



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

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

(11)



1-0027033

(51)⁸ C07D 405/14; A61K 31/4709; A61K 31/506; A61P 29/00; C07D 211/62; C07D 401/04; A61K 31/451; A61P 19/02 (13) B

(21) 1-2017-01520

(22) 22/10/2015

(86) PCT/US2015/056960 22/10/2015

(87) WO2016/069376 06/05/2016

(30) 62/072,196 29/10/2014 US

(45) 25/01/2021 394

(43) 25/09/2017 354A

(73) ELI LILLY AND COMPANY (US)

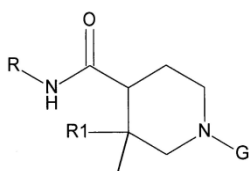
Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, United States of America

(72) FISHER, Matthew Joseph (US); KUKLISH, Steven Lee (US); PARTRIDGE, Katherine Marie (US); SCHIFFLER, Matthew Allen (US); MANNINEN, Peter Rudolph (US); WARSHAWSKY, Alan M. (US); YORK, Jeremy Schulenburg (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT METYL-PIPERIDIN HỮU ÍCH ĐỂ ỨNG DỤNG CHẾ PROSTAGLANDIN E2 SYNTHAZA-1 VI THỂ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế cập đến hợp chất có công thức 1, hoặc muối dược dụng của nó,



1,

trong đó R, R1, và G là như được mô tả trong bản mô tả này; và các phương pháp điều chế hợp chất này. Hợp chất này hữu ích để điều trị chứng đau và/hoặc viêm kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất; các dược phẩm chứa các hợp chất này; và các hợp chất trung gian và các quy trình hữu ích trong việc tổng hợp các hợp chất này. Các hợp chất này hữu ích để điều trị chứng đau và/hoặc viêm kết hợp với bệnh viêm khớp.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh viêm khớp bao gồm bệnh viêm các khớp và thường đi kèm với chứng đau và cứng khớp. Bệnh viêm khớp xương mãn tính, dạng thông thường nhất của bệnh viêm khớp, là bệnh thoái hóa phức tạp của các khớp được đặc trưng bằng sự phá hủy tiến triển của sụn khớp; các cấu trúc quanh khớp gồm xương, màng hoạt dịch, và các mô khớp dạng xơ kết hợp; và sự thay đổi mức độ viêm. Các liệu pháp thuốc hiện có sử dụng các thuốc chống viêm không steroid (NSAID) và các chất ức chế cyclo-oxygenase-2 (các chất ức chế COX-2) có thể làm giảm chứng đau đi kèm với bệnh viêm khớp xương mãn tính, nhưng có thể chỉ có hiệu quả vừa phải trong một khoảng thời gian và mỗi loại thuốc này đều có các cân nhắc về tỷ lệ nguy cơ/lợi ích.

NSAID và các chất ức chế COX-2 làm giảm chứng viêm và đau thông qua sự ức chế các enzym COX-2. Để đáp ứng lại các kích thích tiền viêm, các enzym COX-2 chuyển hóa axit arachidonic thành prostaglandin H_2 (PGH_2). PGH_2 được chuyển hóa tiếp bằng nhiều enzym thành các eicosanoid khác gồm prostaglandin E_2 (PGE_2), prostaglandin I_2 (PGI_2), prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), prostaglandin D_2 (PGD_2), và thromboxan A_2 (TXA_2). Các chất chuyển hóa này đã được biết là gây ra các tác động sinh lý và sinh lý học bệnh lý. Người ta cho rằng sự mất cân bằng gián tiếp do thuốc của PGI_2 và TXA_2 có thể giải thích tại sao NSAID và các chất ức chế COX-2 tạo ra các tác dụng phụ có hại về mặt tiêu hóa và tim mạch. Do đó, các nhóm thuốc này có thể bị cấm dùng đối với nhiều bệnh nhân đã có hoặc mới bộc lộ các tình trạng bệnh lý về tim mạch và/hoặc tiêu hóa. Ngoài ra, các bệnh nhân có thể trở nên khó chữa theo thời gian đối với việc điều trị bằng thuốc cụ thể.

Trong số các chất chuyển hóa axit arachidonic, PGE_2 đã được nhận diện là chất trung gian quan trọng đối với các tình trạng bệnh lý kết hợp với bệnh viêm khớp

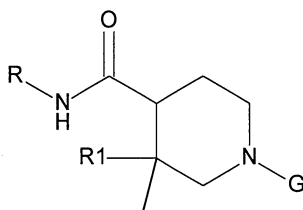
xương mẫn tính; ví dụ, sốt, đau, và viêm. Prostaglandin E₂ được đặc biệt tạo ra thông qua sự chuyển hóa của PGH₂ bởi prostaglandin E₂ synthaza-1 vi thể (mPGES-1). Người ta cho rằng việc ức chế chọn lọc mPGES-1 có thể cung cấp lựa chọn điều trị mới cho các bệnh nhân bị bệnh viêm khớp.

Công bố đơn quốc tế số WO 2013/146970 đã bộc lộ các hợp chất quinolin được thể ba lần và gợi ý rằng các hợp chất được bộc lộ này có thể hữu ích để điều trị các bệnh viêm trong số những bệnh khác. Tuy nhiên, công bố đơn đó không bộc lộ các hợp chất như được yêu cầu bảo hộ trong đơn này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

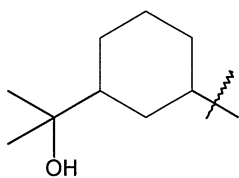
Mục đích của sáng chế nhằm tìm ra các lựa chọn khác để điều trị chứng viêm và làm giảm nhẹ chứng đau đi kèm với bệnh viêm khớp. Sáng chế đề xuất các hợp chất mới mà ức chế mPGES-1 và có thể có lợi để điều trị cho các bệnh nhân bị bệnh viêm khớp và bệnh viêm khớp xương mẫn tính.

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1, hoặc các muối được dụng của nó,

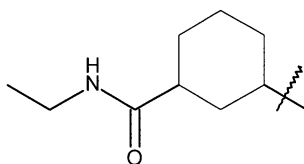


1,

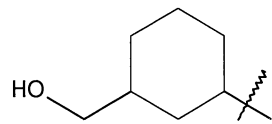
trong đó R1 là H hoặc -CH₃; R được chọn từ:



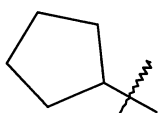
,



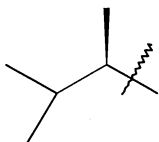
,



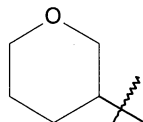
,



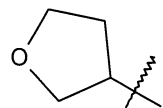
,



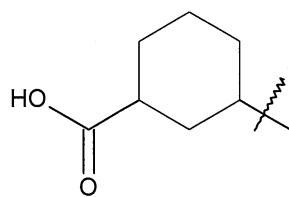
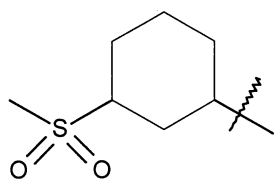
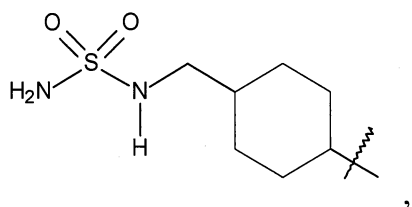
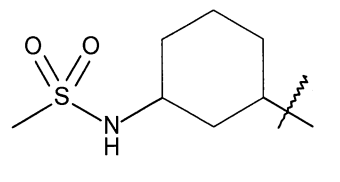
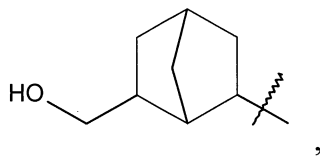
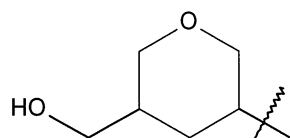
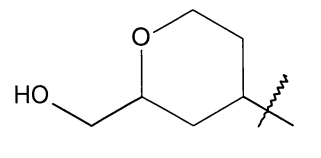
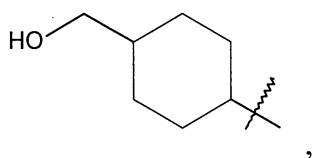
,



,



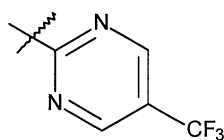
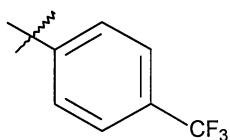
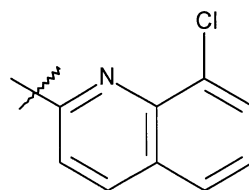
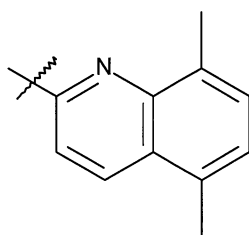
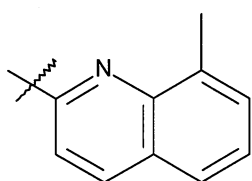
,



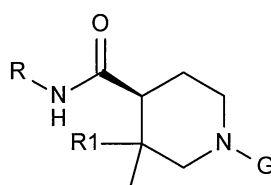
, và

; và

G được chọn từ:



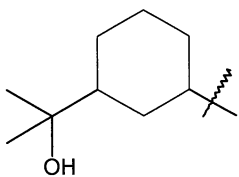
Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 2, hoặc các muối được dụng của nó:



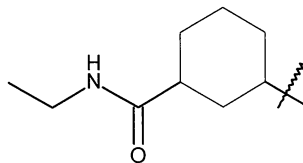
27033

2,

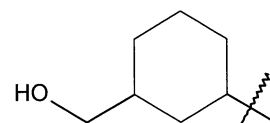
trong đó R1 là H hoặc -CH₃; R được chọn từ:



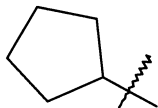
,



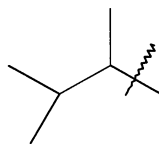
,



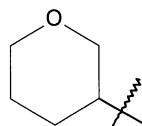
,



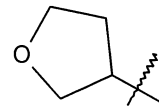
,



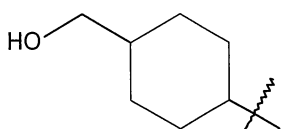
,



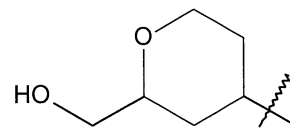
,



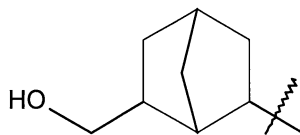
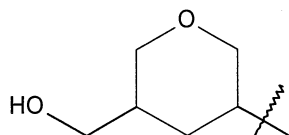
,



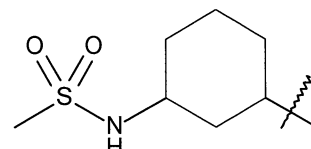
,



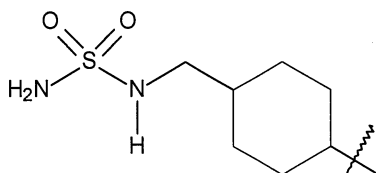
,



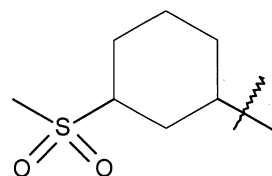
,



,

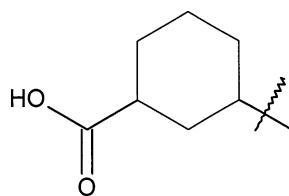


,



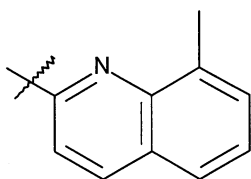
,

và

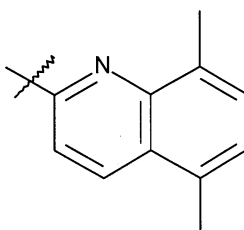


; và

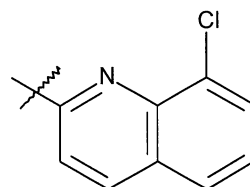
G được chọn từ:



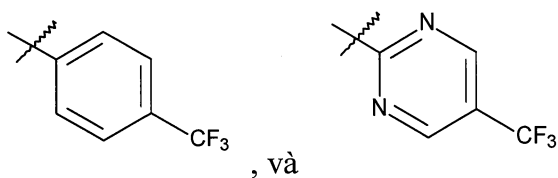
,



,

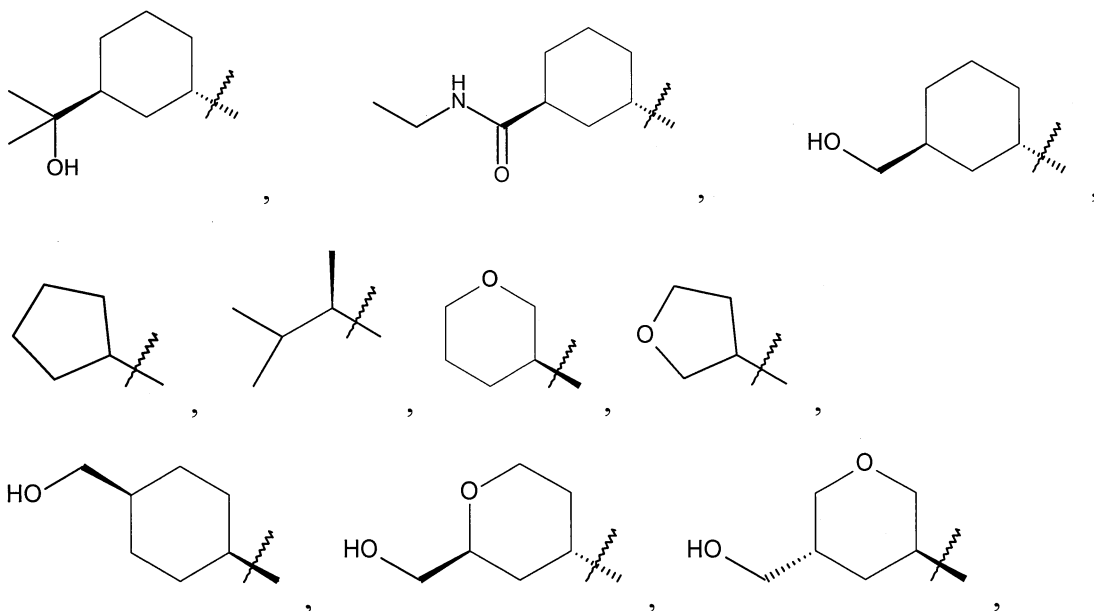


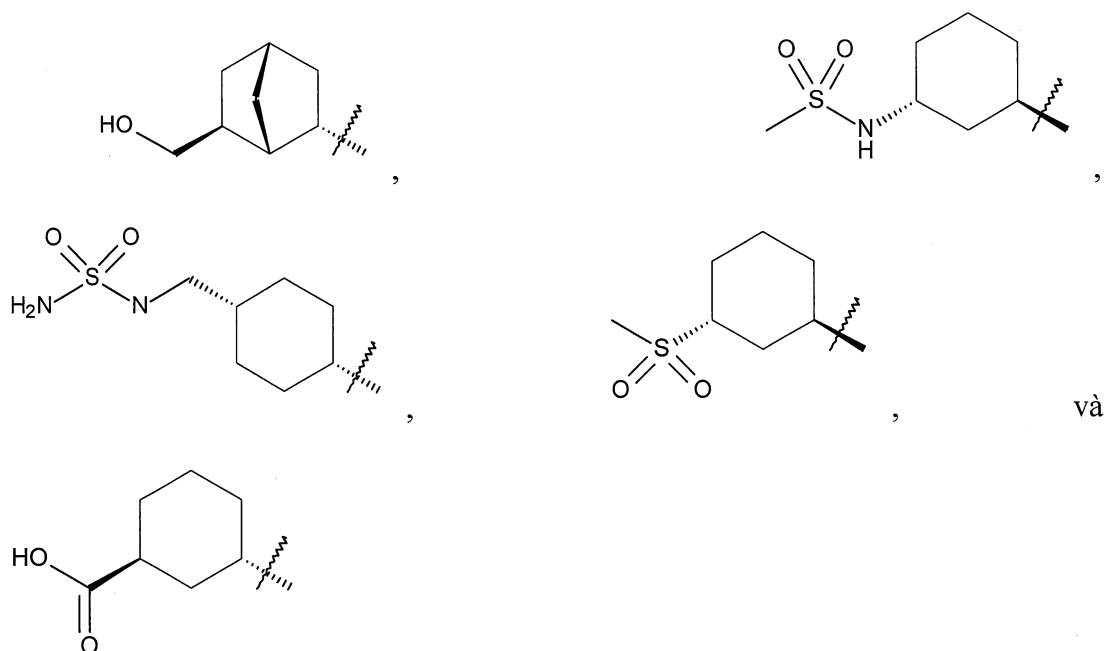
,



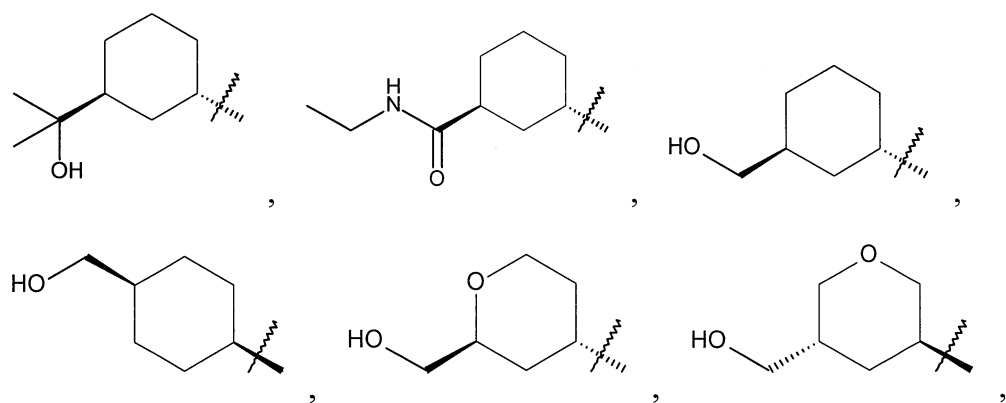
Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất có công thức 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của chúng, trong đó R1 là -CH₃.

