



(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)

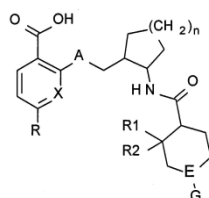


1-0027281

(51)⁸ C07D 401/04; A61P 29/00; C07D 401/12; C07D 211/62; A61K 31/445; C07C 235/40 (13) B

- (21) 1-2017-01521 (22) 22/10/2015
(86) PCT/US2015/056955 22/10/2015 (87) WO2016/069374 06/05/2016
(30) 62/072,140 29/10/2014 US
(45) 25/02/2021 395 (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); YORK, Jeremy Schulenburg (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

- (54) HỢP CHẤT AXIT CARBOXYLIC HỮU ÍCH ĐỂ ỨNG DỤNG CHẾ PROSTAGLANDIN E2 SYNTHAZA-1 VI THỂ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1, hoặc các muối dược dụng của nó,



1

trong đó R, R¹, R², X, A, E, và G là như được mô tả ở đây, và các phương pháp điều chế hợp chất này. Hợp chất này là hữu ích để điều trị chứng đau và/hoặc viêm. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất axit carboxylic; 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 xyclooxygenaza-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 eicosanoit 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 qua trung gian 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 mãn tính; ví dụ, sốt, đau, và viêm. Prostaglandin E_2 được đặc biệt tạo ra thông qua sự

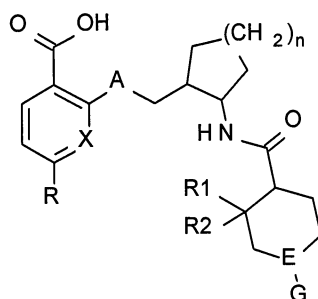
chuyển hóa của PGH_2 bởi prostaglandin E_2 synthaza-1 vi thể (mPGES-1). Người ta cho rằng việc ức chế chọn lọc mPGES-1 có thể cung cấp lựa chọn điều trị mới cho các bệnh nhân bị bệnh viêm khớp.

Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013, 23, 907 đề cập đến chất ức chế benzoxazol của mPGES-1. 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

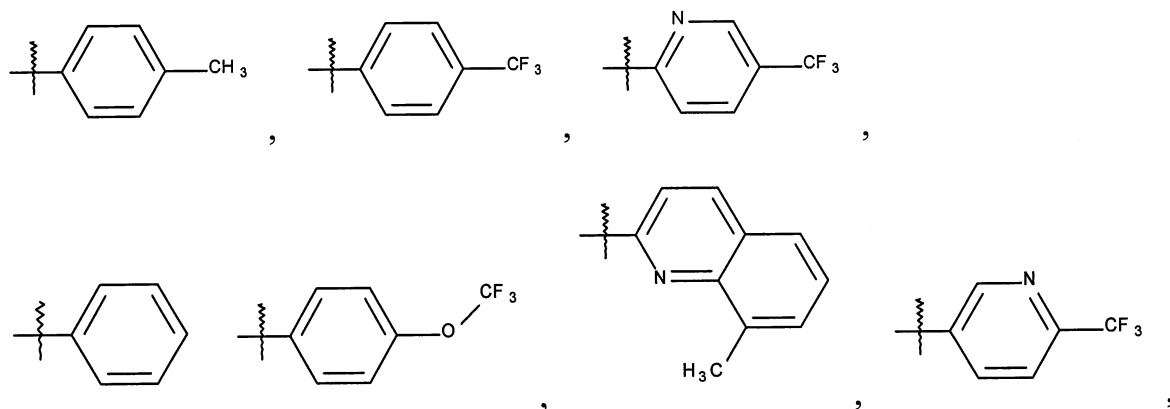
Vẫn cần tìm ra các lựa chọn khác để điều trị chứng viêm và làm giảm nhẹ chứng đau đi kèm với bệnh viêm khớp. Sáng chế đề xuất các hợp chất có khả năng ức chế mPGES-1 và có thể có lợi để điều trị cho các bệnh nhân bị bệnh viêm khớp và, cụ thể là, bệnh viêm khớp xương mãn tính.

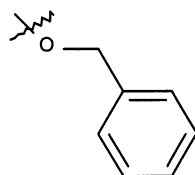
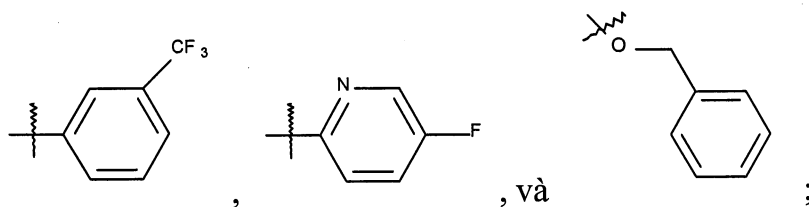
Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1, hoặc muối được dụng của nó,



1

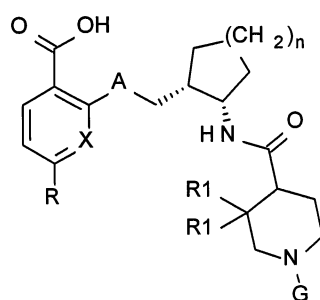
trong đó: n bằng 1 hoặc 2; A được chọn từ: $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}-$, và $-\text{O}-$; E là $-\text{CH}-$ hoặc N; X là N hoặc CH; R được chọn từ: H, $-\text{CH}_3$, F, và Cl; và R1 và R2 độc lập là H hoặc $-\text{CH}_3$; G được chọn từ:





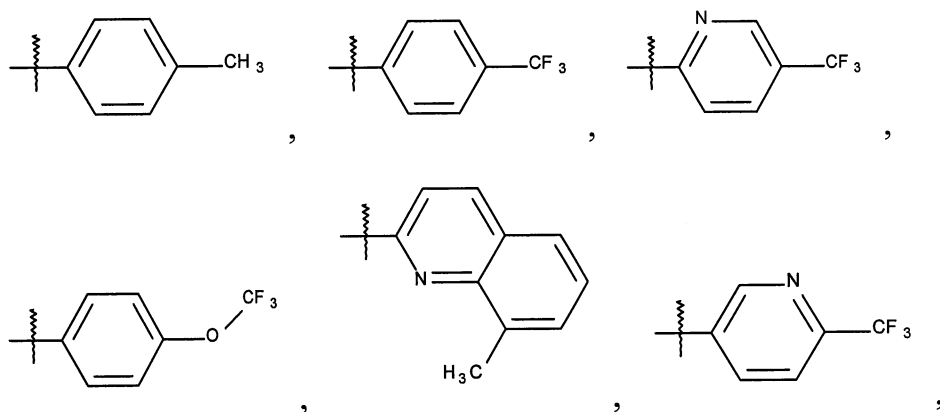
với điều kiện là nếu G là , thì E là CH; và với điều kiện là nếu A là -NH- hoặc -O-, thì X là CH.

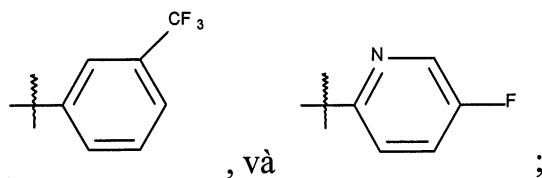
Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức 2, hoặc muối được dụng của nó,



2

trong đó: n bằng 1 hoặc 2; A được chọn từ: -CH₂-, -NH-, và -O-; X là N hoặc CH; R được chọn từ: H, -CH₃, F, và Cl; và mỗi R₁ độc lập được chọn từ H hoặc -CH₃; G được chọn từ:





với điều kiện là nếu A là -NH- hoặc -O-, thì X là -CH-.

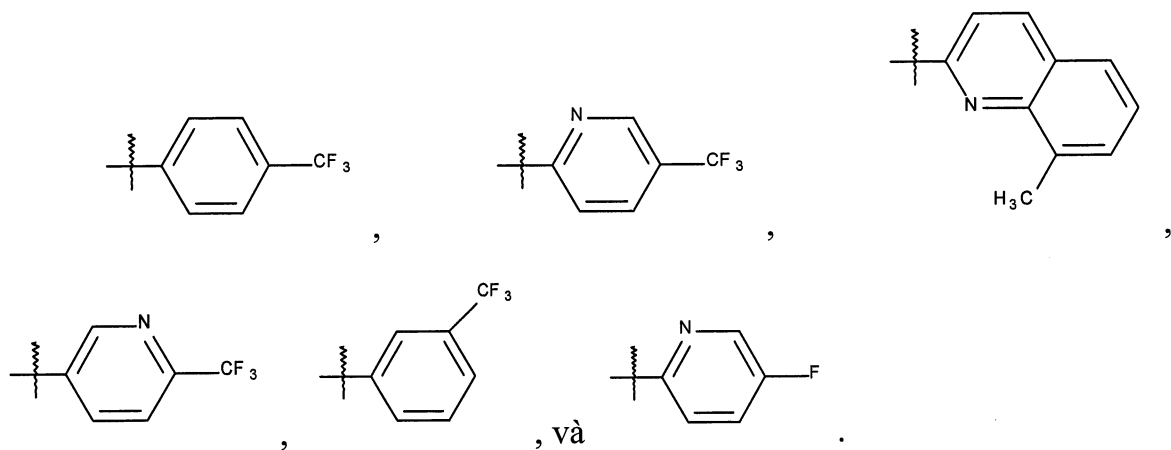
Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó n bằng 1.

Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó E là N.

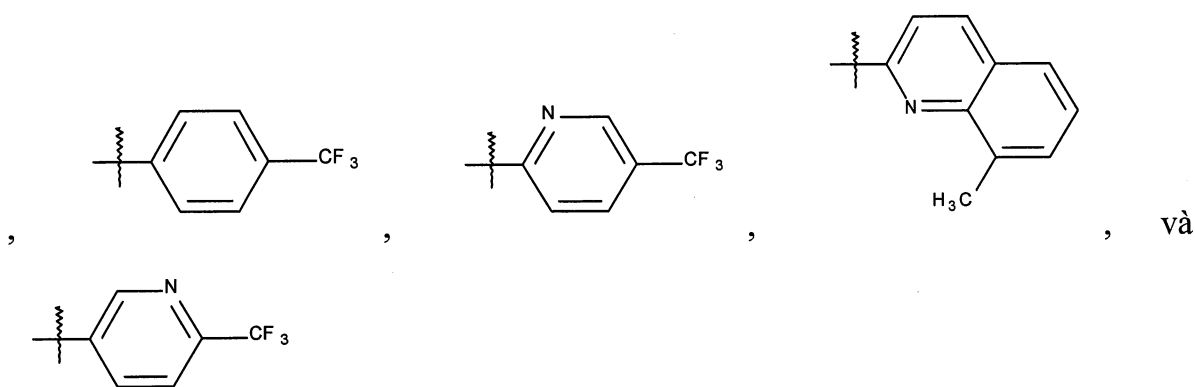
Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R được chọn từ: H, -CH₃, và F. Đối với các hợp chất được ưu tiên hơn theo sáng chế, R là H.

Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó A là -O- hoặc -CH₂-. Đối với các hợp chất được ưu tiên hơn của sáng chế, A là -CH₂-.

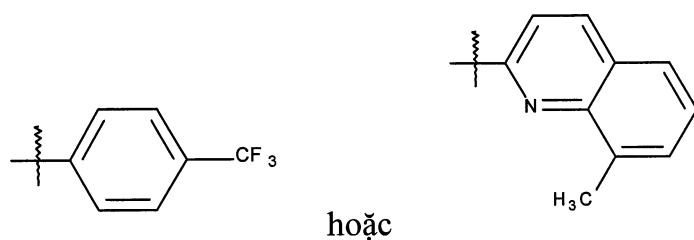
Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức 1 và 2, hoặc muối được dụng của chúng, trong đó G được chọn từ:



Đối với các hợp chất được ưu tiên hơn của sáng chế, G được chọn từ:



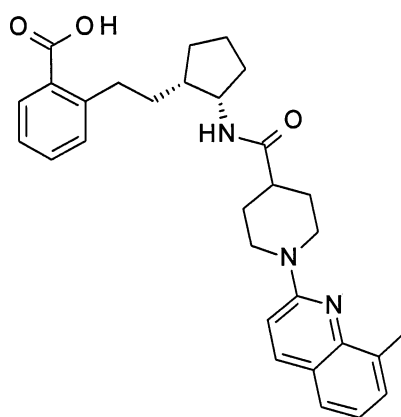
Đối với các hợp chất được ưu tiên hơn nữa của sáng chế, G là



Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X là -CH-.

Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1 hoặc 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R1 và R2 là H.

Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 3, hoặc muối được dụng của nó.



3

Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất muối được dụng của hợp chất có công thức 1, 2 hoặc 3, trong đó muối được dụng này được điều chế bằng cách bổ sung bazơ như natri hydroxit hoặc kali hydroxit. Theo một phương án, hợp chất có công thức 1, 2 hoặc 3 được đề xuất dưới dạng muối natri.

Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất chế phẩm dược dụng 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.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để bào chế thuốc.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong trị liệu.

