacrine, Procarbazine, Mitotane, Mitoxantrone, Levamisole, Navelbene, Anastrozole, Letrazole, Capecitabine, Reloxafine, Droloxafine, Hexametylmelamin, Avastin, herceptin, Bexxar, Velcade, Zevalin, Trisenox, Xeloda, Vinorelbine, Porfimer, Erbitux, Liposomal, Thiotepa, Altretamin, Melphalan, Trastuzumab, Lerozole, Fulvestrant, Exemestane, Fulvestrant, Ifosfomide, Rituximab, C225, Campath, Clofarabine, cladribine, aphidicolon, rituxan, sunitinib, dasatinib, tezacitabine, Sml1, fludarabine, pentostatin, triapine, didox, trimidox, amidox, 3-AP, MDL-101,731, bendamustine (Treanda), ofatumumab, và GS-1101 (còn được gọi là CAL-101).

Ví dụ về hóa chất trị liệu bao gồm chất ức chế proteosome (ví dụ, bortezomib), thalidomide, revlimid, và chất gây hại ADN như melphalan, doxorubicin, xyclophosphamit, vincristine, etoposide, carmustine, và tương tự.

Ví dụ về steroid bao gồm corticosteroid như dexamethason hoặc prednison.

Ví dụ về chất ức chế Bcr-Abl bao gồm hợp chất và muối được dùng của chúng, của loại và dạng được mô tả trong Patent Mỹ số 5,521,184, WO 04/005281, và đơn Mỹ số 60/578,491.

Ví dụ về chất ức chế Flt-3 thích hợp bao gồm hợp chất, và muối được dùng của chúng, như được mô tả trong WO 03/037347, WO 03/099771, và WO 04/046120.

Ví dụ chất ức chế RAF thích hợp bao gồm hợp chất, và muối được dùng của chúng, như được mô tả trong WO 00/09495 và WO 05/028444.

Ví dụ chất ức chế FAK thích hợp bao gồm hợp chất, và muối được dùng của chúng, như được mô tả trong WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595, và WO 01/014402.

Ví dụ chất ức chế mTOR thích hợp bao gồm hợp chất, và muối được dùng của chúng, như được mô tả trong WO 2011/025889.

Theo một vài phương án, muối và hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế kinaza khác bao gồm imatinib, cụ thể là để điều trị cho bệnh nhân kháng với imatinib hoặc chất ức chế kinaza khác.

Theo một vài phương án, muối và hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với hóa trị liệu để điều trị bệnh ung thư, như bệnh đa u tủy, và có thể cải thiện sự đáp ứng điều trị khi so với sự đáp ứng với một mình tác nhân hóa trị liệu, mà không làm tăng các tác dụng độc của nó. Ví dụ về dược chất khác được sử dụng để điều trị bệnh đa u tủy, ví dụ, có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, melphalan, melphalan cộng với prednison [MP], doxorubicin, dexamethason, và Velcade (bortezomib). Các tác nhân khác nữa được sử dụng để điều trị bệnh đa u tủy bao gồm Bcr-Abl, Flt-3, RAF và chất ức chế FAK kinaza. Tác dụng thêm hoặc tác dụng hiệp đồng là kết quả mong muốn của việc kết hợp chất ức chế PI3K theo sáng chế với tác nhân khác. Ngoài ra, sự kháng của các tế bào đa u tủy với tác nhân

như dexamethason có thể đảo ngược việc điều trị bằng chất ức chế PI3K theo sáng chế. Tác nhân này có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế ở dạng liều đơn hoặc liều liên tục, hoặc tác nhân có thể được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt ở dạng liều riêng biệt.

Theo một vài phương án, corticosteroid như dexamethason được sử dụng cho bệnh nhân kết hợp với muối và hợp chất theo sáng chế trong đó dexamethason được sử dụng không liên tục như đối lập với liên tục.

Theo một vài phương án khác, sự kết hợp muối và hợp chất theo sáng chế với tác nhân điều trị khác có thể được sử dụng cho bệnh nhân trước, trong, và/hoặc sau khi ghép tủy xương hoặc ghép tế bào gốc.

Dược phẩm và dạng liều

Khi được sử dụng làm dược phẩm, hợp chất và muối theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng dược phẩm. Các dược phẩm này có thể được bào chế theo cách đã biết rõ trong lĩnh vực dược, và có thể được sử dụng bằng các đường khác nhau, tùy thuộc vào việc điều trị tại chỗ hay toàn thân được mong muốn và vào vùng được điều trị. Việc sử dụng có thể là tại chỗ (bao gồm qua da, biểu bì, trong mắt và cho màng nhầy bao gồm phân phối trong mũi, âm đạo và trực tràng), phổi (ví dụ, bằng cách hít hoặc bơm bột hoặc sol khí, bao gồm bằng máy khí dung; trong khí quản hoặc trong mũi), qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm sử dụng trong tĩnh mạch, trong động mạch, dưới da, trong màng bụng, trong cơ hoặc tiêm hoặc truyền; hoặc trong sọ, ví dụ, nội mạc tủy hoặc nội tâm thất. Sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể ở dạng một liều thuốc lớn, hoặc có thể là, ví dụ, bằng bơm thông máu liên tục. Dược phẩm và chế phẩm để sử dụng tại chỗ có thể bao gồm miếng dán qua da, thuốc mỡ, thuốc xức, kem, gel, thuốc nhỏ giọt, thuốc đạn, thuốc phun, thuốc lỏng và bột. Chất mang dược thông thường, chứa nước, nền bột hoặc dầu, chất làm dày và tương tự có thể là cần thiết hoặc mong muốn.

Sáng chế cũng bao gồm dược phẩm chứa, làm hoạt chất, hợp chất hoặc muối theo sáng chế (ví dụ, muối của axit clohydric của hợp chất có công thức I), kết hợp

với một hoặc nhiều chất mang dược dụng (tá dược). Theo một vài phương án, dược phẩm là thích hợp để sử dụng tại chỗ. Trong quá trình bào chế dược phẩm theo sáng chế, hoạt chất thường được trộn với tá dược, pha loãng bằng tá dược hoặc được bao trong chất mang ở dạng, ví dụ, viên nang, gói, giấy, hoặc đồ chứa khác. Khi tá dược làm chất pha loãng, nó có thể là nguyên liệu rắn, bán rắn, hoặc lỏng, làm chất dẫn, chất mang hoặc môi trường cho hoạt chất. Do đó, dược phẩm có thể ở dạng viên nén, viên thuốc, bột, viên thuốc hình thoi, gói, viên nhện, cốm ngọt, hỗn dịch, nhũ dịch, dung dịch, sirô, sol khí (ở dạng môi trường rắn hoặc lỏng), thuốc mỡ chứa, ví dụ, tới 10% theo trọng lượng của hoạt chất, viên nang gelatin mềm và cứng, thuốc đạn, dung dịch để tiêm vô trùng, và bột đóng gói vô trùng.

Để điều chế chế phẩm, hoạt chất hoặc muối có thể được nghiền để tạo thành cỡ hạt thích hợp trước khi kết hợp với các thành phần khác. Nếu hoạt chất hoặc muối gần như không tan, nó có thể được nghiền thành cỡ hạt nhỏ hơn 200 mesh. Nếu hoạt chất hoặc muối gần như tan trong nước, cỡ hạt có thể được điều chỉnh bằng cách nghiền để tạo thành sự phân bố gần như đồng nhất trong chế phẩm, ví dụ, khoảng 40 mesh.

Hợp chất và muối theo sáng chế có thể được nghiền bằng cách sử dụng quy trình nghiền đã biết như nghiền ướt để thu được cỡ hạt thích hợp cho chế phẩm viên nén và cho các loại chế phẩm khác. Chế phẩm được nghiền mịn (hạt nano) chứa muối và hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng quy trình đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, xem đơn quốc tế số WO 2002/000196.

Một vài ví dụ về tá dược thích hợp bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, tinh bột, gôm acacia, canxi phosphat, alginat, tragacanth, gelatin, canxi silicat, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, xenluloza, nước, sirô, và metyl xenluloza. Chế phẩm còn có thể bao gồm: chất làm trơn như bột talc, magie stearat, và dầu khoáng; chất tạo ẩm; chất nhũ hóa và chất tạo hỗn dịch; chất bảo quản như metyl- và propylhydroxy-benzoat; chất tạo ngọt; và chất tạo mùi vị. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế sao cho tạo ra sự giải phóng nhanh, kéo dài hoặc chậm của hoạt chất sau khi sử dụng cho bệnh nhân bằng cách sử dụng quy trình đã biết trong lĩnh vực này.

Dược phẩm có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị, mỗi liều chứa từ 5 đến 1000 mg (1 g), thông thường hơn là từ 100 đến 500 mg, hoạt chất. Thuật ngữ "dạng liều đơn vị" dùng để chỉ đơn vị riêng biệt về mặt vật lý thích hợp làm liều đơn nhất cho đối tượng người và các động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa lượng xác định trước của hoạt chất được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn, kết hợp với tá dược thích hợp.

Theo một vài phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa từ 5 đến 50 mg hoạt chất. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng dược phẩm này chứa từ 5 đến 10, từ 10 đến 15, từ 15 đến 20, từ 20 đến 25, từ 25 đến 30, từ 30 đến 35, từ 35 đến 40, từ 40 đến 45, hoặc từ 45 đến 50 mg hoạt chất.

Theo một vài phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa khoảng 2,5, khoảng 5, khoảng 7,5, khoảng 10, khoảng 12,5, khoảng 15, khoảng 17,5, khoảng 20, khoảng 22,5, hoặc khoảng 25mg hoạt chất. Theo một vài phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa khoảng 5mg hoạt chất. Theo một vài phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa khoảng 10mg hoạt chất.

Liều tương tự có thể được sử dụng chứa hợp chất và muối được mô tả ở đây trong phương pháp và sử dụng theo sáng chế.

Hoạt chất hoặc muối có thể là hữu hiệu trong khoảng liều rộng và thường được sử dụng với lượng có hiệu lực dược. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng lượng hợp chất hoặc muối được sử dụng thực tế thường sẽ được xác định bởi thầy thuốc, theo các trường hợp liên quan, bao gồm tình trạng được điều trị, đường sử dụng được chọn, hợp chất hoặc muối thực tế được sử dụng, tuổi, trọng lượng, và đáp ứng của bệnh nhân riêng, mức độ nặng của triệu chứng của bệnh nhân, và tương tự.

Để bào chế dược phẩm như viên nén, hoạt chất chính được trộn với tá dược để tạo thành dược phẩm bào chế sơ bộ dạng rắn chứa hỗn hợp đồng nhất của hợp chất hoặc muối theo sáng chế. Khi đề cập đến dược phẩm bào chế sơ bộ này là đồng nhất, hoạt chất thường được phân tán đều khắp dược phẩm sao cho dược phẩm có thể được chia nhỏ dễ dàng thành dạng liều đơn vị hữu hiệu bằng nhau như viên nén, viên thuốc và viên nang. Sau đó, dạng bào chế sơ bộ rắn này được chia

nhỏ thành dạng liều đơn vị thuộc loại nêu trên chứa từ, ví dụ, khoảng 0,1 đến 1000 mg hoạt chất theo sáng chế.

Viên nén hoặc viên thuốc theo sáng chế có thể được phủ hoặc được trộn theo cách khác để tạo thành dạng liều đem lại ưu điểm tác dụng kéo dài. Ví dụ, viên nén hoặc viên thuốc có thể chứa thành phần liều bên trong và bên ngoài, thành phần liều bên ngoài ở dạng lớp phủ trên thành phần bên trong. Hai thành phần này có thể được tách riêng bởi lớp bao tan trong ruột để ngăn cản sự tan rã trong dạ dày và cho phép thành phần bên trong đi qua nguyên vẹn vào tá tràng hoặc được giải phóng chậm. Các nguyên liệu khác nhau có thể được sử dụng cho lớp bao tan trong ruột hoặc lớp phủ này, nguyên liệu này bao gồm số lượng axit polyme và hỗn hợp các axit polyme với các nguyên liệu này là senlac, rượu xetyl, và xenluloza axetat.

Dạng lỏng trong đó hợp chất, muối, và dược phẩm theo sáng chế có thể được đưa vào để sử dụng qua đường miệng hoặc bằng cách tiêm bao gồm dung dịch chứa nước, sirô có vị thích hợp, hỗn dịch chứa nước hoặc chứa dầu, và nhũ dịch có mùi vị với dầu ăn được như dầu hạt bông, dầu vừng, dầu dừa, hoặc dầu lạc, cũng như cồn ngọt và chất dẫn được tương tự.

Dược phẩm để hít hoặc bơm bao gồm dung dịch và hỗn dịch trong dung môi hữu cơ hoặc chứa nước được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng, và bột. Dược phẩm lỏng hoặc rắn có thể chứa tá dược được dụng thích hợp như được mô tả ở trên. Theo một vài phương án, dược phẩm được sử dụng bằng đường hô hấp qua miệng hoặc mũi cho tác dụng tại chỗ hoặc toàn thân. Dược phẩm có thể được bơm khí dung bằng cách sử dụng khí trơ. Dung dịch bơm khí dung có thể được thở trực tiếp từ dụng cụ bơm khí dung hoặc dụng cụ bơm khí dung có thể được gắn với mặt nạ, nút gạc, hoặc máy thở áp lực dương gián đoạn. Dung dịch, hỗn dịch, hoặc thuốc bột có thể được sử dụng qua đường miệng hoặc qua mũi từ dụng cụ phân phối chế phẩm theo cách thích hợp.

Chế phẩm sử dụng tại chỗ có thể chứa một hoặc nhiều chất mang thông thường. Theo một vài phương án, thuốc mỡ có thể chứa nước và một hoặc nhiều chất mang kỵ nước được chọn từ, ví dụ, parafin lỏng, polyoxyetylen alkyl ete, propylen glycol, vazolin trắng, và tương tự. Thành phần chất mang của kem có thể

dựa trên nước kết hợp với glyxerol và một hoặc nhiều thành phần khác, ví dụ, glyxerinmonostearat, PEG-glyxerinmonostearat và rượu xetylstearyl. Gel có thể được bào chế bằng cách sử dụng rượu isopropylic và nước, thích hợp kết hợp với các thành phần khác như, ví dụ, glyxerol, hydroxyetyl xenluloza, và tương tự. Theo một vài phương án, chế phẩm sử dụng tại chỗ chứa ít nhất khoảng 0,1, ít nhất khoảng 0,25, ít nhất khoảng 0,5, ít nhất khoảng 1, ít nhất khoảng 2, hoặc ít nhất khoảng 5% trọng lượng của hợp chất hoặc muối theo sáng chế. Chế phẩm sử dụng tại chỗ có thể được đóng gói thích hợp trong các ống, ví dụ, 100 g tùy ý kết hợp với chỉ dẫn để điều trị chỉ định được chọn, ví dụ, bệnh vẩy nến hoặc tình trạng da khác.

Lượng hợp chất, muối, hoặc dược phẩm được sử dụng cho bệnh nhân sẽ thay đổi tùy thuộc vào cái gì đang được sử dụng, mục đích sử dụng, như dự phòng hoặc điều trị, tình trạng của bệnh nhân, cách sử dụng, và tương tự. Trong ứng dụng điều trị, dược phẩm có thể được sử dụng cho bệnh nhân từng mắc bệnh với lượng đủ để điều trị hoặc ít nhất là ngăn phần nào các triệu chứng của bệnh và các biến chứng của nó. Liều hữu hiệu sẽ tùy thuộc vào tình trạng bệnh đang được điều trị cũng như đánh giá của thầy thuốc lâm sàng đang theo dõi tùy thuộc vào các yếu tố như mức độ nặng của bệnh, tuổi, trọng lượng và tình trạng chung của bệnh nhân, và tương tự.

Dược phẩm được sử dụng cho bệnh nhân có thể ở dạng dược phẩm nêu trên. Các dược phẩm này có thể được khử trùng bằng các kỹ thuật khử trùng thông thường, hoặc có thể được lọc vô trùng. Dung dịch chứa nước có thể được đóng gói để sử dụng như thực trạng, hoặc được làm đông khô, chế phẩm được làm đông khô được kết hợp với chất mang chứa nước vô trùng trước khi sử dụng. Độ pH của chế phẩm hợp chất thường nằm trong khoảng từ 3 đến 11, tốt hơn là từ 5 đến 9 và tốt nhất là từ 7 đến 8. Cần phải hiểu rằng việc sử dụng một số tá dược, chất mang, hoặc chất ổn định nêu trên sẽ dẫn đến sự tạo thành muối dược.

Liều điều trị của hợp chất hoặc muối theo sáng chế có thể thay đổi theo, ví dụ, việc sử dụng cụ thể mà việc điều trị được tạo thành, cách sử dụng hợp chất hoặc muối, sức khỏe và tình trạng của bệnh nhân, và đánh giá của thầy thuốc kê

đơn. Tỷ lệ hoặc nồng độ của hợp chất hoặc muối theo sáng chế trong dược phẩm có thể thay đổi tùy thuộc vào một số yếu tố bao gồm liều, đặc tính hóa học (ví dụ, tính kỵ nước), và đường sử dụng. Ví dụ, hợp chất và muối theo sáng chế có thể được tạo ra trong dung dịch đệm sinh lý chứa nước chứa từ 0,1 đến 10% trọng lượng/thể tích của hợp chất để sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Một số khoảng liều thông thường nằm trong khoảng từ 1 µg/kg đến 1 g/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày. Theo một vài phương án, khoảng liều nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến 100 mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày. Liều này có thể tùy thuộc vào các biến số là loại và mức độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe chung của bệnh nhân cụ thể, hiệu quả sinh học tương đối của hợp chất được chọn, thành phần tá dược, và đường sử dụng của nó. Liều hữu hiệu có thể ngoại suy từ đường cong liều-đáp ứng thu được từ hệ thống kiểm tra mô hình động vật hoặc *in vitro*.