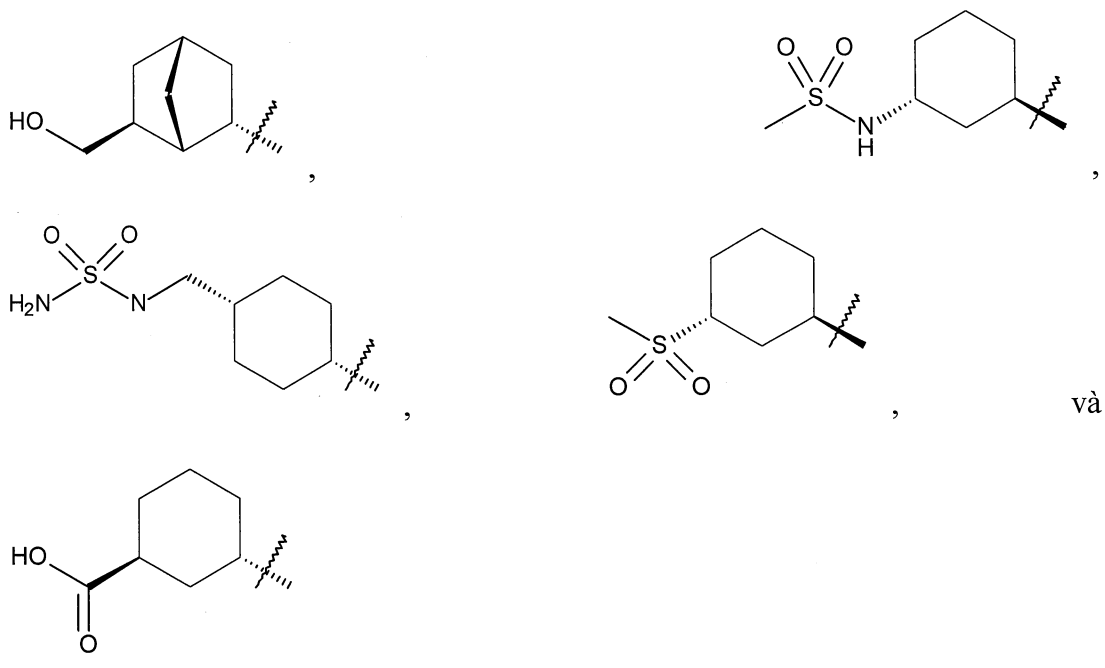
Đối với các hợp chất có công thức 1 hoặc 2 được ưu tiên, hoặc các muối được dụng của chúng, R được chọn từ:



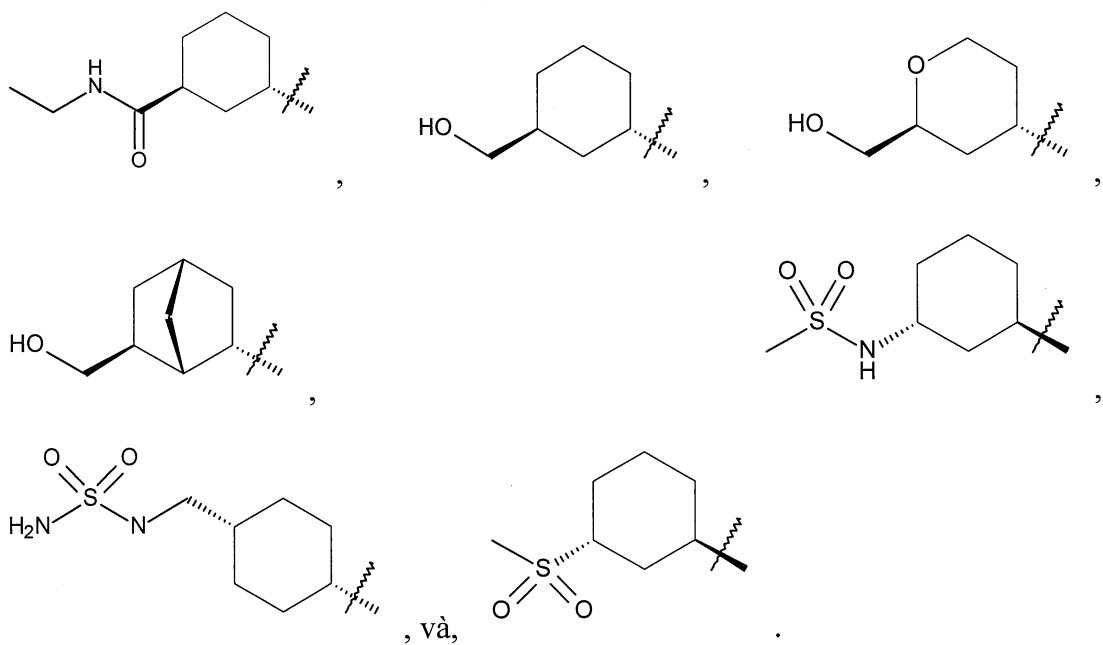


Đối với các hợp chất có công thức 1 hoặc 2 được ưu tiên hơn, hoặc các muối được dựng của chúng, R được chọn từ:

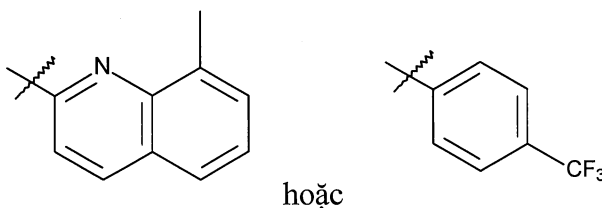




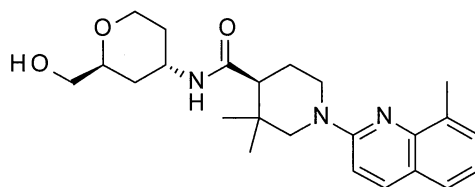
Đối với các hợp chất có công thức 1 hoặc 2 được ưu tiên hơn nữa, hoặc các muối được dụng của chúng, R được chọn từ:



Đối với các hợp chất có công thức 1 hoặc 2 được ưu tiên, hoặc các muối được dụng của chúng, G là:



Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức 3, hoặc muối được dụng của nó.



3

Theo một phương án, các hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3 được đề xuất dưới dạng các chất trung tính. Theo một phương án khác, các hợp chất được đề xuất dưới dạng các muối được dụng. Dưới một dạng muối được ưu tiên, hợp chất có công thức 3 được đề xuất dưới dạng muối hydroclorua.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một trong số chất mang, chất pha loãng hoặc tá được dụng dụng.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính ở bệnh nhân cần điều trị. Phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân này dùng lượng hữu hiệu của được phẩm chứa hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một trong số chất mang, chất pha loãng hoặc tá được dụng dụng.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính ở bệnh nhân cần điều trị. Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị cho bệnh nhân có các dấu hiệu và/hoặc các triệu chứng của bệnh viêm khớp xương mãn tính. Phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối được dụng của nó.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị chứng viêm kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính ở bệnh nhân cần điều trị. Phương

pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân này dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm chứa hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một trong số chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược dược dụng.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp ở bệnh nhân cần điều trị. Phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó. Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp xương mãn tính. Phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3 để sử dụng làm thuốc. Thuốc hoặc hợp chất này có thể được sử dụng để trị liệu. Việc trị liệu có thể gồm việc điều trị cho bệnh nhân bị bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính. Theo một phương án, việc trị liệu có thể là điều trị chứng đau hoặc viêm kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng hợp chất để sản xuất thuốc để điều trị bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính. Dưới một dạng, thuốc này được sử dụng để điều trị chứng đau hoặc viêm kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" gồm làm chấm dứt hoặc làm giảm độ nặng của triệu chứng hoặc rối loạn đang có, cụ thể là chứng đau và/hoặc chứng viêm, kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bệnh nhân" được dùng để chỉ động vật có vú, như chuột lang, chuột cống, chó, mèo, bò, ngựa, cừu, và dê hoặc người; hoặc gia cầm như gà hoặc vịt. Bệnh nhân được ưu tiên là động vật có vú, tốt hơn là người.

Các hợp chất được minh họa theo sáng chế có thể được bào chế thành các dược phẩm theo thực tiễn đã được chấp nhận. Ví dụ về các chất mang, các tá dược và các chất pha loãng dược dụng có thể được thấy trong Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co. Easton Pa. 1990. Ví dụ không giới hạn gồm các chất sau: tinh bột, đường, manitol, và các dẫn xuất silic oxit; các chất kết

dính như carboxymetyl xenluloza và các dẫn xuất xenluloza khác, glyxerol monostearat; các chất mang hấp thụ như cao lanh và bentonit; và các chất làm trơn như talc, canxi, và magie stearat, và các polyetyl glycol rắn. Dưới một dạng, được phẩm gồm 20% Captisol trong dung dịch đệm phosphat 25mM, độ pH bằng 2.

Các được phẩm được ưu tiên có thể được bào chế dưới dạng viên nén hoặc viên nang để dùng qua đường miệng hoặc dưới dạng dung dịch tiêm được. Viên nén, viên nang, hoặc dung dịch này sẽ chứa hợp chất theo sáng chế với lượng hữu hiệu để điều trị cho bệnh nhân cần điều trị.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “lượng hữu hiệu” được dùng để chỉ lượng hoặc liều của hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng của nó mà, khi cho bệnh nhân dùng một hoặc nhiều liều, tạo ra tác dụng mong muốn, như làm giảm hoặc loại trừ chứng đau và/hoặc viêm ở bệnh nhân được chẩn đoán hoặc điều trị.

Lượng hữu hiệu có thể dễ dàng xác định được bởi bác sỹ chẩn đoán thăm khám bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết và bằng cách quan sát kết quả thu được từ những ca tương tự. Khi xác định lượng hữu hiệu đối với bệnh nhân, một số yếu tố có thể được cân nhắc bởi bác sỹ khám bệnh, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: loài động vật có vú; kích cỡ, độ tuổi, và tình trạng sức khỏe chung của nó; độ nặng của các triệu chứng; đáp ứng của mỗi bệnh nhân; cách thức sử dụng; các đặc tính sinh khả dụng của hợp chất có công thức 1, 2 hoặc 3 hoặc muối được dụng của nó, dưới dạng sản phẩm thuốc được bào chế trong chế độ dùng liều được chọn; việc sử dụng được phẩm đồng thời; và các sự kiện có liên quan khác.

Theo một phương án, lượng hữu hiệu có thể là từ khoảng 0,0005 mg/kg thể trọng đến khoảng 100 mg/kg thể trọng. Tốt hơn nữa là, lượng hữu hiệu có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 mg/kg đến khoảng 50 mg/kg. Thậm chí tốt hơn nữa là, lượng hữu hiệu có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 mg/kg đến khoảng 20 mg/kg.

Hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với các phương pháp điều trị khác và/hoặc các tác nhân trị liệu bổ sung. Tốt hơn là hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với tác nhân khác mà cũng hữu hiệu để điều trị bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính. Ví dụ về các tác nhân trị liệu bổ sung này bao gồm: Các NSAID hoặc các chất ức chế COX-2 như ibuprofen, aspirin, axetaminophen,

celecoxib, naproxen, và ketoprofen; các opioit như oxycodon, và fentanyl; và các corticosteroid như hydrocortison, prednisolon, và prednison.

Hợp chất theo sáng chế và (các) tác nhân trị liệu bổ sung có thể được dùng cùng với nhau qua cùng đường và phương tiện phân phối như trong một viên tròn, viên nang, viên nén hoặc dung dịch; hoặc được dùng riêng rẽ với nhau tại cùng một thời điểm trong các phương tiện phân phối riêng rẽ hoặc được dùng nối tiếp nhau.

Hợp chất theo sáng chế có thể được tạo ra dưới dạng muối dược dụng. Thuật ngữ “muối dược dụng” được dùng để chỉ các muối của hợp chất theo sáng chế được xem như là chấp nhận được để sử dụng trên lâm sàng và/hoặc sử dụng trong thú y. Các muối dược dụng và các phương pháp thông thường để điều chế chúng là đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem, ví dụ, P. Stahl, *et al.*, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, *et al.*, "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, January 1977.

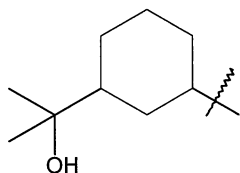
Hợp chất theo sáng chế, hoặc muối của nó, có thể được điều chế bằng nhiều quy trình đã biết trong lĩnh vực này, một số quy trình được minh họa trong phần Sơ đồ, Ví dụ điều chế và Ví dụ dưới đây. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng các bước tổng hợp cụ thể đối với mỗi phương pháp được mô tả có thể được kết hợp theo các cách khác nhau, hoặc cùng với các bước từ các sơ đồ khác nhau, để điều chế các hợp chất theo sáng chế, hoặc các muối của chúng. Các sản phẩm của mỗi bước trong các sơ đồ dưới đây có thể được thu hồi hoặc được tinh chế bằng các phương pháp thông thường, gồm chiết, bay hơi, kết tủa, sắc ký, sắc ký lỏng siêu tới hạn, lọc, nghiền, và kết tinh.

Các chất đồng phân, các chất đồng phân đối ảnh, và các chất đồng phân không đối quang riêng lẻ có thể được tách riêng hoặc được phân giải bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này ở thời điểm thuận tiện bất kỳ trong quy trình tổng hợp hợp chất có công thức 1 bằng các phương pháp như kỹ thuật kết tinh chọn lọc hoặc sắc ký không đối xứng (xem, ví dụ, J. Jacques, *et al.*, "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, và E.L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Ngoài ra, các hợp chất trung gian được mô tả trong các quy trình điều chế dưới đây chứa các nhóm bảo vệ nitơ và oxy. Các điều kiện bảo vệ và khử bảo vệ đã được biết rõ đối với người

có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và được mô tả trong tài liệu tham khảo (xem, ví dụ, “*Greene’s Protective Groups in Organic Synthesis*”, Fourth Edition, của Peter G.M. Wuts và Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

Các chất phản ứng và nguyên liệu ban đầu thường là dễ dàng có được đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các hợp chất khác có thể được điều chế bằng các kỹ thuật chuẩn trong lĩnh vực hóa học hữu cơ và dị vòng và các quy trình được mô tả trong phần Ví dụ điều chế và Ví dụ dưới đây.