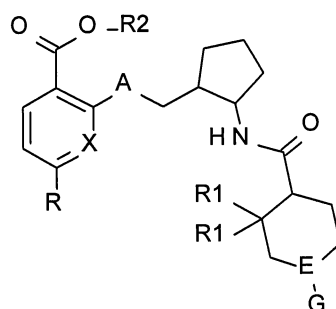
Sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều trị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp. Dưới dạng khác, sáng chế cũng đề xuất hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều trị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó, có công thức 1, 2, hoặc 3 để sử dụng trong điều trị chứng viêm kết hợp với bệnh viêm khớp. Dưới dạng khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều trị chứng viêm kết hợp với bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để sản xuất thuốc. Theo một phương án, thuốc này là để điều trị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp. Theo một phương án khác, thuốc này là để điều trị chứng đau kết hợp với bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức 1, 2, hoặc 3, hoặc muối dược dụng của nó, để sản xuất thuốc. Theo một phương án, thuốc này là để điều trị chứng viêm kết hợp với bệnh viêm khớp. Theo một phương án khác, thuốc này là để điều trị chứng viêm kết hợp với bệnh viêm khớp xương mãn tính.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức 4



trong đó R, X, A, E, và G là như được mô tả trên đây và R₂ được chọn từ: C₁₋₄ alkyl, -CH₂CH=CH₂, C₁₋₄ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, C₁₋₄alkyl-C₃₋₆xycloalkyl, phenyl, hoặc C₁₋₅ alkylphenyl, và tetrahydropyran.

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 tốt hơn là 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 người, cũng như chuột nhắt, chuột lang, chuột cống, chó, mèo, bò, ngựa, cừu, và dê hoặc gia cầm, như gà và vịt. Bệnh nhân được ưu tiên 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 được 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, dược phẩm gồm 20% Captisol™ trong dung dịch đệm phosphat 500mM, độ pH bằng 8.

Các dược 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 thăm khám, bác sỹ thú y, hoặc bác sỹ chẩn đoán khác 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, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: loài động vật có vú, gia cầm, hoặc vật nuôi; kích cỡ, độ tuổi, và tình trạng sức khỏe chung của nó; bệnh hoặc rối loạn cụ thể có liên quan, ví dụ, chứng đau và/hoặc viêm kết hợp với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính; mức độ liên quan hoặc độ nặng của bệnh hoặc rối loạn; đáp ứng của mỗi bệnh nhân; cách thức sử dụng; các đặc tính sinh khả dụng của hợp chất có công thức 1, 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 trên 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 các tác nhân để điều trị bệnh khớp và/hoặc bệnh viêm khớp xương mãn tính. Ví dụ gồm 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.

Các hợp chất ví dụ và (các) tác nhân điều trị 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.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được tạo ra dưới dạng muối được dụng. Thuật ngữ “muối được 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 được 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.

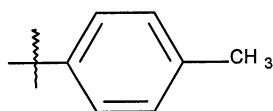
Các hợp chất theo sáng chế, hoặc các muối của chúng, có thể được điều chế bằng nhiều quy trình đã biết trong lĩnh vực này, một số quy trình được minh họa trong

phân 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, hoặc 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 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, and 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 hoặc bằng các quy trình được mô tả trong phần Ví dụ điều chế và Ví dụ dưới đây.

Việc vẽ liên kết với đường răng cưa 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.



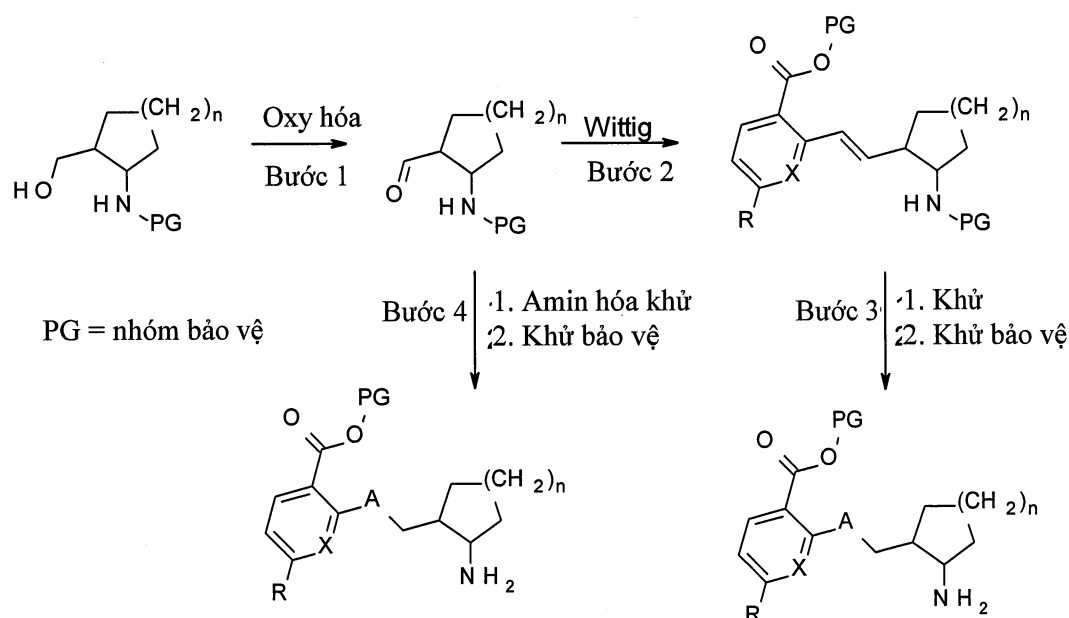
Việc vẽ liên kết vắt chéo  ; thể hiện hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang E, Z.

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-yloxy)tris(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat; "BSA" chỉ albumin huyết thanh bò (Bovine Serum Albumin); "CDI" chỉ 1,1'-carbonyldiimidazol; "DCC" chỉ 1,3-dicyclohexylcarbodiimit; "DIC" chỉ 1,3-diisopropylcarbodiimit; "DMSO" chỉ dimetylsulfoxit; "EDCI" chỉ 1-(3-dimetylamino)propyl-3-etylcarbodiimit hydroclorua; "EDTA" chỉ axit etylendiamintetraaxetic; "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; "HATU" chỉ (dimetylamino)-N,N-dimetyl-(3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]pyridin-3-yloxy)metanimini hexaflophosphat; "HBTU" chỉ (1*H*-benzotriazol-1-yloxy)(dimetylamino)-N,N-dimetylmetanimini 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; "LPS" chỉ lipopolysacarit; "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-oxytripyrrolidinophosphoni hexaflophosphat); "PyBrOP" chỉ bromo(tri-pyrrolidinyl)phosphoni hexaflophosphat; "rhIL-1 β " chỉ interleukin 1 β tái tổ hợp của người; "SFC" chỉ phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn; "TBME" chỉ *t*-butyl metyl ete; và " t_R " chỉ thời gian lưu.

Các sơ đồ, các bước điều chế và các ví dụ dưới đây minh họa thêm cho sáng chế.

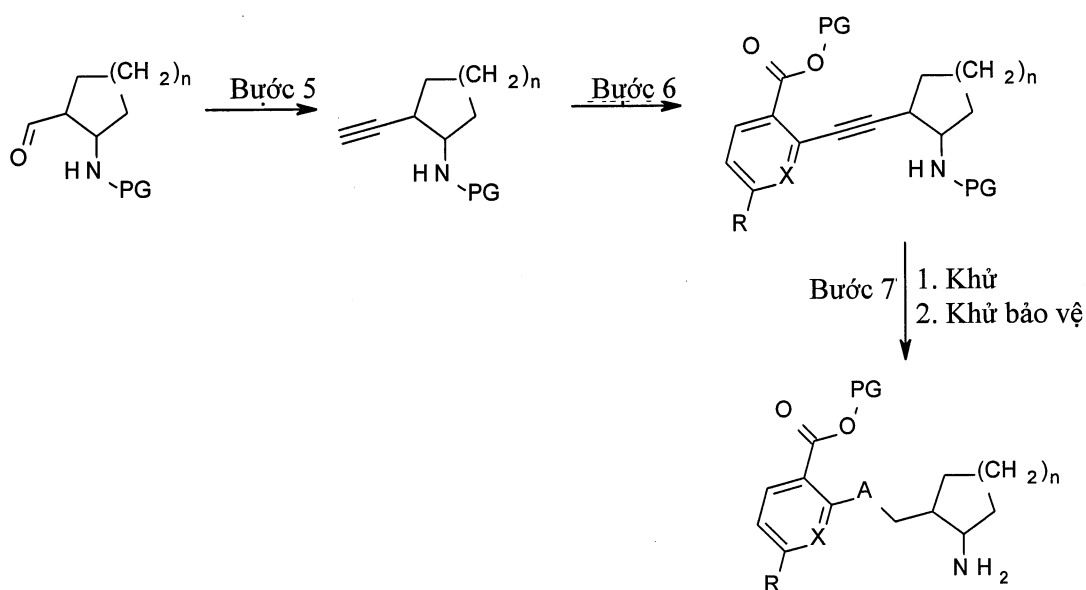
Sơ đồ 1



Trong sơ đồ 1, Bước 1, phản ứng oxy hóa rượu bậc một được thực hiện trong các điều kiện đã được biết rõ trong lĩnh vực này, ví dụ sử dụng Dess-Martin Periodinane™ làm chất oxy hóa để tạo ra sản phẩm aldehyt của Bước 1. “PG” là nhóm bảo vệ được dùng cho các nhóm amino hoặc carboxy, như các carbamat, các amit, và các este. Các nhóm bảo vệ này đã được biết rõ và hiểu rõ trong lĩnh vực này. Cách khác, 2,2,6,6-tetrametylpiperidin-*N*-oxit có thể được sử dụng làm chất oxy hóa với kali bromua và hỗn hợp có thể được làm lạnh đến khoảng -10°C sau đó là bổ sung natri hypoclorit vào để tạo ra sản phẩm aldehyt của Bước 1. Nếu $A = \text{CH}_2$, thì aldehyt có thể được phản ứng với chất phản ứng Wittig thích hợp cùng với bazơ như kali *tert*-butoxit để tạo ra sản phẩm alken của Bước 2. Sản phẩm Wittig của Bước 2 có thể được điều chế bằng cách xử lý (5-nhóm thế-2-nhóm bảo vệ-carboxy)benzyl thích hợp hoặc pyridyl triphenylphosphoni bromua với bazơ mạnh ở nhiệt độ khoảng 0°C , sau đó là việc bổ sung từng giọt 2-formylxycloalkyl carbamat. Cách khác, ở Bước 4, nếu $A = \text{N}$, thì aldehyt có thể được xử lý trong các điều kiện amin hóa khử với anilin thích hợp với nguồn axit như axit axetic và chất khử như natri triaxetoxibohydrua ở nhiệt độ khoảng 0°C đến nhiệt độ trong phòng cùng hoặc không cùng với việc gia nhiệt đến khoảng 60°C để tạo ra sản phẩm kết hợp của Bước 4, bước phụ 1. Sau đó sản phẩm này có thể được khử bảo vệ trong các điều kiện đã được biết rõ trong lĩnh vực này như sử dụng iodotrimetylsilan để loại bỏ nhóm bảo vệ amin hoặc trong các điều kiện có tính axit như sử dụng dung dịch HCl 4M trong 1,4-dioxan để tạo ra sản phẩm của Bước

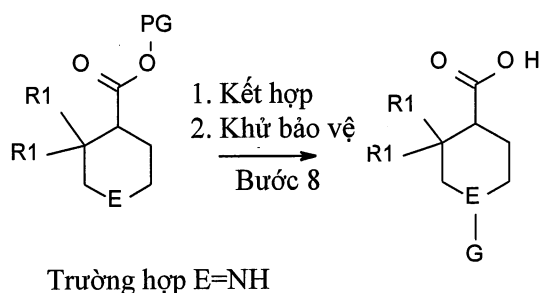
4, bước phụ 2. Trong Bước 3, bước phụ 1, nếu $A = CH_2$, thì liên kết đôi của sản phẩm của Bước 2 có thể được khử trong các điều kiện đã biết rõ trong lĩnh vực này như hydro hóa với chất xúc tác 5%–10% Pd/C hoặc 5% Pt/C trong dung môi như EtOAc và/hoặc metanol ở áp suất khoảng 101 đến 413 kPa để tạo ra sản phẩm của Bước 3. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng có các chất xúc tác Pd khác, các điều kiện về dung môi khác, và các điều kiện hydro hóa khác mà có thể được sử dụng để khử các liên kết đôi. Sản phẩm của Bước 3, bước phụ 1 có thể được khử bảo vệ trong bước phụ 2 như được mô tả trong Sơ đồ 1, bước phụ 2 để tạo ra sản phẩm của Bước 3, bước phụ 2.

Sơ đồ 2



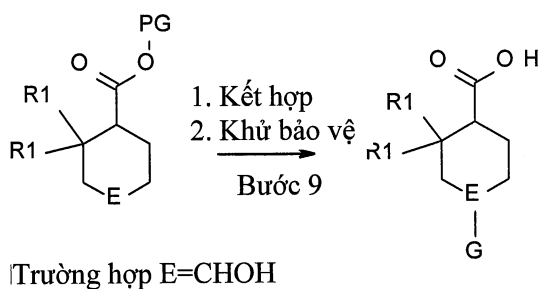
Cách khác, trong Sơ đồ 2, aldehyt của Bước 1, Sơ đồ 1 có thể được chuyển hóa thành liên kết ba bằng 1-diazo-1-dimethoxyphosphoryl-propan-2-on và bazơ vô cơ như kali carbonat trong dung môi như metanol để tạo ra sản phẩm của Bước 5. Sau đó sản phẩm của Bước 5 có thể được kết hợp trong các điều kiện paladi với halobenzoat tùy ý được thế (như iodobenzoat) trong dung môi như tetrahydrofuran cùng với đồng(I) iodua và chất xúc tác paladi như bis(triphenylphosphin)paladi(II) clorua để tạo ra sản phẩm của Bước 6. Liên kết ba có thể được khử như được mô tả trong Sơ đồ 1, Bước 3, bước phụ 1 trong các điều kiện hydro hóa để tạo ra sản phẩm của Bước 7, bước phụ 1. Sau đó amin có thể được khử bảo vệ như được mô tả trong Sơ đồ 1, Bước 4, bước phụ 2 để tạo ra sản phẩm của Bước 7, bước phụ 2.