Dược phẩm theo sáng chế còn có thể bao gồm một hoặc nhiều dược chất khác như hóa chất trị liệu, steroid, hợp chất chống viêm, hoặc chất ức chế miễn dịch, ví dụ về chúng được nêu ở đây.

Kit

Sáng chế còn bao gồm kit dược hữu ích, ví dụ, để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc rối loạn kết hợp với PIK3, như bệnh ung thư, mà bao gồm một hoặc nhiều dụng cụ chứa chứa dược phẩm chứa lượng có hiệu lực điều trị của hợp chất theo sáng chế. Kit này còn có thể bao gồm, nếu muốn, một hoặc nhiều thành phần kit dược thông thường, như, ví dụ, dụng cụ chứa với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, dụng cụ chứa khác, v.v., như sẽ rõ ràng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Chỉ dẫn, ở dạng vật chèn hoặc ở dạng nhãn, chỉ rõ lượng thành phần được sử dụng, hướng dẫn sử dụng, và/hoặc hướng dẫn để trộn các thành phần, cũng có thể có trong kit này.

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ cụ thể. Các ví dụ sau được đưa ra nhằm mục đích minh họa, và không dự định giới hạn sáng chế theo cách bất kỳ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng thừa nhận các thông số không tới hạn khác nhau mà có thể được thay đổi hoặc cải biến

để tạo ra các kết quả về cơ bản là giống nhau. Muối của axit clohydric của hợp chất có công thức **I** và hợp chất có công thức **I** đã được phát hiện là chất ức chế PI3K theo ít nhất một thử nghiệm được mô tả ở đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ cụ thể. Các ví dụ sau được đưa ra để nhằm minh họa, và không được dự định giới hạn sáng chế theo cách bất kỳ. Hợp chất ví dụ, hoặc muối của chúng, chứa một hoặc nhiều tâm bất đối xứng thu được ở dạng raxemat hoặc ở dạng hỗn hợp chất đồng phân, trừ khi có quy định khác.

Các phương pháp chung

Phương pháp tinh chế LC-MS điều chế đối với một vài hợp chất được điều chế được thực hiện trên hệ thống phân đoạn trực tiếp khối lượng Waters. Thiết lập thiết bị cơ sở, quy trình, và phần mềm kiểm soát để vận hành các hệ thống này được mô tả chi tiết trong tài liệu. Ví dụ, xem "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, *J. Combi. Chem.*, 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 5, 670 (2003); and "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 6, 874-883 (2004). Hợp chất được tách thường được xử lý để đo phổ khối sắc ký lỏng phân tích (liquid chromatography mass spectrometry: LCMS) để phân tích độ tinh khiết trong các điều kiện sau: thiết bị; Agilent 1100 series, LC/MSD, cột: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 µm, 2,1 x 50 mm, dung dịch đệm: pha động A: 0,025% TFA trong nước và pha động B: axetonitril; gradien 2% đến 80% của B trong 3 phút với tốc độ dòng 2,0 mL/phút.

Một vài hợp chất được điều chế cũng được tách trên quy mô điều chế bằng sắc ký lỏng tính năng cao pha đảo (reverse-phase high performance liquid chromatography: RP-HPLC) với máy dò MS hoặc sắc ký nhanh (silicagel) như

được nêu trong các ví dụ. Các điều kiện cột của sắc ký lỏng tính năng cao pha đảo (RP-HPLC) điều chế thông thường là như sau:

pH = 2 tinh chế: cột Waters Sunfire™ C₁₈ 5 µm, 19 x 100 mm, tách rửa với pha động A: 0,1% TFA (axit trifloaxetic) trong nước và pha động B: axetonitril; tốc độ dòng là 30 mL/phút, gradien tách được tối ưu cho mỗi hợp chất bằng cách sử dụng quy trình tối ưu hóa phương pháp đặc hiệu hợp chất như được mô tả trong tài liệu [xem "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Thông thường, tốc độ dòng được sử dụng với cột 30 x 100 mm là 60 mL/phút.

pH = 10 tinh chế: cột Waters XBridge C₁₈ 5 µm, 19 x 100 mm, tách rửa với pha động A: 0,15% NH₄OH trong nước và pha động B: axetonitril; tốc độ dòng là 30 mL/phút, gradien tách được tối ưu cho mỗi hợp chất bằng cách sử dụng quy trình tối ưu hóa phương pháp đặc hiệu hợp chất như được mô tả trong tài liệu [xem "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Thông thường, tốc độ dòng được sử dụng với cột 30 x 100 mm là 60 mL/phút.

Một vài hợp chất được điều chế cũng được phân tích bằng phép đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân (Differential Scanning Calorimetry: DSC). Các điều kiện của thiết bị DSC là như sau:

Thiết bị đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân TA, Model Q200 với bộ lấy mẫu tự động: 30 - 350°C ở 10°C/phút; khay và chụp nhôm T-zero; dòng khí nitơ ở 50 mL/phút.

Thiết bị đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân Mettler Toledo 822 Instrument: 40 – 340°C với tốc độ đun nóng là 10°C/phút.

Một vài hợp chất được điều chế cũng được phân tích bằng phép phân tích nhiệt trọng (Thermogravimetric Analysis: TGA). Các điều kiện thiết bị TGA thông thường là như sau:

Máy phân tích nhiệt trọng TA Instrument, Model Pyris: biến đổi nhiệt độ từ 25°C đến 300°C với 10°C/phút; dòng khí thổi nitơ ở 60 mL/phút; máy giữ mẫu nồi gồm TGA.

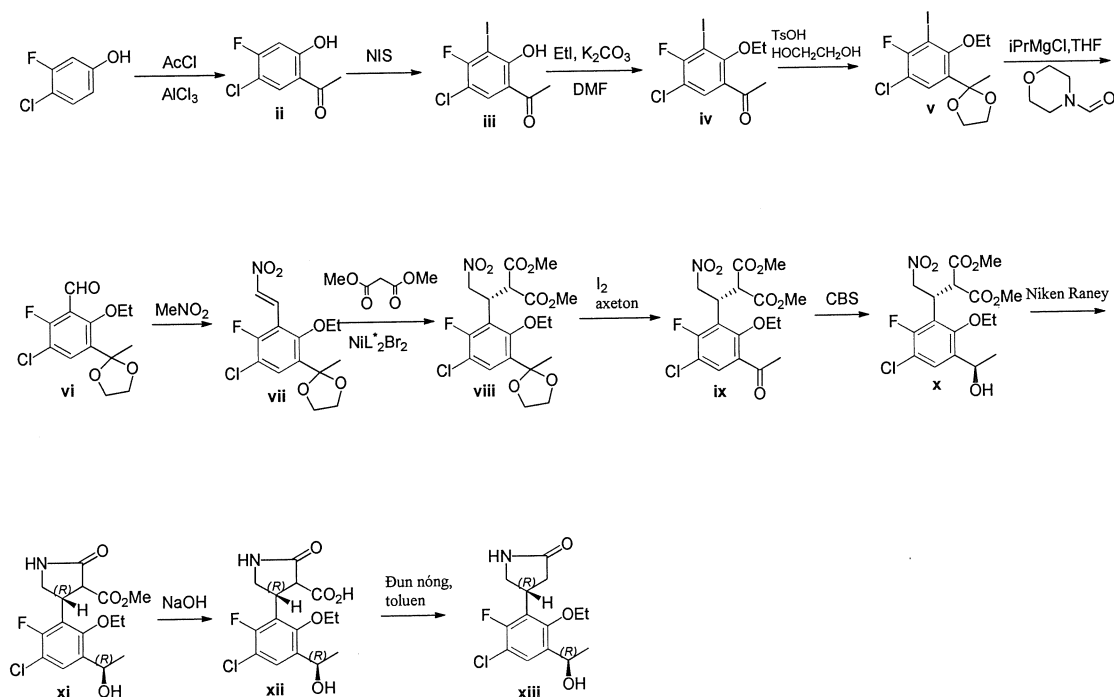
Thiết bị TA Instrument Q500: biến đổi nhiệt độ từ 20°C đến 300°C với 10°C/phút.

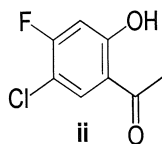
Một vài hợp chất được điều chế cũng được phân tích bằng nhiễu xạ bột tia X (X-Ray Powder Diffraction: XRPD). Các điều kiện của thiết bị XRPD thông thường là như sau:

Thiết bị nhiễu xạ bột tia X Bruker D2 PHASER: bước sóng phát xạ tia X: 1,05406 Å CuK α ; bột tia X: 30 KV, 10 mA; bột mẫu: được phân tán trên máy giữ mẫu nền không; các điều kiện đo chung: góc bắt đầu – 5 độ, góc kết thúc – 60 độ, lấy mẫu – 0,015 độ, tốc độ quét – 2 độ/phút.

Nhiễu xạ bột Rigaku Miniflex: Cu ở 1,054056 Å với bộ lọc K β ; các điều kiện đo chung: góc bắt đầu – 3 độ, góc kết thúc – 45 độ, lấy mẫu – 0,02 độ, tốc độ quét – 2 độ/phút.

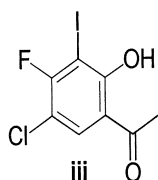
Ví dụ 1. Tổng hợp (R)-4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)pyrrolidin-2-on



Bước 1. 1-(5-Clo-4-flo-2-hydroxyphenyl)etanon (ii)

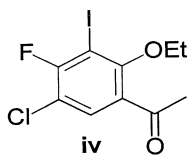
4-Clo-3-flophenol (**i**, 166 g, 1,11 mol) và axetyl clorua (107 mL, 1,50 mol) được nạp vào bình 5-L ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy và trở lại dung dịch trong trong khi nhiệt độ mẻ được ghi nhận là giảm xuống 6°C. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 60°C trong 2 h. Hỗn hợp phản ứng được nạp nitrobenzen (187,5 mL, 1,82 mol) và sau đó làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Sau đó, nhôm triclorea (160 g, 1,2 mmol) được bổ sung vào hỗn hợp theo ba phần (50 g, 50g, và 60 g với khoảng cách 5 phút). Nhiệt độ mẻ được tăng đến 78°C khi kết thúc việc bổ sung. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 100-120°C trong 3 h, tại thời điểm đó phân tích HPLC thể hiện phản ứng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh đến 0°C và nạp hexan (0,45 L), etyl axetat (0,55 L), và sau đó nạp từ từ dung dịch axit clohydric 1,0N (1,0 L) ở nhiệt độ trong phòng. Việc bổ sung dung dịch axit clohydric là tỏa nhiệt và nhiệt độ mẻ tăng từ 26°C đến 60°C. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút. Các lớp được tách và lớp hữu cơ được rửa lần lượt bằng dung dịch axit clohydric 1,0N (2 x 600 mL) và nước (400 mL). Lớp hữu cơ sau đó được chiết bằng dung dịch natri hydroxit 1,0N (2 x 1,4 L). Dung dịch bazơ kết hợp được axit hóa đến pH 2 bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric 12 N cho đến khi không có kết tủa tách ra. Chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng nước và làm khô trong phễu lọc có hút để tạo thành hợp chất **ii** là chất rắn màu vàng (187,4 g, 89,5%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 12,44 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 2,61 (s, 3H).

Bước 2. 1-(5-Clo-4-flo-2-hydroxy-3-iodophenyl)etanon (iii)



1-(5-Clo-4-flo-2-hydroxyphenyl)etanon (**ii**, 100,0 g, 530,3 mmol) được hòa tan trong axit axetic (302 mL) và *N*-iodosuccinimit (179,2 g, 796,5 mmol) được bổ sung vào dung dịch. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ từ 61°C đến 71°C trong 2 h, tại thời điểm này phân tích HPLC chỉ ra rằng phản ứng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, nước (613 mL) được bổ sung vào, và huyền phù đặc thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và rửa bằng nước để tạo thành chất rắn màu nâu. Sản phẩm ướt được hòa tan trong axit axetic (400 mL) ở 60°C. Nước (800 mL) được bổ sung (trong 15 phút) vào dung dịch để kết tủa sản phẩm tinh khiết. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và được rửa bằng nước (100 mL). Sản phẩm được làm khô trên phễu lọc có hút trong 18 h để tạo thành hợp chất **iii** là chất rắn màu nâu (164,8 g, hiệu suất 95,0%). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,34 (s, 1H), 8,26 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 2,68 (s, 3H).

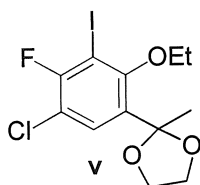
Bước 3. 1-(5-Clo-2-etoxy-4-flo-3-iodophenyl)etanon (iv)



Trong bình đáy tròn ba cổ 5-L được trang bị bình ngưng tụ và nhiệt kế, 1-(5-clo-4-flo-2-hydroxy-3-iodophenyl)etanon (**iii**, 280 g, 840 mmol) được hòa tan trong *N,N*-dimetylformamit (600 mL). Trong khi hòa tan, nhiệt độ bên trong nằm trong khoảng từ 19,3°C đến 17,0°C. Iodoetan (81,2 mL, 1020 mmol) được bổ sung vào hỗn hợp thu được. Kali cacbonat (234 g, 1690 mmol) được bổ sung trong 2 phút vào hỗn hợp phản ứng và không có sự thay đổi về nhiệt độ bề mặt được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 60°C trong 3 h, tại thời điểm đó phân tích HPLC chỉ ra phản ứng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ trong phòng và sản phẩm được thu gom bằng cách lọc. Chất rắn được hòa tan trong

hỗn hợp gồm DCM (1,0 L), hexan (500 ml), và nước (2,1 L). Hệ hai pha được khuấy ở 20°C trong 20 phút. Các lớp được tách và lớp nước được chiết bằng DCM (1,0 L). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (2 x 250 mL) và nước muối (60 mL). Pha hữu cơ được tách, làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc, và cô trong chân không đến khô để tạo thành hợp chất **iv** là chất rắn màu vàng (292 g, hiệu suất 94%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ7,69 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,95 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,62 (s, 3H), 1,49 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). LCMS đối với C₁₀H₁₀ClFIO₂ (M + H)⁺: *m/z* = 342,9.

Bước 4. 2-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-iodophenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan (v)

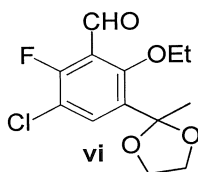


Dung dịch chứa 1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-iodophenyl)etanon (**iv**, 250,0 g, 693,4 mmol) và 1,2-etandiol (58,0 mL, 1040 mmol) trong toluen (1,5 L) được xử lý bằng monohydrat của axit p-toluensulfonic (10,6 g, 55,5 mmol). Bình phản ứng được lắp với bể Dean-Stark và hỗn hợp được đun nóng ở hồi lưu trong 7 h. Phân tích LCMS chỉ ra rằng hỗn hợp phản ứng chứa 8,3% nguyên liệu ban đầu và 91,7% sản phẩm. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến 106°C, và bổ sung thêm lượng 1,2-etandiol (11,6 mL, 208 mmol) bằng xilanh. Hỗn hợp phản ứng sau đó được đun nóng ở hồi lưu trong 8 h nữa. Phân tích LCMS chỉ ra rằng hỗn hợp phản ứng chứa 3,6% nguyên liệu ban đầu và 96,4% sản phẩm. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến 106°C, và bổ sung thêm 1,2-etandiol (7,73 mL, 139 mmol) bằng xilanh. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong điều kiện hồi lưu trong 15,5 h nữa. Phân tích LCMS chỉ ra rằng hỗn hợp phản ứng chứa 2,2% nguyên liệu ban đầu và 97,8% sản phẩm.

Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm nguội đến 0°C và nước (200 ml) và dung dịch NaHCO₃ bão hòa (300 ml) được bổ sung vào để điều chỉnh hỗn hợp đến độ pH là 9. DCM (200 ml) được bổ sung vào và mẻ này được khuấy trong 10 phút.

Các lớp được tách và lớp nước được chiết bằng toluen (300 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng hỗn hợp gồm nước (200 ml) và dung dịch NaHCO_3 bão hòa (200 ml), nước (300 ml), nước muối (300 ml), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc, và cô trong chân không đến khô để tạo thành hợp chất thô **v** là chất rắn màu nâu nhạt (268 g hiệu suất 100%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,59 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 4,26-3,96 (m, 4H), 3,92-3,72 (m, 2H), 1,74 (s, 3H), 1,50 (t, $J = 7,0$ Hz, 3 H). LCMS đối với $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{ClFIO}_3$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$: $m/z = 387,0$.