Việc vẽ liên kết với đường đi qua nó như được minh họa dưới đây thể hiện điểm liên kết của phần tử thế với phần còn lại của phân tử.



Các ký hiệu viết tắt được sử dụng ở đây được định nghĩa theo *Aldrichimica Acta*, Vol. 17, No. 1, 1984. Các ký hiệu viết tắt khác được định nghĩa như dưới đây: "δ" chỉ phần triệu về phía trường thấp từ tetrametylsilan; "ATCC" chỉ Bộ sưu tập môi trường kiểu Mỹ (American type culture collection); "BOP" chỉ (benzotriazol-1-yl-oxy)tris(dimethylamino)phosphoni hexaflophosphat; "BSA" chỉ albumin huyết thanh bò (Bovine Serum Albumin); "CDI" chỉ 1,1'-carbonyldiimidazol; "DCC" chỉ 1,3-dixyclohexylcarbodiimit; "DCM" chỉ diclometan; "DIC" chỉ 1,3-diisopropylcarbodiimit; "DMF" chỉ dimetylformamit; "DMSO" chỉ dimetylsulfoxit; "EDCI" chỉ 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylcarbodiimit hydroclorua; "EDTA" chỉ axit etylen-diamintetraaxetic; "ee" chỉ lượng dư chất đồng phân đối ảnh; "EIA" chỉ thử nghiệm miễn dịch enzym; "EIMS" chỉ phương pháp đo phổ khối ion hóa điện tử (electron ionized mass spectrometry); "ESMS" chỉ phương pháp đo phổ khối phun điện tử (electrospray mass spectrometry); "EtOAc" chỉ etyl axetat; "EtOH" chỉ etanol hoặc rượu etylic; "Ex. No." chỉ ví dụ số; "HATU" chỉ (1-[bis(dimethylamino)metylen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridini 3-oxit hexaflophosphat); "HBTU" chỉ (1H-benzotriazol-1-yloxy)(dimethylamino)-N,N-dimetylmetyanimini hexaflophosphat; "HOAT" chỉ 1-hydroxy-7-azobenzotriazol; "HOBT" chỉ 1-hydroxylbenzotriazol hydrat; "IC₅₀" chỉ nồng độ của chất mà tạo ra 50% mức đáp ứng ức chế tối đa khả dĩ đối với chất đó; "i-PrOH" chỉ isopropanol hoặc rượu isopropylic; "LPS" chỉ lipopolysacarit; "MeOH"

chỉ metanol; “min” chỉ phút; NSAID chỉ thuốc chống viêm không steroid; “PBS” chỉ dung dịch nước muối đệm phosphat (Phosphate Buffered Saline); “PGE₂” chỉ prostaglandin E₂; “PGH₂” chỉ prostaglandin H₂; “PGI₂” chỉ prostaglandin I₂; “PyBOP” chỉ (benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonihexaflophosphat); “PyBrOP” chỉ bromo(tri-pyrrolidinyl)phosphonihexaflophosphat; “rhIL-1 β ” chỉ interleukin 1 β tái tổ hợp của người; “SCF” chỉ chất lỏng siêu tới hạn (supercritical fluid); “SFC” chỉ phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn (supercritical fluid chromatography); “TBME” chỉ *t*-butyl methyl ete; “THF” chỉ tetrahydrofuran; và “t_R” chỉ thời gian lưu.

Các phương pháp LCMS chung. Tất cả các phân tích được thực hiện bằng cách sử dụng hệ Sắc ký lỏng (LC) Series Infinity 1200 của Agilent, gồm bộ tiết lưu 1260 HiP (G4225A), bơm nhĩ phân 1260 (G1312B), bộ lấy mẫu tự động 1290 (G4226A), ngăn cột điều nhiệt 1290 (G1316C) và Bộ dò mảng điốt 1260 (G4212B) được kết hợp với bộ dò phổ khối (MS) bốn cực đơn 6150 của Agilent. Việc đo phổ khối (MS) được thực hiện với nguồn ion hóa phun điện tử (electro-spray ionization: ESI) theo cả phương thức ion dương và phương thức ion âm. Áp suất ống phun được đặt ở mức 50 psi (344,74 kPa), nhiệt độ khí làm khô và lưu lượng lần lượt là 350°C và 12,0 L/phút. Điện áp mao dẫn được sử dụng là 4000 V trong phương thức dương và 3500 V trong phương thức âm. Việc thu dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm Agilent Chemstation.

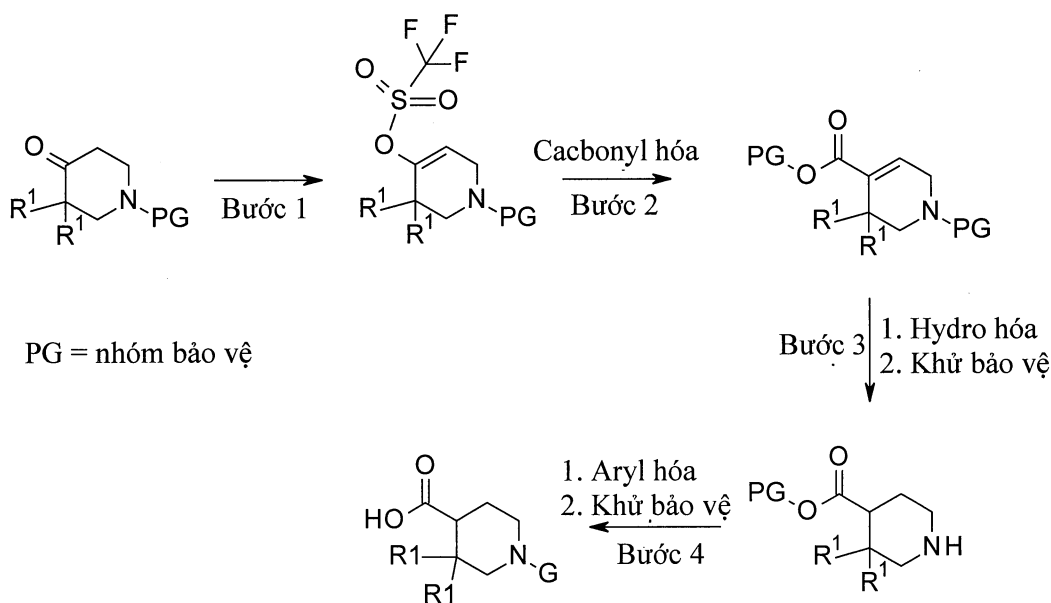
Phương pháp HPLC 1. Các phân tích được thực hiện trên cột Daicel ChiralPak AD-3R (độ dài 100 mm, đường kính trong 4,6 mm, cỡ hạt 3 μ m). Pha động được sử dụng là: A2=Nước với amoni bicacbonat 10mM, được điều chỉnh đến độ pH bằng 9 bằng amoni hydroxit; và B2 = axetonitril. Thực hiện chạy sắc ký ở nhiệt độ 25°C và lưu lượng là 1,5 mL/phút với sự rửa giải gradien từ 50% đến 95% (B2) trong 3,0 phút, sau đó là 3,0 phút giữ ở 95% (B2). Việc thu sóng tử ngoại (DAD) được thực hiện ở tần số 40 Hz, với khoảng quét 190–400 nm (bước 5 nm). Phân tách dòng 1:1 được sử dụng trước khi sử dụng bộ dò MS. Khoảng thu MS được đặt đến 100–800 *m/z* với cỡ bước là 0,2 *m/z* trong cả hai phương thức phân cực. Điện áp bộ phân mảnh (Fragmentor) được đặt đến 70 (ESI⁺) hoặc 120 (ESI⁻), Đạt đến 0,40 (ESI⁺) hoặc 1,00 (ESI⁻) và ngưỡng đếm ion đến 4000 (ESI⁺) hoặc 1000 (ESI⁻). Thời gian chu trình quét MS toàn bộ là 0,15 giây/chu trình.

Phương pháp SFC 1. Các phân tích được thực hiện trên cột Daicel ChiralPak OJ-H (độ dài 100 mm, đường kính trong 4,6 mm, cỡ hạt 5 μ m). Pha động là: 8% (NH_3 20mM trong *i*-PrOH) và 92% $\text{CO}_{2(\text{scf})}$ ở áp suất 100 bar (10^4 kPa). Quá trình chạy sắc ký được thực hiện ở nhiệt độ 35°C và lưu lượng là 3 mL/phút. Việc thu sóng tử ngoại (DAD) được thực hiện ở bước sóng 220 nm.

Phương pháp SFC 2. Các phân tích được thực hiện trên cột Daicel ChiralPak AS-H (độ dài 100 mm, đường kính trong 4,6 mm, cỡ hạt 5 μ m). Pha động là: 20% (NH_3 20mM trong *i*-PrOH) và 80% $\text{CO}_{2(\text{scf})}$ ở áp suất 100 bar (10^4 kPa). Quá trình chạy sắc ký được thực hiện ở nhiệt độ 35°C và lưu lượng là 5 mL/phút. Việc thu sóng tử ngoại (DAD) được thực hiện ở bước sóng 220 nm.

Các sơ đồ dưới đây minh họa thêm cho sáng chế.

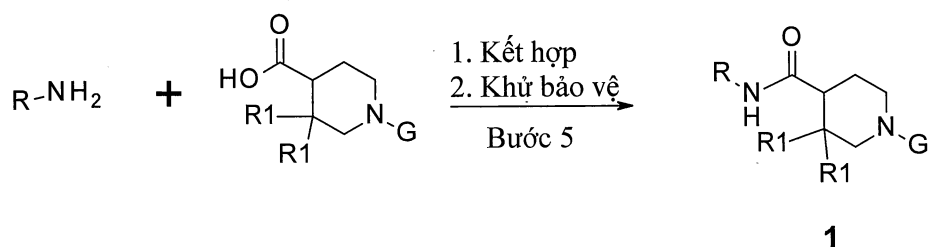
Sơ đồ 1



Trong Sơ đồ 1, Bước 1, nhóm triflometyl sulfonyl được đưa vào piperidin để tác dụng như là nhóm rời chuyển trong phản ứng tiếp theo ở Bước 2. “PG” là nhóm bảo vệ được dùng để bảo vệ cho nhóm amino, như các carbamat và amit. Sau đó, sản phẩm của Bước 1 được cacbonyl hóa sử dụng chất xúc tác paladi để tạo ra sản phẩm este của Bước 2. Liên kết đôi trong tetrahydropyridin có thể được khử trong điều kiện hydro hóa. Trong Bước 3, bước phụ 2, piperidin amin có thể được khử bảo vệ trong điều kiện axit. Sau đó sản phẩm piperidin của Bước 3 có thể được phản ứng với nhóm G được thế halogen trong điều kiện thích hợp với phản ứng thế thơm ái nhân để tạo ra sản phẩm của Bước 4. Ví dụ, bazơ vô cơ như K_2CO_3 hoặc bazơ hữu cơ như

N,N-diisopropyletylamin, pyridin, hoặc trietylamin có thể được sử dụng để tạo ra sản phẩm của Bước 4, bước phụ 1. Cách khác, sản phẩm piperidin của Bước 3 có thể được phản ứng với quinolon N-oxit sử dụng chất hoạt hóa, như PyProp, để tạo ra sản phẩm của Bước 4. Sự khử bảo vệ nhóm carboxy piperidin có thể được thực hiện trong điều kiện chuẩn với bazơ vô cơ như dung dịch nước natri hydroxit hoặc lithi hydroxit để tạo ra sản phẩm của Bước 4, bước phụ 2 hoặc trong điều kiện axit sử dụng dung dịch HCl 4M hoặc dung dịch nước axit sulfuric.

Sơ đồ 2



Trong Sơ đồ 2, sản phẩm axit piperidin carboxylic của Bước 4 có thể được kết hợp với amin thích hợp, $R-NH_2$, trong điều kiện amit hóa sử dụng bazơ hữu cơ như trietylamin hoặc diisopropyletylamin, chất phản ứng kết hợp như EDCI, và chất phụ gia kết hợp như HOBT để tạo ra các hợp chất của Bước 5, bước phụ 1. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng có một số phương pháp và chất phản ứng cho sự tạo ra amit là kết quả của phản ứng giữa các axit carboxylic và các amin. Ví dụ, phản ứng của hợp chất amin với axit carboxylic thích hợp với sự có mặt của chất phản ứng kết hợp cùng hoặc không cùng với bazơ hữu cơ có thể tạo ra hợp chất có công thức 1. Các chất phản ứng kết hợp gồm các carbodiimide, như DCC, DIC, EDCI hoặc carbonyldiimidazole như CDI. Các chất phụ gia kết hợp amit, như HOBT và HOAt cũng có thể được sử dụng để tăng cường phản ứng. Ngoài ra, các muối uroni hoặc phosphoni của các anion không ái nhân, như HBTU, HATU, BOP, PyBOP, và PyBrOP có thể được sử dụng thay cho các chất phản ứng kết hợp truyền thống hơn. Chất phụ gia như DMAP có thể được sử dụng để tăng cường phản ứng. Sau đó, sản phẩm của Bước 5, bước phụ 1 có thể được khử bảo vệ, nếu cần, trong điều kiện chuẩn với bazơ vô cơ như dung dịch nước natri hydroxit hoặc lithi hydroxit trong dung môi như MeOH và THF để tạo ra các hợp chất có công thức 1.

Muối được dùng của các hợp chất theo sáng chế, như muối hydroclorua, có thể được tạo ra, ví dụ, bằng phản ứng giữa bazơ tự do thích hợp có công thức 1 và

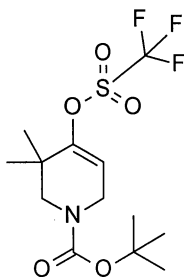
axit được dùng thích hợp, như axit clohydric, trong dung môi thích hợp như diethyl ete trong các điều kiện chuẩn. Ngoài ra, sự tạo ra các muối này có thể diễn ra đồng thời khi khử bảo vệ nhóm bảo vệ nitơ. Sự tạo ra các muối này đã được biết rõ và được hiểu rõ trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Gould, P.L., "Salt selection for basic drugs," *International Journal of Pharmaceutics*, **33**: 201-217 (1986); Bastin, R.J., *et al.* "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," *Organic Process Research and Development*, **4**: 427-435 (2000); và Berge, S.M., *et al.*, "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **66**: 1-19, (1977).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ điều chế và ví dụ dưới đây minh họa thêm cho sáng chế.

Ví dụ điều chế 1

tert-Butyl 3,3-dimetyl-4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-carboxylat

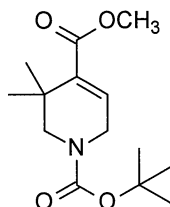


Trong khí quyển nitơ, làm lạnh dung dịch diisopropylamin (260 mL, 1,85 mol) trong THF (1,0 L) đến -20°C sau đó bổ sung từng giọt dung dịch *n*-butyllithi (2,50M trong hexan, 650 mL, 1,60 mol) vào trong 30 phút. Để hỗn hợp ấm đến -10°C và khuấy trong 1 giờ. Làm lạnh hỗn hợp này đến -74°C và bổ sung từng giọt dung dịch *tert*-butyl 3,3-dimetyl-4-oxopiperidin-1-carboxylat (260 g, 1,14 mol) trong THF (1,0 L) vào đó trong 60 phút. Khuấy hỗn hợp này ở -74°C trong 2 giờ, và sau đó bổ sung dung dịch *N*-phenylbis(triflometansulfonimit) (430 g, 1,20 mol) trong THF (1,0 L) vào đó. Làm ấm hỗn hợp đến 0°C và khuấy trong 2 giờ. Để hỗn hợp ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Chấm dứt phản ứng bằng dung dịch nước NH_4Cl bão hòa (1,0 L); pha loãng bằng nước (2,0 L); tách các lớp; và chiết lớp nước bằng EtOAc (2×2 L). Gom các phần chiết hữu cơ lại; làm khô bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký

nhanh silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 0% đến 15% TBME trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu cam với độ tinh khiết khoảng 75% theo khối lượng như được ước định bằng ^1H NMR (430 g, 78%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1,05 (s, 6H), 1,40 (s, 9H), 3,36 (s, 2H), 4,02 (d, $J = 3,4$ Hz, 2H), 5,82 (br s, 1H).