Sơ đồ 3



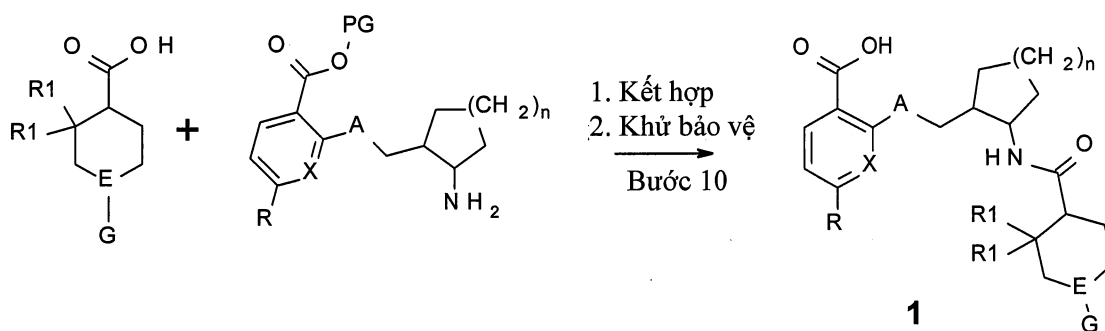
Trong Sơ đồ 3, trong đó E=NH, piperidin được bảo vệ carboxy được thể ở vị trí số 3 trải qua phản ứng thế thơm ưa nhân với nhóm G được bảo vệ halogen trong các điều kiện khác nhau. Ví dụ, bazơ vô cơ như kali cacbonat hoặc bazơ hữu cơ như N,N-diisopropyletylamin hoặc pyridin và gia nhiệt đến khoảng 130°C đến 150°C để tạo ra sản phẩm của Bước 8, bước phụ 1. Sau đó có thể khử bảo vệ nhóm carboxy piperidin trong các điều kiện chuẩn với bazơ vô cơ như dung dịch nước natri hydroxit hoặc lithi hydroxit trong dung môi như metanol và tetrahydrofuran để tạo ra sản phẩm của Bước 8, bước phụ 2. Các điều kiện axit như dung dịch HCl 1N, HCl 4M trong 1,4-dioxan, hoặc dung dịch nước axit sulfuric cũng có thể được sử dụng để khử bảo vệ nhóm carboxy được bảo vệ. Phản ứng thế thơm ưa nhân cũng có thể được thực hiện trong các điều kiện nguyên chất sử dụng lò vi sóng và gia nhiệt đến khoảng 200°C để tạo ra sản phẩm của Bước 8, bước phụ 1. Cách khác, 4-carboxy piperidin được thể có thể được kết hợp bằng cách sử dụng paladi và bazơ, như, natri *tert*-butoxit và chất xúc tác như (2-dixyclohexylphosphino-2',6'-diisopropoxy-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) metansulfonat, trong các điều kiện hồi lưu để tạo ra sản phẩm của Bước 8 trong đó axit carboxylic không được bảo vệ.

Sơ đồ 4



Trong Sơ đồ 4, trong đó E = CHOH, hợp chất trung gian 4-carboxy xyclohexanol được bảo vệ được alkyl hóa với benzyl bromua sử dụng bazơ hữu cơ như diisopropyletylamin để tạo ra sản phẩm của Bước 9 trong đó E =CH(OCH₂).

Sơ đồ 5



Sau đó các sản phẩm của Bước 8 và Bước 9 có thể được phản ứng với sản phẩm thích hợp của Sơ đồ 1, Bước 4, bước phụ 2; Sơ đồ 1, Bước 3, bước phụ 2; hoặc Sơ đồ 2, Bước 7, bước phụ 2 trong các điều kiện amit hóa sử dụng bazơ như diisopropyletylamin, chất phản ứng kết hợp như anhydrit vòng axit 1-propanphosphonic để tạo ra sản phẩm của Bước 10, 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 như diisopropyletylamin hoặc trietylamin có thể tạo ra hợp chất có công thức 1. Các chất phản ứng kết hợp gồm các carbodiimitt, như DCC, DIC, EDCI hoặc carbonyldiimidazol như CDI. Các chất phụ gia kết hợp amit, như 1-hydroxybenzotriazol hydrat và HOAt cũng có thể được sử dụng để tăng cường phản ứng. Ngoài ra, các muối uroni hoặc phosphoni của các anion không ưa 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 10, bước phụ 1 có thể được khử bảo vệ trong các điều kiện bazơ như được mô tả trong Sơ đồ 3, Bước 8, bước phụ 2 để tạo ra hợp chất có công thức 1.

Muối được dụng 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, 2, hoặc 3 và axit được dụng thích hợp như axit clohydric trong dung môi thích hợp như dietyl ete trong các điều kiện chuẩn đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Ngoài ra, sự tạo ra các muối này có thể diễn ra đồng thời với sự 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-

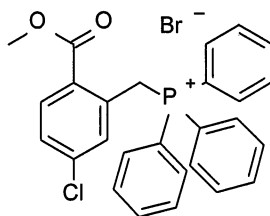
217 (1986); Bastin, R.J., *et al.* "Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities," *Organic Process Research and Development*, **4**: 427-435 (2000); và Berge, S.M., *et al.*, "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **66**: 1-19, (1977).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ điều chế và ví dụ sau nhằm minh họa thêm cho sáng chế.

Ví dụ điều chế 1

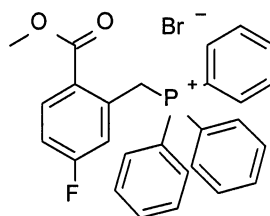
(5-Clo-2-(metoxycarbonyl)benzyl)triphenylphosphoni bromua



Kết hợp metyl 2-(bromometyl)-5-clobenzoat (120 g, 455 mmol) và triphenylphosphin (131 g, 501 mmol) trong toluen (1,1 L). Gia nhiệt hỗn hợp để hồi lưu qua đêm trong khi khuấy. Làm mát hỗn hợp không đồng nhất này đến nhiệt độ phòng. Lọc hỗn hợp này để thu gom chất kết tủa màu trắng. Lần lượt rửa bánh lọc bằng toluen (500 mL) và hexan (2×500 mL). Làm khô chất rắn trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (225 g, 94%). ESMS (m/z) 445 (M^+)

Ví dụ điều chế 2

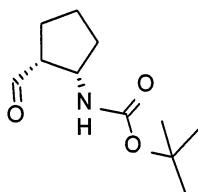
(5-Flo-2-(metoxycarbonyl)benzyl)triphenylphosphoni bromua



Điều chế hợp chất nêu ở đề mục này về cơ bản là bằng phương pháp nêu trong Ví dụ điều chế 1. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (dd, $J=8,8, 5,8$ Hz, 1 H), 7,80–7,56 (m, 16H), 7,07–6,99 (m, 1H), 6,20 (d, $J=15,4$ Hz, 2 H), 3,48 (s, 3H).

Ví dụ điều chế 3

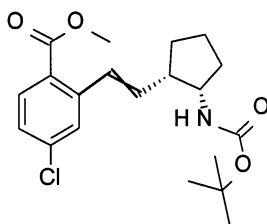
tert-Butyl ((1*S*,2*R*)-2-formylxyclopentyl)carbamát



Hòa tan *tert*-butyl ((1*S*,2*R*)-2-(hydroxymetyl)xyclopentyl)carbamát (Hanselmann, R. Zhou, J. Ma, P. Confalone, P.N. *J. Org. Chem.* 2003, 68 (22) 8739–8741) (65 g, 0,30 mol) trong diclometan (1,3 L). Làm nguội dung dịch đến -5°C và bổ sung 3,3,3-triaxetoxi-3-iodophtalit (185 g, 436 mmol) thành từng phần vào đó. Sau khi bổ sung, pha loãng hỗn hợp phản ứng với diclometan (2 L). Lần lượt rửa hỗn hợp này bằng dung dịch nước $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 20% trọng lượng (3×2 L) và dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (2×2 L). Làm khô hỗn hợp diclometan bằng Na_2SO_4 , lọc, thu gom dịch lọc, và loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt, (65 g, 100%). EIMS (m/z) 213 (M^+).

Ví dụ điều chế 4

Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl)-4-clobenzoat)



Tạo huyền phù (5-clo-2-metoxycarbonyl)benzyl)triphenylphosphoni bromua (225 g, 428 mmol) trong tetrahydrofuran (1,6 L). Làm lạnh huyền phù này đến 0°C và bổ sung kali *tert*-butoxit (45 g, 401 mmol) thành từng phần vào đó trong 2 phút. Duy trì nhiệt độ của dung dịch màu vàng thu được ở 0°C . Bổ sung từng giọt *tert*-butyl ((1*S*,2*R*)-2-formylxyclopentyl)carbamát (65 g, 305 mmol) dưới dạng dung dịch trong tetrahydrofuran (300 mL) vào đó trong 20 phút trong khi duy trì nhiệt độ của phản ứng dưới 5°C . Để hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (2 L) và chiết bằng EtOAc ($2 \times 1,5$ L). Gom các phần chiết hữu cơ lại và rửa các phần chiết gom lại này bằng nước (3 L). Làm khô lớp hữu cơ bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Chia phần cặn này thành hai phần.

Tinh chế phần thứ nhất của cặn thô bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký silicagel, rửa giải bằng gradien 25% đến 50% hexan: 10% TMBE trong diclometan và phần thứ hai bằng gradien 25% đến 35% hexan: 10% TMBE trong diclometan để thu được hỗn hợp E:Z 4:1 của hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu vàng, dầu này hóa rắn thành chất rắn màu trắng khi để yên, (99,5 g, 262 mmol, 86%). ESMS (m/z) 402 ($M+Na$)⁺.

Các hợp chất dưới đây trong Bảng 1 có thể được điều chế về cơ bản là bằng phương pháp nêu trong Ví dụ điều chế 4 sử dụng chất phản ứng triphenylphosphoni bromua được thể thích hợp.

Bảng 1

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (m/z)
5 ¹	Etyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino)xyclope ntyl)vinyl)nicotinat (E:Z 1:1)		361 ($M+H$) ⁺
6 ²	Metyl 4-bromo-2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino)xyclope ntyl)vinyl)benzoat		(⁷⁹ Br/ ⁸¹ Br) 446/448 ($M+Na$) ⁺
7 ²	Metyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino)xyclope ntyl)vinyl)benzoat (E:Z 6:1)		368 ($M+Na$) ⁺
8 ³	Metyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>tert</i> -butoxycarbonyl)amino)xyclope ntyl)vinyl)-4-flobenzoat		386 ($M+Na$) ⁺

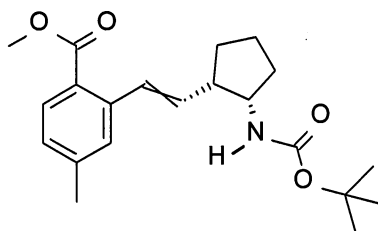
¹ Sắc ký với gradien 10% đến 50% EtOAc trong diclometan

² Sắc ký với gradien 10% đến 50% EtOAc trong hexan

³ Sắc ký với gradien 15% đến 60% EtOAc trong hexan

Ví dụ điều chế 9

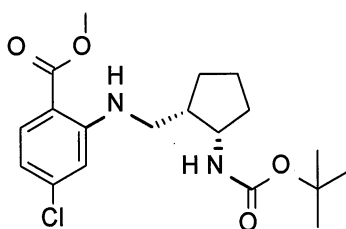
Metyl 2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl)-4-metylbenzoat



Bổ sung metyl 4-bromo-2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl) benzoat (0,73 g, 1,72 mmol) và 1,4-dioxan (20 mL) vào bình chịu vi sóng; sau đó phun nitơ vào bình này trong ba mươi phút. Bổ sung kali cacbonat (310 mg, 2,24 mmol), axit metylboronic (514 mg, 8,59 mmol), và tetrakis(triphenylphosphin)paladi (115 mg, 0,099 mmol). Gia nhiệt bình này trong lò vi sóng trong 45 phút ở 150°C. Kết hợp hỗn hợp thô thu được với hai lô bổ sung, về cơ bản là được điều chế bằng quy trình giống như vậy, cho sản lượng theo lý thuyết kết hợp được là 5,13 mmol. Phân bố các hỗn hợp được kết hợp lại này giữa EtOAc và nước và tách pha hữu cơ ra khỏi pha nước. Lần lượt rửa pha hữu cơ bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 lần) và dung dịch nước natri clorua bão hòa. Làm khô pha hữu cơ bằng MgSO₄, lọc; thu gom dịch lọc; và cô đến khô. Thực hiện sắc ký cột silicagel đối với dầu màu đen thu được, rửa giải bằng gradien EtOAc/hexan 10/90 đến 40/60, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (1,13 g, 3,14 mmol, hiệu suất chung là 61%). ESMS (*m/z*) 382 (M+Na)⁺.