Bước 5. 3-clo-6-etoxy-2-flo-5-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)benzaldehyt (vi)

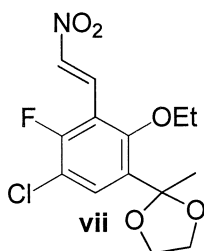


Dung dịch được khuấy chứa 2-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-iodophenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan (**v**, 135,0 g, 349,2 mmol) (độ tinh khiết 86,8% bởi HPLC với 5,5% keton) trong tetrahydrofuran khan (300 mL) ở nhiệt độ từ 0°C đến 3°C được bổ sung từ từ phức isopropylmagie clorua lithi clorua 1,3 M trong THF (322,3 mL, 419,0 mmol) trong 1 h. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ từ 0°C đến 5°C trong 30 phút tại thời điểm này phân tích LCMS chỉ ra phản ứng trao đổi iodo-magie đã kết thúc. *N*-Formylmorpholin (71,1 mL, 700 mmol) sau đó được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng trong 1 h ở nhiệt độ từ 0°C đến 8°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ từ 0°C đến 8°C trong 1 h nữa, ở thời điểm này phân tích LCMS và HPLC thể hiện nguyên liệu ban đầu đã hết và lượng đáng kể của sản phẩm phụ đã khử iot, 2-(5-clo-2-etoxy-4-flophenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan được quan sát. Phản ứng được dập tắt bằng dung dịch axit xitric (120,8 g, 628,6 mmol) trong nước (1,20 L) ở 0°C . Hỗn hợp phản ứng đã được dập tắt, sau đó được chiết bằng EtOAc (2 x 600 mL). Các pha được tách dễ dàng. Lớp hữu cơ kết hợp được rửa sau đó bằng nước (300 ml) và nước muối (500 mL), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc, và cô trong chân không. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel với 0 - 10% EtOAc/hexan để tạo thành sản phẩm thô hợp chất **vi** là chất rắn màu vàng nhạt, là hỗn hợp gồm sản phẩm mong muốn, 3-clo-6-etoxy-2-flo-5-

(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)benzaldehyt (vi, 80 g, 80%) chứa 36% mol sản phẩm phụ khử iot, 2-(5-clo-2-etoxy-4-flophenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan như được chỉ ra bởi phân tích NMR. Sản phẩm thô hợp chất vi còn được tinh chế bằng cách tạo thành sản phẩm cộng natri bisulfit tương ứng.

Natri bisulfit (36,91 g, 354,7 mmol) được hòa tan trong nước (74,3 mL, 4121 mmol). Dung dịch được khuấy chứa 3-clo-6-etoxy-2-flo-5-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)benzaldehyt thô (vi, 80,00g, 177,3 mmol) trong etyl axetat (256,0 mL), dung dịch natri bisulfit vừa điều chế được bổ sung trong một phần. Dung dịch được khuấy trong khoảng 10 phút và kết tủa được quan sát. Sau đó, huyền phù đặc được khuấy trong 1 h nữa. Sản phẩm cộng aldehyt-bisulfit được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng EtOAc và làm khô dưới chân không và môi trường nitơ trong 20 h để tạo thành chất rắn màu trắng (58,2 g, hiệu suất 83,6%). Sản phẩm cộng aldehyt-bisulfit (58,2 g, 148 mmol) được trộn trong dung dịch natri hydroxit 1,0 M (296 mL, 296 mmol) được bổ sung metyl *t*-butyl ete (600 mL) (MTBE). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 phút để tạo thành hỗn hợp hai pha trong, và tiếp tục khuấy trong 5 phút nữa. Pha hữu cơ được thu gom và lớp nước được chiết bằng MTBE (2 x 300 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (300 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc, và cô trong chân không để tạo thành hợp chất tinh khiết vi là chất rắn kết tinh màu trắng (31,4 g, hiệu suất 73,4%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,27 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,10-3,96 (m, 4H), 3,87-3,76 (m, 2H), 1,72 (s, 3H), 1,44 (t, *J* = 7,0 Hz, 3 H). LCMS đối với C₁₃H₁₅ClFO₄ (M + H)⁺: *m/z* = 289,0.

Bước 6. (E)-2-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-(2-nitrovinyl)phenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan (vii)



Bình đáy tròn 4 cổ 5-L được trang bị cánh khuấy phía trên, vách ngăn, cặp nhiệt điện, đường nạp nitơ và dụng cụ ngưng tụ được nạp 3-clo-6-etoxy-2-flo-5-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)benzaldehyt (**vi**, 566,2 g, 1961 mmol), nitrometan (1060 mL, 19600 mmol), và axit axetic băng (1120 mL). Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được nạp benzylamin (53,6 mL, 490 mmol) và hỗn hợp thu được được đun nóng đến 60°C và phản ứng được kiểm tra bằng LCMS đối với 5,5 h. Phân tích đường cơ sở ban đầu được lấy ở $t = 0$. Phản ứng được kiểm tra sau 2 h và 5 h. Sau 2 h, có khoảng 20% nguyên liệu ban đầu aldehyt chưa phản ứng. Sau 5 h, profin phản ứng là như sau: nguyên liệu ban đầu hợp chất **vi** (< 2%), imin trung gian (< 4%), sản phẩm hợp chất **vii** (> 93%) và sản phẩm cộng benzylamin Michael (không được phát hiện). Tại thời gian phản ứng 5,5 h, phản ứng được cho rằng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng etyl axetat (3,0 L). Hỗn hợp được tách một nửa để xử lý do thể tích lớn.

Mỗi nửa được xử lý theo quy trình sau: Hỗn hợp phản ứng đầu tiên được rửa bằng NaCl 1,5 M trong nước (2 x 1500 mL; sau mỗi lần rửa, thể dung dịch dầu ra tăng so với đầu vào đề xuất rằng axit axetic và/hoặc nitrometan đã được loại bỏ). Hỗn hợp sau đó được làm lạnh đến 15°C và được rửa bằng dung dịch NaOH 4 M (4 x 300 mL) cho đến khi dung dịch chiết đạt độ pH là 8-9. Trong lần rửa ban đầu, lớp nước vẫn còn axit, song trở thành bazơ nhẹ trong các lần rửa tiếp theo, hỗn hợp được đun nóng lên và chất chiết là tối màu. Các lớp được tách. Lớp hữu cơ sau khi điều chỉnh độ pH được rửa bằng dung dịch natri clorua 1,5 M (1000 mL) và nước (500 mL). Nhũ tương và sự phân bố chậm được quan sát trong các lần rửa cuối cùng này. Pha hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 khan, lọc, và cô dưới áp suất giảm. Sirô màu hổ phách thu được được đặt dưới chân không cao qua đêm. Sirô hóa rắn và thu được 740 g sản phẩm thô.

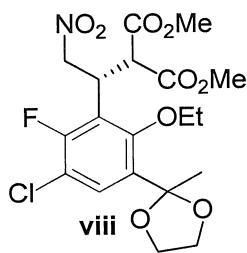
Heptan (1,3 L) được bổ sung vào sản phẩm thô, tạo thành huyền phù đặc, được đun nóng trong bể nước 60°C cho đến khi tất cả chất rắn được hòa tan. Dung dịch thu được được đánh bóng lọc trong bình đáy tròn sạch 3-L có 4 cổ được trang bị cánh khuấy phía trên và đường vào nitơ. Bộ lọc được rửa bằng heptan (40 mL). Dung dịch lọc được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 5 h. Kết tủa

rắn được quan sát và huyền phù đặc được làm lạnh đến 0°C trong bể nước đá trong 1 h. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và bánh ướt thu được được rửa bằng 500 mL heptan lạnh. Sản phẩm được làm khô một phần trên bộ lọc trong điều kiện hút chân không và được làm khô thêm dưới chân không cao qua đêm. Nước lọc và dung dịch rửa được cô dưới áp suất giảm và cặn thu được được giữ để tinh chế cột.

Chất rắn từ việc kết tinh heptan được hòa tan trong thể tích nhỏ của DCM và 20% EtOAc/hexan và được nạp vào cột chứa khoảng 1 kg silicagel. Cột được tách rửa với 20% EtOAc/hexan. Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và cô dưới áp suất giảm để tạo thành chất rắn màu vàng. Chất rắn được làm khô dưới chân không cao qua đêm để tạo thành 497g sản phẩm hợp chất **vii** là chất rắn kết tinh màu vàng nhạt.

Nước lọc được cô và nước rửa từ việc kết tinh heptan được nạp vào cùng một cột như trên sử dụng 20% EtOAc/hexan. Cột được tách rửa bằng cách sử dụng cùng hệ thống dung môi như trên để loại bỏ tạp chất đường cơ sở và axit axetic còn lại. Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và cô dưới áp suất giảm để tạo thành dầu màu hổ phách hơi đỏ. Dầu này được đặt dưới chân không cao và khoảng 220 g sản phẩm thô thu được. Sản phẩm thô này được hòa tan trong heptan (500 mL) và được gieo với lượng nhỏ của sản phẩm rắn thu gom thứ nhất. Huyền phù đặc được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 h và sau đó làm lạnh trong bể nước đá trong 3 h. Sản phẩm thu gom thứ hai được thu gom bằng cách lọc. Sản phẩm được làm khô dưới chân không cao và 110 g sản phẩm thu được là chất rắn màu vàng. Tổng lượng sản phẩm hợp chất **vii** thu được là 607 g (hiệu suất 93,3%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,94 (s, 2H), 7,68 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 4,07-3,95 (m, 4H), 3,82-3,73 (m, 2H), 1,65 (s, 3H), 1,39 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). LCMS đối với $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClFNO}_5$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$: $m/z = 332,0$.

Bước 7. (R)-Dimetyl-2-(1-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)phenyl)-2-nitroetyl)malonat (viii)

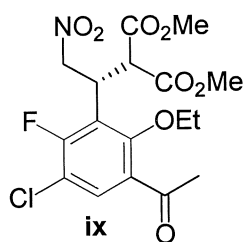


Bình đáy tròn 2L có thanh khuấy từ và đường nạp nitơ chứa (*E*)-2-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-(2-nitroviny)phenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan (**vii**, 352,8 g, 1064 mmol) được bổ sung tetrahydrofuran khan (1,06 L) và dimetyl malonat (146 mL, 1280 mmol). (1*S*,2*S*)-*N,N'*-dibenzylxyclohexan-1,2-diamin-dibromoniken (chất xúc tác Evans, 21,4 g, 26,6 mmol), được nạp vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng có màu nâu và dung dịch đồng nhất được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18,5 h. Phản ứng được phân tích sau 18,5 h bằng HPLC. Nguyên liệu ban đầu chưa phản ứng, hợp chất **vii**, có mặt với lượng 2%. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm để loại bỏ THF và cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (DCM/hexan được sử dụng để nạp, 1422 g silicagel được sử dụng trong cột này, và cột được tách rửa với 10% đến 20% EtOAc/hexan; các phân đoạn cột được kiểm tra bằng TLC sử dụng 30% EtOAc/hexan làm dung môi rửa giải và được hiển thị bằng UV). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và cô dưới áp suất giảm. Cặn được làm khô dưới chân không cao. Theo thời gian, sirô hóa rắn thành chất rắn màu vàng nhạt (503,3 g) và mẫu được đem phân tích HPLC bất đối xứng. Độ tinh khiết bất đối xứng là 95,7% chất đồng phân đối ảnh (*R*) mong muốn và 4,3% chất đồng phân đối ảnh (*S*) không mong muốn. Etanol (1,0 L) được bổ sung vào chất rắn và hỗn hợp được đun nóng trong bể nước 60°C cho đến khi chất rắn được hòa tan. Dung dịch được đánh bóng lọc trong bình đáy tròn sạch 3-L có 4 cổ bằng giấy lọc Whatman #1. Dung dịch lọc được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng trong khi khuấy. Việc kết tinh được quan sát sau 30 phút khuấy và huyền phù đặc được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 h. Huyền phù đặc được làm lạnh trong bể nước đá trong 1 h. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và bánh lọc thu được được rửa bằng etanol lạnh (500 mL) và được làm khô một phần trên bộ lọc. Chất rắn được làm khô dưới chân không cao để tạo thành sản phẩm mong muốn **viii** (377,5 g) là chất rắn kết tinh màu trắng.

Độ tinh khiết bất đối xứng được xác định bằng HPLC bất đối xứng là 100% chất đồng phân đối ảnh (R) mong muốn và 0% chất đồng phân đối ảnh (S) không mong muốn.

Nước lọc và nước rửa được kết hợp và cô dưới áp suất giảm thành dầu (118,9g). Dầu được hòa tan trong etanol (475,0 mL) (4 mL/g) và được gieo bằng tinh thể thu gom thứ nhất. Huyền phù đặc thu được được khuấy trong 16 h ở nhiệt độ trong phòng và sau đó làm lạnh trong bể nước đá trong 5,5 h. Sản phẩm thu gom thứ hai được tách bằng cách lọc và được làm khô một phần trên bộ lọc. Nó được làm khô dưới chân không cao để tạo thành sản phẩm thu gom thứ hai (31,0 g). Độ tinh khiết bất đối xứng được xác định bằng HPLC bất đối xứng là 98,3% chất đồng phân đối ảnh (R) mong muốn và 1,7% chất đồng phân đối ảnh (S) không mong muốn. Hiệu suất kết hợp của sản phẩm thu gom thứ nhất và thứ hai là 408,5 g với hiệu suất 82,8%. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7,51 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 5,20-4,81 (m, 2H), 4,62 (m, 1H), 4,14-4,03 (m, 2H), 4,03-3,97 (m, 2H), 3,95-3,88 (m, 1H), 3,84-3,72 (m, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 1,61 (s, 3H), 1,39 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H). LCMS đối với $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClFO}_9$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$: $m/z = 463,9$.

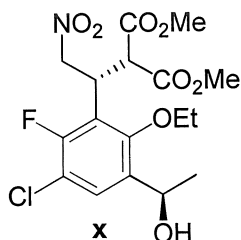
Bước 8. (R)-Dimetyl 2-(1-(3-axetyl-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)-2-nitroetyl)malonat (ix)



Dung dịch được khuấy chứa (R)-dimetyl-2-(1-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)phenyl)-2-nitroetyl)malonat (**viii**, 244,0 g, 526,0 mmol) trong axeton (1,2 L) trong bình đáy tròn ba cổ 5-L, được trang bị dụng cụ khuấy cơ học, được bổ sung iot (13,4 g, 52,6 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch màu nâu thu được được đun nóng ở 50°C trong bể nước trong 30 phút, ở thời điểm này phân tích LCMS thể hiện phản ứng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, và sau đó được dập tắt bằng dung dịch chứa natri

thiosulfat (17,0 g, 108 mmol) trong nước (160 mL) để tạo thành dung dịch trong màu vàng nhạt. Tại thời điểm này, lượng nửa của nước (1,2 L) được nạp vào dung dịch đã được dập tắt và huyền phù đặc màu trắng thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 h. Chất rắn sau đó được thu gom bằng cách lọc và được hòa tan lại trong axeton (1,4 L) ở 40°C. Dung dịch được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, và sau đó nước (1,4 L) được bổ sung thêm. Huyền phù đặc màu trắng thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 h. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc và được rửa bằng nước (3 x 100 ml). Sản phẩm rắn được làm khô trong phễu lọc có hút với dòng nitơ trong 46 h để tạo thành hợp chất **ix** là chất rắn màu trắng (212 g, hiệu suất 96%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,54 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 5,09-4,67 (m, 3H), 4,10-3,83 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 1,46 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). LCMS đối với C₁₇H₂₀ClFNO₈ (M + H)⁺: *m/z* = 420,1.

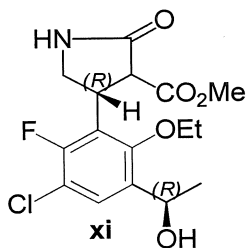
Bước 9. Dimethyl 2-((R)-1-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)-2-nitroetyl)malonat (x)



Dung dịch được khuấy chứa (3*aS*)-1-metyl-3,3-diphenyltetrahydro-3*H*-pyrolo[1,2-*c*][1,3,2]oxazaborole, ((*S*)-MeCBS, 16,39 g, 59,12 mmol, 0,1 đương lượng) trong THF khan (100 mL) trong bình đáy tròn 5 L ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung dung dịch chứa phức chất boran-THF 1,0M trong THF (591 mL, 591 mmol, 1 đương lượng), tiếp đó là bo triflorua eterat (3,75 mL, 29,6 mmol, 0,05 đương lượng). Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Dung dịch chứa dimethyl [(1*R*)-1-(3-axetyl-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)-2-nitroetyl]malonat (**ix**, 253,0 g, 591,2 mmol) trong THF khan (1,7 L) được bổ sung từng giọt bằng phễu bổ sung trong 60 phút. Bình chứa keton **ix** được rửa bằng THF khan (135 mL) và dung dịch được bổ sung từng giọt bằng phễu bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10

phút nữa, ở thời điểm này phân tích LCMS thể hiện sự biến đổi hoàn toàn của keton thành rượu. Phản ứng được dập tắt bằng cách bổ sung từng giọt metanol (71,8 mL, 1770 mmol) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng đã được dập tắt được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút trước khi nó được cô trong chân không để tạo thành sản phẩm thô. Sản phẩm thô của mẻ này và mẻ tương tự (sử dụng 200 g nguyên liệu ban đầu) được kết hợp và được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel sử dụng 0 đến 5% MeOH/DCM làm dung môi rửa giải để tạo thành hợp chất **x** là chất rắn màu trắng (437g, hiệu suất 97,9%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,50 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,13 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H), 5,01-4,65 (m, 3H), 4,14-3,89 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,57 (s, 3H), 1,57-1,42 (m, 6H). LCMS đối với C₁₇H₂₁ClFNaO₈ (M + Na)⁺: *m/z* = 444,0.