Ví dụ điều chế 2

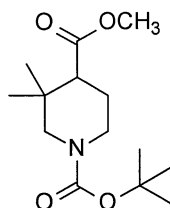
O1-tert-Butyl-O4-metyl 3,3-dimetyl-2,6-dihydropyridin-1,4-dicarboxylat



Kết hợp paladi(II) axetat (4,40 g, 20,0 mmol), 1,1'-bis(diphenylphosphino)-feroxen (13,3 g, 22,8 mmol), *tert*-butyl 3,3-dimetyl-4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-carboxylat (72,0 g, 150 mmol), axetonitril khan (850 mL), MeOH khan (570 mL), và trietylamin (36,0 mL, 245 mmol) trong nồi hấp PARR™ dung tích 2 L được lắp cánh khuấy cơ học. Bịt kín nồi hấp lại. Làm sạch và sau đó điều áp nồi hấp này bằng cacbon monoxit đến áp suất 689 kPa. Gia nhiệt hỗn hợp này đến 65°C trong 2,25 giờ; làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng; và cẩn thận thông khí nồi hấp này. (*Cảnh báo! Khí độc!*). Cô trong điều kiện áp suất giảm để thu vật chất thô. Gom vật chất này với năm mẻ khác được điều chế bằng quy trình tương tự trên quy mô tương tự. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với vật chất gom được, rửa giải bằng gradien 0% đến 20% TBME trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu vàng với độ tinh khiết khoảng 83% theo khối lượng (260 g, 88%). MS (m/z): 214 ($M - t\text{-Bu} + 2\text{H}$)⁺.

Ví dụ điều chế 3

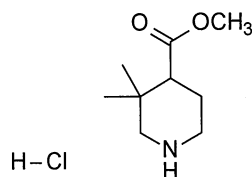
(±)-*O1-tert-Butyl-O4-metyl 3,3-dimetylpiperidin-1,4-dicarboxylat*



Tạo huyền phù paladi (10% trọng lượng trên cacbon, 5,4 g, 5,1 mmol) trong MeOH (700 mL) sau đó bổ sung dung dịch *01-tert-butyl-O4-metyl 3,3-dimetyl-2,6-dihydropyridin-1,4-dicarboxylat* (130 g, 396 mmol) đã hòa tan trong MeOH (700 mL) vào đó trong thiết bị phản ứng PARR™ dung tích 2,25 L. Đậy nắp thiết bị phản ứng và làm sạch nó đầu tiên bằng khí nitơ sau đó bằng khí hydro. Điều áp thiết bị phản ứng này đến 414 kPa bằng khí hydro và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ. Hạ áp và lọc hỗn hợp này để loại bỏ chất xúc tác. Kết hợp phần dịch lọc này với phần dịch lọc khác thu được từ phản ứng khác về cơ bản là giống phản ứng vừa nêu và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu vàng với độ tinh khiết khoảng 85% theo khối lượng (240 g, 95%). MS (m/z): 216 ($M - t\text{-Bu} + 2H$)⁺.

Ví dụ điều chế 4

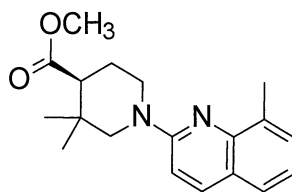
(±)-Metyl 3,3-dimethylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua



Bổ sung HCl (dung dịch 4,0M trong 1,4-dioxan, 2,0 L, 8,0 mol) vào dung dịch *01-tert-butyl-O4-metyl 3,3-dimethylpiperidin-1,4-dicarboxylat* (240 g, 752 mmol) trong 1,4-dioxan (500 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và cô trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng cạn thu được bằng TBME (500 mL) và thu gom các chất rắn bằng cách lọc. Súc rửa bánh lọc bằng TBME (2 × 400 mL) và làm khô chất rắn trong lò chân không ở 35°C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (144 g, 92%). MS (m/z): 172 ($M + H$)⁺.

Ví dụ điều chế 5

(-)-Metyl (4*S*)-3,3-dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylat

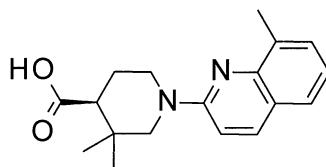


Bổ sung K₂CO₃ (210 g, 1,52 mol) vào hỗn hợp của metyl 3,3-dimethylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua (144 g, 693 mmol) và 2-clo-8-

methylquinolin (125 g, 704 mmol) trong DMSO (1,4 L). Khuấy hỗn hợp thu được qua đêm ở $131 \pm 1^\circ\text{C}$. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng; lọc để loại bỏ các chất rắn; thu gom dịch lọc; pha loãng dịch lọc bằng nước (2 L); và sau đó chiết bằng EtOAc (2×3 L). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước ($3 \times 1,5$ L); làm khô bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 25% đến 30% (10% TBME trong DCM) trong hexan, để thu được raxemat của hợp chất nêu ở đề mục này. Hòa tan vật chất này trong MeOH (7,5 L) và lọc. Thực hiện sắc ký lỏng siêu tới hạn bất đối xứng đối với vật chất này (Chiralpak OJ-H, $50 \text{ mm} \times 250 \text{ mm} \times 5 \mu\text{m}$) sử dụng 15% (0,2% dimetyletylamin trong *i*-PrOH) trong $\text{CO}_{2(\text{scf})}$ làm pha động ở lưu lượng là 400 g/phút, bằng cách tiêm 5 mL dung dịch thu được mỗi 95 giây cho đến khi tất cả vật chất này đã được sắc ký hết. Đối với mỗi lần tiêm, thu gom phân đoạn thứ nhất để rửa giải ($t_R = 2,57$ phút bằng Phương pháp SFC 1). Kết hợp các phân đoạn đã thu gom được với các phân đoạn từ phản ứng trước đó được điều chế theo cách tương tự để thu được 98 g methyl 3,3-dimethylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua thô. Cô hỗn hợp trong điều kiện áp suất giảm và tái kết tinh vật chất thu được ra khỏi EtOH nóng (1,38 L). Thu gom tinh thể và làm khô vật chất tinh thể này trong lò chân không ở 40°C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn tinh thể màu trắng (156 g, hiệu suất 43% trên cơ sở cân xứng với mẻ). MS (m/z): 313 ($\text{M} + \text{H}$)⁺, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -45^\circ$ (c 0,21, DCM). ee = >99% như được xác định bằng Phương pháp SFC 1.

Ví dụ điều chế 6

Axit (–)-(4*S*)-3,3-Dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic

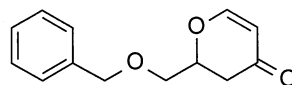


Xử lý methyl (4*S*)-3,3-dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylat (154 g, 493 mmol) bằng axit sulfuric (10% thể tích/thể tích trong nước, 2,31 L, 2,75 mol) và hồi lưu hỗn hợp này qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và bổ sung NaOH (50% trọng lượng trong nước) vào đó cho đến khi độ pH đạt đến 13. Bổ sung TBME (500 mL) vào để tạo ra hỗn hợp ba pha. Dán nhãn các

lớp từ đỉnh đến đáy thành: “Lớp A”, “Lớp B”, và “Lớp C”. Tách Lớp C (lớp đáy). Bổ sung nước (600 mL) vào Lớp A và Lớp B và tách lớp nước ra khỏi các lớp hữu cơ. Tách các lớp hữu cơ (A và B). Kết hợp lớp nước với Lớp C. Chiết các lớp nước kết hợp lại được bằng TBME (500 mL); tách các lớp; và tách riêng các phần chiết hữu cơ. Bổ sung dung dịch HCl (5,0M) vào lớp nước cho đến khi độ pH bằng 6,5. Chiết hỗn hợp nước thu được bằng TBME (2 × 400 mL). Gom tất cả các phần chiết hữu cơ lại (bao gồm Lớp A và Lớp B); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng với độ tinh khiết 96% (145 g, 95%). MS (*m/z*): 299 (*M* + H)⁺. [α]_D²⁰ – 59,6° (*c* 3,12, CH₃OH).

Ví dụ điều chế 7

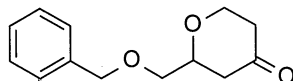
(±)-2-((Benzyloxy)methyl)-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on



Bổ sung dung dịch ZnCl₂ trong THF (0,5M, 1,21 L, 607 mmol) vào dung dịch lạnh (0°C) chứa (*E*)-1-metoxi-3-(trimetylsilyl)oxy-1,3-butadien (độ tinh khiết 95%, 100 g, 551 mmol) và (benzyloxy)axetaldehyt (độ tinh khiết 97%, 80 mL, 551,370 mmol) trong toluen (551 mL) trong 90 phút trong khi duy trì nhiệt độ bên trong hỗn hợp phản ứng dưới 10°C. Để hỗn hợp này ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Chia hỗn hợp phản ứng thành hai phần bằng nhau; thực hiện các quy trình dưới đây đối với mỗi phần. Bổ sung axit trifloaxetic (35 mL, 457 mmol) vào dưới dạng bốn phần. Sau 20 phút, cô hỗn hợp thu được trong điều kiện áp suất giảm; pha loãng bằng EtOAc; bổ sung lượng dư dung dịch NaHCO₃ bão hòa; lọc để loại bỏ các chất rắn; thu gom dịch lọc; tách và thu gom lớp hữu cơ. Rửa dung dịch hữu cơ bằng dung dịch nước NaCl bão hòa; tách các phần chiết hữu cơ; làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Kết hợp vật chất thu được từ mỗi phần được tách ra trước đó. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với vật chất thu được, rửa giải bằng gradien 20% đến 50% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu cam với độ tinh khiết 92% (96 g, 73%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,40–7,28 (m, 6H), 5,42 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,65–4,56 (m, 3H), 3,74–3,67 (m, 2H), 2,75 (dd, *J* = 16,8, 14,3 Hz, 1H), 2,42 (dd, *J* = 16,9, 3,2 Hz, 1H).

Ví dụ điều chế 8

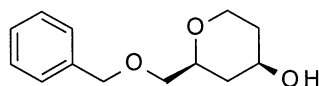
(±)-2-(Benzyloxymethyl)tetrahydropyran-4-on



Khuấy hỗn hợp chứa EtOAc (880 mL), (±)-2-((benzyloxy)methyl)-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on (96 g, 0,440 mol), triethylamin (123 mL, 0,882 mol), và paladi (10% trên cacbon, 4,68 g, 4,40 mmol) trong khí quyển hydro ở nhiệt độ trong phòng trong 73 giờ. Lọc hỗn hợp qua đất diatomit; súc rửa bánh lọc bằng EtOAc (250 mL); và lần lượt rửa dịch lọc bằng dung dịch nước HCl (0,1M), dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa, và dung dịch nước NaCl bão hòa. Làm khô lớp hữu cơ bằng MgSO₄; lọc, thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng vật chất màu vàng nhạt (81,4 g, 84%). LC/MS (ESI⁺): 221 [M+H]⁺, 238 [M+NH₄]⁺, 243 [M+Na]⁺.

Ví dụ điều chế 9

(2S,4R)-2-(Benzyloxymethyl)tetrahydropyran-4-ol

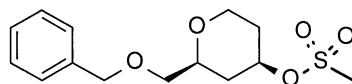


Làm lạnh dung dịch chứa (±)-2-(benzyloxymethyl)tetrahydropyran-4-on (40,6 g, 184 mmol) trong THF (1,08 L) đến -78°C. Bổ sung từng giọt dung dịch LiAlH₄ (1,0M trong THF, 240 mL, 240 mmol) trong 15 phút vào đó. Để hỗn hợp này ấm đến 0°C sau khi hoàn thành việc bổ sung và từ từ bổ sung từng giọt nước (8,4 mL) vào đó. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 5 phút, bổ sung dung dịch NaOH (15% khối lượng trong nước, 8,4 mL) vào và khuấy thêm 5 phút nữa. Sau đó bổ sung nước (3 × 8,4 mL) vào và để hỗn hợp ấm đến nhiệt độ trong phòng. Sau 30 phút, lọc huyền phù để loại bỏ các chất rắn và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu. Súc rửa các chất rắn một lần bằng THF; lọc; và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Kết hợp vật chất này với các vật chất thu được từ các phản ứng trước đó được thực hiện về cơ bản là theo quy trình giống như nhau bắt đầu từ 40 g, 22 g, và 45 g (±)-2-(benzyloxymethyl)tetrahydropyran-4-on. Hòa tan vật chất kết hợp được trong *i*-PrOH (637 mL). Thực hiện sắc ký lỏng siêu tới hạn bất đối xứng đối với vật chất này (Chiralpak AS-H, 50 mm × 150 mm × 5 μm)

sử dụng 25% *i*-PrOH trong CO₂(scf) làm pha động ở lưu lượng là 300 g/phút, bằng cách tiêm 1,35 g dung dịch mỗi 114 giây cho đến khi tất cả vật chất này đã được sắc ký hết. Đối với mỗi lần tiêm, thu gom phân đoạn thứ nhất để rửa giải (chất đồng phân chính). Kết hợp tất cả các phân đoạn thu gom được để thu được hợp chất nêu ở đề mục này với ee >99% như được xác định bằng Phương pháp SFC 2 (62,8 g, hiệu suất 42% trên cơ sở cân xứng với mẻ). LC/MS (ESI): 223 [M+H]⁺, 240 [M+NH₄]⁺, 245 [M+Na]⁺, 467 [2M+Na]⁺.

Ví dụ điều chế 10

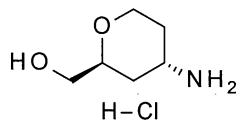
((2*S*,4*R*)-2-(Benzyloxymethyl)tetrahydropyran-4-yl)metansulfonat



Bổ sung từng giọt dung dịch metansulfonyl clorua (11,7 mL, 150,6 mmol) trong DCM (70 mL) vào hỗn hợp chứa (2*S*,4*R*)-2-(benzyloxymethyl)tetrahydropyran-4-ol (31 g, 139,5 mmol), DCM (1,40 L), và *N,N*-diisopropyletylamin (73,0 mL, 418,4 mmol) ở 0°C. Để hỗn hợp này ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy hỗn hợp này qua đêm. Sau đó bổ sung dung dịch metansulfonyl clorua (0,537 mL, 6,98 mmol) trong DCM (5 mL) và khuấy hỗn hợp này trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. Làm nguội hỗn hợp này đến 0°C, rót nó vào nước; tách; và thu gom lớp hữu cơ. Rửa lớp hữu cơ bằng nước (500 mL); kết hợp lớp hữu cơ này với các lớp/các phần chiết hữu cơ thu được từ các phản ứng về cơ bản là tương tự khác. Làm khô các dung dịch hữu cơ kết hợp được bằng MgSO₄; lọc, thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc này trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu cam nhạt (84,7 g, hiệu suất 97% trên cơ sở cân xứng với mẻ). ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 7,36–7,24 (m, 5H), 4,86–4,77 (m, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,96 (dd, *J* = 7,6, 4,4 Hz, 1H), 3,60–3,54 (m, 1H), 3,48–3,36 (m, 3H), 3,18 (s, 3H), 2,05 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 1,98 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 1,58 (app qd, *J* = 12,0, 4,8 Hz, 1H), 1,40 (app q, *J* = 11,8 Hz, 1H).