Ví dụ điều chế 10

Metyl 2-((((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)metyl)amino)-4-clobenzoat

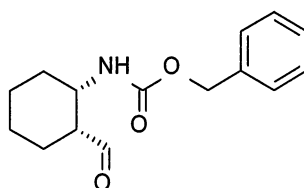


Kết hợp metyl 2-amino-4-clobenzoat (1,9 g, 10 mmol) và Na₂SO₄ (1,4 g, 9,8 mmol). Bổ sung *tert*-butyl ((1*S*,2*R*)-2-formylxyclopentyl)carbamate (2,0 g, 9,4 mmol) dưới dạng dung dịch trong 1,2-dicloetan (30 mL) vào đó. Làm lạnh dung dịch đang

khuấy này đến 0°C và bổ sung natri triaxetoxybohydrua (4 g, 19 mmol) vào thành từng phần. Bổ sung từng giọt axit axetic (0,9 mL, 16 mmol). Để hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50 mL) và dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (200 mL) sau đó chiết hỗn hợp bằng diclometan (2×300 mL). Gom các phần chiết hữu cơ lại và làm khô bằng Na₂SO₄. Lọc hỗn hợp này; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc. Thực hiện sắc ký cột nhanh silicagel đối với phần cặn thu được, rửa giải bằng 0-100% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (1,8 g, 50%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 383/385 (M+H)⁺.

Ví dụ điều chế 11

Benzyl *N*-[(1*S*,2*R*)-2-formylxyclohexyl]carbamát

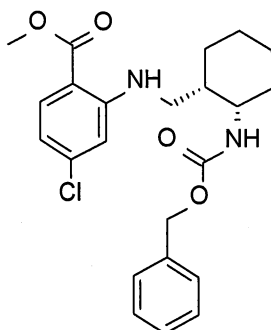


Hòa tan benzyl *N*-[(1*S*,2*R*)-2-(hydroxymetyl)xyclohexyl]carbamát (4,312 g, 16,37 mmol) (Peter, M.; Van Der Eycken, J.; Bernath, G.; Fueleop, F. *Tet. Asymm.* 1998, 9 (13) 2339–2347) trong diclometan (5,57 mL). Bổ sung 2,2,6,6-tetrametylpiperidin-*N*-oxit (0,0259 g, 0,0164 mmol), và kali bromua (0,197 g, 1,64 mmol). Làm lạnh hỗn hợp đến –10°C. Bổ sung từng giọt natri hypoclorit (0,77M trong nước, 23,36 mL, 18,01 mmol) trong 15 phút và khuấy hỗn hợp trong 1,5 giờ. Bổ sung diclometan (50 mL) và khuấy hỗn hợp trong 30 phút. Làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy hỗn hợp này qua đêm. Bổ sung từng giọt natri hypoclorit (0,77M trong nước, 15 mL, 11,55 mmol) trong 10 phút và khuấy hỗn hợp này trong 20 phút. Tách các pha và chiết pha nước bằng diclometan (2 × 100 mL). Gom các phần chiết hữu cơ lại. Điều chế dung dịch hydro clorua/kali iodua solution by dissolving kali iodua (1g) trong dung dịch nước HCl 1M (150mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng dung dịch hydro clorua/kali iodua, sau đó bằng dung dịch nước natri thiosulfat 2M (100mL), và sau đó là nước (100mL). Tách các pha. Làm khô pha hữu cơ bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien 5% diclometan/hexan đến 75%

diclometan/hexan trong 30 phút để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (3,563g, 84%). ESMS (m/z) 262 ($M+H$)⁺, 284 ($M+Na$)⁺.

Ví dụ điều chế 12

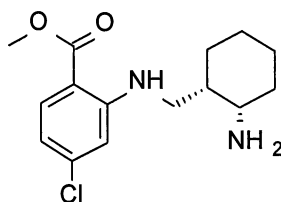
Metyl 2-((((1*S*,2*S*)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)xyclohexyl)methyl)amino)-4-clobenzoat



Hòa tan metyl 2-amino-4-clobenzoat (0,799 g, 4,22 mmol) và benzyl *N*-[(1*S*,2*R*)-2-formylxyclohexyl]carbamate (1,16 g 4,44 mmol) trong diclometan (10 mL). Bổ sung axit axetic (2 mL, 34,90 mmol) vào và khuấy trong 30 phút. Bổ sung natri triaxetoxibohydrat (1,96 g; 8,89 mmol) vào và khuấy qua đêm. Bổ sung nước đá (~15 g) vào hỗn hợp này và khuấy cho đến khi đá tan ra. Chiết hỗn hợp này bằng diclometan (3 × 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (50 mL); làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô đến khô. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với vật chất thô thu được, rửa giải bằng gradien hexan đến 35% EtOAc/hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu (1,15 g, 60%). ESMS (m/z) (³⁵Cl/³⁷Cl) 431/433 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 13

Metyl 2-[[[(1*S*,2*S*)-2-aminoxyclohexyl]methylamino]-4-clobenzoat

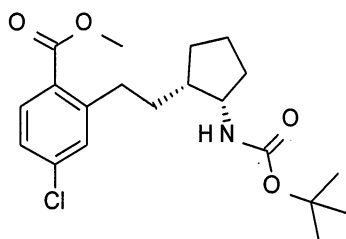


Hòa tan metyl 2-((((1*S*,2*S*)-2-(((benzyloxy)carbonyl)amino)xyclohexyl)-methyl)amino)-4-clobenzoat (1,15 g, 2,66 mmol) trong axetonitril (20 mL). Bổ sung iodotrimetylsilan (0,42 mL, 2,92 mmol) vào và khuấy hỗn hợp này trong 35 phút. Bổ sung iodotrimetylsilan (0,42 mL, 2,92 mmol) vào và khuấy hỗn hợp này trong 30 phút. Bổ sung thêm iodotrimetylsilan (0,42 mL, 2,92 mmol) vào và khuấy hỗn hợp này trong

5 phút. Pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc (50 mL). Rửa các chất hữu cơ bằng dung dịch nước natri thiosulfat 2M (20 mL). Tách các pha. Chiết pha nước bằng EtOAc (2 × 15 mL). Kết hợp các pha hữu cơ và các phần chiết hữu cơ; rửa bằng dung dịch nước natri thiosulfat 2M (20 mL); sau đó rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (50 mL). Làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với cặn cô, rửa giải bằng gradien diclometan đến 10% metanol/diclometan trong 25 phút để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (0,472 g, 60%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 297/299 (M+H)⁺.

Ví dụ điều chế 14

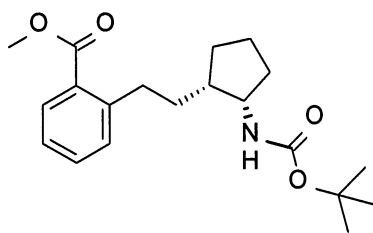
Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)etyl)-4-clobenzoat



Trong bình phản ứng PARRTM, tạo huyền phù 5% Pt/C (1,1 g, 0,71 mmol) trong EtOAc (100 mL), sau đó cho metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-xyclopentyl)vinyl)-4-clobenzoat (45 g, 26 mmol) và lượng EtOAc bổ sung (100 mL) vào đó. Bịt kín bình phản ứng lại, làm sạch và điều áp hỗn hợp này bằng khí hydro đến 207 kPa. Sau 30 phút, thông khí và lọc hỗn hợp phản ứng. Thu gom dịch lọc. Kết hợp dịch lọc này với vật chất được tạo ra bằng quy trình tương tự bắt đầu bằng 45 g, 5 g, và 5 g metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl)-4-clobenzoat). Loại bỏ dung môi ra khỏi các dung dịch đã gom lại trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (99 g, 99% tính chung trên cơ sở cân xứng với mẻ) dưới dạng chất rắn màu trắng. ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 404/406 (M+Na)⁺.

Ví dụ điều chế 15

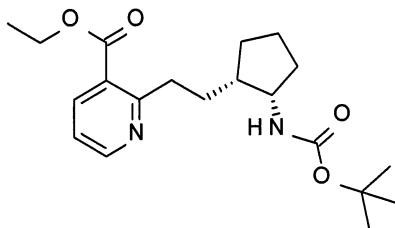
Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)etyl)benzoat



Điều chế hợp chất nêu ở đề mục này về cơ bản là theo phương pháp nêu trong Ví dụ điều chế 14. ESMS (m/z) 370 ($M+Na$)⁺

Ví dụ điều chế 16

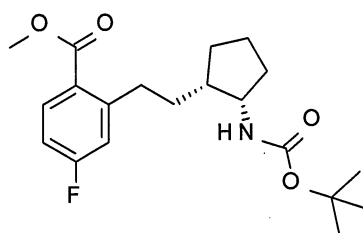
Etyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)ethyl)nicotinat



Trong khí quyển nitơ, xử lý 10% Pd/C (501 mg, 0,471 mmol) với thể tích EtOAc tối thiểu để thoải mái tạo huyền phù các chất rắn này. Bổ sung 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl)nicotinat (1,7 g, 4,9 mmol) và metanol (47 mL) vào đó. Bịt kín bình phản ứng lại, làm sạch bằng khí hydro, và khuấy trong khí quyển hydro. Sau 1 giờ, thổi khí nitơ vào bình phản ứng và lọc hỗn hợp thu được. Rửa các chất rắn bằng EtOAc. Thu gom và cô dịch lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu với độ tinh khiết khoảng 90% (1,76 g, 4,37 mmol, 93%). ESMS (m/z) 363 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 17

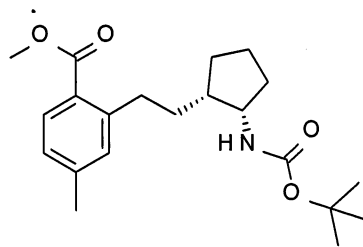
Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)ethyl)-4-flobenzoat



Trong bình chịu áp, bổ sung 10% Pd/C (0,17 g) và bổ sung metanol (50 mL) lên trên chất rắn này. Bổ sung dung dịch metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl)-4-flobenzoat (1,7 g, 4,7 mmol) trong metanol (50 mL) vào đó. Làm sạch bình này bằng khí nitơ và sau đó bằng khí hydro. Điều áp bình này bằng khí hydro đến áp suất 413 kPa và khuấy qua đêm. Hạ áp và lọc hỗn hợp để loại bỏ các hạt. Cô dịch lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu (1,7 g, 4,7 mmol, 100%). ESMS (m/z) 388 ($M+Na$)⁺.

Ví dụ điều chế 18

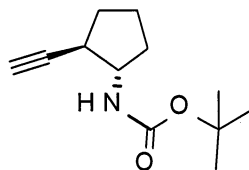
Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)ethyl)-4-metylbenzoat



Tạo huyền phù 10% Pd/C (0,23 g) trong thể tích EtOAc tối thiểu, sau đó bổ sung methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)cyclopentyl)vinyl)-4-methylbenzoat (1,13 g, 3,14 mmol) dưới dạng dung dịch trong metanol (63 mL) vào đó. Thổi khí hydro vào bình này và khuấy trong khí quyển hydro trong 4 giờ. Trong bình chịu áp khác, xử lý 10% paladi trên cacbon (0,67 g) bằng lượng tối thiểu metanol để thoát mái tạo huyền phù các chất rắn này. Bổ sung hỗn hợp phản ứng ban đầu trong khí quyển nitơ vào paladi mới được làm ướt này. Lần lượt thổi khí nitơ và sau đó là hydro vào bình phản ứng. Khuấy dung dịch ở nhiệt độ môi trường dưới áp suất khí hydro là 413 kPa trong 1 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua đất diatomit, và rửa bánh lọc bằng metanol và EtOAc. Cô dịch lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu (0,85 g, 2,35 mmol, 75%). ESMS (m/z) 384 ($M+Na$)⁺.

Ví dụ điều chế 19

(±)-*tert*-Butyl *N*-(*trans*-2-etylnylcyclopentyl)carbamát

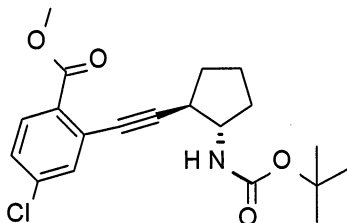


Bổ sung 1-diazo-1-dimethoxyphosphoryl-propan-2-on (1,49 mL, 6,98 mmol) vào hỗn hợp chứa (±)-*tert*-butyl *N*-[*cis*-2-formylcyclopentyl]carbamát (1,24 g, 5,81 mmol) và kali cacbonat (1,61 g, 11,63 mmol) trong metanol (50 mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Cô hỗn hợp này trong điều kiện áp suất giảm để thu được cặn thô. Pha loãng cặn thô này bằng EtOAc (100 mL), rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (50 mL), tách các lớp, và thu gom lớp hữu cơ. Làm khô lớp hữu cơ bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký nhanh silicagel đối với cặn cô, rửa giải bằng gradien 0% đến 100% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (0,66 g, 54%). ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 6,92 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,71 (gần

vạch năm $J = 7,3$ Hz, 1H), 2,84 (s, 1H), 1,95–1,70 (m, 2H), 1,60–1,46 (m, 3H), 1,36 (s, 9H), 1,37–1,29 (m, 2H).