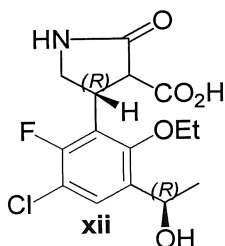
Bước 10. (4R)-Metyl 4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)-2-oxopyrolidin-3-carboxylat (xi)



Bình đáy tròn Morton 3 cổ chứa dimetyl ((1*R*)-1-{3-clo-6-etoxy-2-flo-5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]phenyl}-2-nitroetyl)malonat (**x**, 100,0 g, 237,1 mmol) trong tetrahydrofuran (800,0 mL) và niken Raney (120 g sau khi loại bỏ nước bằng pipet) được lắp với dụng cụ ngưng tụ, dụng cụ khuấy cơ học (thanh khuấy thủy tinh và giá đỡ Teflon), và hai bình cầu khí hydro (sau khi thổi sạch chân không). Bình này được đặt trong bể dầu ở 65°C. Mẻ này được khuấy mạnh trong 16 h và bình cầu được loại bỏ định kỳ và được nạp lại bằng hydro. Mẫu được lấy và phân tích bằng HPLC. Sản phẩm, hợp chất **xi**, có mặt với 83%. Có 7,8% amin chưa tuần hoàn và 5,5% sản phẩm phụ hydroxylamin trong hỗn hợp phản ứng. Chất xúc tác được lọc hết (phải làm cẩn thận để không cho niken Raney bị khô khi tiếp xúc với không khí). Nước lọc được làm bay hơi đến khô để tạo thành 91 g sản phẩm thô là bột màu trắng. Sản phẩm thô (91 g, độ tinh khiết diện tích 82,6%) được kết hợp với

mẻ sản phẩm thô tương tự khác (93 g, độ tinh khiết 72,8%) để tinh chế. Sản phẩm thô kết hợp (184 g) được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (EtOAc/hexan làm dung môi rửa giải) để tạo thành hợp chất **xi** (101,1 g, độ tinh khiết HPLC 93%, hiệu suất thô 59,3%). Nguyên liệu thô được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LCMS đối với $C_{16}H_{20}ClFNO_5$ ($M + H$)⁺: $m/z = 360,0$.

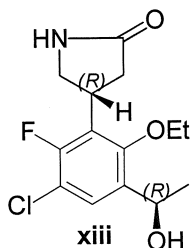
Bước 11. Axit (4R)-4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)-2-oxopyrrolidin-3-carboxylic (xii)



Bình đáy tròn 5 L, 4 cổ được trang bị cánh khuấy phía trên và đường nạp nitor được nạp dung dịch chứa (4R)-metyl 4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)-2-oxopyrrolidin-3-carboxylat (**xi**, 268 g, 581 mmol) trong tetrahydrofuran (2150 mL, 26500 mmol). Dung dịch này được nạp dung dịch natri hydroxit 1,0 M (1420 mL, 1420 mmol). Dung dịch đục thu được trở thành trong trong vòng 1 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng được phân tích bằng LCMS sau 15 h và được cho rằng kết thúc vì không quan sát thấy nguyên liệu ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh trong bể nước đá đến nhiệt độ bên trong là 9,5°C và hỗn hợp được axit hóa đến độ pH 1-2 bằng cách bổ sung dung dịch axit clohydric 6,0M (237,0 mL, 1422 mmol) bằng phễu nhỏ giọt trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được chia đôi và mỗi nửa được chiết bằng etyl axetat (2 x 1 L). Lớp nước kết hợp được chiết tiếp bằng etyl axetat (500 mL). Hai lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (20% trọng lượng/trọng lượng NaCl/ nước, 2 x 1000 mL), làm khô bằng $MgSO_4$ khan, lọc, và cô để tạo thành axit trung gian thô **xii** là bột màu hơi vàng được sử dụng ngay trong phản ứng tiếp theo. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 12,68 (br s, 1H), 8,26 (s, 1H), 7,52 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 5,27 (br s, 1H), 4,90 (q, $J = 6,3$ Hz, 1H), 4,28 (q, $J = 8,8$ Hz, 1H), 3,92-3,81 (m, 1H), 3,76-3,65 (m, 1H), 3,57 (t, $J = 9,6$ Hz, 1H), 3,46 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H),

3,23 (q, $J = 9,5$ Hz, 1H), 1,33 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,28 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H). LCMS đối với $C_{15}H_{17}ClFNNaO_5$ ($M + Na$)⁺: $m/z = 368,0$.

Bước 12. (R)-4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)pyrrolidin-2-on (xiii)



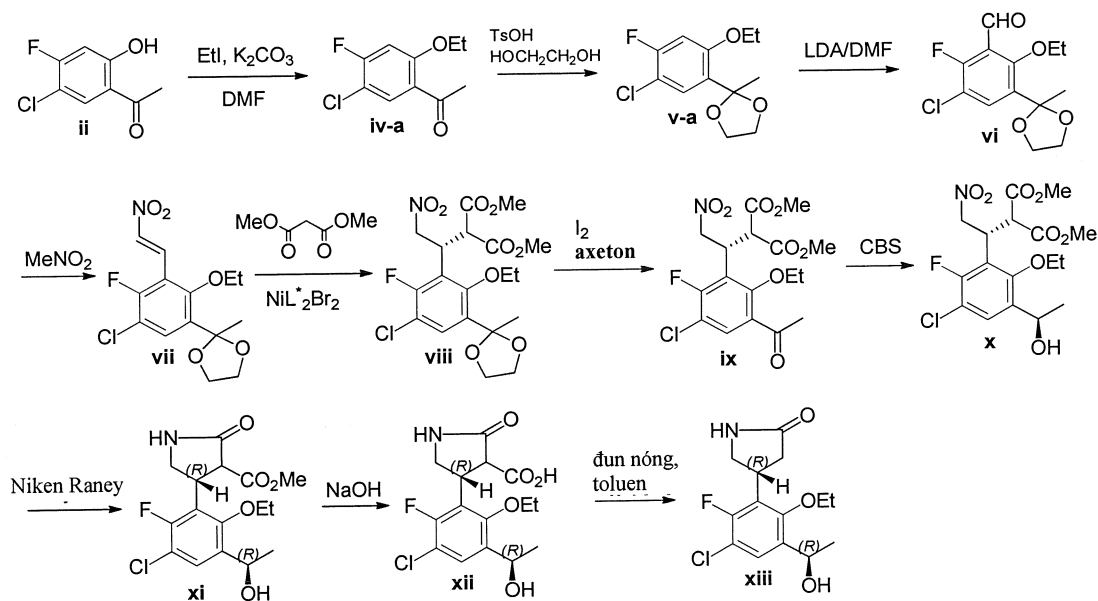
Hợp chất thô **xii** được hòa tan trong 1,4-dioxan (976 mL) và toluen (976 mL) và dung dịch màu vàng thu được được đun nóng ở 100°C. Màu của dung dịch trở thành màu nâu vì phản ứng tiến triển. Các mẫu được lấy ra ở thời điểm 1 h, 2 h và 2,5 h. Ở 2,5 h, phân tích HPLC thể hiện axit, hợp chất **12**, là 0,38% và sản phẩm mong muốn, hợp chất **xiii**, là 78,8%. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và được đánh bóng lọc trong bình đáy tròn sạch 3-L. Dung dịch sau đó được cô dưới áp suất giảm và cặn thu được được đặt dưới chân không cao để tạo thành bột màu nâu (254 g).

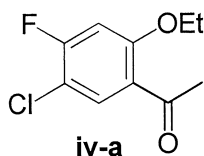
Axetonitril (350 mL) được nạp vào sirô màu nâu và đun nóng trong bể nước 65°C cho đến khi việc hòa tan được quan sát. Dung dịch được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 16 h. Chất rắn được tách khỏi dung dịch. Huyền phù đặc thu được được làm lạnh trong bể nước đá trong 1 h. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và bánh lọc được rửa bằng 400 mL axetonitril lạnh. Chất rắn được cho rằng hút ẩm. Chất rắn được hòa tan trong DCM (2,0 L) và cô thành sirô mà được đặt dưới chân không cao để tạo thành hợp chất **xiii** là bột màu trắng (106,4 g).

Nước lọc được cô thành sirô sẫm màu (khoảng 120 g) mà được tinh chế bằng sắc ký nhanh (cột silicagel 4 x 330g, nạp với DCM, tách rửa với 50% đến 100% EtOAc/hexan, và kiểm tra bằng TLC sử dụng 100% EtOAc làm dung môi rửa giải). Các phân đoạn từ sắc ký được cô dưới áp suất giảm và đặt dưới chân không cao để tạo thành bột màu nâu nhạt (54,4g). Bột được nạp MTBE (400 mL)

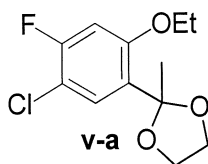
và MeOH (10 mL) và được đun nóng trong bể nước 56°C trong 15 phút và một ít chất rắn vẫn còn. Huyền phù đặc được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng kết hợp với khuấy. Huyền phù đặc được lọc để loại bỏ các chất không tan. Nước lọc được cô thành sirô và đặt dưới chân không cao để tạo thành bột. Bột được nạp axetonitril (72 mL, 1,5 mL/g) và được đun nóng trong bể nước 60°C cho đến khi dung dịch trở nên đồng nhất. Dung dịch được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng kết hợp với khuấy và chất rắn được kết tủa khỏi dung dịch và trở nên rất đặc. Axetonitril nữa (24 mL) được nạp vào để điều chỉnh mức độ pha loãng thành 2 mL/g. Huyền phù đặc được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 h và sau đó làm lạnh trong bể nước đá trong 1 giờ. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và rửa bằng axetonitril. Hợp chất **xiii** (25 g) thu được ở dạng thu gom thứ hai. Tổng 131,4 g hợp chất **xiii** thu được với hiệu suất 74,9% từ hợp chất **xi**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,83 (s, 1H), 7,47 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 5,24 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,96-4,85 (m, 1H), 4,08-3,92 (m, 1H), 3,80 (qt, $J = 6,9, 3,5$ Hz, 2H), 3,61-3,51 (m, 1H), 3,25 (t, $J = 9,1$ Hz, 1H), 2,61-2,50 (m, 1H), 2,35-2,26 (m, 1H), 1,33 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,27 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H). LCMS đối với $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{ClFNO}_3$ ($\text{M} + \text{H}$) $^+$: $m/z = 302,0$.

Ví dụ 2. Tổng hợp (R)-4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)pyrrolidin-2-on theo cách khác



Bước 1. 1-(5-clo-2-etoxy-4-flophenyl)etanon (iv-a)

1-(5-Clo-4-flo-2-hydroxyphenyl)etanon (Hợp chất **ii** từ Ví dụ 1, *Bước 1*, 1350 g, 7160 mmol), *N,N*-dimetylformamit (3,32 L), iodoetan (1340 g, 8590 mmol), và kali cacbonat (1980 g, 14300 mmol) được trộn cùng nhau và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 45 phút. Nhiệt độ mẻ tăng đến 55°C từ 22°C. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 60°C trong 1 h (nhiệt độ mẻ đạt 67°C trong 30 phút và sau đó giảm xuống 60°C). Phân tích HPLC chỉ ra rằng tất cả nguyên liệu ban đầu được dùng hết. Nước (10 L) được bổ sung trong một phần (việc khuấy sẽ ngừng nếu nước được bổ sung từng phần). Huyền phù đặc thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Sản phẩm được thu gom bằng cách lọc và được rửa bằng nước (3 L). Sản phẩm được làm khô trên bộ lọc dưới chân không trong 5 ngày để tạo thành hợp chất **iv-a** là chất rắn màu nâu vàng (1418 g). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,69 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,15 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,51 (s, 3H), 1,37 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Bước 2. 2-(5-clo-2-etoxy-4-flophenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan (v-a)

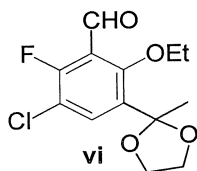
Dung dịch chứa 1-(5-clo-2-etoxy-4-flophenyl)etanon (**iv-a**, 1481,0 g, 6836,3 mmol) được hòa tan trong toluen (6 L). 1,2-Etandiol (953 mL, 17100 mmol) và monohydrat của axit p-toluensulfonic (104 g, 547 mmol) được bổ sung vào dung dịch. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến hồi lưu ở 104-110°C có sử dụng bể Dean-Stark để loại bỏ nước trong 17,4 h. Phân tích HPLC chỉ ra 37% nguyên liệu ban đầu vẫn còn chưa phản ứng. Khoảng 600 mL phần cất được loại bỏ và hỗn hợp

phản ứng được đun nóng dưới hồi lưu trong 5 h nữa (tổng cộng 22 h). Phân tích HPLC chỉ ra không còn phản ứng nữa.

Nghiên cứu rằng K_2CO_3 còn lại trong nguyên liệu ban đầu hợp chất **iv-a** có thể làm tạm dừng phản ứng. Do đó, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và được rửa bằng dung dịch axit clohydric 1N (3 x 6,66 L). Sau khi rửa dung dịch axit, lớp hữu cơ được chuyển lại bình phản ứng. 1,2-Etandiol (381 mL, 6840 mmol) và monohydrat của axit p-toluensulfonic (104 g, 547 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được đun nóng dưới hồi lưu trong 16 h. Phân tích HPLC chỉ ra khoảng 20% nguyên liệu ban đầu vẫn còn chưa phản ứng. Khoảng 100 mL phần cất được loại bỏ. 1,2-Etandiol (380 mL, 6800 mmol) được bổ sung và hồi lưu trong 6 h (tổng cộng 22 h). HPLC chỉ ra 7% nguyên liệu ban đầu vẫn còn chưa phản ứng. Khoảng 125 mL phần cất được loại bỏ. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến hồi lưu trong 6 h (tổng cộng 28 h). HPLC chỉ ra 5,4% nguyên liệu ban đầu vẫn còn chưa phản ứng. Khoảng 125 mL phần cất được loại bỏ. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến hồi lưu trong 7 h nữa. Phân tích HPLC chỉ ra 3,5% nguyên liệu ban đầu vẫn còn chưa phản ứng. Khoảng 80 mL phần cất được loại bỏ. Phản ứng được cho rằng đã kết thúc tại thời điểm này.

Hỗn hợp phản ứng được rửa bằng dung dịch natri hydroxit 1N (2 x 5,5 L). Nước rửa bazơ thứ nhất được chiết bằng toluen (2,1 L). Dung dịch toluen kết hợp được rửa bằng nước (7 L) và cô để tạo thành 2153 g dầu sẫm màu. Phân tích HPLC chỉ ra độ tinh khiết sản phẩm ở 93,8% với 1,90% nguyên liệu ban đầu và 0,79% sản phẩm khử iot. Phân tích 1H NMR chỉ ra khoảng 0,5 đương lượng của toluen (khoảng 256 g) vẫn còn trong sản phẩm. Hiệu suất chính xác của hợp chất **v-a** là 88,0%. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,51 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,70 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,17-3,92 (m, 4H), 3,91-3,80 (m, 2H), 1,75 (s, 3H), 1,46 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Bước 3. 3-Clo-6-etoxy-2-flo-5-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)benzaldehyt (vi)



Bình đáy tròn được làm khô trong lò sấy 3-L có 4 cổ được trang bị cánh khuấy phía trên, phễu bổ sung 500 mL, đường vào nitơ, vách ngăn, và cặp nhiệt điện được nạp *N,N*-diisopropylamin (87,8 mL, 626 mmol) và tetrahydrofuran khan (1090 mL, 13500 mmol). Dung dịch này được làm lạnh đến -72°C và nạp 2,5 M *n*-butyllithi trong hexan (261 mL, 652 mmol). Dung dịch *n*-butyllithi được bổ sung vào trong 18 phút. Nhiệt độ tối đa bên trong trong khi bổ sung là -65°C . Bể đá khô-axeton được thay bằng bể nước đá và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến -5°C đến 0°C và giữ trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh đến $-74,5^{\circ}\text{C}$.