Ví dụ điều chế 11

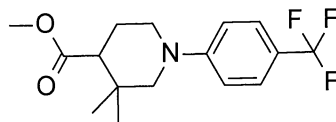
((2*S*,4*S*)-4-Aminotetrahydro-2H-pyran-2-yl)metanol hydroclorua



Bổ sung natri azit (12,85 g, 191,7 mmol) vào dung dịch chứa ((2*S*,4*R*)-2-(benzyloxymetyl)tetrahydropyran-4-yl)metansulfonat (32,0 g, 106,5 mmol) trong DMF (304 mL). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 100°C và khuấy hỗn hợp này trong 4 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ phòng. Rót hỗn hợp này vào nước (400 mL) và sau đó chiết bằng EtOAc (2 × 400 mL). Gom các phần chiết hữu cơ lại và rửa bằng dung dịch nước NaCl bão hòa (3 × 200 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ bằng MgSO₄; lọc; và thu gom dịch lọc. Cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm đến tổng thể tích khoảng 100 mL. Hòa tan hỗn hợp thu được trong EtOAc (700 mL) và bổ sung hỗn hợp thu được vào bình PARR™ chứa PtO₂ (2,7 g, 12 mmol) và EtOAc (700 mL). Làm sạch bình phản ứng bằng nitơ; sau đó điều áp bình này bằng khí hydro đến áp suất 414 kPa. Khấy lắc hỗn hợp trong 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Lọc hỗn hợp và cô dịch lọc không màu trong điều kiện áp suất giảm để thu được 23,2 g dầu không màu. Kết hợp với 36,2 g vật chất từ phản ứng trước đó được điều chế bằng quy trình về cơ bản là giống như quy trình vừa nêu. Hòa tan vật chất kết hợp được trong EtOH (600 mL) và bổ sung dung dịch HCl (37% trọng lượng trong H₂O, 50 mL) vào đó. Bổ sung hỗn hợp thu được vào bình PARR™ chứa Pd (10% trên cacbon, 10,0 g, 9,40 mmol) và EtOH (600 mL). Làm sạch bình phản ứng này bằng khí nitơ và điều áp bình phản ứng bằng khí hydro đến áp suất 414 kPa. Khuấy lắc hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Lọc hỗn hợp này; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc không màu trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu đặc, sẫm màu với độ tinh khiết khoảng 72% (54,2 g, 85%). LC/MS (ESI): 132 [M+H]⁺.

Ví dụ điều chế 12

(±)-(Metyl 3,3-dimetyl-1-[4-(triflometyl)phenyl]piperidin-4-carboxylat

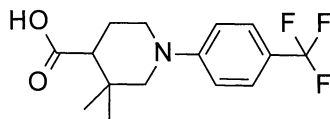


Bổ sung K₂CO₃ (460 mg, 3,33 mmol) vào hỗn hợp chứa metyl 3,3-dimethylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua (300 mg, 1,44 mmol), 1-fluor-4-(triflometyl)benzen (475 mg, 2,89 mmol) và DMSO (2 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 130°C trong 2 ngày. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 ngày. Thực hiện sắc ký nhanh pha đảo đối với vật chất thu được trên

C₁₈ silicagel, rửa giải bằng gradien 10% đến 100% axetonitril (0,1% axit formic) trong nước (0,1% axit formic), để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu vàng (113 mg, 25%). MS (*m/z*): 316 (M + H)⁺.

Ví dụ điều chế 13

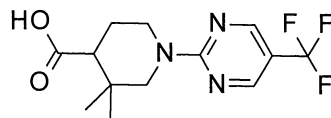
Axit (±)-3,3-Dimetyl-1-[4-(triflometyl)phenyl]piperidin-4-carboxylic.



Bổ sung dung dịch nước NaOH 2M (1 mL, 2 mmol) vào hỗn hợp chứa methyl (±)-3,3-dimetyl-1-[4-(triflometyl)phenyl]piperidin-4-carboxylat (113 mg, 0,36 mmol), MeOH (1 mL), và THF (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng, và bổ sung dung dịch HCl (33% trọng lượng trong nước) vào cho đến khi độ pH của hỗn hợp bằng 3. Cô hỗn hợp này trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu vàng với độ tinh khiết 88% (123 mg, hiệu suất 99%). MS (*m/z*): 302 (M + H)⁺.

Ví dụ điều chế 14

Axit (±)-3,3-Dimetyl-1-[5-(triflometyl)pyrimidin-2-yl]piperidin-4-carboxylic

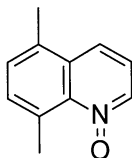


Bổ sung triethylamin (7,65 mL, 54,9 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl 3,3-dimetyl-1-piperidin-4-carboxylat hydroclorua (8,55 g, 41,2 mmol), 2-clo-5-(triflometyl)pyrimidin (5,0 g, 27,4 mmol), và axetonitril (67 mL). Gia nhiệt hỗn hợp này trong lò vi sóng đến 180°C trong 1 giờ; sau đó làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung MeOH (40 mL), THF (80 mL), và dung dịch nước NaOH 2M (40 mL, 80 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp thu được trong 2 ngày ở 50°C. Bổ sung dung dịch nước NaOH 2M (45 mL, 90 mmol) vào và khuấy hỗn hợp thu được trong 4 giờ ở 50°C. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng, và sau đó bổ sung dung dịch HCl (33% trọng lượng trong nước) vào cho đến khi độ pH đạt đến 3. Cô trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng bằng dung dịch nước HCl 1N (100 mL) và chiết bằng EtOAc (2 × 100 mL). Rửa các

phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (100 mL); làm khô bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (7,60 g, 61%). MS (m/z): 302 ($\text{M} + \text{H}$)⁺.

Ví dụ điều chế 15

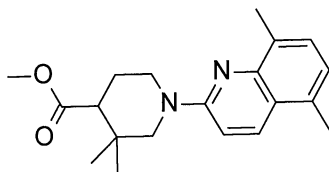
5,8-Dimethylquinolin-1-oxit



Bổ sung axit 3-cloperoxybenzoic (5,96 g, 24,1 mmol) vào hỗn hợp chứa 5,8-dimethylquinolin (2 g, 12,1 mmol) và DCM (80 mL) được giữ ở 0°C. Sau 1 giờ, bổ sung Na_2SO_4 (5 g) vào và lọc hỗn hợp. Thu gom dịch lọc. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng qua đêm. Pha loãng bằng DCM (100 mL); rửa bằng dung dịch nước NaOH 1N (3 × 50 mL); làm khô bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh pha đảo đối với vật chất thô thu được trên C_{18} silicagel, rửa giải bằng gradien 15% đến 70% axetonitril (10mM amoni bicacbonat) trong nước (10mM amoni bicacbonat), để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (372 mg, 18%). MS (m/z): 327 ($\text{M} + \text{H}$)⁺.

Ví dụ điều chế 16

(±)-Metyl 1-(5,8-dimethyl-2-quinolyl)-3,3-dimethyl-piperidin-4-carboxylat.

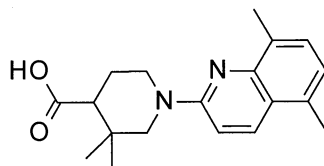


Bổ sung N,N-diisopropyletylamin (2,02 mL, 11,6 mmol) và PyBroP (1,75 g, 3,75 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl 3,3-dimethylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua (600 mg, 2,89 mmol), 5,8-dimethylquinolin-1-oxit (678 mg, 3,91 mmol), và DCM (15 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 3 ngày. Thực hiện sắc ký nhanh pha đảo đối với sản phẩm phản ứng trên C_{18} silicagel, rửa giải bằng gradien 10% đến 100% axetonitril (0,1% axit formic) trong nước (0,1% axit formic). Gom các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn lại và cô trong chân không đến thể tích khoảng 30 mL. Điều chỉnh độ pH đến 6 bằng cách bổ sung dung dịch nước NaOH 1N. Chiết dung dịch nước bằng EtOAc (2 x 30 mL), rửa bằng dung dịch

đệm có độ pH bằng 6 (4 x 30 mL), làm khô bằng MgSO_4 ; lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (166 mg, 18%). MS (m/z): 327 ($M + H$)⁺.

Ví dụ điều chế 17

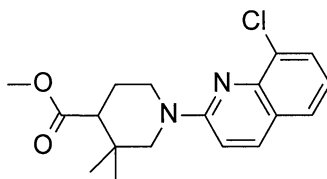
Axit (±)-1-(5,8-Dimetyl-2-quinolyl)-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxylic.



Kết hợp hỗn hợp metyl (±)-1-(5,8-dimetyl-2-quinolyl)-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxylat (166 mg, 0,51 mmol), MeOH (0,1 mL), THF (0,5 mL), và dung dịch nước NaOH 1M (2,5 mL, 2,5 mmol) trong bình vi sóng. Gia nhiệt hỗn hợp thu được ở 120°C trong 2 giờ trong thiết bị phản ứng vi sóng. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và bổ sung dung dịch nước HCl 1N vào đó cho đến khi độ pH bằng 6. Chiết bằng CHCl_3 (2 x 25 mL); làm khô bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (135 mg, 85%). MS (m/z): 312 ($M + H$)⁺.

Ví dụ điều chế 18

(±)-Metyl 1-(8-clo-2-quinolyl)-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxylat.

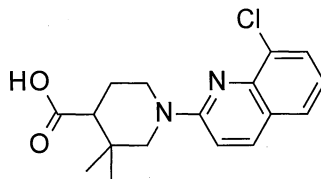


Bổ sung K_2CO_3 (1,07 g, 7,75 mmol) vào hỗn hợp chứa metyl (±)-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxylat hydroclorua (700 mg, 3,37 mmol), 2,8-dicloquinolin (876 mg, 4,38 mmol), và DMSO (4,5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 130°C qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng, lọc để loại bỏ chất rắn; pha loãng bằng nước (5 mL); và chiết bằng EtOAc (4 x 20 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước (20 mL) sau đó bằng nước muối (20 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ bằng MgSO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa

giải bằng gradien 0% đến 40% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,1 g, 98%). MS (m/z): 332 ($M + H$)⁺.

Ví dụ điều chế 19

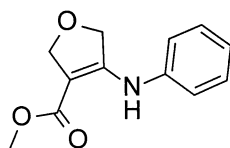
Axit (±)-1-(8-clo-2-quinolyl)-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxylic



Kết hợp hỗn hợp chứa (±)-metyl 1-(8-clo-2-quinolyl)-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxylat (1,1 g, 3,3 mmol), MeOH (0,8 mL), THF (3,3 mL), và dung dịch nước NaOH 1M (3,3 mL, 17 mmol) trong bình vi sóng. Gia nhiệt hỗn hợp thu được ở 120°C trong 2 giờ trong lò vi sóng. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và sau đó bổ sung dung dịch nước HCl 5N vào đó cho đến khi độ pH bằng 6. Chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (3 × 10 mL). Kết hợp các phần chiết hữu cơ lại; làm khô bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (815 mg, 77%). MS (m/z): 318 ($M + H$)⁺.

Ví dụ điều chế 20

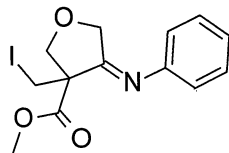
Metyl 4-anilino-2,5-dihydrofuran-3-carboxylat



Bổ sung axit *p*-toluensulfonic (500 mg, 3,16 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl 4-oxotetrahydrofuran-3-carboxylat (6,6 g, 45,8 mmol), anilin (4,3 mL, 47,2 mmol) và toluen (70 mL). Lắp bẫy Dean-Stark vào bình phản ứng này và gia nhiệt đến 140°C. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 140°C và khuấy trong 2 giờ. Làm nguội hỗn hợp này và bổ sung diethyl ete (100 mL) và nước (100 mL) vào đó. Chiết hỗn hợp bằng diethyl ete (3 × 50 mL); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 0% đến 100 % EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (6,7 g, 67%). MS (m/z): 220 ($M + H$)⁺.

Ví dụ điều chế 21

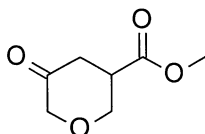
(±)-Metyl-3-(iodometyl)-4-phenylimino-tetrahydrofuran-3-carboxylat



Bổ sung dung dịch (±)-metyl 4-anilino-2,5-dihydrofuran-3-carboxylat (3,6 g, 16,4 mmol) và 18-crown-6 (hợp chất 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecan) (4,8 g, 18 mmol) trong toluen (15 mL) vào hỗn hợp chứa kali *tert*-butoxit (2,0 g, 17,8 mmol) và toluen (15 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Bổ sung diiodometan (4 mL) và khuấy phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung nước (50 mL) và chiết bằng diethyl ete (2 × 50 mL). Thu gom các phần chiết hữu cơ và rửa bằng nước muối (50 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 0% đến 60% EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,0 g, 17 %). MS (*m/z*): 359 (M + H)⁺.

Ví dụ điều chế 22

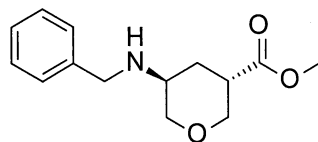
(±)-Metyl 5-oxotetrahydropyran-3-carboxylat



Gia nhiệt hỗn hợp chứa tri-*n*-butyl thiếc hydrua (1,12 mL, 4,18 mmol), 2,2'-azobis(2-metylpropionitril) (35 mg, 0,21 mmol) và toluen (10 mL) để hồi lưu. Bổ sung từng giọt dung dịch chứa (±)-metyl-3-(iodometyl)-4-phenylimino-tetrahydrofuran-3-carboxylat (1,0 g, 2,78 mmol) trong toluen (50 mL) vào đó trong ba giờ. Khuấy hỗn hợp thu được ở điều kiện hồi lưu trong 3 giờ. Cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 0% đến 80% EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,37 g, 84 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4,09-3,99 (m, 4H), 3,72 (s, 3H), 3,16 (m, 1H), 2,82 (dd, *J* = 7,2, 16,9 Hz, 1H), 2,66 (dd, *J* = 6,3, 16,9 Hz, 1H).

Ví dụ điều chế 23

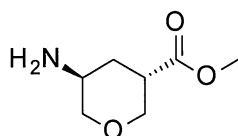
(±)-Metyl *trans*-5-(benzylamino)tetrahydropyran-3-carboxylat



Bổ sung natri triaxetoxybohydrua (0,96 g, 4,53 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl 5-oxotetrahydropyran-3-carboxylat (0,33 g, 2,08 mmol), benzylamin (0,31 mL, 2,84 mmol) và 1,2-dicloetan (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ. Bổ sung dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (10 mL); chiết bằng DCM (3 × 10 mL); tách lớp hữu cơ; rửa bằng nước muối (10 mL); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 0% đến 60% EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,085 g, hiệu suất 16%). MS (*m/z*): 250 (M + H)⁺.

Ví dụ điều chế 24

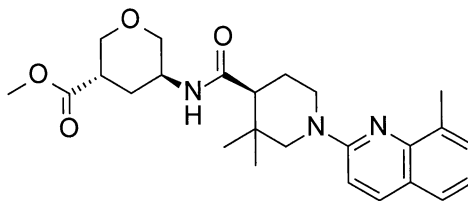
(±)-Metyl *trans*-5-aminotetrahydropyran-3-carboxylat



Bổ sung 10% paladi trên cacbon (0,07 g, 0,66 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl *trans*-5-(benzylamino)tetrahydropyran-3-carboxylat (0,085 g, 0,34 mmol) và ethanol (8 mL). Làm sạch hỗn hợp này bằng khí hydro và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong khí hydro (áp suất 1atm (101,325kPa)) qua đêm. Lọc hỗn hợp và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,045 g, hiệu suất 83%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3,82-3,77 (m, 2H), 3,68 (m, 4H), 3,38-3,31 (m, 1H), 3,11-3,08 (m, 1H), 2,85-2,80 (m, 1H), 2,17-2,11 (m, 1H), 1,78-1,71 (m, 3H).