Ví dụ điều chế 20

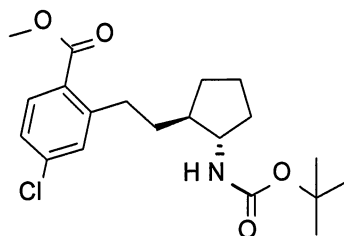
Metyl 2-((*trans*-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)etynyl)-4-clobenzoat



Bổ sung diisopropylamin (0,44 mL, 3,11 mmol) vào dung dịch ($\pm$)-*tert*-butyl *N*-(*trans*-2-etylnylxyclopentyl)carbamate (0,65 g, 3,11 mmol) và metyl 4-clo-2-iodobenzoat (1,11 g, 3,73 mmol) trong tetrahydrofuran (12 mL). Làm sạch dung dịch này bằng khí nitơ trong 5 phút. Bổ sung đồng(I) iodua (11,8 mg, 0,062 mmol) và bis(triphenylphosphin) paladi(II) clorua (43 mg, 0,062 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Dập tắt phản ứng bằng nước (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3×50 mL). Gom các phần chiết hữu cơ lại; rửa bằng nước muối (50 mL); thu gom lớp hữu cơ; làm khô bằng MgSO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô 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 50% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,57 g, 49%). ESMS (m/z) ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 400/402 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Ví dụ điều chế 21

Metyl 2-(2-((*trans*-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)etyl)-4-clobenzoat

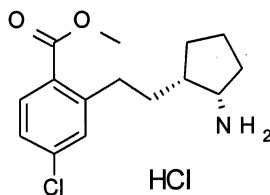


Bổ sung 10% paladi trên cacbon (0,40 g, 0,38 mmol) vào dung dịch metyl 2-((*trans*-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)etynyl)-4-clobenzoat (0,57 g, 1,51 mmol) trong EtOAc (20 mL). Làm sạch dung dịch bằng khí hydro và khuấy trong khí quyển hydro trong 1,5 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua đất diatomit. 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 khoảng 90% theo ^1H NMR (0,56 g, 87%). ESMS (m/z) ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 404/406 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Ví dụ điều chế 22

Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)etyl)-4-clobenzoat hydroclorua

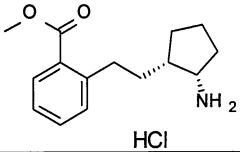
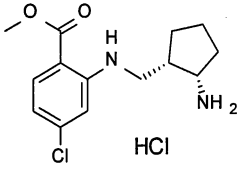
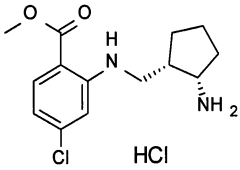
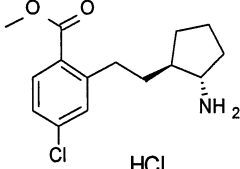


Hòa tan 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclopentyl)vinyl)-4-clobenzoat) (99 g, 260 mmol) trong 1,4-dioxan (500 mL) và bổ sung hydro clorua (dung dịch 4,0M trong 1,4-dioxan, 1,0 L, 4,0 mol) vào đó. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng dung dịch này bằng TBME (500 mL) và lọc để thu gom kết tủa màu trắng thu được. Rửa kết tủa này bằng TBME (3 × 300 mL). Thu gom và cô dịch lọc để thu thêm lượng chất rắn màu trắng. Lọc hỗn hợp để thu gom chất rắn màu trắng và rửa chất rắn này bằng TBME (3 × 300 mL). Kết hợp hai phần chất rắn màu trắng thu được để thu hợp chất nêu ở đề mục này (67,4 g, 96%). ESMS (m/z) 282 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Điều chế các hợp chất dưới đây trong bảng 2 về cơ bản là theo quy trình nêu trong ví dụ điều chế 22.

Bảng 2

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (m/z) ($\text{M}+1$) $^+$
23 ^{1,2}	Metyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-aminoxyclopentyl)etyl)-4-flobenzoat hydroclorua		266
24 ^{1,3}	Metyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-aminoxyclopentyl)etyl)-4-metylbenzoat hydroclorua		262
25 ^{3,4}	Etyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-aminoxyclopentyl)etyl)nicotinat dihydroclorua		263

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (<i>m/z</i>) (<i>M</i> +1) ⁺
26 ^{1,2,5}	Metyl 2-(2-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-aminoxyclopentyl)etyl)benzoat hydroclorua		248
27 ^{3,4}	Metyl 2-((((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-aminoxyclopentyl)metyl)amino)-4-clobenzoat hydro clorua		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 283/285
28 ^{1,3}	(±)-2-((((<i>cis</i>)-2-Aminoxyclopentyl)metyl)amino)-4-clobenzoat hydro clorua		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 283/285
29 ^{1,2}	(±)-Metyl 2-(2-(<i>trans</i> -2-aminoxyclopentyl)etyl)-4-clobenzoat hydroclorua		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 283/285

¹ Tạo huyền phù nguyên liệu trong diclometan trước khi bổ sung dung dịch HCl 4N trong dioxan.

² Tách hợp chất nêu ở đề mục này bằng cách kết tủa với dietyl ete và lọc.

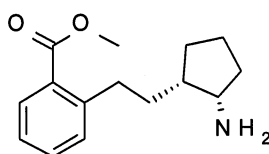
³ Tách hợp chất nêu ở đề mục này bằng cách cô hỗn hợp phản ứng thô.

⁴ Tạo huyền phù nguyên liệu ban đầu trực tiếp trong dung dịch dung dịch HCl 4,0M trong dioxan.

⁵ Dung dịch HCl 4N trong dioxan được bổ sung vào nguyên liệu ban đầu ở 5°C và để ấm đến nhiệt độ môi trường.

Ví dụ điều chế 30

Metyl 2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)etyl)benzoat

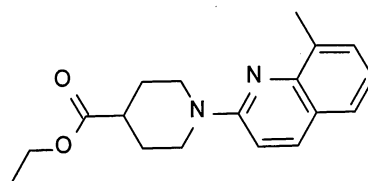


Tạo huyền phù 5% Pd/C (0,82 g, 0,4 mmol) trong metanol (20 mL) trong bình PARR™, sau đó bổ sung metyl 2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)etyl)-4-clobenzoat

hydroclorua (8,0 g, 25 mmol), metanol (180 mL), và triethylamin (14 mL, 99 mmol) vào huyền phù này. Bịt kín bình phản ứng lại, làm sạch, và điều áp bình này đến 427 kPa bằng khí hydro. Tái điều áp bình này bằng hydro nếu cần. Sau 3 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng. Cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp. Pha loãng cặn thu được bằng nước (100 mL) và chiết bằng diclometan (3×250 mL). Làm khô các lớp hữu cơ đã gom lại bằng Na_2SO_4 ; lọc; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này với độ tinh khiết 97% (65 g, 26 mmol, 105%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ESMS (m/z) 248 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

Ví dụ điều chế 31

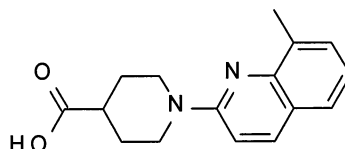
Etyl 1-(8-methylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxylat



Kết hợp 2-clo-8-methyl-quinolin (50 g, 281 mmol) và etyl piperidin-4-carboxylat (67 g, 426 mmol) trong DMSO (400 mL). Bổ sung kali cacbonat (80 g, 579 mmol) và gia nhiệt hỗn hợp đến 130°C, sau đó khuấy qua đêm ở 130°C. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (2,0 L), và chiết bằng EtOAc ($2 \times 1,5$ L). Gom các phần chiết lại; làm khô bằng Na_2SO_4 ; lọc để loại bỏ các chất rắn; thu gom dịch lọc; và cô để thu được cặn. Thực hiện sắc ký cột silicagel đối với cặn thu được, rửa giải bằng gradien 10/90 đến 20/80 hexan/TBME, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu vàng, nhớt (75,5 g, 90%). ESMS (m/z) 299 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

Ví dụ điều chế 32

Axit 1-(8-methylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxylic

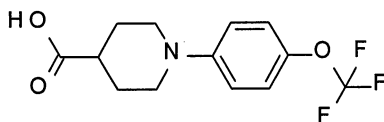


Kết hợp etyl 1-(8-methylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxylat (75,5 g, 253 mmol), tetrahydrofuran (1,0 L) và metanol (500 mL) sau đó bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5M (510 mL, 2,55 mol) vào dung dịch này. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm; pha loãng bằng nước (500 mL); và làm lạnh hỗn hợp thu được đến 5°C. Axit hóa hỗn hợp này

đến độ pH bằng 6 đến 7 bằng dung dịch nước HCl 5M để gây ra sự kết tủa. Tách chất rắn bằng cách lọc. Rửa kỹ chất rắn này bằng nước. Làm khô chất rắn này trong lò chân không ở 40°C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (65 g, 95%). ESMS (m/z) 271 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 33

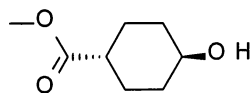
Axit 1-(4-(triflometoxy)phenyl)piperidin-4-carboxylic



Kết hợp axit piperidin-4-carboxylic (1,00 g, 7,74 mmol), *p*-bromophenyl triflometyl ete (1,87 g, 7,74 mmol), natri *tert*-butoxit (1,86 g, 19,4 mmol), và 1,4-dioxan (77 mL). Phun nitơ trong 30 phút. Bổ sung (2-dicyclohexylphosphino-2',6'-diisopropoxy-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) metansulfonat và hồi lưu qua đêm. Làm nguội phản ứng đến nhiệt độ trong phòng. Phân bố hỗn hợp phản ứng giữa nước và EtOAc. Axit hóa lớp nước đến độ pH bằng 4 bằng dung dịch HCl 3N và chiết bằng EtOAc (3 × 100 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước NaCl bão hòa; làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,39 g, 4,81 mmol, 62%). ESMS (m/z) 290 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 34

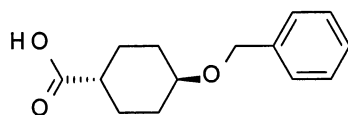
Metyl *trans*-4-hydroxycyclohexan-1-carboxylat



Bổ sung từng phần (trimetylsilyl)diazometan (2,0M trong hexan, 7,6 mL, 15 mmol) trong 15 phút vào dung dịch chứa axit *trans*-4-hydroxycyclohexan-1-carboxylic (2,0 g, 13,8 mmol) trong toluen khan (30 mL) và metanol (10 mL). Khuấy hỗn hợp này trong mười phút và sau đó bổ sung axit axetic (1,0 mg, 0,017 mmol) vào đó. Cô hỗn hợp này để thu được dầu. Làm khô dầu này dưới áp suất giảm qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,14 g, 97%, ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO): δ 4,54 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 3,54 (s, 3H), 3,30 (m, 1H), 2,17 (m, 1H), 1,83–1,75 (m, 4H), 1,30 (m, 2H), 1,15 (m, 2H).

Ví dụ điều chế 35

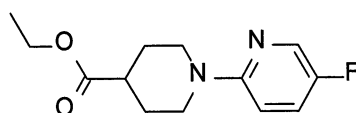
Axit *trans*-4-(benzyloxy)cyclohexan-1-carboxylic



Gia nhiệt hỗn hợp đã được bật kín chứa methyl *trans*-4-hydroxycyclohexan-1-carboxylat (1,0 g, 6,3 mmol), benzylbromua (0,76 mL, 6,4 mmol), và *N,N*-diisopropyletylamin (2,5 mL, 14 mmol) đến 150°C trong một giờ. Bổ sung dung dịch HCl 1N (25 mL) vào hỗn hợp không đồng nhất thu được và chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (3 ×). Làm khô các pha hữu cơ gom lại bằng MgSO₄ và cô để thu được dầu màu cam. Hòa tan dầu màu cam thu được trong metanol (10 mL) và tetrahydrofuran (10 mL). Bổ sung dung dịch natri hydroxit 5N (3,0 mL) vào đó. Khuấy hỗn hợp này qua đêm. Trung hòa dung dịch này bằng dung dịch HCl 5N (3,0 mL) và cô đến khô. Hòa tan các chất rắn thu được trong EtOAc và nước. Tách các lớp, và chiết lớp nước bằng EtOAc (2×). Làm khô các chất hữu cơ gom lại bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn (1,16 g, 4,95 mmol, 78%). ESMS (*m/z*) 233 (M-H).

Ví dụ điều chế 36

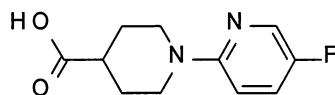
Etyl 1-(5-flopyridin-2-yl)piperidin-4-carboxylat



Kết hợp etyl piperidin 4-carboxylat (2,8 mL, 18 mmol) và 2,5-diflopyridin (2,0 mL, 25 mmol) và pyridin (2,0 mL) lại trong bình phản ứng. Bật kín bình phản ứng lại và gia nhiệt đến 200°C trong 1 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng; pha loãng hỗn hợp này bằng nước (15 mL) và EtOAc (50 mL); và tách các pha. Rửa lớp EtOAc bằng dung dịch nước NaCl bão hòa (15 mL). Làm khô lớp EtOAc trên Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô dung dịch để thu được dầu màu nâu. Thực hiện sắc ký cột nhanh silicagel đối với dầu màu nâu thu được, rửa giải bằng hexan:etyl axetat 90:10 đến 70:30, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu (2,32 g, 9,2 mmol, 52%). ESMS (*m/z*) 253 (M+H)⁺.