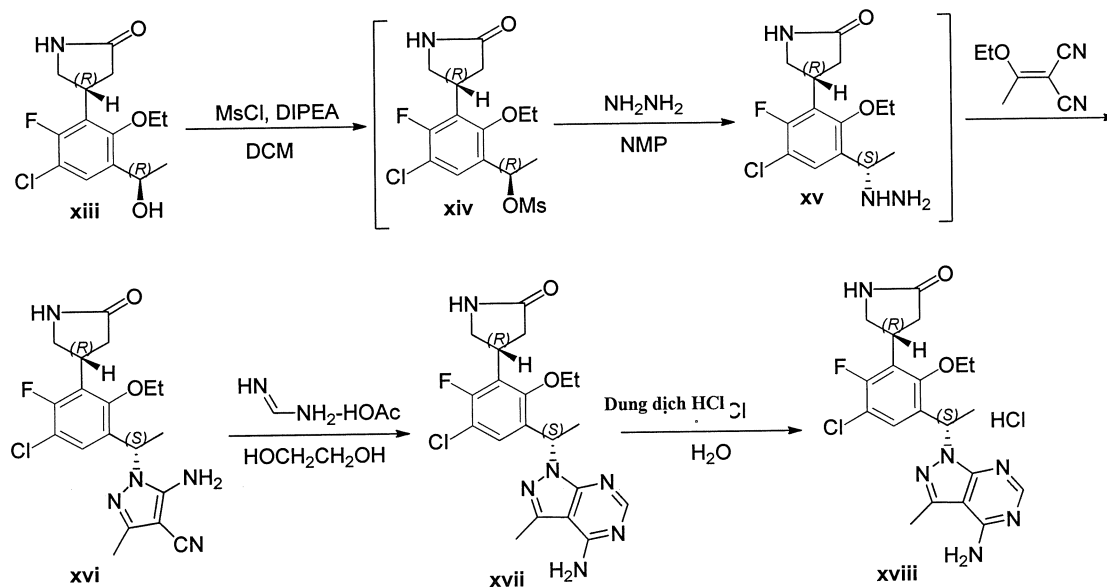
Bình đáy tròn 1-L riêng biệt chứa 2-(5-clo-2-etoxy-4-flophenyl)-2-metyl-1,3-dioxolan (**v-a**, 136,1 g, 522,1 mmol) được bổ sung tetrahydrofuran khan (456 mL) để hòa tan chất rắn. Dung dịch thu được được làm lạnh trong bể nước đá đến 0°C . Dung dịch chứa hợp chất **v-a** được chuyển vào dung dịch LDA trong 40 phút thông qua canun trong khi giữ nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ -70°C đến $-72,5^{\circ}\text{C}$. Hỗn hợp phản ứng trở thành huyền phù đặc màu vàng và được khuấy trong 37 phút ở -74°C . *N,N*-Dimetylformamit (60,6 mL, 783 mmol) được nạp trong một phần bằng xilanh và việc bổ sung này tạo ra nhiệt từ $-74,5^{\circ}\text{C}$ đến $-66,5^{\circ}\text{C}$. Phản ứng được kiểm tra bằng HPLC ở 90 phút sau khi bổ sung. Nguyên liệu ban đầu có mặt ở 2,9%. Bể lạnh được loại bỏ và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt trong nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng được lấy mẫu và phân tích sau 3 h và nguyên liệu ban đầu chưa phản ứng có mặt ở 1,5%. Phản ứng được cho rằng kết thúc và được dập tắt bằng cách bổ sung dung dịch phản ứng vào nước đá (1,4 L) và pha loãng bằng etyl axetat (1,5 L). Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (1,5 L) và lớp hữu cơ được kết hợp và được rửa bằng nước muối (dung dịch NaCl 20% trọng lượng/trọng lượng, 2 x 600 mL) và làm khô bằng MgSO_4 khan. MgSO_4 được loại bỏ bằng cách lọc và nước lọc được cô thành dầu với một ít chất rắn có mặt. Cặn này được hòa tan trong metylen clorua và nạp vào tấm silicagel (586 g). Tấm

silic oxit được tách rửa với 2% EtOAc/DCM (được kiểm tra bằng TLC sử dụng 100% DCM làm dung môi rửa giải). Các phân đoạn mong muốn được thu gom và cô dưới áp suất giảm để tạo thành dầu màu hổ phách nhạt. Dầu được đặt dưới chân không cao để tạo thành hợp chất **vi** là chất rắn màu vàng (146,5g, hiệu suất 95,1%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10,27 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,10-3,96 (m, 4H), 3,87-3,76 (m, 2H), 1,72 (s, 3H), 1,44 (t, *J* = 7,0 Hz, 3 H). LCMS đối với C₁₃H₁₅ClFO₄ (M + H)⁺: *m/z* = 289,1.

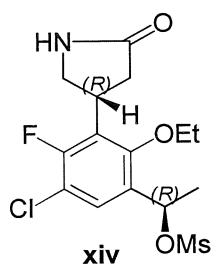
Các bước 4-10. (R)-4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((R)-1-hydroxyetyl)phenyl)pyrolidin-2-on (xiii)

Hợp chất nêu ở đề mục được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tương tự với quy trình được mô tả trong Ví dụ 1, các bước 6-12.

Ví dụ 3. (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrolidin-2-on hydroclorua

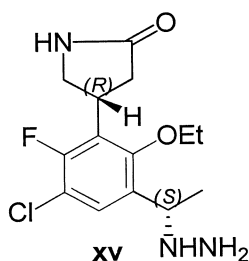


Bước 1. (R)-1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-((R)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)etyl metansulfonat (xiv)



(*R*)-4-(3-Clo-6-etoxy-2-flo-5-((*R*)-1-hydroxyetyl)phenyl)pyrrolidin-2-on (**xiii**, 172,0 g, 570,0 mmol) (gồm 147 g ở 99,83%: độ tinh khiết bất đối xứng 0,09%, độ tinh khiết hóa học 99,33%; và 25g, 87,46%: độ tinh khiết bất đối xứng 12,54%, độ tinh khiết hóa học 86,74%) được hòa tan trong metylen clorua (860 mL). *N,N*-diisopropyletylamin (149 mL, 855 mmol) được bổ sung vào dung dịch ở nhiệt độ từ -7°C đến 2°C. Metansulfonyl clorua (57,4 mL, 741 mmol) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp phản ứng trong 25 phút. Huyền phù trở thành dung dịch trong. Tại thời điểm phản ứng 30 phút, HPLC chỉ ra phản ứng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng này chứa hợp chất **xiv** được sử dụng ngay trong phản ứng tiếp theo.

Bước 2. (R)-4-(3-clo-6-etoxy-2-flo-5-((S)-1-hydrazinyletyl)phenyl)pyrrolidin-2-on (xv)

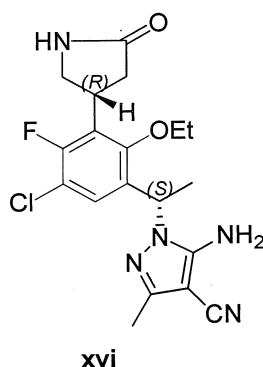


Ở 0°C, hydrazin (178,9 mL, 5,7 mol) được bổ sung trong một phần, tiếp đó là *N*-metylpyrrolidinon (860 mL) vào hỗn hợp phản ứng chứa hợp chất **xiv** từ Bước 1. Hỗn hợp phản ứng trở thành đục và một ít kết tủa được tạo thành. Hỗn hợp được đun nóng đến 40-57°C dưới nitơ trong 90 phút. HPLC chỉ ra tất cả mesylat đã được dùng hết.

Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và dung dịch bão hòa natri bicacbonat (28,3 g) trong nước (300 mL) được bổ sung vào. Hỗn hợp được khuấy trong 20 phút, tại thời điểm này diclometan (300 mL) được bổ sung

vào. Lớp hữu cơ được tách và khuấy với dung dịch chứa natri bicacbonat (14,2 g) trong nước (150 mL). Lớp nước được chiết bằng diclometan (200 mL x 2). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (80 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan (311 g), cô, và tạo hỗn hợp đồng sôi với toluen (250 mL) để tạo thành dung dịch *N*-methylpyrrolidinon không màu chứa hợp chất **xv** được sử dụng ngay trong phản ứng tiếp theo. Mẫu được tinh chế để phân tích NMR. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 7,88 (s, 1H), 7,66 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,42 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,06-3,88 (m, 2H), 3,79-3,66 (m, 1H), 3,65-3,51 (m, 1H), 3,24 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 2,60-2,46 (m, 1H), 2,36-2,25 (m, 1H), 1,37 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,26 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). LCMS đối với C₁₄H₁₉ClFN₃O₂ (M + H)⁺: *m/z* = 316,1.

Bước 3. 5-Amino-1-((S)-1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-((R)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)-3-metyl-1H-pyrazole-4-carbonitril (xvi)

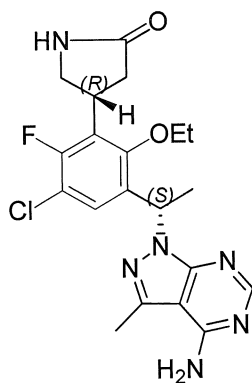


Kết hợp với khuấy, (1-etoxyetyliden)malononitril (101 g, 741 mmol) được bổ sung vào dung dịch *N*-methylpyrrolidinon chứa hợp chất **xv** từ *Bước 2*, theo từng phần và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng dưới nitơ. Sau 15 phút, phân tích HPLC chỉ ra 11% nguyên liệu ban đầu hydrazin, hợp chất **xv**, so với sản phẩm hợp chất **xvi**. *N,N*-Diisopropyletylamin (15 mL, 86 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 h. Phân tích HPLC chỉ ra 5,6% nguyên liệu ban đầu vẫn còn. *N,N*-Diisopropyletylamin (5 mL, 30 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 h. HPLC chỉ ra 5,6% nguyên liệu ban đầu vẫn còn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2,5 ngày và kết hợp với hai mẻ tương tự và được xử lý cùng nhau.

Hỗn hợp phản ứng của ba mẻ chứa hợp chất **xvi** được kết hợp. Dung dịch natri hydroxit 0,5M (3,8 L) được bổ sung ở 10-20°C và khuấy trong 5 phút. HPLC chỉ ra rằng tất cả nguyên liệu ban đầu (1-etoxyetylidene)malononitril đã dùng hết. Etyl axetat (4,0 L) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy trong 15 phút. Các lớp được tách. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch natri hydroxit 0,5 M (2,38 L). Các lớp được tách. Lớp nước kết hợp được chiết bằng etyl axetat (2 x 2 L). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch axit clohydric 1,0M (3,56 L) và độ pH của lớp nước thu được là 2-3. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (5 L), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô, và làm khô dưới chân không cao trong 40 h để tạo thành hợp chất **xvi** là chất rắn có bột màu nâu nhạt (702,7 g). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,78 (s, 1H), 7,44 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,53 (s, 2H), 5,64 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,34 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 2,59-2,50 (m, 1H), 2,29 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,57 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,37 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS đối với C₁₉H₂₂ClFN₅O₂ (M + H)⁺: *m/z* = 406,1.

Hiệu suất tổng của hợp chất **xvi** ba bước (mesylat hóa, phân giải hydrazin và tạo thành pyrazol) được tính toán là 72,8% từ đầu vào tổng của hợp chất **xiii**. Độ tinh khiết được xác định bằng HPLC là khoảng 80%. Phân tích HPLC chỉ ra một số sản phẩm tồn tại trong lớp nước bazơ mà được chiết tiếp bằng EtOAc (2 L), được rửa bằng dung dịch axit clohydric 1,0 M và nước muối, làm khô bằng natri sulfat khan, cô, và làm khô bằng bơm chân không cao trong 40 h để tạo thành hợp chất **xvi** là dầu màu nâu (134 g, 13,9%).

*Bước 4. (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on (xvii)*



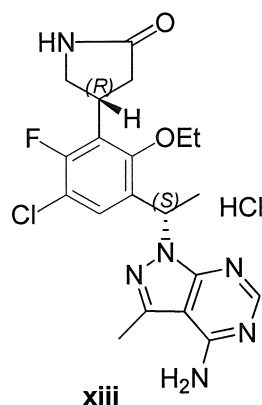
xvii

5-Amino-1-((*S*)-1-(5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)-3-methyl-1*H*-pyrazol-4-carbonitril (**xvi**, 702,7 g, 1731 mmol) được bổ sung vào bình phản ứng với formamidin axetat (1802 g, 17,31 mol) và 1,2-ethandiol (3,51 L). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 102-103°C kết hợp với khuấy trong 18 h. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và etyl axetat (7 L) và nước (6 L) được bổ sung vào và hỗn hợp hai pha được khuấy trong 15 phút. Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được pha loãng bằng nước (4,5 L) và etyl axetat (3 L) và khuấy trong 10 phút. Lớp hữu cơ được tách. Lớp nước được chiết tiếp bằng etyl axetat (2 L). Lớp hữu cơ được kết hợp và khuấy với nước (4,5 L). Lớp nước được tách và lớp hữu cơ được lọc qua tấm xelit (khoảng 1 kg). Lớp hữu cơ được chiết bằng dung dịch axit clohydric 1,0M (7 L) bằng cách khuấy hỗn hợp trong 10 phút. Lớp nước được tách. Lớp hữu cơ màu nâu trong được khuấy với dung dịch axit clohydric 1,0M (3 L) nữa trong 10 phút. Lớp nước được tách. Lớp axit chứa nước được kết hợp và được rửa bằng toluen (500 mL). Dung dịch axit được làm lạnh bằng bể nước đá và metylen clorua (4 L) được bổ sung vào. Ở 5-15°C, dung dịch chứa natri hydroxit (530 g) trong nước (530 mL) (dung dịch NaOH 50%) được bổ sung từ từ cho đến khi độ pH dung dịch là 11-12. Kết tủa rắn được quan sát. Metylen clorua (3,5 L) và metanol (300 mL) được bổ sung tiếp và hỗn hợp được khuấy trong 10-15 phút. Sản phẩm rắn được thu gom bằng cách lọc và làm khô bằng bộ lọc có hút trong 16 h để tạo thành hợp chất **xvii** (289,7 g) là chất rắn màu nâu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,30 (br s, 2H), 6,23 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,97 (p, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,90-3,73 (m, 2H), 3,57 (t, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,25 (dd, *J* = 9,2, 8,7

Hz, 1H), 2,48 (s, 3H), 2,60-2,50 (m, 1H), 2,36-2,20 (m, 1H), 1,69 (d, $J = 7,1$ Hz, 3 H), 1,39 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H). LCMS đối với $C_{20}H_{23}ClFN_6O_2$ ($M + H$)⁺: $m/z = 433,3$.

Nước lọc được chuyển vào phễu riêng biệt và lớp hữu cơ được tách. Lớp nước được khuấy với metylen clorua (5 L) và metanol (200 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan, cô, làm khô bằng bơm chân không cao trong 16 h để tạo thành thêm 259,3 g là chất rắn màu nâu. Hiệu suất tổng của **xvii** là 548,3 g với hiệu suất 73,2%.

Bước 5. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on muối hydroclorua (xviii)



Dung dịch axit clohydric 1,0M (HCl, 5,0 L, 5,0 mol) được bổ sung vào (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on (**xvii**, 609,8 g, 1,409 mol) ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, huyền phù đặc dày được đun nóng đến 50°C để tạo thành dung dịch trong. 1,82 L dung dịch axit clohydric 1,0M nữa (HCl, 1,82 L, 1,82 mol; tổng 6,82 L, 6,82 mol, 4,84 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch trong ở 50°C và dung dịch được lọc nhờ đánh bóng lọc ở khoảng 50°C. Hỗn hợp phản ứng được đánh bóng lọc được làm nguội từ từ đến nhiệt độ trong phòng trong 2 h trước khi được làm lạnh tiếp xuống 0 - 5°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 - 5°C trong ít nhất 20 phút để bắt đầu kết tủa. Chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng một phần nước cái lạnh, tiếp đó là dung dịch axit clohydric 1,0M (HCl, 200 mL), và làm khô bằng phễu lọc ở nhiệt độ trong phòng có hút đến trọng lượng không đổi (trong khoảng 39 h) để tạo thành muối của axit clohydric của hợp chất

có công thức I: (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on hydroclorua (**xviii**, 348,7 g, 661,2 g theo lý thuyết, 52,7%) là bột kết tinh màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,39 (br s, 1H), 9,05 (br s, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,59 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,28 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,79 (m, 2H), 3,55 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,59 (s, 3H), 2,55 (ddd, *J* = 16,8, 10,3, 2,3 Hz, 1H), 2,28 (ddd, *J* = 16,8, 8,6, 1,5 Hz, 1H), 1,73 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,38 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H) ppm. ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 175,3, 156,4 (*J*_{CF} = 249,8 Hz), 153,8 (*J*_{CF} = 7,0 Hz), 152,4, 150,8, 147,3, 144,3, 131,4 (*J*_{CF} = 3,5 Hz), 127,3, 126,4 (*J*_{CF} = 12,6 Hz), 116,1 (*J*_{CF} = 18,4 Hz), 98,0, 72,1, 49,1, 46,6, 36,0, 29,4, 21,0, 15,4, 14,6 ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-*d*₆) δ - 113,6 (d, *J*_{FH} = 7,7 Hz) ppm. C₂₀H₂₃Cl₂FN₆O₂ (MW 469,34); LCMS (EI) *m/e* 433,2 (M⁺ + H; khối lượng chính xác của **xvii**: 432,15). Hàm lượng nước bởi KF: 3,63% theo trọng lượng; hàm lượng clorua (Cl⁻) nhờ chuẩn độ: 7,56% theo trọng lượng (7,56% theo lý thuyết).

Khoảng nóng chảy/phân hủy của (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on hydroclorua dạng muối kết tinh được xác định bằng DSC, từ nhiệt độ ban đầu là 30°C đến nhiệt độ cuối cùng là 350°C sử dụng tốc độ đun nóng là 10°C/phút. Biểu đồ nhiệt DSC bộc lộ một sự kiện thu nhiệt với sự khởi phát ở 194,37°C và đỉnh ở 206,55°C, như được thể hiện trên FIG 1.