Ví dụ điều chế 25

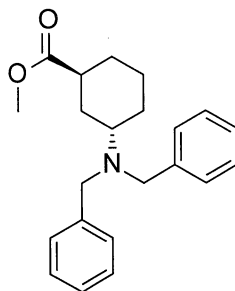
(±)-Metyl *trans*-5-[[[(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carbonyl]amino]tetrahydropyran-3-carboxylat



Bổ sung EDCI (0,087 g, 0,45 mmol) vào hỗn hợp chứa axit (–)-(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic (0,087 g, 0,29 mmol), (±)-metyl-*trans*-5-aminotetrahydropyran-3-carboxylat (0,045 g, 0,28 mmol), HOBt (9 mg, 0,06 mmol), triethylamin (0,15 mL, 1,08 mmol), trong DCM (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với hỗn hợp thu được, rửa giải bằng gradien 5% đến 100% EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,085 g, 66%). MS (*m/z*): 439 (*M* + *H*)⁺.

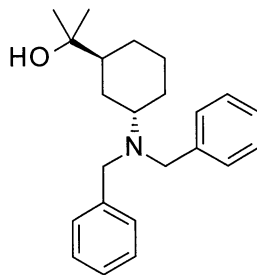
Ví dụ điều chế 26

(±)-Metyl *trans*-3-(dibenzylamino)xyclohexancarboxylat



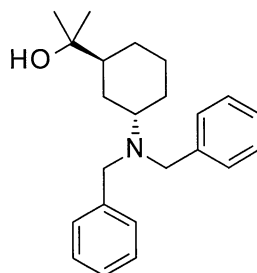
Bổ sung kali cacbonat (3,53 g, 25,6 mmol) và benzyl bromua (1,9 mL, 15,9 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl-*trans*-3-aminocyclohexancarboxylat (1,07 g, 6,8 mmol) trong axetonitril (40 mL). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 80°C và khuấy hỗn hợp này trong 5 giờ. Làm nguội hỗn hợp và bổ sung axetonitril (40 mL) vào đó. Lọc qua đất diatomit và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 0% đến 20% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,6 g, 70%). MS (*m/z*): 338 (*M* + *H*)⁺.

Ví dụ điều chế 27

(±)-2-[*trans*-3-(Dibenzylamino)cyclohexyl]propan-2-ol

Bổ sung metylmagie bromua (dung dịch 3,0M trong dietyl ete, 16 mL, 48 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-metyl-*trans*-3-(dibenzylamino)cyclohexancarboxylat (1,6 g, 4,7 mmol) và THF (50 mL), được duy trì ở 0°C. Để hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Bổ sung nước (25 mL) vào và lọc qua đất diatomit. Thu gom dịch lọc chứa nước. Chiết vật chất chứa nước thu được bằng EtOAc (50 mL). Thu gom các phần chiết hữu cơ; làm khô bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung EtOAc (50 mL); rửa bằng dung dịch nước NH₄Cl bão hòa (2 × 25 mL); làm khô bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,1 g, 69%). MS (*m/z*): 338 (M + H)⁺.

Ví dụ điều chế 28

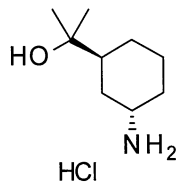
2-[(1*S*,3*S*)-3-(Dibenzylamino)cyclohexyl]propan-2-ol

Hòa tan (±)-2-[*trans*-3-(dibenzylamino)cyclohexyl]propan-2-ol (1,1 g, 3,26 mmol) trong etanol (13 mg/mL). Thực hiện sắc ký lỏng siêu tới hạn bất đối xứng (Chiralpak IA, 2 cm × 15 cm) đối với vật chất này sử dụng 12% (0,1% dimetyletylamin trong i-PrOH) trong CO_{2(scf)} làm pha động ở 220 nm và lưu lượng là 70 mL/phút. Thu gom và kết hợp phân đoạn thứ nhất để rửa giải và cô trong điều kiện áp suất giảm, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,54 g, 49%), ee = >99%. MS (*m/z*): 338 (M + H)⁺. Phương pháp phân tích sắc ký lỏng siêu tới hạn (Chiralpak

IA, (15 cm × 0,46 cm) sử dụng 10% (0,1% dimetyletylamin trong i-PrOH) trong CO₂(scf) làm pha động ở 220 nm và lưu lượng là 3 mL/phút).

Ví dụ điều chế 29

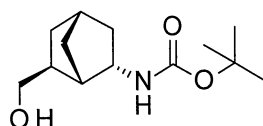
2-[(1*S*,3*S*)-3-Aminocyclohexyl]propan-2-ol hydroclorua



Bổ sung paladi hydroxit (20% trên cacbon, 0,51 g, 3,7 mmol) vào hỗn hợp chứa 2-[(1*S*,3*S*)-3-(dibenzylamino)cyclohexyl]propan-2-ol (0,54 g, 1,6 mmol) trong MeOH (20 mL) trong bình lắc Parr™. Làm sạch và điều áp bình này bằng hydro đến áp suất 414 kPa. Lắc hỗn hợp trong 4 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Lọc hỗn hợp này qua đất diatomit và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng hỗn hợp này trong diethyl ete (25 mL) và DCM (25 mL). Bổ sung HCl (dung dịch 4,0M trong 1,4-dioxan, 0,8 mL) vào và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,24 g, 77%). MS (*m/z*): 158 (*M* + H)⁺.

Ví dụ điều chế 30

tert-Butyl N-[(1*RS*,2*RS*,4*SR*,6*RS*)-6-(hydroxymetyl)norbornan-2-yl]carbamate

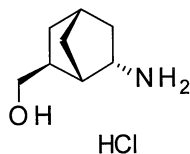


Kết hợp (axetylaxetonato)dicarbonylrodi (10 mg, 0,03 mmol), 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen (27 mg, 0,05 mmol), methyl bixyclo[2,2,1]hept-2-en-5-carboxylat (2,5 g, 11,9 mmol) và *tert*-butanol (25 mL) vào nồi hấp PARR™ được lắp cánh khuấy cơ học. Làm sạch và điều áp nồi này bằng Syngas (hỗn hợp cacbon monoxit và hydro 1:1, 310 kPa). Khuấy qua đêm. Cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng trong DCM (29 mL) và MeOH (2,9 mL). Bổ sung natri bohydrua (0,26 g, 6,9 mmol) và khuấy trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung DCM (60 mL) và rửa bằng dung dịch nước natri cacbonat bão hòa (2 x 25 mL) và nước muối (25 mL). Làm khô lớp hữu cơ bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng dung dịch 30% DCM, 30% *tert*-butyl methyl ete và 40%

hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (0,58 g, 21%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4,71-4,59 (m, 1H), 3,92-3,81 (m, 1H), 3,46-3,45 (m, 2H), 2,36 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 2,21-2,05 (m, 3H), 1,55 (br s, 1H), 1,49-1,25 (m, 12H), 1,16-1,09 (m, 1H), 0,68 (ddd, $J = 12,9, 4,5, 2,4$ Hz, 1H).

Ví dụ điều chế 31

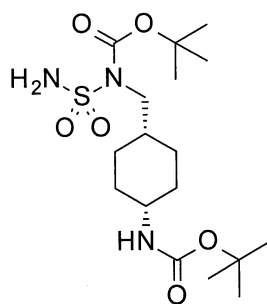
[(1RS,2RS,4SR,6RS)-6-Aminonorboman-2-yl]metanol hydroclorua



Bổ sung HCl (dung dịch 4,0M trong 1,4-dioxan, 2,1 mL, 8,3 mmol) vào hỗn hợp chứa *tert*-butyl N-[(1RS,2RS,4SR,6RS)-6-(hydroxymetyl)norbornan-2-yl]carbammat (0,2 g, 0,83 mmol) trong DCM (8 mL) được giữ ở 0°C. Để hỗn hợp thu được ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ. Cô hỗn hợp trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,15 g, 100%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,17-8,02 (m, 3H), 4,93-4,90 (br, 1H), 3,47-3,45 (m, 1H), 3,19-3,15 (m, 2H), 2,31 (m, 1H), 2,14-2,12 (m, 1H), 2,01-1,94 (m, 1H), 1,92-1,88 (m, 1H), 1,44-1,35 (m, 2H), 1,22 (m, 1H), 1,04-0,98 (m, 2H).

Ví dụ điều chế 32

tert-Butyl ((*cis*-4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xylohexyl)metyl)(sulfamoyl)-carbammat

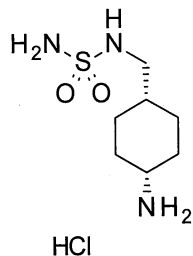


Bổ sung diisopropyl azodicarboxylat (1,6 mL, 7,8 mmol) vào hỗn hợp chứa *tert*-butyl *cis*-4-(hydroxymetyl)xylohexylcarbammat (1,5g, 6,5 mmol), *tert*-butyl N-sulfamoylcarbammat (1,9 g, 9,8 mmol), triphenylphosphin (2,1 g, 7,8 mmol), và EtOAc (33 mL). Khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung nước (50 mL); chiết bằng EtOAc (2 × 50 mL); thu gom các phần chiết hữu cơ. Rửa các phần chiết

hữu cơ bằng nước muối (25 mL); làm khô bằng MgSO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 10% đến 80% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,78 g, 67%). MS (m/z): 430 ($M + \text{Na}$)⁺.

Ví dụ điều chế 33

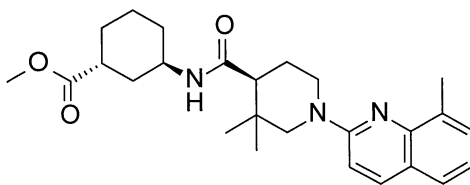
cis-1-amino-4-[(sulfamoylamino)metyl]xyclohexan hydroclorua



Bổ sung HCl (dung dịch 4,0M trong 1,4-dioxan, 15 mL, 60 mmol) vào *tert*-butyl ((*cis*-4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclohexyl)metyl)(sulfamoyl)carbamate (1,78 g, 4,37 mmol). Khuấy hỗn hợp thu được qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Cô trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng trong MeOH (10 mL) và bổ sung từng giọt diethyl ete (150 mL) vào trong khi khuấy mạnh. Thu gom kết tủa trắng thu được bằng cách lọc chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,68 g, 56%). MS (m/z): 208 ($M + \text{H}$)⁺.

Ví dụ điều chế 34

Metyl (1*RS*,3*RS*)-3-((*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclohexan-1-carboxylat

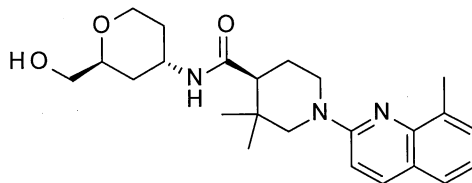


Bổ sung triethylamin (0,9 mL, 7 mmol) vào hỗn hợp chứa axit (-)-(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic (0,8 g, 3 mmol), (±)-metyl *trans*-3-aminoxyclohexanecarboxylat hydroclorua (0,5 g, 3 mmol), BOP (2,0 g, 3 mmol) và DMF (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (20 mL) và chiết bằng EtOAc (2 × 25 mL). Thu gom các phần chiết hữu cơ; rửa bằng nước muối (25 mL); làm khô bằng MgSO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký

nhANH trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 10% đến 90% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,00 g, 80%). MS (m/z): 438 ($M + H$)⁺.

Ví dụ 1

(*S*)-*N*-((2*S*,4*S*)-2-(Hydroxymetyl)tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamit



Bổ sung benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoni hexaflophosphat (153 g, 293 mmol) dưới dạng huyền phù đặc trong DMF (152 mL) vào hỗn hợp lạnh (10°C) chứa axit (–)-(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic (76,0 g, 245 mmol), ((2*S*,4*S*)-4-aminotetrahydro-2H-pyran-2-yl)metanol hydroclorua (độ tinh khiết 72%, 57,37 g, 246 mmol), trietylamin (153 mL, 1,10 mol), và DMF (380 mL) trong khi duy trì nhiệt độ bên trong phản ứng dưới 20°C. Say đó để hỗn hợp này ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy hỗn hợp này trong 30 phút. Rót hỗn hợp này vào nước đá (1,5 L) trong khi khuấy hỗn hợp này. Chiết hỗn hợp này bằng DCM (2 × 600 mL) và rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước NaCl bán bão hòa (1,0 L). Làm khô dung dịch hữu cơ bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm để thu được chất rắn ướt. Nghiền chất rắn ướt bằng nước và tách chất rắn này bằng cách lọc. Nghiền chất rắn này lần nữa bằng nước (1,5 L) và tách chất rắn này bằng cách lọc. Rửa chất rắn này bằng nước (2 × 250 mL). Đặt riêng mẻ chất rắn tách được thứ nhất này. Thu gom các phần rửa chứa nước; chiết bằng DCM (2 × 800 mL); gom các phần chiết DCM lại. Bổ sung mẻ chất rắn tách được thứ nhất vào các phần chiết DCM gom lại và rửa bằng dung dịch nước HCl (2,5M, 2 × 800 mL). Tách lớp nước và bổ sung dung dịch nước NaOH 50% vào lớp nước cho đến khi độ pH đạt đến 12 để gây ra sự kết tủa. Lọc hỗn hợp này để thu gom chất rắn thu được. Súc rửa chất rắn này bằng nước (2 × 300 mL). Làm khô chất rắn trong lò chân không ở 50°C trong 3 giờ. Hòa tan chất rắn này trong MeOH (1,2 L); bổ sung nhựa làm sạch silic oxit mao quản trung bình mercaptopropyl (1,2 mmol/g, 715 m²/g, cỡ hạt trung bình 54 μm); và khuấy ở 50°C qua đêm. Lọc để loại

bỏ các chất rắn, thu gom dịch lọc. Súc rửa chất rắn bằng hỗn hợp $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ 1:1 (2×500 mL). Gom các dịch lọc lại và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được chất rắn màu trắng. Nghiền chất rắn này bằng TBME (1,5 L), và thu gom chất rắn. Kết tinh chất rắn này từ EtOH (1,8 L). Làm khô chất rắn này trong lò chân không ở 50°C trong 2,5 giờ để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn tinh thể, màu trắng (76,7 g, 76%). LC/MS (ESI): 412 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Các hợp chất theo các Ví dụ dưới đây trong Bảng 1 có thể được điều chế về cơ bản là bằng quy trình nêu trong Ví dụ điều chế 34 sử dụng nguyên liệu amin thích hợp thay cho ($\pm$)-metyl-*trans*-3-aminocyclohexancarboxylat hydroclorua và nguyên liệu axit carboxylic thích hợp thay cho axit (–)-(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)-piperidin-4-carboxylic.

Bảng 1

Ví dụ số	Công thức cấu tạo	Tên hóa học	MS (m/z) ($\text{M}+\text{H}$)	Phương pháp tinh chế
2		(4 <i>S</i>)-N-[4-(Hydroxymetyl)- <i>cis</i> -xyclohexyl]-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit	410	A
3		(4 <i>S</i>)-N-[6-(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-(Hydroxymetyl)norbornan-2-yl]-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit	422	B
4		(4 <i>S</i>)-1-(8-Clo-2-quinolyl)-N-[4-(hydroxymetyl)- <i>cis</i> -xyclohexyl]-3,3-dimetyl-piperidin-4-carboxamit	430	A
5		(4 <i>S</i>)-N-[(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-(Hydroxymetyl)xyclohexyl]-3,3-dimetyl-1-[4-(triflometyl)phenyl]piperidin-4-carboxamit	413	C

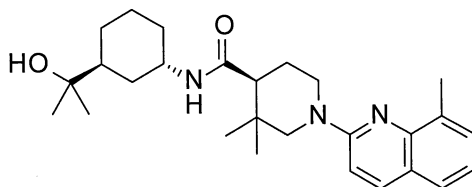
6		(4S)-1-(5,8-Dimethyl-2-quinolyl)-N-[4-(hydroxymethyl)- <i>cis</i> -cyclohexyl]-3,3-dimethylpiperidin-4-carboxamit	424	B
7		(4S)-N-Xyclopentyl-3,3-dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit	366	B
8		(4S)-N-[(1R)-1,2-Dimethylpropyl]-3,3-dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit	368	B
9		(4S)-N-[3-(1S,3S)-(Metansulfonamido)cyclohexyl]-3,3-dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit	473	B
10		(4S)-N-[3-(1S,3S)-(Hydroxymetyl)cyclohexyl]-3,3-dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit	410	A
11		(4S)-3,3-Dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)-N-[4- <i>cis</i> -[(sulfamoylamino)metyl]cyclohexyl]piperidin-4-carboxamit	488	A
12		(4S)-3,3-Dimethyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)-N-[(3R)-tetrahydrofuran-3-yl]piperidin-4-carboxamit	368	A

Các phương pháp tinh chế: A= Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột pha thường silicagel rửa giải bằng gradien EtOAc trong hexan. B= Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột pha đảo C18 rửa giải bằng gradien axetonitril và nước. C= Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc

ký cột bất đối xứng với Chiralpak AS-H, 21 × 150 mm) sử dụng 15% IPA trong CO₂ làm pha động ở lưu lượng 70 mL/phút.