Ví dụ điều chế 37

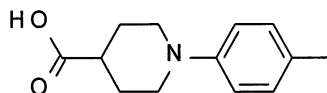
Axit 1-(5-flopyridin-2-yl)piperidin-4-carboxylic



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 2,0M (12 mL, 24 mmol) vào dung dịch ethyl 1-(5-fluoro-2-pyridyl)piperidin-4-carboxylat (2,32 g, 9,2 mmol) trong tetrahydrofuran (9 mL) và metanol (18 mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Cô dung dịch này và xử lý cạn thu được bằng dung dịch nước HCl 5N (4,8 mL, 24 mmol) để gây ra sự kết tủa. Lọc huyền phù; thu gom kết tủa màu trắng; và làm khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (1,9 g, 84 mmol, 92%). ESMS (m/z) 225 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 38

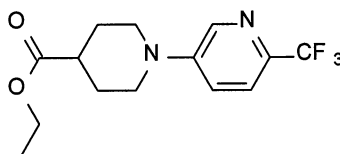
Axit 1-(*p*-tolyl)piperidin-4-carboxylic



Phun khí nitơ vào 1,4-dioxan (60 mL) trong 10 phút. Bổ sung axit isonipecotic (750 mg, 5,81 mmol), 4-bromotoluen (1,0 g, 5,85 mmol), và natri *tert*-butoxit (1,4 g, 13 mmol) vào hỗn hợp này. Phun nitơ vào hỗn hợp này thêm một lần nữa. Bổ sung (2-dicyclohexylphosphino-2',6'-diisopropoxy-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) metansulfonat vào hỗn hợp và hồi lưu qua đêm trong khí quyển nitơ. Phân bố dung dịch giữa EtOAc và nước. Axit hóa lớp nước bằng dung dịch HCl 3N đến độ pH bằng 4. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3 × 35 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước NaCl bão hòa; làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (545 mg, 2,49 mmol, 43%). ESMS (m/z) 220 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 39

Etyl 1-(6-(triflometyl)pyridin-3-yl)piperidin-4-carboxylat

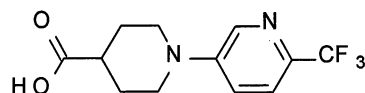


Bổ sung ethyl piperidin 4-carboxylat (0,93 mL, 6,1 mmol) vào 5-fluoro-2-(triflometyl)pyridin (1,0 g, 6,1 mmol). Làm sạch hỗn hợp này bằng khí nitơ trong 5 phút, sau đó gia nhiệt đến 200°C trong lò vi sóng Initiator BIOTAGE™ trong 90 phút.

Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng cách sắc ký silicagel, rửa giải bằng gradien 100% hexan đến 40% EtOAc trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu (1,27 g, 4,2 mmol, 69%). ESMS (m/z) 303 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 40

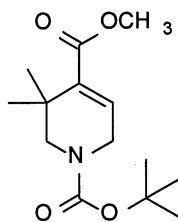
Axit 1-(6-(triflometyl)pyridin-3-yl)piperidin-4-carboxylic



Hòa tan etyl 1-(6-(triflometyl)pyridin-3-yl)piperidin-4-carboxylat (1,27 g, 4,20 mmol) trong metanol (2 mL), tetrahydrofuran (10 mL), và dung dịch nước NaOH (5M, 1,68 mL, 8,40 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Cô hỗn hợp này để thu được chất rắn màu trắng; pha loãng bằng nước (20 mL); và điều chỉnh độ pH đến 5 bằng dung dịch HCl 5N. Cô dung dịch này để thu được chất rắn màu trắng. Tạo huyền phù đặc chất rắn này trong etanol (100 mL) và lọc để loại bỏ các muối. 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 (1,10 g, 4,01 mmol, 95%). ESMS (m/z) 278 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 41

Ol-*tert*-butyl-O4-metyl 3,3-dimetyl-2,6-dihydropyridin-1,4-dicarboxylat

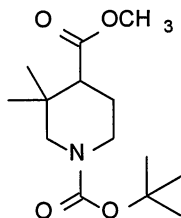


Bổ sung paladi(II) axetat (4,40 g, 20,0 mmol), 1,1'-bis(diphenylphosphino)-feroxen (13,3 g, 22,8 mmol), *tert*-butyl 3,3-dimetyl-4-(triflometylsulfonyloxy)-2,6-dihydropyridin-1-carboxylat (72,0 g, 150 mmol), axetonitril khan (850 mL), metanol khan (570 mL), và trietylamin (36,0 mL, 245 mmol) vào nồi hấp PARR™ dung tích 2 L được lắp cánh khuấy cơ học. Bịt kín thiết bị phản ứng lại, và điều áp bằng cacbon monoxit đến 689 kPa. Gia nhiệt hỗn hợp này đến 65°C trong 2,25 giờ; sau đó làm nguội hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ trong phòng; và cẩn thận thông khí bình phản ứng (*Cảnh báo! Khí độc!*) Cô trong điều kiện áp suất giảm. Kết hợp vật chất này với năm mẻ vật chất khác được điều chế về cơ bản là bằng quy trình giống như vậy trên các quy mô tương tự và thực hiện sắc ký nhanh trên silicagel đối với vật chất đã

kết hợp lại, 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%). ESMS (m/z) 214 ($M - t\text{-Bu} + 2H$)⁺.

Ví dụ điều chế 42

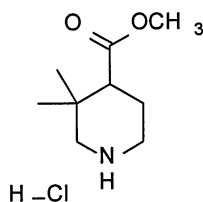
O1-tert-Butyl-O4-metyl 3,3-dimethylpiperidin-1,4-dicarboxylat



Tạo huyền phù paladi (10% trọng lượng trên cacbon, 5,4 g, 5,1 mmol) trong metanol (700 mL), sau đó bổ sung dung dịch *O1-tert-butyl-O4-metyl 3,3-dimetyl-2,6-dihydropyridin-1,4-dicarboxylat* (130 g, 396 mmol) trong metanol (700 mL) vào đó. Bịt kín bình phản ứng chứa hỗn hợp này; và lần lượt làm sạch bình phản ứng này bằng nitơ và sau đó là hydro. Điều áp bình phản ứng này đến 414 kPa bằng khí hydro và khuấy 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 được điều chế bằng quy trình tương tự và loại bỏ các dung môi dễ bay hơi 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%). ESMS (m/z) 216 ($M - t\text{-Bu} + 2H$)⁺.

Ví dụ điều chế 43

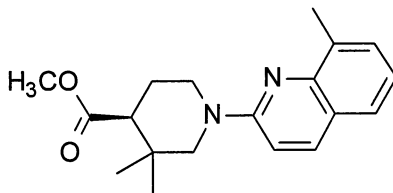
Metyl 3,3-dimethylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua



Bổ sung HCl (dung dịch 4,0M trong 1,4-dioxan, 2,0 L, 8,0 mol) vào dung dịch *O1-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, sau đó cô trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng cặn thu được bằng TBME (500 mL) và tách các chất rắn ra bằng cách lọc. Súc rửa bánh lọc bằng TBME (2 × 400 mL) và làm khô chất rắn trong tủ 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%). ESMS (m/z) 172 ($M+H$)⁺.

Ví dụ điều chế 44

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

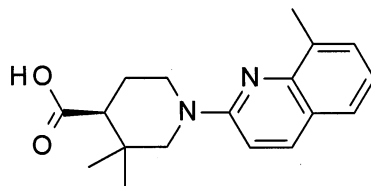


Kết hợp metyl 3,3-dimetylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua (144 g, 693 mmol), 2-clo-8-metylquinolin (125 g, 704 mmol), DMSO (1,4 L), và K₂CO₃ (210 g, 1,52 mol). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 131±1°C qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng, lọc để loại bỏ chất rắn; pha loãng bằng nước (2 L); và chiết bằng EtOAc (2 × 3 L). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước (3 × 1,5 L); làm khô 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 gradien 25% đến 30% (10% TBME trong DCM) trong hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng raxemat. Hòa tan vật chất này trong metanol (7,5 L) và lọc dung dịch. Dán nhãn dịch lọc thu được là “Dung dịch A”. Thực hiện sắc ký lỏng siêu tới hạn bất đối xứng đối với vật chất này (Chiralpak OJ-H, 50 mm × 250 mm × 5 μm) sử dụng 15% (0,2% dimetyletylamin trong *i*-PrOH) trong CO₂ làm pha động ở lưu lượng là 400 g/phút, bằng cách tiêm 5 mL Dung dịch A mỗi 95 giây cho đến khi tất cả vật chất này đã được dùng 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) và thải bỏ phân đoạn thứ hai (*t_R* = 3,17 phút bằng Phương pháp SFC 1). Kết hợp các phân đoạn đã thu gom được với các phân đoạn từ phần tách ra được từ phản ứng trước đó và loại bỏ các chất dễ bay hơi để thu được 98 g metyl 3,3-dimetylpiperidin-4-carboxylat hydroclorua thô. Tái kết tinh vật chất này từ etanol nóng (1,38 L); tách các tinh thể ra bằng cách lọc; và làm khô trong lò chân không ở 40°C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn dạng tinh thể màu trắng (156 g, hiệu suất 43% trên cơ sở cân xứng với mẻ). ESMS (*m/z*) 313 (M+H)⁺, [α]²⁰_D -45° (*c* 0,21, CH₂Cl₂). ee = >99% như được xác định bằng Phương pháp SFC 1. Đối với 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 μm). Pha động được sử dụng là: 8% (NH₃ 20mM trong *i*-PrOH) và 92% CO_{2(scf)} ở áp suất

100 bar (10⁴kPa). 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.

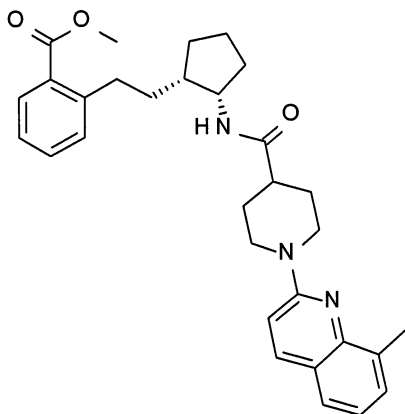
Ví dụ điều chế 45

Axit (-)-(4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-2-quinolyl)piperidin-4-carboxylic.



Xử lý methyl (4*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metyl-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). Gia nhiệt hỗn hợp để hồi lưu đồng thời khuấy qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng, sau đó 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. Từ đỉnh xuống đáy, dán nhãn các lớp lần lượt là “Lớp A”, “Lớp B”, và “Lớp C”. Loại bỏ Lớp C. Bổ sung nước (600 mL) vào các Lớp A và B, sau đó tách riêng lớp hữu cơ. Kết hợp lớp nước với Lớp C. Chiết Lớp C bằng TBME (500 mL) và tách riêng lớp hữu cơ. Bổ sung HCl (5,0M trong nước) vào Lớp C cho đến khi độ pH đạt đến 6,5. Chiết Lớp C bằng TBME (2 × 400 mL). Gom tất cả các phần chiết hữu cơ lại; 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 dưới dạng chất rắn màu trắng với độ tinh khiết 96% (145 g, 95%). ESMS (*m/z*) 299 (M+H)⁺, [α]_D²⁰ -59,6° (*c* 3,12, CH₃OH).

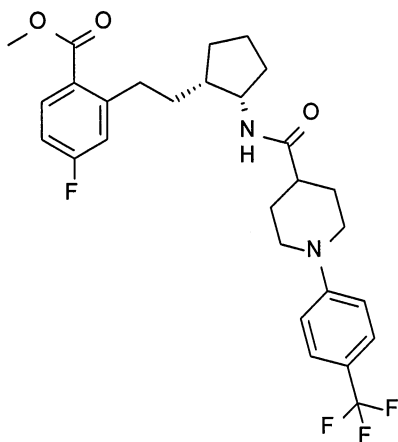
Ví dụ điều chế 46: Metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)etyl)benzoat



Hòa tan methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)ethyl)benzoat (6,5 g, 26 mmol, độ tinh khiết 97%) và axit 1-(8-methylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxylic (7,8 g, 29 mmol) trong diclometan (350 mL). Làm lạnh hỗn hợp này đến 0°C và bổ sung diisopropyletylamin (10 mL, 57 mmol) vào đó. Bổ sung anhydrit vòng axit 1-propanphosphonic (50% trọng lượng trong EtOAc 25 mL, 41,6 mmol) ở tốc độ để duy trì nhiệt độ bên trong phản ứng nằm trong khoảng từ 0°C đến 4°C. Để cho phản ứng này ấm đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Cần thận rót hỗn hợp này vào dung dịch nước NaHCO₃ (1,0 L). Tách các lớp và chiết lớp nước bằng diclometan (500 mL). Gom các lớp hữu cơ lại; rửa các lớp hữu cơ gom lại này bằng dung dịch nước NaCl bão hòa (200 mL); làm khô bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô dịch lọc để thu được cặn. Thực hiện sắc ký cột nhanh silicagel đối với cặn thu được, rửa giải bằng gradien 20 đến 29% TBME trong hỗn hợp diclometan và hexan 1:1. Tái tinh chế các phân đoạn hỗn hợp bằng cách sắc ký cột nhanh silicagel, rửa giải bằng gradien diclometan đến 25% TBME trong diclometan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (10,8 g, 84%). ESMS (*m/z*) 500 (M+H)⁺

Ví dụ điều chế 47

Methyl 4-flo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)ethyl)benzoat

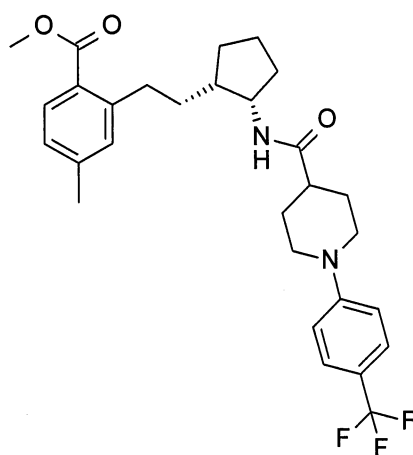


Kết hợp methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)ethyl)-4-flobenzoat hydroclorua (0,15 g, 0,50 mmol), axit 1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxylic (0,14 g, 0,52 mmol), và EtOAc (5 mL). Bổ sung diisopropyletylamin (0,26 mL, 1,5 mmol) và anhydrit vòng axit 1-propanphosphonic (dung dịch 50% trong EtOAc, 0,51 mL, 0,99 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa và khuấy trong ba mươi

phút. Pha loãng lớp hữu cơ bằng EtOAc (10 mL) và phân bố lớp hữu cơ. Rửa các chất hữu cơ lần nữa bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa; làm khô bằng MgSO₄; lọc và thu gom dịch lọc; và cô để thu được chất rắn màu trắng. Thực hiện sắc ký cột nhanh silicagel đối với cặn thu được, rửa giải bằng gradien 10% đến 50% EtOAc trong diclometan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,127 mg, 0,24 mmol, 49%). ESMS (*m/z*) 521 (M+H)⁺.