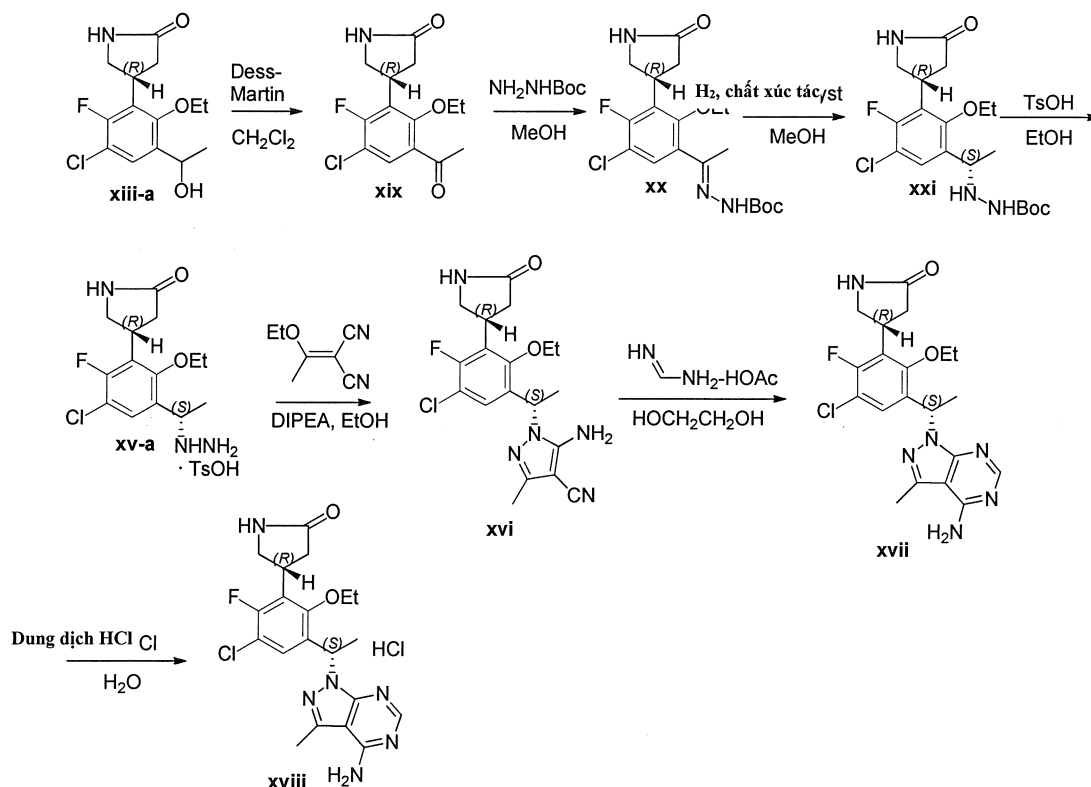
Biểu đồ nhiệt TGA thể hiện tổng trọng lượng giảm sút là 4,3% lên tới 210°C. Trên 210°C, muối bắt đầu phân hủy, như được thể hiện trên FIG. 2.

Mẫu nhiễu xạ bột tia X đại diện (XRPD) được thể hiện trên FIG. 3 và bảng 2 thể hiện đỉnh và cường độ tương ứng.

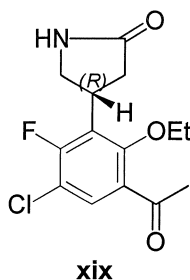
Bảng 2.

2-theta	Cường độ tương đối		2-theta	Cường độ tương đối		2-theta	Cường độ tương đối
5,739	2,20%		25,098	2,20%		42,916	2,40%
7,133	1,20%		25,66	7,00%		43,373	0,50%
7,736	0,10%		25,895	4,00%		44,148	0,40%
10,225	2,30%		27,168	3,10%		45,29	0,30%
11,283	99,00%		27,792	8,50%		46,089	1,40%
11,303	94,10%		28,1	10,00%		47,572	0,40%
13,666	2,90%		28,464	5,50%		48,897	0,70%
14,166	0,90%		30,134	3,20%		49,647	0,50%
14,833	0,10%		31,239	13,70%		50,589	0,30%
15,364	3,80%		31,918	1,30%		51,042	0,10%
16,354	9,70%		32,827	9,50%		51,687	0,40%
17,136	0,50%		33,818	0,70%		52,624	0,40%
16,866	2,70%		34,198	2,80%		53,287	0,50%
17,435	5,50%		35,033	2,10%		54,104	0,20%
17,635	3,30%		35,423	2,10%		54,127	0,10%
18,811	5,10%		36,226	0,30%		54,159	0,20%
18,898	6,60%		36,676	0,90%		55,42	0,30%
19,603	1,50%		37,47	0,90%		56,821	0,10%
20,157	1,80%		37,951	0,50%			
20,593	0,50%		38,457	1,70%			
21,039	11,10%		39,055	0,20%			
21,308	3,80%		39,968	0,20%			
22,169	7,50%		40,184	0,30%			
23,002	11,50%		40,962	0,20%			
24,628	6,60%		42	1,30%			

Ví dụ 4. Tổng hợp (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on hydroclorua theo cách khác



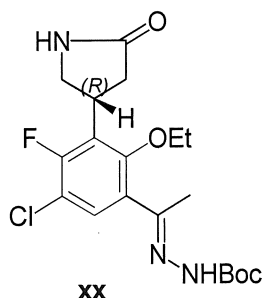
Bước 1. (R)-4-(3-axetyl-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrolidin-2-on (xix)



(4R)-4-[3-Clo-6-etoxy-2-flo-5-(1-hydroxyetyl)phenyl]pyrolidin-2-on (ở dạng hỗn hợp của hai chất đồng phân không đối quang với cấu hình *R* ở pyrolidinon và cấu hình *R* hoặc *S* ở rượu bậc hai) (**xiii**, 16,7 g, 55,3 mmol) được hòa tan trong diclometan (167 mL). Dung dịch được làm lạnh trong bể nước đá và Dess-Martin periodinan (35,2 g, 83,0 mmol) được bổ sung từng phần nhỏ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 h, tại thời điểm này phân tích HPLC thể hiện phản ứng kết thúc. Dung dịch chứa natri sulfit (28 g, 220 mmol) trong nước (70 mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và hỗn hợp được khuấy trong 20 phút. Dung dịch natri hydroxit 1,0M được bổ sung vào hỗn hợp và khuấy trong 10 phút. Các lớp được để lắng và lớp hữu cơ được tách và rửa lần lượt bằng dung dịch natri hydroxit 1M (66 mL) và nước (60 mL). Lớp hữu cơ được làm

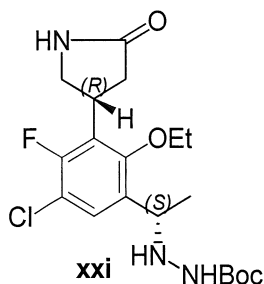
khô bằng natri sulfat khan. Chất làm khô được loại bỏ bằng cách lọc và nước lọc được cô để tạo thành (*R*)-4-[3-axetyl-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl]pyrrolidin-2-on là dầu được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 2. (R,E)-tert-butyl 2-(1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-(5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)etyliden)hydrazincarboxylat (xx)



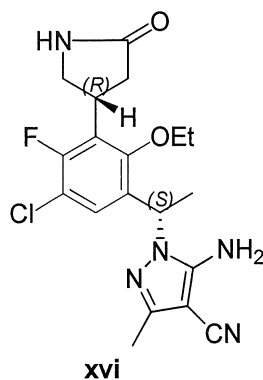
(*R*)-4-[3-axetyl-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl]pyrrolidin-2-on thô (hợp chất **xix** từ *Bước 1*) được hòa tan trong metanol (60 mL) và *t*-butyl carbazat (8,04 g, 60,8 mmol) được bổ sung vào dung dịch. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 65°C trong 3,5 ngày, tại thời điểm này phân tích HPLC thể hiện phản ứng kết thúc. Hỗn hợp được cô dưới áp suất giảm và cặn được tinh chế bằng sắc ký silicagel, tách rửa với hỗn hợp gồm 0 – 5% metanol trong etyl axetat để tạo thành (*R,E*)-*tert*-butyl 2-(1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-(5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)etyliden)hydrazincarboxylat (**xx**, 19,5 g, 85%). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,83 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,36 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,07 (p, *J* = 9,1 Hz, 1H), 3,84-3,69 (m, 2H), 3,59 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H), 3,28 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H), 2,54 (m, 1H), 2,33 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 1,46 (s, 9H), 1,25 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). LCMS đối với C₁₉H₂₅ClFN₃NaO₄ (M + Na)⁺: *m/z* = 436,1.

Bước 3. tert-Butyl 2-((S)-1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-((R)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)etyl)hydrazincarboxylat (xxi)



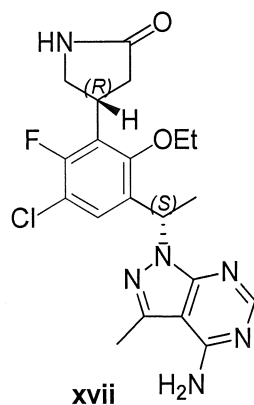
(*R,E*)-*tert*-butyl 2-(1-(5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)hydrazinylcarboxylat (**xx**, 0,5 g, 1,2 mmol) được hòa tan trong metanol (25 mL) và dung dịch được sục khí nitơ trong 5 phút. Bis(1,5-xyclooctadien)rodi(I)tetrafloroborat (35 mg, 0,086 mmol) và (*R*)-(-)-1-{(S)-2-[bis(4-triflometylphenyl)phosphin]feroxenyl}etyl-di-*t*-butylphosphin (64 mg, 0,094 mmol) được bổ sung vào dung dịch và hỗn hợp phản ứng thu được được sục khí nitơ trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy dưới áp suất khí hydro (56 psi (1 psi = 6,895 kPa)) trong 2,5 ngày. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm và cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, tách rửa với hỗn hợp gồm metanol (0-10%) trong etyl axetat. Các phân đoạn mong muốn được cô để tạo thành *tert*-butyl 2-((*S*)-1-(5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)hydrazinylcarboxylat (**xxi**, 428 mg, hiệu suất 85%). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,18 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,41 (br s, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,75 (m, 2H), 3,61 (m, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,53 (m, 1H), 2,29 (dd, *J* = 17,6, 8,6 Hz, 1H), 1,32 (s, 12H), 1,10 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H). LCMS đối với C₁₉H₂₇ClFN₃NaO₄ (M + Na)⁺: *m/z* = 437,9. Phân tích HPLC bất đối xứng chỉ ra sản phẩm chứa chất đồng phân không đối quang mong muốn *tert*-butyl-2-((*S*)-1-(5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)hydrazinyl carboxylat (**xxi**) ở 85,6% và chất đồng phân không đối quang không mong muốn *tert*-butyl-2-((*R*)-1-(5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)hydrazinylcarboxylat ở 14,3%.

Bước 4. 5-Amino-1-((S)-1-(5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-((R)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)-3-metyl-1H-pyrazol-4-carbonitril (xvi)



tert-Butyl 2-((*S*)-1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)hydrazincarboxylat (**xxi**, 130 mg, 0,31 mmol) và monohydrat của axit *p*-toluensulfonic (86 mg, 0,45 mmol) được bổ sung vào etanol (3 mL) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 50°C trong 20 h. Phân tích HPLC thể hiện có khoảng 88% nguyên liệu ban đầu chưa phản ứng. Lượng nửa của axit *p*-toluen sulfonic (86 mg, 0,45 mmol) được nạp và hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 60°C trong 24h. Phân tích HPLC thể hiện khử bảo vệ Boc hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng này được bổ sung với (1-etoxyetyliden)malononitril (61 mg, 0,45 mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (260 μ L, 1,5 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 h. HPLC thể hiện sự kết thúc của quá trình tạo vòng pyrazol. Dung dịch natri hydroxit 1,0M được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và khuấy trong 20 phút. Etyl axetat (20 mL) được bổ sung vào hỗn hợp và khuấy. Hỗn hợp hai pha được để lắng. Lớp etyl axetat được thu gom và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (10 mL). Dung dịch etyl axetat kết hợp được bổ sung với dung dịch axit clohydric 1M (5 mL) và khuấy trong 15 phút. Hỗn hợp hai pha được để lắng và lớp hữu cơ được thu gom và làm khô bằng natri sulfat khan. Natri sulfat được loại bỏ bằng cách lọc và nước lọc được cô để tạo thành 5-Amino-1-((*S*)-1-(5-clo-2-etoxy-4-flo-3-((*R*)-5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl)ethyl)-3-metyl-1*H*-pyrazol-4-carbonitril (**xvi**, 126 mg, hiệu suất sản phẩm thô định lượng) và được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 5. (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on (xvii)



5-Amino-1-((1*S*)-1-[5-chloro-2-ethoxy-4-fluoro-3-(5-oxopyrrolidin-3-yl)phenyl]ethyl)-3-methyl-1*H*pyrazol-4-carbonitril (**xvi**, 126 mg, 0,31 mmol) được bổ sung với formamidin axetat (323 mg, 3,1 mmol) và 1,2-etandiol (2 mL). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 104-105°C kết hợp với khuấy. Sau 8 h, phân tích HPLC thể hiện khoảng 44% nguyên liệu ban đầu hợp chất **xvi** vẫn còn. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 115°C trong 24 h. Phân tích HPLC thể hiện phản ứng đã kết thúc. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và etyl axetat (10 mL) và nước (5 mL) được bổ sung. Hỗn hợp hai pha được khuấy. Các lớp được để cho phân tách. Lớp hữu cơ được thu gom và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (5 mL). Dung dịch etyl axetat kết hợp được rửa bằng nước (5 mL), làm khô bằng natri sulfat khan. Natri sulfat được loại bỏ bằng cách lọc và nước lọc được cô thành cạn. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silicagel. Cột được tách rửa với hỗn hợp gồm metanol (0-5%) trong metylen clorua. Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi để tạo thành (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-amino-3-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)ethyl)-5-chloro-2-ethoxy-6-fluorophenyl)pyrrolidin-2-on (**xvii**, 94 mg, hiệu suất 69,9%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,30 (br s, 2H), 6,23 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 3,97 (p, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,90-3,73 (m, 2H), 3,57 (t, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,25 (dd, *J* = 9,2, 8,7 Hz, 1H), 2,48 (s, 3H), 2,60-2,50 (m, 1H), 2,36-2,20 (m, 1H), 1,69 (d, *J* = 7,1 Hz, 3 H), 1,39 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). LCMS đối với C₂₀H₂₃ClFN₆O₂ (M + H)⁺: *m/z* = 433,3.

Phân tích HPLC bất đối xứng sản phẩm chỉ ra sản phẩm chứa chất đồng phân không đối quang mong muốn, (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-amino-3-methyl-1*H*-

pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)ethyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrolidin-2-on (**xvii**), ở 87% và chất đồng phân không đối quang không mong muốn (*R*)-4-(3-((*R*)-1-(4-amino-3-metyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-1-yl)ethyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrolidin-2-on ở 13%.

Bước 6. (R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)ethyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrolidin-2-on hydroclorua

Hợp chất nêu ở đề mục được điều chế theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 3, *Bước 5*. Muối hydroclorua thu được phù hợp với nguyên liệu được làm từ quy trình tổng hợp được mô tả trong *Ví dụ 3*, về mọi khía cạnh so sánh bao gồm độ tinh khiết hóa học, độ tinh khiết bất đối xứng, và đặc tính trạng thái rắn.

Ví dụ A1: Thử nghiệm enzym PI3K

Kit thử nghiệm PI3-kinaza phát quang bao gồm chất nền lipid kinaza, protein dò I(1,3,4,5)P₄, PI(3,4,5)P₃ được biotinyl hóa, được gắn kết với D-myo-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphat (PtdIns(4,5)P₂)D (+)-sn-1,2-di-O-octanoylglyxeryl, 3-O-phospho (PIP₂), được mua từ Echelon Biosciences (Salt Lake City, UT). Kit phát hiện AlphaScreen™ GST bao gồm hạt cho và hạt nhận được mua từ PerkinElmer Life Sciences (Waltham, MA). PI3Kδ (p110δ /p85α) được mua từ Millipore (Bedford, MA). ATP, MgCl₂, DTT, EDTA, HEPES và CHAPS được mua từ Sigma–Aldrich (St. Louis, MO).

Thử nghiệm AlphaScreen™ đối với PI3Kδ

Phản ứng kinaza được thực hiện trong đĩa REMP 384 lỗ từ Thermo Fisher Scientific với thể tích cuối cùng là 40 µL. Đầu tiên, chất ức chế được pha loãng theo dãy trong DMSO và được bổ sung vào lỗ trong đĩa trước khi bổ sung các thành phần phản ứng khác. Nồng độ cuối cùng của DMSO trong thử nghiệm là 2%. Thử nghiệm PI3K được thực hiện ở nhiệt độ phòng trong 50 mM HEPES, pH 7,4, 5mM MgCl₂, 50 mM NaCl, 5mM DTT và CHAPS 0,04%. Các phản ứng được bắt đầu bằng việc bổ sung ATP, hỗn hợp phản ứng cuối cùng gồm

20 μ M PIP2, 20 μ M ATP, 1,2nM PI3K được ủ trong 20 phút. Sau đó, 10 μ L hỗn hợp phản ứng được chuyển vào 5 μ L 50nM I(1,3,4,5)P4 được biotinyl hóa trong dung dịch đệm dập tắt: 50 mM HEPES pH 7,4, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, 5 mM DTT, 0,1% Tween-20, tiếp đó bổ sung 10 μ L AlphaScreen™ hạt cho và hạt nhận được tạo huyền phù trong dung dịch đệm dập tắt chứa 25nM protein dò PI(3,4,5)P3. Nồng độ cuối cùng của cả hạt cho và hạt nhận là 20 mg/ml. Sau khi gắn kín đĩa, đĩa được ủ trong vùng tối ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hoạt tính của sản phẩm được xác định bằng bộ đọc vi đĩa Fusion-alpha (Perkin–Elmer). Việc xác định IC₅₀ được thực hiện bằng cách khớp đường cong hoạt tính đối chứng phần trăm so với loga của nồng độ chất ức chế bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 3.0.