Ví dụ 13

(4S)-N-[(1S,3S)-3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)cyclohexyl]-3,3-dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxamit



Bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (0,7 mL, 4 mmol) và HATU (0,31 g, 0,8 mmol) vào hỗn hợp chứa axit (–)-(4*S*)-3,3-dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic (0,2 g, 0,67 mmol), 2-[(1*S*,3*S*)-3-aminoxyclohexyl]propan-2-ol hydrochlorua (0,13 g, 0,67 mmol) và DMF (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Thực hiện sắc ký nhanh pha đảo trên C18 đối với hỗn hợp phản ứng thu được, rửa giải bằng gradien 5% đến 80% ACN trong nước, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,26 g, 88%). MS (*m/z*): 438 (*M* + *H*)⁺.

Điều chế các hợp chất theo các Ví dụ dưới đây trong Bảng 2 về cơ bản là bằng quy trình nêu trong Ví dụ 13 sử dụng nguyên liệu axit carboxylic thích hợp thay cho axit (–)-(4*S*)-3,3-dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic.

Bảng 2

Ví dụ số	Công thức cấu tạo	Tên hóa học	MS (<i>m/z</i>) (<i>M</i> + <i>H</i>)
14		(4 <i>S</i>)-N-[(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)cyclohexyl]-3,3-dimethyl-1-[4-(trifluoromethyl)phenyl]piperidin-4-carboxamit	441
15		(4 <i>S</i>)-N-[(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)cyclohexyl]-3,3-dimethyl-1-[5-(trifluoromethyl)pyrimidin-2-yl]piperidin-4-carboxamit	442

Điều chế các hợp chất theo các Ví dụ dưới đây trong Bảng 3 về cơ bản là bằng quy trình nêu trong Ví dụ điều chế 25 sử dụng nguyên liệu amin thích hợp thay cho methyl ($\pm$)-*trans*-5-aminotetrahydropyran-3-carboxylat và nguyên liệu axit carboxylic thích hợp thay cho axit (-)-(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic.

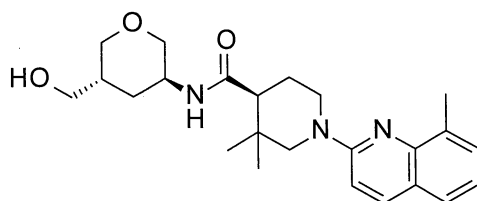
Bảng 3

Ví dụ số	Công thức cấu tạo	Tên hóa học	MS (m/z) (M^+ H)	Phương pháp tinh chế
16		(4 <i>S</i>)-1-(8-Metyl-2-quinolyl)-3,3-dimetyl-N-[(3 <i>S</i>)-tetrahydropyran-3-yl]piperidin-4-carboxamit	382	A
17		(4 <i>S</i>)-3,3-Dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)-N-[(1 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-metylsulfonylcyclohexyl]piperidin-4-carboxamit	458	C

Các phương pháp tinh chế: A= Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột pha thường silicagel rửa giải bằng gradien EtOAc trong hexan. C= Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột bất đối xứng sử dụng phương pháp SFC bất đối xứng (Chiralcel OD-H, 21 × 250 mm) sử dụng 25% EtOH(0,2% IPAm) trong CO₂(scf) làm pha động ở lưu lượng 70 mL/phút.

Ví dụ 18

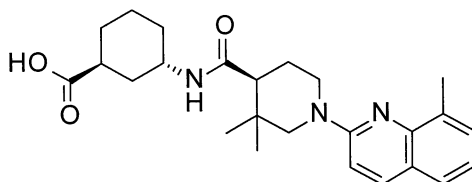
(*S*)-*N*-((3*RS*,5*SR*)-5-(Hydroxymetyl)tetrahydro-2*H*-pyran-3-yl)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamit



Bổ sung dung dịch nước NaOH 5N (0,5 mL) vào hỗn hợp chứa methyl (3*RS*,5*RS*)-5-((4*S*)-3,3-dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carbonyl]amino]tetrahydropyran-3-carboxylat (0,085 g, 0,19 mmol), MeOH (2 mL), và THF (2 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Bổ sung dung dịch nước HCl 5N (0,5 mL) vào và cô. Pha loãng hỗn hợp thô trong THF (6 mL) và làm lạnh đến 0°C. Bổ sung từng giọt dung dịch phức boran-THF 2M trong THF (0,15 mL, 0,3 mmol) vào đó. Từ từ làm ấm hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (10 mL) và chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (3 × 10 mL). Thu gom các phần chiết hữu cơ; rửa bằng nước muối (10 mL); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng 100% EtOAc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,046 g, hiệu suất 59% qua hai bước). MS (*m/z*): 411 (M + H)⁺.

Ví dụ 19

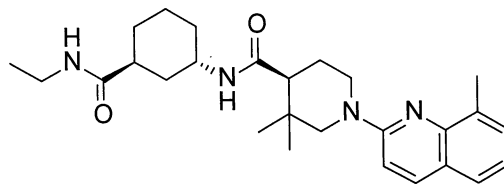
Axit methyl (1*RS*,3*RS*)-3-((*S*)-3,3-Dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carbonyl]amino]xyclohexancarboxylic



Bổ sung dung dịch nước NaOH 5N (2,2 mL) vào hỗn hợp chứa methyl (±)-*trans*-[[4*S*]-3,3-dimethyl-1-(8-methyl-2-quinolyl)piperidin-4-carbonyl]amino]xyclohexan-3-carboxylat (1,0 g, 2,2 mmol), MeOH (2 mL), và THF (8 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung dung dịch nước HCl 5N (2,2 mL) vào để điều chỉnh độ pH đến 6,5. Chiết bằng EtOAc (2 × 25 mL) và thu gom các phần chiết hữu cơ. Rửa các phần chiết hữu cơ này bằng nước muối (25 mL); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,935 g, 98%). MS (*m/z*): 424 (M + H)⁺.

Ví dụ 20

(S)-N-((1*RS*,3*RS*)-3-(Etylcarbamoyl)xyclohexyl)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamit



Bổ sung triethylamin (0,7 mL, 5 mmol) vào hỗn hợp chứa axit ($\pm$)-*trans*-3-[[[(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carbonyl]amino]xyclohexan-carboxylic (0,9 g, 2 mmol), etanamin (2 mL, 3 mmol), BOP (1,0 g, 3 mmol) và DMF (4 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Bổ sung dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (20 mL) vào đó. Chiết hỗn hợp thu được bằng EtOAc (2 $\times$ 50 mL). Thu gom các phần chiết hữu cơ; rửa bằng nước muối (3 $\times$ 25 mL); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh pha đảo đối với vật chất thu được trên C₁₈ silicagel, rửa giải bằng gradien 20% đến 80% axetonitril (0,1% axit formic) trong nước (0,1% axit formic), để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,25 g, 30%). MS (m/z): 450 ($M + H$)⁺.

Thử nghiệm sinh học

Thử nghiệm ức chế enzym mPGES-1 của người

mPGES-1 của người (Invitrogen™ (Cat# 97002RG, dòng ID 6374722)) được tách dòng phụ thành pcDNA3.1 và được biểu hiện tạm thời trong các tế bào 293E. Các vi thể được điều chế từ viên kết tế bào dựa trên các phương pháp đã công bố (Oullet *et al.*, Purification and characterization of recombinant microsomal prostaglandin E synthase-1, Protein Expression and Purification, 26 pp 489-495 (2002); và Thoren *et al.*, Human Microsomal Prostaglandin E Synthase-1, J. Biol Chem. 278(25) pp 22199-22209 (2003)). Ngắn gọn là, các viên kết được cho vào trong dung dịch đệm đồng hóa (Tris-HCl 15mM, pH = 8,0; sucroza 0,25M; EDTA 0,1mM; glutathion 1mM) và nghiền bằng sóng siêu âm 5 $\times$ 30 giây trên đá. Dịch đồng nhất được ly tâm ở tốc độ 5.000 $\times$ g trong 10 phút ở 4°C. Phân đoạn nổi được gạn chất ra và nạp vào các ống Beckman Quick-Seal® và được ly tâm ở tốc độ 150.000 $\times$ g trong 90 phút ở 4°C. Phân đoạn nổi được loại bỏ bằng cách gạn và viên kết được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm thử nghiệm (natri phosphat 10mM,

pH = 7,0; glyxerol 10%; glutathion 2,5mM; Complete Protease Inhibitor Cocktail (Roche)). Nồng độ protein được xác định bằng cách sử dụng chất phản ứng Pierce Coomassie Plus™.

Đối với thử nghiệm enzym, các vi thể được pha loãng với dung dịch đệm thử nghiệm và bổ sung dung dịch thu được vào các đĩa thử nghiệm 384 lỗ với lượng 14µL/lỗ. Các đĩa pha loãng hợp chất (Nunc Cat#249944) được tạo ra trên Tecan_MC384™, và dịch pha loãng hợp chất được bổ sung vào các đĩa thử nghiệm với lượng 4µL/lỗ. Prostaglandin H₂ (PGH₂) được pha loãng với dung dịch đệm thử nghiệm ngay trước khi sử dụng và dung dịch thu được được bổ sung vào các đĩa thử nghiệm với lượng 14µL/lỗ. Nồng độ cuối cùng của vi thể và PGH₂ lần lượt là 6,55 µg/mL và 1,67µM. Sau 1,5 phút ủ ở nhiệt độ trong phòng, bổ sung SnCl₂ 1mg/mL trong dung dịch HCl 0,5N với lượng 5µL/lỗ vào để chấm dứt phản ứng. Năm µL dung dịch phản ứng đã được chấm dứt này được chuyển vào đĩa 384 lỗ chứa 45µL axit formic 0,1%, và các đĩa này được bảo quản ở -80°C. Các đĩa này được chuyển đến công ty Agilent Technologies, trước kia là Biocis Lifesciences (Wakefield, MA 01880) để phân tích LC/MS chuẩn đối với PGE₂. Dữ liệu được sử dụng để tính IC₅₀ (µM). Các hợp chất theo các ví dụ ức chế mPGES-1 của người với trị số IC₅₀ µM là nhỏ hơn 100nM. Hợp chất theo Ví dụ 1 được lấy làm ví dụ đại diện ức chế mPGES-1 của người với trị số IC₅₀ µM bằng 0,00193, + 0,00064, n=17. Kết quả này chứng minh rằng hợp chất theo Ví dụ 1 được lấy làm ví dụ đại diện là chất ức chế có hiệu lực đối với enzym mPGES-1 trong dạng điều chế enzym được phân tách.

Thử nghiệm trên cơ sở tế bào để đo khả năng chọn lọc eicosanoit

Dòng tế bào caxinom phổi biểu mô A549 thu được từ ATCC (CCL-185) và được duy trì trong môi trường nuôi cấy tế bào Kaighn F12 + 10% huyết thanh thai bò (FBS) (môi trường cấy), trong khí quyển ẩm 5% CO₂ chuẩn ở 37°C. Các tế bào này được chuyển tiếp với tỷ lệ 1:3 hai lần mỗi tuần.

Đối với các thử nghiệm, các tế bào được lấy ra từ các bình bằng cách rửa một lần bằng nước muối đệm phosphat (PBS), sau đó rửa một lần bằng Trypsin-EDTA. Sau 3–5 phút ở 37°C, các tế bào được tạo huyền phù trong môi trường cấy và được ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút, 25°C, trong 5 phút. Phần nổi được hút ra và viên kết tế bào được tái tạo huyền phù trong môi trường cấy F12K. Số lượng tế bào được xác

định bằng cách đếm phần phân ước tế bào mà đã được pha loãng trong PBS và xanh Trypan trên huyết cầu kế. Các tế bào được cấy vào các đĩa Falcon 96 lỗ với mật độ 40.000 tế bào/lỗ 24 giờ trước khi xử lý. Các hợp chất được pha loãng trong DMSO đến 100 lần nồng độ cuối cùng trong các ống Screen Mates. Môi trường được loại bỏ ra khỏi các tế bào và môi trường mới (90 μ L/lỗ) được bổ sung vào các tế bào này. Các hợp chất được bổ sung với lượng 1 μ L/lỗ, n=2, để thu được bảy nồng độ đối với mỗi hợp chất. Các tế bào được xử lý trước bằng các hợp chất trong 30 phút ở 37°C, 5% CO₂. Sự sản sinh prostaglandin E₂ được gây cảm ứng bằng việc bổ sung interleukin 1 β tái tổ hợp của người (rhIL-1 β) được pha loãng trong môi trường cấy đến 10 lần nồng độ cuối cùng. Phần phân ước được bổ sung vào với lượng 10 μ L/lỗ để thu được nồng độ rhIL-1 β cuối cùng là 0,1ng/mL. Thời gian xử lý là khoảng 18 giờ. Môi trường có điều kiện được chuyển sang các đĩa polypropylen đáy hình chữ v. Môi trường có điều kiện này được thử nghiệm về mức PGE₂ và prostaglandin I₂ (PGI₂) bằng thử nghiệm miễn dịch enzym đặc hiệu (enzyme immune-assay: EIA), theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Cayman). Ngắn gọn là, môi trường có điều kiện (1 μ L) được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ đã được phủ bằng kháng thể bất giữ và chứa dung dịch đệm EIA (49 μ L) được cung cấp bởi nhà sản xuất. Chất đánh dấu được pha loãng bằng dung dịch đệm EIA (50 μ L). Kháng thể phát hiện được pha loãng bằng dung dịch đệm EIA (50 μ L). Đĩa được phủ bằng màng bịt kín dính bám và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trên máy lắc theo quỹ đạo ở tốc độ 100 vòng/phút. Dung dịch đệm rửa được pha loãng với nước tinh khiết MILLIPORE, và đĩa được rửa 5 lần, mỗi lần với lượng 350 μ L/lỗ, sử dụng máy rửa đĩa. Cơ chất (chất phản ứng Ellman) được pha loãng với nước tinh khiết MILLIPORE và sau đó được bổ sung vào đĩa với lượng 200 μ L/lỗ. Sau khoảng 90 đến 120 phút ở nhiệt độ trong phòng trên máy lắc theo quỹ đạo ở tốc độ 100 vòng/phút, các đĩa được đọc ở A412 trên máy đọc đĩa. Đường cong chuẩn của PGE₂ được sử dụng để hiệu chỉnh giá trị chưa biết. Hợp chất theo Ví dụ 1 được lấy làm ví dụ đại diện ức chế sự tạo thành PGE₂ với IC₅₀ bằng 0,00471 μ M + 0,00301, n=2.