Ví dụ điều chế 48

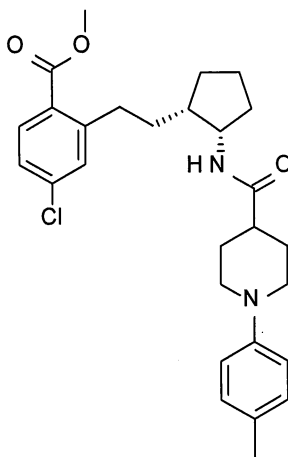
Metyl 4-metyl-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat



Điều chế hợp chất nêu ở đề mục này về cơ bản là theo quy trình nêu trong Ví dụ điều chế 48. ESMS (*m/z*) (M+1)⁺ 517

Ví dụ điều chế 49

Metyl 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(*p*-tolyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat

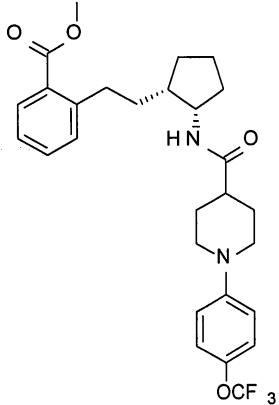
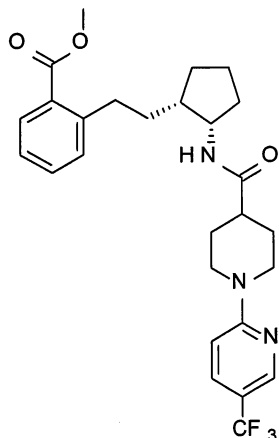


Kết hợp methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)ethyl)-4-clobenzoat hydroclorua (100 mg, 0,314 mmol), axit 1-(*p*-tolyl)piperidin-4-carboxylic (75 mg, 0,342 mmol), và 1-hydroxybenzotriazol hydrat (12 mg, 0,087 mmol) trong diclometan (5 mL) và triethylamin (0,150 mL, 1,08 mmol) để tạo ra huyền phù đặc. Bổ sung EDCI (100 mg, 0,52 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Thực hiện sắc ký cột nhanh silicagel đối với hỗn hợp này, rửa giải bằng EtOAc/heptan 50/50 để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (95 mg, 0,196 mmol, 62%). ESMS (*m/z*) 483 (*M*+*H*)⁺ dưới dạng chất rắn màu trắng.

Điều chế các hợp chất dưới đây trong bảng 3 về cơ bản là theo quy trình nêu trên đây trong ví dụ điều chế 49.

Bảng 3

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (<i>m/z</i>) (<i>M</i> +1) ⁺
50 ¹	Methyl 4-clo-2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(5-flopyridin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)ethyl)benzoat		488
51	Methyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>trans</i>)-4-(benzyloxy)xyclohexan-1-carboxamido)xyclopentyl)ethyl)-4-clobenzoat		498

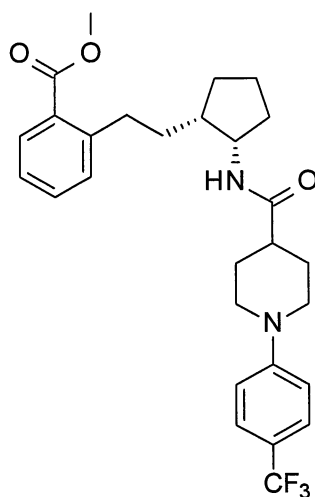
Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (<i>m/z</i>) (<i>M</i> +1) ⁺
52 ³	Metyl 2-(2-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(4-(triflometoxy)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat		519
53 ²	Metyl 2-(2-(((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(5-(triflometyl)pyridin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat		504

¹ Rửa giải sắc ký bằng gradien hexan:etyl axetat 95:5 đến 50:50.

² Rửa giải sắc ký bằng gradien hexan:etyl axetat 100:0 đến 50:50.

Ví dụ điều chế 54

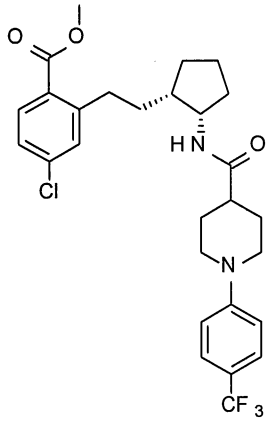
Metyl 2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat

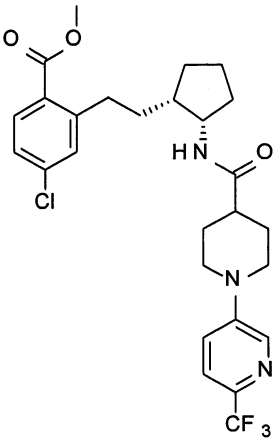
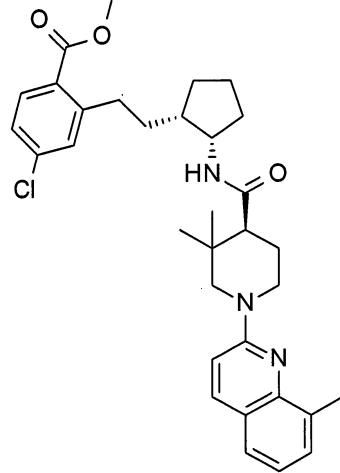
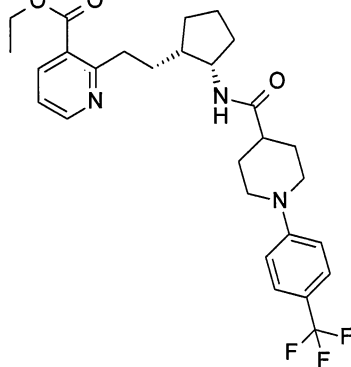


Kết hợp methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)ethyl) benzoat hydroclorua (0,25 g, 0,88 mmol), axit 1-(4-(triflometyl)phenyl) piperidin-4-carboxylic (0,25 g, 0,88 mmol), và dimethylformamit (4,4 mL). Bổ sung BOP (0,52 g, 1,1 mmol) và triethylamin (0,43 mL, 3,1 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc (3 × 20 mL). Rửa các chất hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa; và làm khô bằng MgSO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký cột nhanh silicagel đối với cặn cô, rửa giải bằng gradien EtOAc/hexan 10/90 đến 75/25, để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,3 g, 70%). ESMS (*m/z*) 503 (M+H)⁺.

Điều chế các hợp chất dưới đây trong bảng 4 về cơ bản là theo quy trình nêu trên đây trong ví dụ điều chế 54.

Bảng 4

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (<i>m/z</i>) (M+1) ⁺
55 ¹	Metyl 4-clo-2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)ethyl) benzoat		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 537/539

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (m/z) ($M+1$) ⁺
56 ^{2,3}	Metyl 4-clo-2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(6-(triflometyl)pyridin-3-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl) benzoat		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 538/540
57 ⁴	Metyl 4-clo-2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl) benzoat		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 562/564
58 ^{2,5}	Etyl 2-(2-((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl) nicotinat		518

Ví dụ điều chế số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (m/z) ($M+1$) ⁺
59 ⁶	Metyl 4-clo-2-((((1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xcyclopentyl)metyl)amino)benzoat		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 537/539
60 ^{2,7}	Metyl 2-[[[(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-2-aminoxyclohexyl]metyl amino]-4-clobenzoat		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 552/554
61 ⁶	(±)-Metyl 4-clo-2-(2-(<i>trans</i> -2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xcyclopentyl)etyl) benzoat		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 536/538

¹ Thực hiện sắc ký sử dụng gradien diclometan:EtOAc 0:100 đến 25:75.

² Sử dụng diisopropyletylamin làm bazơ.

³ Thực hiện sắc ký sử dụng gradien hexan: EtOAc 10:90 đến 20:80.

⁴ Thực hiện sắc ký sử dụng gradien hexan: EtOAc 10:90 đến 0:100.

⁵ Thực hiện sắc ký sử dụng gradien diclometan:etyl axetat 0:100 đến 50:50.

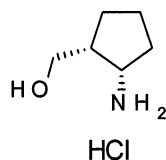
⁶ Thực hiện sắc ký sử dụng gradien hexan: EtOAc 10:90 đến 0:100.

Sau khi sắc ký cột nhanh silicagel, tinh chế cạn thu được bằng sắc ký pha đảo, rửa giải bằng axetonitril và nước được biến đổi bằng 0,1% axit formic để thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

⁷ Tinh chế cạn thô hai lần bằng cách sắc ký cột sử dụng diclometan:etyl axetat 100:0 đến 85:15 làm dung môi rửa giải. Tinh chế cạn thu được lại lần nữa bằng cách sắc ký cột sử dụng gradien diclometan:EtOAc 100:0 đến 10:90.

Ví dụ điều chế 62

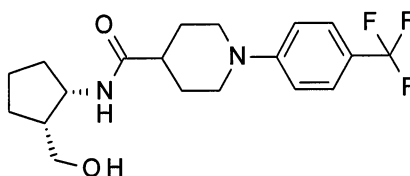
((1*R*,2*S*)-2-Aminoxyclopentan)metanol hydroclorua



Kết hợp *tert*-butyl ((1*S*,2*R*)-2-(hydroxymetyl)xyclopentyl)carbamát (1,15 g, 5,34 mmol) và HCl (4,0M trong dioxan, 62 mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ và sau đó cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (802 mg, 5,29 mmol). ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 3,00 (dd, *J* = 11,2, 4,9 Hz, 1H), 2,94–2,84 (m, 2H), 1,61–1,51 (m, 1H), 1,49–1,29 (m, 1H), 1,14–0,72 (m, 5 H).

Ví dụ điều chế 63

N-((1*S*,2*R*)-2-(Hydroxymetyl)xyclopentyl)-1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamit

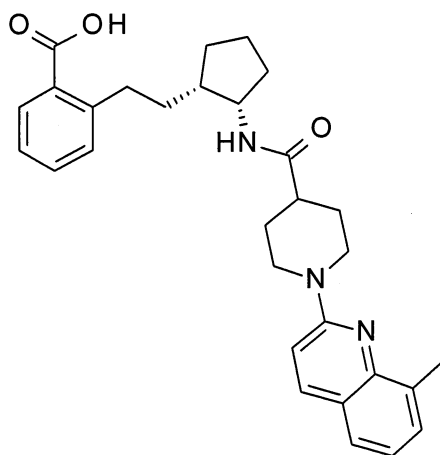


Hòa tan ((1*R*,2*S*)-2-aminoxyclopentyl)metanol hydroclorua (200 mg, 1,3 mmol) trong dimetylformamit (6,6 mL) và bổ sung axit 1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxylic (360 mg, 1,32 mmol), diisopropyletylamin (1,38 mL, 7,91 mmol) và *O*-(7-Azobenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (601 mg, 1,58 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc và rửa hỗn hợp thu được lần lượt bằng dung dịch nước HCl 1N, dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa, dung dịch nước LiCl 5%, và dung dịch nước NaCl bão hòa. Làm khô pha hữu cơ 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 dưới dạng chất rắn màu nâu vàng (600 mg, 98%). ESMS (m/z) 371 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 1

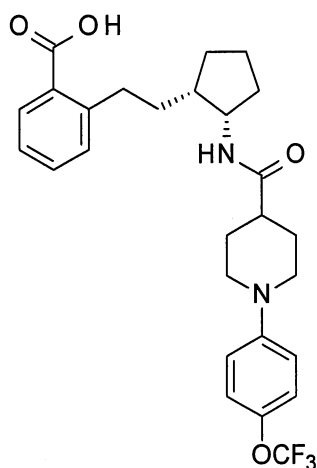
Axit 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)etyl)benzoic



Hòa tan methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)etyl)benzoat (10,7 g, 21,4 mmol) trong tetrahydrofuran (150 mL) và metanol (100 mL). Bổ sung từng giọt dung dịch nước natri hydroxit 5M (45 mL, 225 mmol) vào hỗn hợp này. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Làm ấm hỗn hợp phản ứng đến 35°C và khuấy thêm 8 giờ nữa. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và cô nó trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng cặn thu được bằng nước (500 mL) và axit hóa hỗn hợp thu được đến độ pH bằng 6 đến 7 bằng dung dịch HCl 1N. Tách chất rắn kết tủa bằng cách lọc và rửa kỹ bánh lọc bằng nước. Làm khô chất rắn này để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (10 g, 96%). ESMS (m/z) 486 ($M+H$)⁺

Ví dụ 2

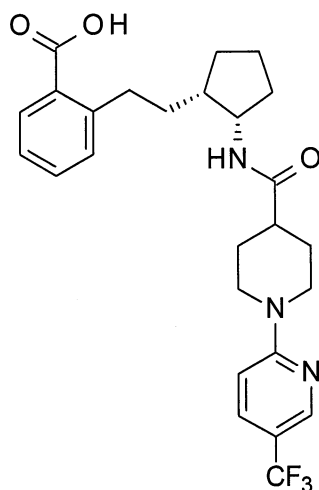
Axit 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometoxy)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)etyl)benzoic