Ví dụ A2: Thử nghiệm enzym PI3K

Nguyên liệu: Chất nền lipid kinaza, phosphoinositol-4,5-bisphosphat (PIP2), được mua từ Echelon Biosciences (Salt Lake City, UT). Các đồng dạng PI3K α , β , δ và γ được mua từ Millipore (Bedford, MA). ATP, MgCl₂, DTT, EDTA, MOPS và CHAPS được mua từ Sigma–Aldrich (St. Louis, MO).

Phản ứng kinaza được thực hiện trong đĩa đáy trong 96 lỗ từ Thermo Fisher Scientific với thể tích cuối cùng là 24 μ L. Đầu tiên, chất ức chế được pha loãng theo dãy trong DMSO và được bổ sung vào lỗ trong đĩa trước khi bổ sung các thành phần phản ứng khác. Nồng độ cuối cùng của DMSO trong thử nghiệm là 0,5%. Thử nghiệm PI3K được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng trong 20 mM MOPS, pH 6,7, 10 mM MgCl₂, 5 mM DTT và CHAPS 0,03%. Hỗn hợp phản ứng được điều chế chứa 50 μ M PIP2, kinaza và nồng độ thay đổi của chất ức chế. Phản ứng được bắt đầu bằng việc bổ sung ATP chứa 2,2 μ Ci [γ -³³P]ATP vào nồng độ cuối cùng 1000 μ M. Nồng độ cuối cùng của đồng dạng PI3K α , β , δ và γ trong thử nghiệm lần lượt là 1,3, 9,4, 2,9 và 10,8 nM. Phản ứng được ủ trong 180 phút và được kết thúc bằng việc bổ sung 100 μ L 1M kali phosphat pH 8,0, 30 mM EDTA dung dịch đệm dập tắt. Sau đó, 100 μ L phân phân ước của dung dịch phản ứng được chuyển vào đĩa lọc 96 lỗ Millipore MultiScreen IP 0,45 μ m PVDF (đĩa lọc

được làm ẩm sơ bộ lần lượt bằng 200 μ L 100% etanol, nước cất, và 1M kali phosphat pH 8,0). Đĩa lọc được hút khí bằng Millipore Manifold dưới chân không và được rửa bằng $18 \times 200 \mu$ L dung dịch đệm rửa chứa 1M kali phosphat pH 8,0 và 1 mM ATP. Sau khi làm khô bằng cách hút khí và thấm, đĩa được làm khô bằng không khí trong máy ủ ở 37°C qua đêm. Sau đó, bộ nổi Packard TopCount (Millipore) được gắn vào đĩa, tiếp đó bổ sung 120 μ L hỗn hợp nhấp nháy Microscint 20 (Perkin Elmer) vào mỗi lỗ. Sau khi gắn kín đĩa, hoạt tính phóng xạ của sản phẩm được xác định bằng cách đếm nhấp nháy trên Topcount (Perkin–Elmer). Việc xác định IC₅₀ được thực hiện bằng cách khớp đường cong hoạt tính đối chứng phần trăm so với loga của nồng độ chất ức chế bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 3.0.

Muối của axit clohydric của (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on được kiểm tra trong thử nghiệm của Ví dụ A2 và được xác định là chất ức chế chọn lọc đối với PI3K δ .

Muối của axit clohydric của (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-amino-3-metyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)etyl)-5-clo-2-etoxy-6-flophenyl)pyrrolidin-2-on được kiểm tra trong thử nghiệm của Ví dụ A2 và được xác định là chất ức chế chọn lọc gấp >100 lần đối với PI3K δ so với mỗi PI3K α , PI3K β , và PI3K γ .

Ví dụ A3: Thử nghiệm gần như nhấp nháy PI3K δ

Nguyên liệu

[γ -³³P]ATP (10mCi/mL) được mua từ Perkin–Elmer (Waltham, MA). Chất nền lipid kinaza, D-myo-Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphat (PtdIns(4,5)P₂)D (+)-sn-1,2-di-O-octanoylglyxeryl, được gắn kết với 3-O-phospho (PIP₂), CAS 204858-53-7, được mua từ Echelon Biosciences (Salt Lake City, UT). PI3K δ (p110 δ /p85 α) được mua từ Millipore (Bedford, MA). ATP, MgCl₂, DTT, EDTA, MOPS và CHAPS được mua từ Sigma–Aldrich (St. Louis, MO). Hạt nhấp nháy

Wheat Germ Agglutinin (WGA) YSi SPA được mua từ GE healthcare life sciences (Piscataway, NJ).

Phản ứng kinaza được thực hiện trong đĩa màu trắng nền polystyrene 384 lỗ từ Thermo Fisher Scientific với thể tích cuối cùng là 25 μ L. Đầu tiên, chất ức chế được pha loãng theo dãy trong DMSO và được bổ sung vào lỗ trong đĩa trước khi bổ sung các thành phần phản ứng khác. Nồng độ cuối cùng của DMSO trong thử nghiệm là 0,5%. Thử nghiệm PI3K được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng trong 20 mM MOPS, pH 6,7, 10 mM $MgCl_2$, 5 mM DTT và CHAPS 0,03%. Phản ứng được bắt đầu bằng việc bổ sung ATP, hỗn hợp phản ứng cuối cùng gồm 20 μ M PIP2, 20 μ M ATP, 0,2 μ Ci [γ - ^{33}P] ATP, 4 nM PI3K δ . Phản ứng được ủ trong 210 phút và được kết thúc bằng việc bổ sung 40 μ L hạt SPA được tạo huyền phù trong dung dịch đệm dập tắt: 150mM kali phosphat pH 8,0, 20% glyxerol. 25 mM EDTA, 400 μ M ATP. Nồng độ cuối cùng của hạt SPA là 1,0 mg/mL. Sau khi gắn kín đĩa, đĩa được lắc qua đêm ở nhiệt độ trong phòng và ly tâm ở 1800 vòng/phút trong 10 phút, hoạt tính phóng xạ của sản phẩm được xác định bằng cách đếm nhấp nháy trên Topcount (Perkin–Elmer). Việc xác định IC_{50} được thực hiện bằng cách khớp đường cong hoạt tính đối chứng phần trăm so với loga của nồng độ chất ức chế bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 3.0. Hợp chất có công thức **I** được phát hiện có $IC_{50} \leq 10$ nM trong thử nghiệm của Ví dụ A3.

Ví dụ B1: Thử nghiệm tăng sinh tế bào B

Để thu được tế bào B, PBMC người được tách từ máu ngoại vi của người cho bình thường, có dùng được chất bằng cách ly tâm gradien tỷ trọng chuẩn trên Ficoll-Hypaque (GE Healthcare, Piscataway, NJ) và ủ với vi hạt kháng CD19 (Miltenyi Biotech, Auburn, CA). Sau đó, các tế bào B được tinh chế bằng phân loại miễn dịch dương sử dụng autoMacs (Miltenyi Biotech) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Tế bào B tinh chế (2×10^5 /lỗ/200 μ L) được nuôi cấy trong đĩa gắn kết cực thấp 96 lỗ (Corning, Corning, NY) trong RPMI1640, 10% FBS và IgM kháng người của F(ab')₂ dê (10 μ g/ml) (Invitrogen, Carlsbad, CA) với sự có mặt của

lượng khác nhau của hợp chất thử nghiệm trong ba ngày. [^3H]-thymidin (1 $\mu\text{Ci/lỗ}$) (PerkinElmer, Boston, MA) trong PBS được bổ sung vào môi trường nuôi cấy tế bào B trong 12 giờ nữa trước khi hoạt tính phóng xạ hợp nhất được tách bằng cách lọc với nước qua bộ lọc GF/B (Packard Bioscience, Meriden, CT) và được xác định bằng cách đếm nhấp nháy lỏng với TopCount (Packard Bioscience).

Ví dụ B2: Thử nghiệm tăng sinh tế bào Pfeiffer

Dòng tế bào Pfeiffer (u lympho tế bào B lớn lan tỏa) được mua từ ATCC (Manassas, VA) và giữ trong môi trường nuôi cấy được khuyến cáo (RPMI và 10% FBS). Để xác định hoạt tính chống tăng sinh của hợp chất, tế bào Pfeiffer được phủ bằng môi trường nuôi cấy (2×10^3 tế bào / lỗ/ trên 200 μl) vào đĩa gắn kết cực thấp 96 lỗ (Corning, Corning, NY), với sự có mặt hoặc vắng mặt của khoảng nồng độ của hợp chất thử nghiệm. Sau 3-4 ngày, [^3H]-thymidin (1 $\mu\text{Ci/lỗ}$) (PerkinElmer, Boston, MA) trong PBS được bổ sung vào môi trường nuôi cấy trong 12 giờ nữa trước khi hoạt tính phóng xạ hợp nhất được tách bằng cách lọc với nước qua bộ lọc GF/B (Packard Bioscience, Meriden, CT) và được xác định bằng cách đếm nhấp nháy lỏng với TopCount (Packard Bioscience).

Ví dụ B3: Thử nghiệm tăng sinh tế bào SUDHL-6

Dòng tế bào SUDHL-6 (u lympho tế bào B lớn lan tỏa) được mua từ ATCC (Manassas, VA) và giữ trong môi trường nuôi cấy được khuyến cáo (RPMI và 10% FBS). Để xác định hoạt tính chống tăng sinh của hợp chất bằng cách định lượng ATP, các tế bào SUDHL-6 được phủ bằng môi trường nuôi cấy (5000 tế bào / lỗ/mỗi 200 μl) trong đĩa nuôi cấy mô 96 lỗ màu đen trong (Greiner-bio-on thông qua VWR, NJ) với sự có mặt hoặc không có mặt của khoảng nồng độ của hợp chất thử nghiệm. Sau 3 ngày, chất nuôi cấy tế bào Cell Titer-GLO Luminescent (Promega, Madison, WI) được bổ sung vào mỗi lỗ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng để ổn định tín hiệu phát quang. Nhờ đó xác định số lượng tế bào nhìn thấy trong môi trường dựa vào định lượng ATP có mặt, mà phát tín hiệu sự có mặt của

tế bào có hoạt tính chuyển hóa. Sự phát quang được xác định bằng TopCount 384 (Packard Bioscience thông qua Perkin Elmer, Boston, MA).

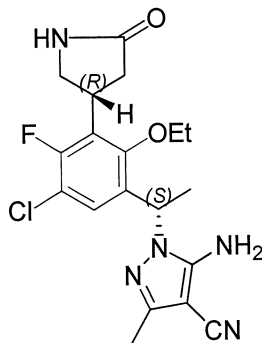
Ví dụ C: Thử nghiệm phosphoryl hóa Akt

Tế bào Ramos (tế bào lympho B từ u lympho Burkitts) thu được từ ATCC (Manassas, VA) và giữ trong RPMI1640 và 10% FBS. Các tế bào (3×10^7 tế bào / ống/3 mL trong RPMI) được ủ với lượng khác nhau của hợp chất thử nghiệm trong 2 giờ ở 37°C và sau đó được kích thích bằng IgM kháng người của F(ab')₂ dê (5 µg/mL) (Invitrogen) trong 17 phút trong bể nước 37°C. Tế bào đã kích thích được quay xuống 4°C bằng cách ly tâm và toàn bộ phần chiết tế bào được điều chế bằng cách sử dụng 300 µL dung dịch đệm phân giải (Cell Signaling Technology, Danvers, MA). Dịch phân giải thu được được nghiền bằng sóng âm và dịch nổi bề mặt được thu gom. Mức độ phosphoryl hóa Akt trong dịch nổi bề mặt được phân tích bằng cách sử dụng kit ELISA gắn đặc hiệu PathScan phospho-Akt1 (Ser473) (Cell Signaling Technology) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

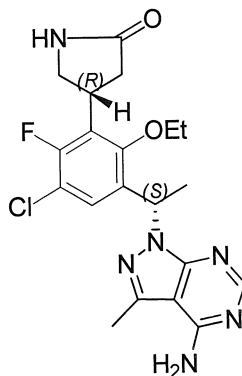
Các cải biến khác nhau theo sáng chế, ngoài các phương án được mô tả ở đây, sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này từ phần mô tả nêu trên. Các cải biến này cũng được dự định nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mỗi viện dẫn, bao gồm tất cả các patent, đơn patent, và công bố, được trích dẫn trong đơn này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XVI**:

**XVI**

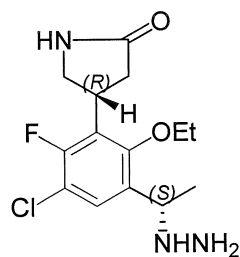
phản ứng với formamidin axetat để tạo thành hợp chất có công thức **I**:

**I**

tùy ý, trong đó:

- (a) phản ứng của hợp chất có công thức **XVI** với formamidin axetat được thực hiện trong thành phần dung môi chứa 1,2-etandiol; và/hoặc
- (b) phản ứng của hợp chất có công thức **XVI** với formamidin axetat được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 105°C; và/hoặc
- (c) khoảng 8 đến 10 đương lượng của formamidin axetat được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XVI**.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XVI** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XV**:

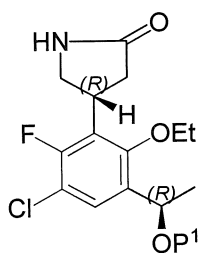
**XV**

phản ứng với (1-etoxyetyliden)malononitril với sự có mặt của amin bậc ba; tùy ý, trong đó:

(a) amin bậc ba là *N*-metylpýrolidinon; và/hoặc

(b) phản ứng của hợp chất có công thức **XV** với (1-etoxyetyliden)malononitril được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng.

3. Quy trình theo điểm 2, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XV** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XIV-a**:

**XIV-a**

phản ứng với hydrazin với sự có mặt của amin bậc ba, trong đó P¹ là C₁₋₆ alkylsulfonyl; tùy ý, trong đó:

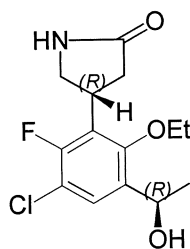
(a) amin bậc ba là *N*-metylpýrolidinon; và/hoặc

(b) phản ứng của hợp chất có công thức **XIV-a** với hydrazin được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 35°C đến 60°C; và/hoặc

(c) phản ứng của hợp chất có công thức **XIV-a** với hydrazin được thực hiện trong thành phần dung môi chứa diclometan; và/hoặc

(d) P¹ là nhóm metansulfonyl.

4. Quy trình theo điểm 3, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XIV-a** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XIII**:



XIII

phản ứng với C_{1-6} alkylsulfonylhalogenua với sự có mặt của amin bậc ba; tùy ý, trong đó:

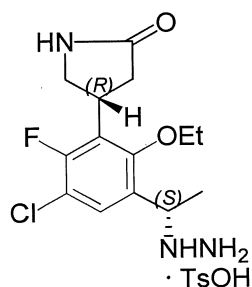
- (a) C_{1-6} alkylsulfonylhalogenua là metansulfonyl clorua; và/hoặc
- (b) amin bậc ba là *N,N*-diisopropyletylamin; và/hoặc
- (c) khoảng 1,1 đến 1,5 đương lượng của alkylsulfonylhalogenua được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XIII**.

5. Quy trình theo điểm 4, trong đó phản ứng của hợp chất có công thức **XIII** với C_{1-6} alkylsulfonylhalogenua được thực hiện:

- (a) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 5°C ; và/hoặc
- (b) trong thành phần dung môi chứa diclometan.

6. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó các bước: (i) phản ứng của hợp chất có công thức **XIII** với C_{1-6} alkylsulfonylhalogenua; (ii) phản ứng của hợp chất có công thức **XIV-a** với hydrazin với sự có mặt của amin bậc ba để tạo thành hợp chất có công thức **XV**; và (iii) phản ứng của hợp chất có công thức **XV** với formamidin axetat để tạo thành hợp chất có công thức **XVI** được thực hiện trong cùng một bình mà không cần tách hợp chất có công thức **XIV-a** hoặc hợp chất có công thức **XV**.

7. Quy trình theo điểm 1, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XVI** bằng quy trình bao gồm bước cho muối của công thức **XV-a**:

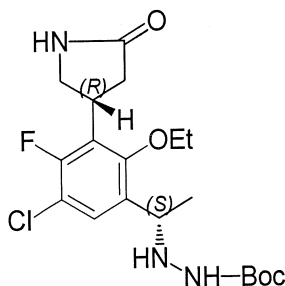


XV-a

phản ứng với (1-etoxyetyliden)malononitril với sự có mặt của amin bậc ba, trong đó TsOH là axit p-toluensulfonic; tùy ý, trong đó:

- (a) amin bậc ba là *N,N*-diisopropyletylamin; và/hoặc
- (b) phản ứng của muối của công thức **XV-a** với (1-etoxyetyliden)malononitril được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng; và/hoặc
- (c) khoảng 1,3 đến 1,6 đương lượng của (1-etoxyetyliden)malononitril được sử dụng tính theo 1 đương lượng của muối của công thức **XV-a**; và/hoặc
- (d) phản ứng của muối của công thức **XV-a** với (1-etoxyetyliden)malononitril được thực hiện trong thành phần dung môi chứa etanol.