Thử nghiệm máu toàn phần của người

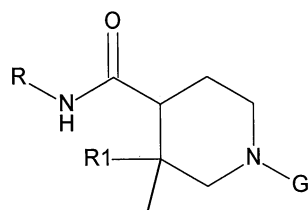
Máu được thu thập từ những người cho tình nguyện, bình thường vào các ống VACUTAINER chứa natri heparin. Người cho được chọn, một phần, dựa trên sự xác

nhận của họ rằng họ đã không dùng NSAID, aspirin, Celebrex®, hoặc các chất glucocorticoid trong vòng hai tuần cho máu. Tất cả các ống máu của mỗi người cho được gom lại vào các ống ly tâm hình nón Corning dung tích 250mL và 436,5 μL /lỗ được phân bố vào các đĩa polypropylen lỗ sâu. Các hợp chất được pha loãng trong DMSO đến 100 lần nồng độ cuối cùng và bổ sung dạng bộ đôi hoặc bộ ba với lượng 4,5 μL /lỗ để tạo các đường cong 7 điểm. Máu được xử lý trước bằng các hợp chất ở 37°C, 5% CO_2 , trong môi trường ẩm, được phủ bằng nắp MicroClima Environmental Microplate, trong 30 phút sau đó dung dịch chứa 5mg/mL LPS (Sigma, kiểu huyết thanh 0111:B4) trong 1mg/mL BSA/PBS được bổ sung với lượng 9 μL /lỗ để tạo ra nồng độ LPS cuối cùng là 100 μg /mL. Các đĩa được ủ trong 20-24 giờ, ở 37°C, 5% CO_2 , trong môi trường ẩm. Các đĩa được bịt chặt bằng nắp lá nhôm và được làm lạnh trên đá trong khoảng 1 giờ. Sau đó các đĩa này được ly tâm ở tốc độ $1.800 \times g$, trong 10 phút, ở 4°C, trong máy ly tâm Eppendorf 5810R. Huyết tương được loại bỏ ra khỏi lớp tế bào sử dụng dụng cụ Rainin L200 với các đầu lọc vô trùng và được chuyển vào các đĩa polypropylen có đáy hình chữ V. Một trăm microlit được chuyển một cách định lượng vào các khối bó ống Costar và bổ sung với lượng 400 μL /lỗ chất làm dừng phản ứng MeOH và các chất nội chuẩn, $d_4\text{-PGE}_2$, $d_4\text{-PGF}_{2\alpha}$, và $d_4\text{-TXA}_2\beta$ vào đó. Các mẫu được xoay mạnh trong 5 phút và được đặt ở -20°C trong ít nhất một giờ. Các mẫu được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thiết bị Eppendorf 5810R.

Thực hiện chiết pha rắn bằng cách sử dụng các đĩa 96 lỗ HLB Waters 30mg/nền trên cụm ống chân không: Bước 1, chất nền được rửa bằng MeOH (1 mL), sau đó bằng 0,1% axit formic trong nước (1 mL); Bước 2, 400 μL mẫu được sử dụng cùng với 0,1% axit formic trong nước (900 μL) và để liên kết trong 5 phút; Bước 3, chất nền được rửa bằng 0,1% axit formic trong nước (600 μL), sau đó bằng hỗn hợp nước/MeOH 80/20 (600 μL); Bước 4, sản phẩm được rửa giải bằng EtOAc với lượng 2 đến 500 μL ; Bước 5 các mẫu được làm khô trong khí nitơ và được hoàn nguyên trong hỗn hợp nước/acetonitril 75/25 với 0,1% axit formic (50 μL). Sản phẩm được phân tích bằng LC/MS/MS. Hợp chất theo Ví dụ 1 ức chế sự tạo thành PGE_2 trong thử nghiệm này với trị số IC_{50} bằng $0,00205 \pm 0,00082$, $n=11$. Kết quả này chứng minh rằng hợp chất theo Ví dụ 1 ức chế sự tổng hợp PGE_2 trong máu toàn phần của người.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức 1:

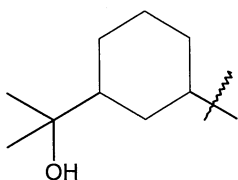


1,

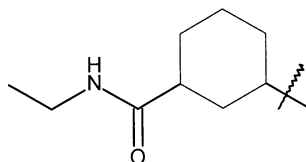
trong đó:

R1 là H hoặc -CH₃;

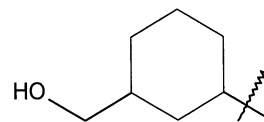
R được chọn từ:



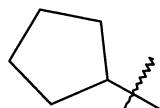
,



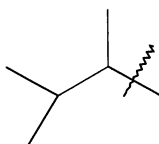
,



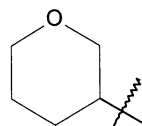
,



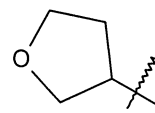
,



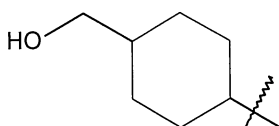
,



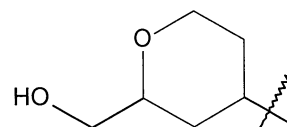
,



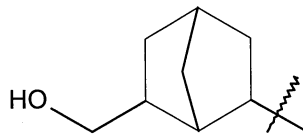
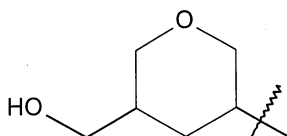
,



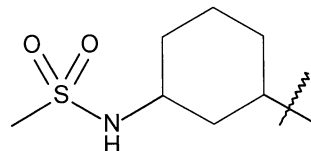
,



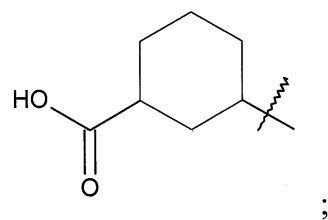
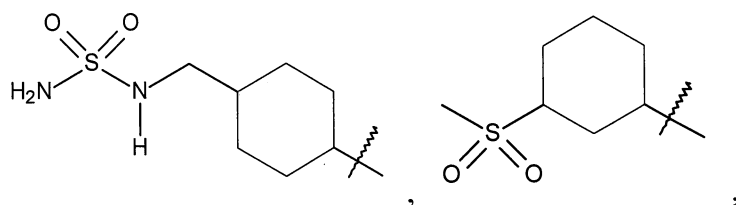
,



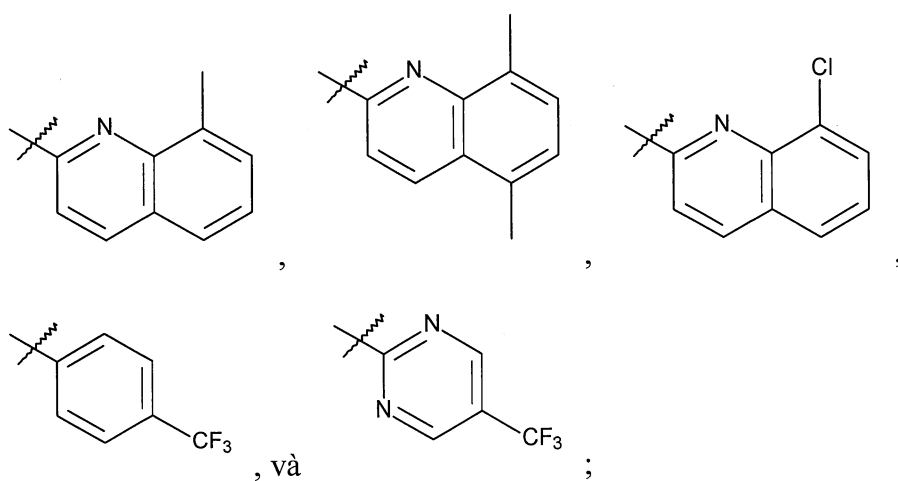
,



,

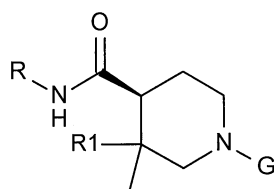


G được chọn từ:



hoặc muối được dụng của nó.

2. Hợp chất có công thức 2:

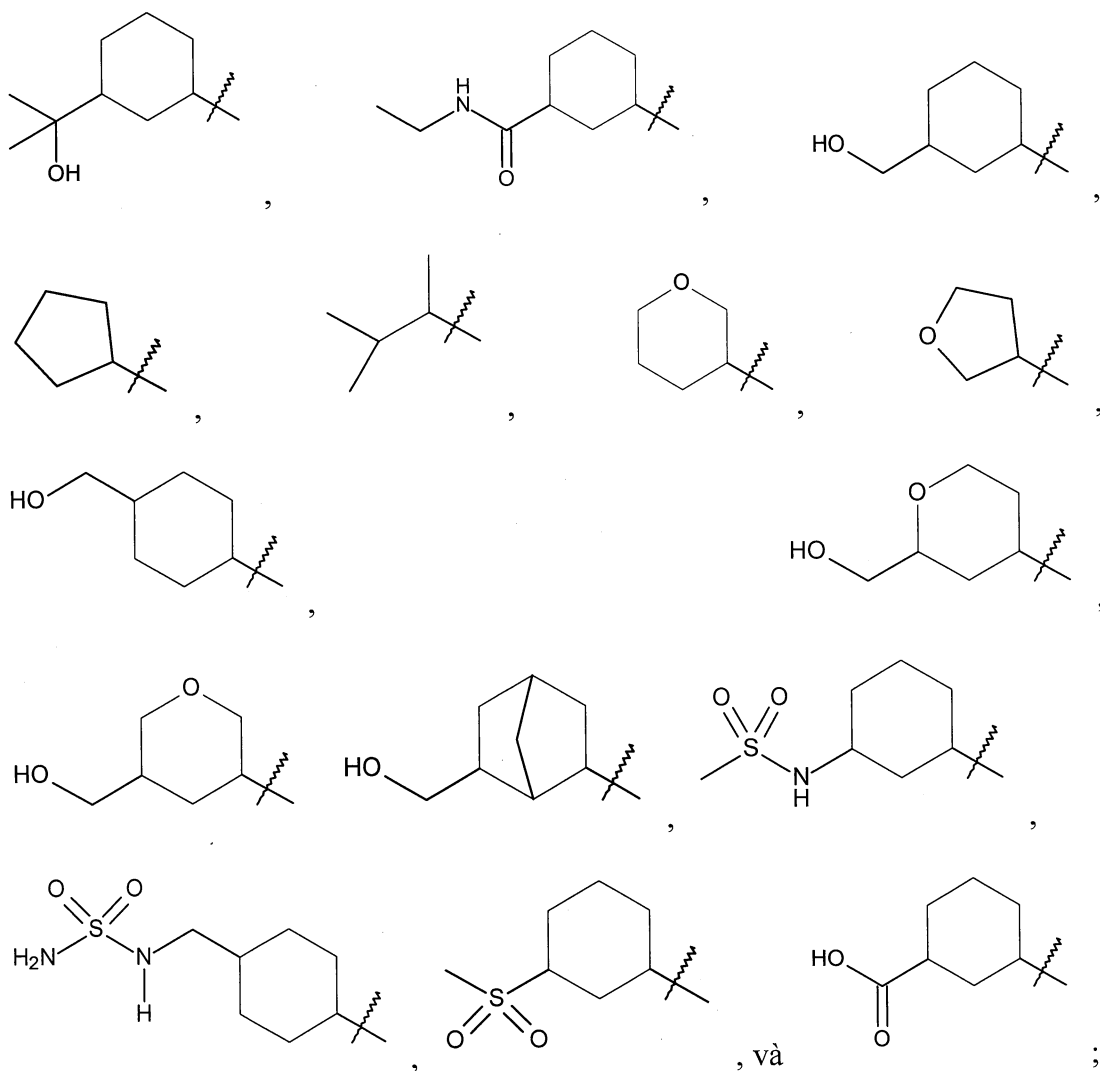


2,

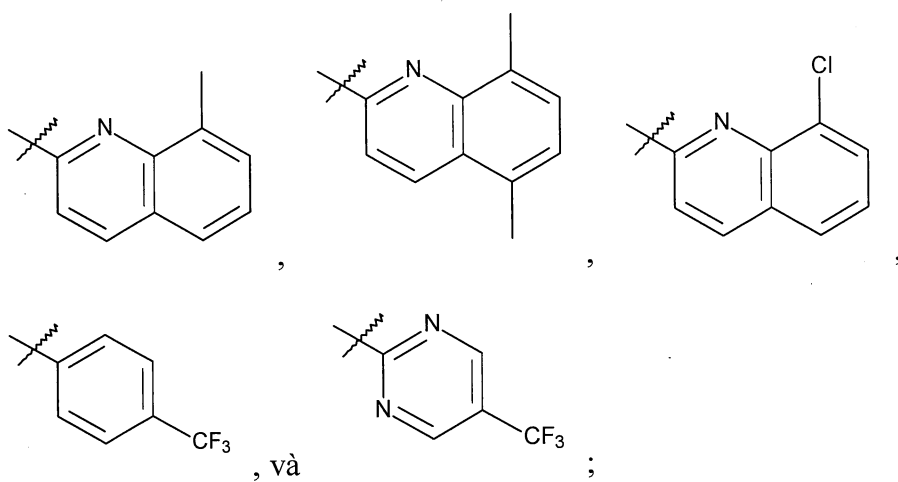
trong đó:

R1 là H hoặc -CH₃;

R được chọn từ:

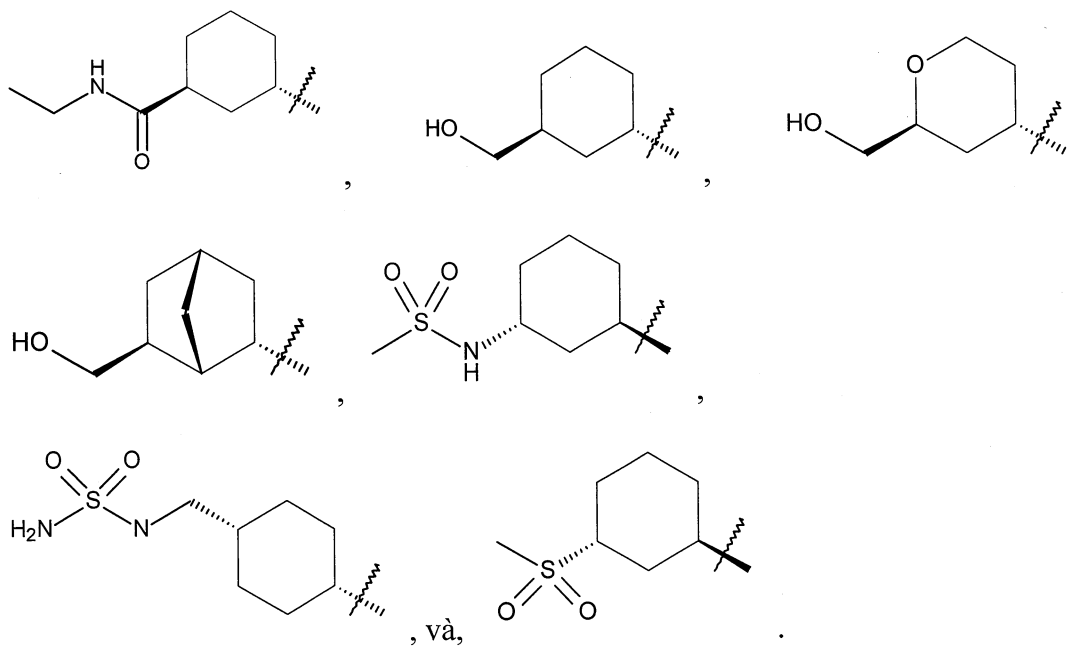


G được chọn từ:

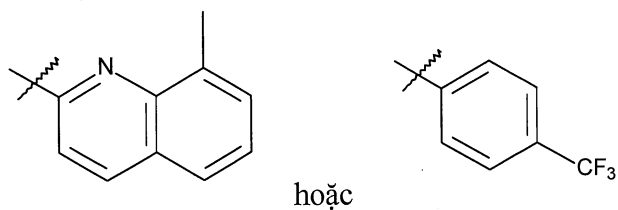


hoặc muối được dùng của nó.

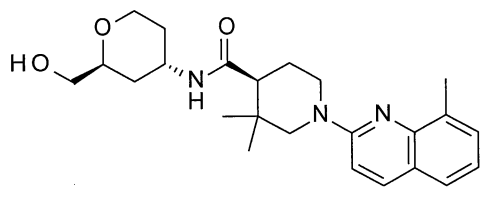
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R được chọn từ:



4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, hoặc muối được dụng của nó, trong đó G là:



5. Hợp chất có công thức:



hoặc muối được dụng của nó.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó muối được dùng là muối hydroclorua.

7. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 và ít nhất một chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dùng.