8. Quy trình theo điểm 7, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế muối của công thức **XV-a** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XXI**:



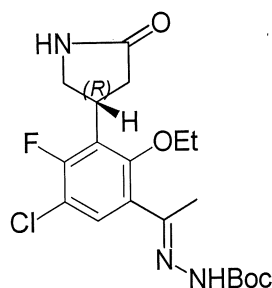
XXI

phản ứng với axit p-toluensulfonic, trong đó Boc là tert-butoxycarbonyl; tùy ý, trong đó:

- (a) axit p-toluensulfonic là monohydrat của axit p-toluensulfonic; và/hoặc
 (b) khoảng 1,3 đến 1,6 đương lượng của axit p-toluensulfonic được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XXI**; và/hoặc
 (c) phản ứng của hợp chất có công thức **XXI** với axit p-toluensulfonic được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 45°C đến 65°C; và/hoặc
 (d) phản ứng của hợp chất có công thức **XXI** với axit p-toluensulfonic được thực hiện trong thành phần dung môi chứa etanol.

9. Quy trình theo điểm 8, trong đó các bước: (i) phản ứng của hợp chất có công thức **XXI** với axit p-toluensulfonic để tạo thành muối của công thức **XV-a**; và (ii) phản ứng của muối của công thức **XV-a** với (1-etoxyetylidene)malononitril được thực hiện trong cùng một bình mà không cần tách muối của công thức **XV-a**.

10. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 9, trong đó quy trình còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XXI** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XX**:



XX

phản ứng với khí hydro với sự có mặt của một hoặc nhiều chất xúc tác hydro hóa độc lập được chọn, trong đó Boc là *t*-butoxycarbonyl.

11. Quy trình theo điểm 10, trong đó phản ứng của hợp chất có công thức **XX** với khí hydro được thực hiện với sự có mặt của hai chất xúc tác hydro hóa độc lập được chọn; tùy ý trong đó một chất xúc tác hydro hóa là bis(1,5-xyclooctadien)rodi(I)tetrafloroborat và chất còn lại là (*R*)-(-)-1-[(*S*)-2-[bis(4-triflometylphenyl)phosphin]feroxenyl]etyl-di-*t*-butylphosphin.

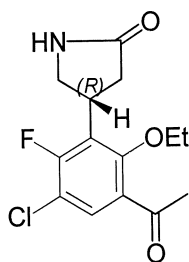
12. Quy trình theo điểm 11, trong đó:

(a) khoảng 13,5 đến 14,5 đương lượng của hợp chất có công thức **XX** được sử dụng tính theo 1 đương lượng của bis(1,5-xyclooctadien)rodi(I)tetrafloroborat; và/hoặc

(b) khoảng 12 đến 13 đương lượng của hợp chất có công thức **XX** được sử dụng tính theo 1 đương lượng của (*R*)-(-)-1-{(S)-2-[bis(4-triflometylphenyl)phosphin]feroxenyl}etyl-di-*t*-butylphosphin.

13. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 12, trong đó phản ứng của hợp chất có công thức **XX** với khí hydro được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng; và/hoặc phản ứng của hợp chất có công thức **XX** với khí hydro được thực hiện trong thành phần dung môi chứa metanol.

14. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 13, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XX** bằng quy trình bao gồm bước cho hợp chất có công thức **XIX**:



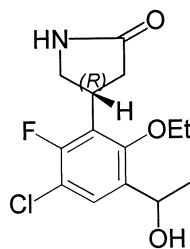
XIX

phản ứng với *t*-butyl carbazat; tùy ý, trong đó:

(a) phản ứng của hợp chất có công thức **XIX** phản ứng với *t*-butyl carbazat được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 70°C; và/hoặc

(b) phản ứng của hợp chất có công thức **XIX** với *t*-butyl carbazat được thực hiện trong thành phần dung môi chứa metanol.

15. Quy trình theo điểm 14, trong đó quy trình này còn bao gồm bước điều chế hợp chất có công thức **XIX** bằng quy trình bao gồm bước oxy hóa hợp chất có công thức **XIII-a**:



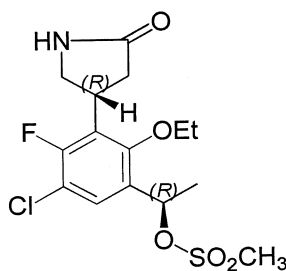
XIII-a

với sự có mặt của chất oxy hóa; tùy ý, trong đó:

- (a) chất oxy hóa là Dess-Martin periodinan; và/hoặc
- (b) khoảng 1,2 đến 1,7 đương lượng của chất oxy hóa được sử dụng tính theo 1 đương lượng của hợp chất có công thức **XIII-a**; và/hoặc
- (c) phản ứng oxy hóa hợp chất có công thức **XIII-a** được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng; và/hoặc
- (d) phản ứng oxy hóa hợp chất có công thức **XIII-a** được thực hiện trong thành phần dung môi chứa diclometan.

16. Hợp chất được chọn từ:

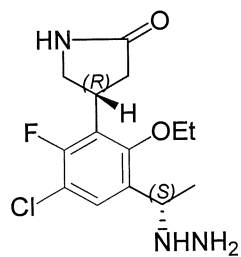
- (a) công thức **XIV**:



XIV

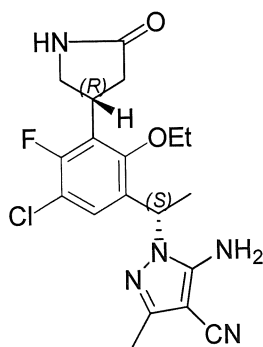
hoặc muối được dụng của chúng; hoặc

- (b) công thức **XV**:

**XV**

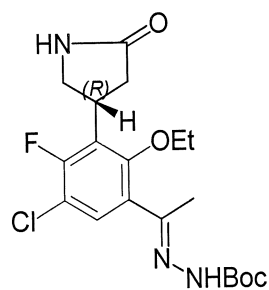
hoặc muối được dụng của chúng; hoặc

(c) công thức **XVI**:

**XVI**

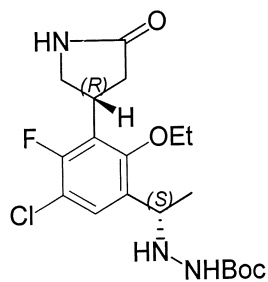
hoặc muối được dụng của chúng; hoặc

(d) công thức **XX**:

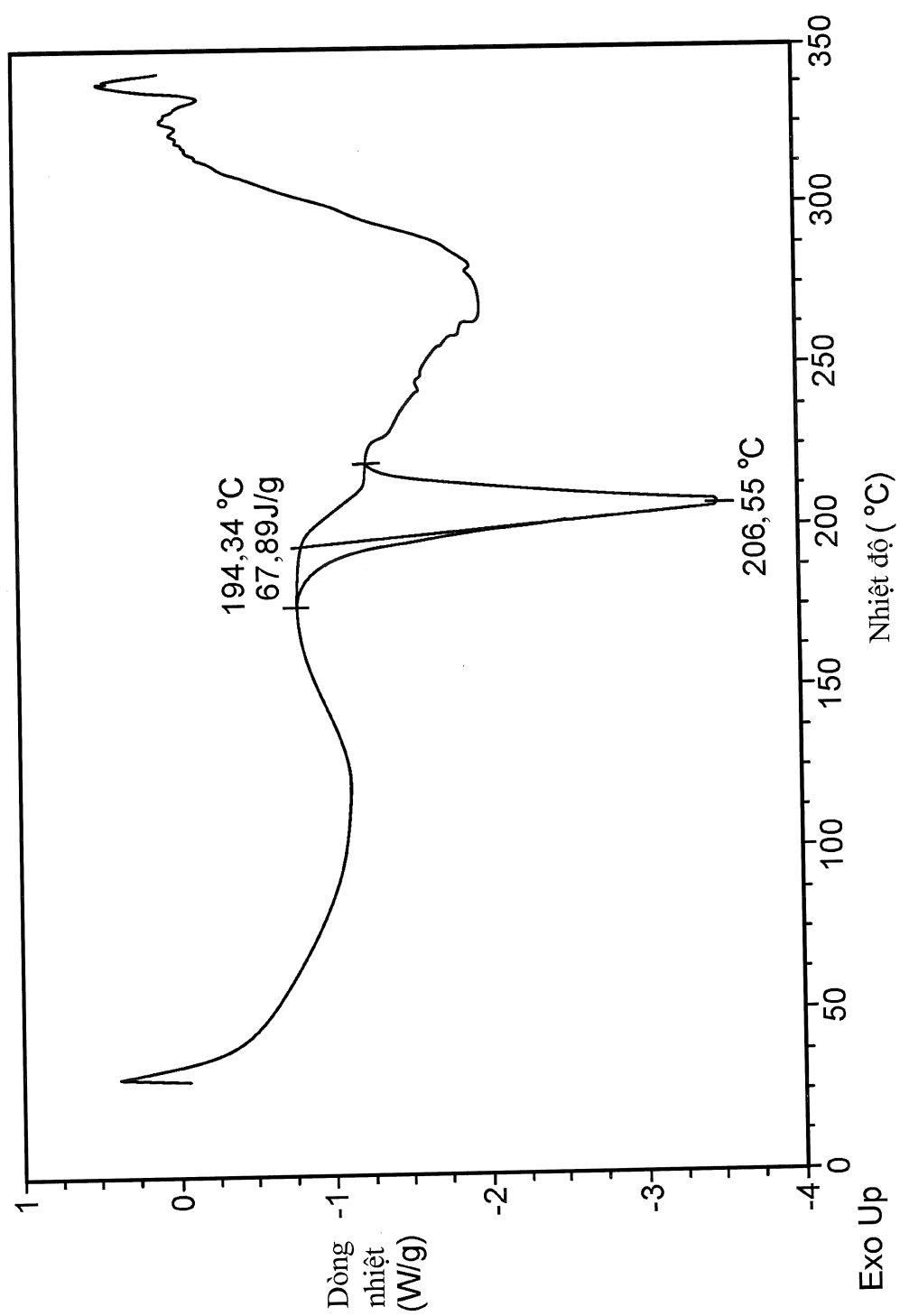
**XX**

hoặc muối được dụng của chúng; hoặc

(e) công thức **XXI**:

**XXI**

hoặc muối được dụng của chúng.

**FIG. 1**

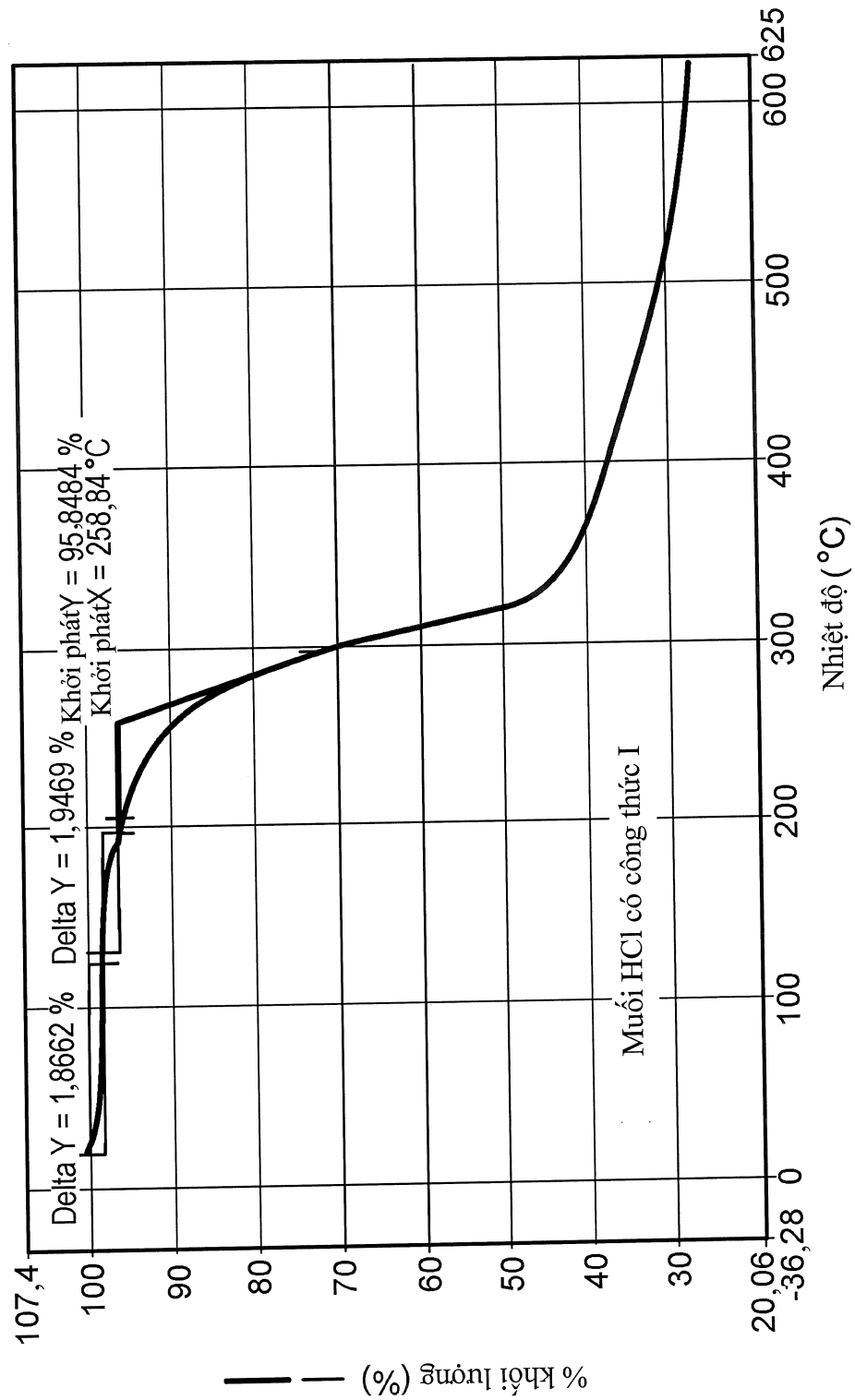
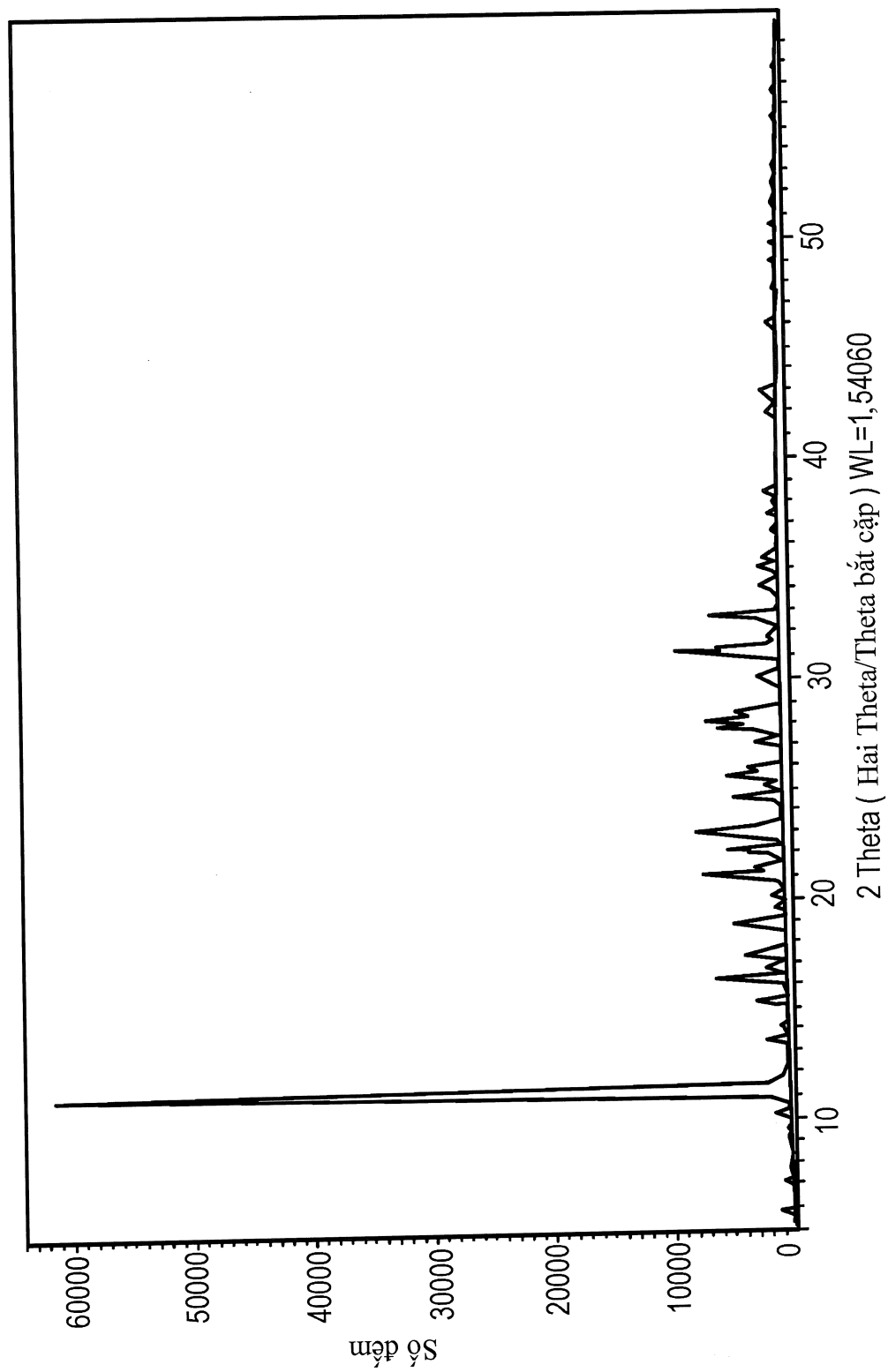


FIG. 2

**FIG. 3**