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 2N (0,70 mL, 1,4 mmol) vào dung dịch methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(trifluoromethoxy)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)ethyl) benzoat (135 mg, 0,260 mmol) trong metanol (2,0 mL) và tetrahydrofuran (2,0 mL). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 70°C. Sau ba giờ, bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 2N (0,70 mL, 1,4 mmol) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp này ở 70°C thêm một giờ nữa. Bổ sung dung dịch nước HCl 5N (0,56 mL) vào đó. Cô hỗn hợp này đến khô. Nghiền chất rắn bằng lượng nhỏ metanol và sau đó bổ sung nước vào đó. Thu gom chất rắn bằng cách lọc chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng với độ tinh khiết 93% bằng LCMS (114 mg, 0,20 mmol, 81%). ESMS (m/z) 505 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 3

Axit 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)ethyl)benzoic

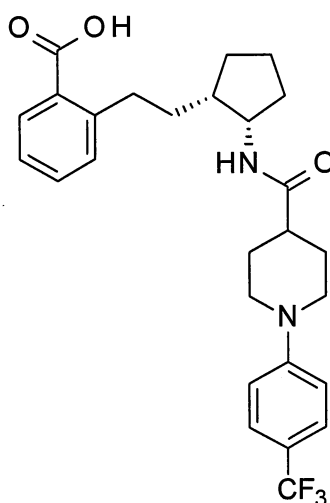


Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5N (2 mL, 10 mmol) vào dung dịch methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(5-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)ethyl)benzoic

pentyl)etyl) benzoat (700 mg, 1,39 mmol) trong metanol (10 mL) và tetrahydrofuran (10 mL). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 70°C. Sau ba giờ, bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5N (2 mL, 10 mmol) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 70°C thêm hai giờ nữa. Bổ sung dung dịch HCl 5N (4 mL) vào và cô đến khô. Nghiền chất rắn bằng lượng nhỏ metanol và sau đó bổ sung nước vào đó. Thu gom chất rắn bằng cách lọc chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (551 mg, 1,13 mmol, 82%). ESMS (m/z) 490 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 4

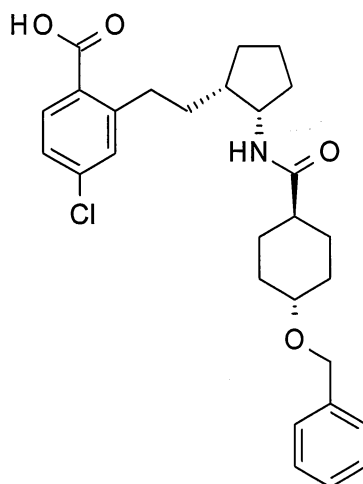
Axit 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Hòa tan methyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat (0,3 g, 0,6 mmol) trong metanol (3 mL) và tetrahydrofuran (10 mL). Bổ sung lithi hydroxit (0,5M trong nước, 5 mL, 2 mmol) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 45°C qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và loại bỏ các chất dễ bay hơi bằng thiết bị bay hơi quay. Axit hóa dung dịch này bằng dung dịch HCl 5N để gây ra sự kết tủa. Thu gom kết tủa; rửa bằng nước; và làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,31 g, 0,63 mmol, 100%). ESMS (m/z) 489 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 5

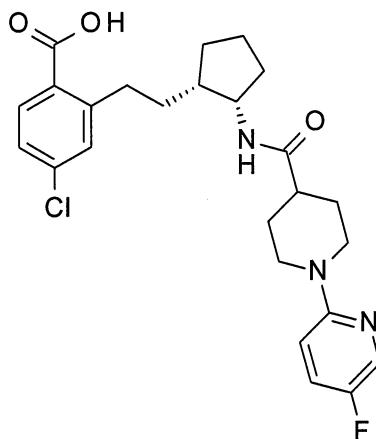
Axit 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*trans*)-4-(benzyloxy)xyclohexan-1-carboxamido)xyclopentyl)etyl)-4-clobenzoic



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 4N (2,0 mL) vào dung dịch metyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*trans*)-4-(benzyloxy)xyclohexan-1-carboxamido)xyclopentyl)etyl)-4-clobenzoat (518 mg, 1,04 mmol) trong metanol (5 mL) và tetrahydrofuran (4 mL). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 70°C. Sau 3 giờ, bổ sung dung dịch nước HCl 5N (2 mL) vào và cô đến khô. Nghiền chất rắn bằng lượng nhỏ metanol và sau đó bổ sung nước vào đó. Thu gom chất rắn bằng cách lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (425 mg, 0,878 mmol, 84%). ESMS (m/z) ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 484/486 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Ví dụ 6

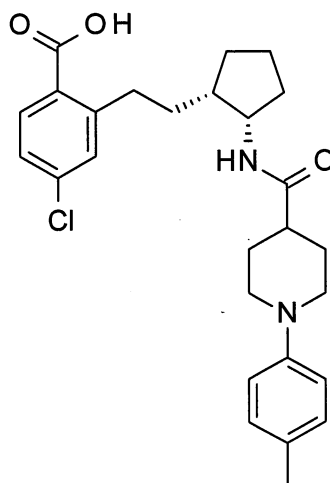
Axit 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(5-flopyridin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 2M (0,4 mL, 0,8 mmol) vào dung dịch methyl 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(5-flopyridin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xcyclopentyl)etyl) benzoat (80 mg, 0,16 mmol) trong tetrahydrofuran (1,0 mL) và metanol (2 mL). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 52°C trong 6,5 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng và cô trong điều kiện áp suất giảm. Xử lý hỗn hợp này bằng nước đá và axit hóa đến độ pH bằng 4 sử dụng dung dịch HCl 1,0N. Pha loãng hỗn hợp này bằng dung dịch nước NaCl bão hòa (15 mL) và chiết bằng EtOAc (20 mL). Làm khô phần chiết hữu cơ bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Nghiền gôm thu được bằng thể tích tối thiểu diethyl ete và tách chất rắn màu trắng thu được bằng cách lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (77 mg, 0,16 mmol, 100%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 474/476 (M+H)⁺.

Ví dụ 7

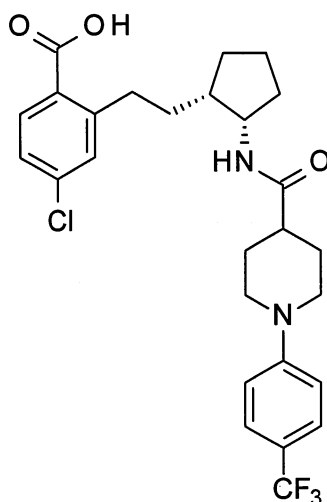
Axit 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(*p*-tolyl)piperidin-4-carboxamido)xcyclopentyl)etyl)benzoic



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5,0N (1,0 mL, 5,0 mmol) vào dung dịch methyl 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(*p*-tolyl)piperidin-4-carboxamido)xcyclopentyl)etyl)-benzoat (95 mg, 0,196 mmol) trong metanol (2 mL) và tetrahydrofuran (2 mL). Gia nhiệt hỗn hợp ở 70°C trong 4 giờ. Bổ sung dung dịch nước HCl 5N (1,0 mL) và loại bỏ các chất dễ bay hơi để thu được chất rắn. Nghiền chất rắn bằng lượng nhỏ metanol và sau đó bổ sung nước vào đó. Thu gom chất rắn màu be bằng cách lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (60 mg, 0,13 mmol, 65%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 469/471 (M+H)⁺.

Ví dụ 8

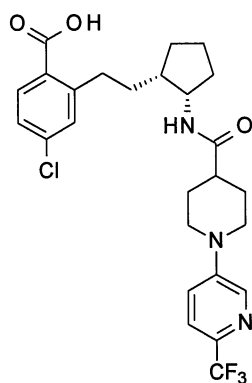
Axit 4-clo-2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Hòa tan methyl 4-clo-2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl) piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat (1,4 g, 2,61 mmol) trong tetrahydrofuran (26 mL). Bổ sung dung dịch nước LiOH (0,5 M, 21 mL) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp này đến 110°C trong 2 giờ và sau đó gia nhiệt ở 100°C trong 3,5 giờ. Để hỗn hợp này nguội đến nhiệt độ môi trường và khuấy qua đêm. Gia nhiệt hỗn hợp ở 100°C cho đến khi tất cả các nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ hết (khoảng 5 giờ). Làm nguội phản ứng đến nhiệt độ trong phòng và bay hơi dung môi. Axit hóa cẩn thận thu được đến độ pH bằng 5 bằng dung dịch nước HCl 5N. Thu gom kết tủa màu trắng thu được; rửa bằng nước; và làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,34 g, 2,56 mmol, 98%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 523/525 (M+H)⁺.

Ví dụ 9

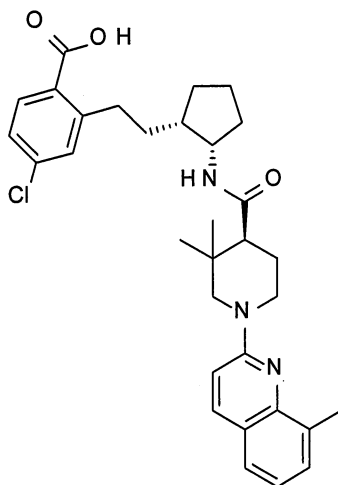
Axit 4-clo-2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(1-(6-(triflometyl)pyridin-3-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Bổ sung dung dịch nước NaOH (1,0M, 0,5 mL) vào dung dịch methyl 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(6-(triflometyl)pyridin-3-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat (58 mg, 0,11 mmol) trong metanol (3,0 mL). Gia nhiệt hỗn hợp này đến 50°C và khuấy qua đêm. Bổ sung dung dịch nước HCl (5M, 0,5 mL) vào đó. Cô đặc bằng áp suất thấp. Loại bỏ đẳng phí nước với toluen. Tạo huyền phù cặn thu được trong 20% tetrahydrofuran trong EtOAc (10 mL); rửa bằng dung dịch nước NaCl bão hòa (10 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 (51 mg, 0,097 mmol, 90%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 524/526 (M+H)⁺.

Ví dụ 10

Axit 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic

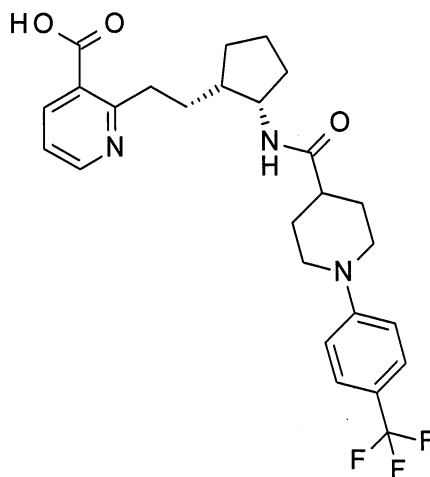


Hòa tan methyl 4-clo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-((*S*)-3,3-dimetyl-1-(8-metylquinolin-2-yl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat (284 mg, 0,505 mmol) trong metanol (3 mL) và tetrahydrofuran (3 mL). Bổ sung dung dịch nước LiOH (0,5M, 5 mL) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng này ở 50°C qua đêm. Cô dung dịch này. Axit hóa hỗn hợp nước đến độ pH bằng 1 sử dụng dung dịch nước HCl 1N. Pha loãng hỗn hợp bằng nước (20 mL) và khuấy trong 30 phút. Tách kết tủa màu vàng nhạt bằng cách lọc và làm khô bằng cách thổi không khí qua bánh lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (174 mg, 0,318 mmol, 63%). ESMS (*m/z*) (³⁵Cl/³⁷Cl) 548/550(M+H)⁺. ¹H NMR (400,13 MHz, d-₆-DMSO) δ 7,91 (d, J= 9,2 Hz, 1H), 7,70-7,68 (m, 2H), 7,47 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,35 (d, J=9,1 1H), 7,23-7,17 (m, 3H), 7,05 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 4,63-

4,60 (m, 1H), 4,23-4,20 (m, 1H), 4,09 (d, $J = 13,4$ Hz, 1H), , 3,03-3,00 (m, 2H), 2,83-2,82 (m, 2H), 2,39-2,27 (m, 1H), 1,89-1,87 (m, 11H), 0,96 (s, 3H), 0,91 (s, 3H).

Ví dụ 11

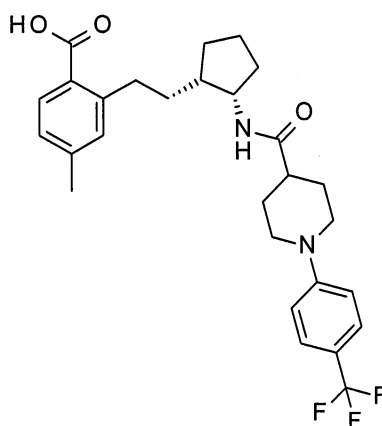
Axit 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)etyl)nicotinic



Hòa tan etyl 2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xylopentyl)etyl)nicotinat (146 mg, 0,282 mmol) trong tetrahydrofuran (3 mL) và metanol (1 mL). Bổ sung dung dịch nước lithi hydroxit 0,5M (1,5 mL, 0,75 mmol) vào đó. Bịt kín bình phản ứng lại và gia nhiệt bình đã bịt kín lại này ở 45°C qua đêm. Làm nguội hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và cô để loại bỏ các chất hữu cơ dễ bay hơi. Axit hóa hỗn hợp này đến độ pH bằng 3 bằng dung dịch nước HCl 1N và thu gom kết tủa trắng thu được bằng cách lọc. Axit hóa tiếp dịch lọc đến độ pH bằng 1 để thu được gôm màu vàng. Kết hợp tất cả các dung dịch và các phần tách được lại và cô. Thực hiện sắc ký cột pha đảo đối với cặn thu được, rửa giải bằng gradien 10% đến 55% axetonitril và nước được biến đổi bằng (NH₄)₂CO₃ 10mM và metanol 5%, để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (50 mg, 0,10 mmol, 36%). ESMS (m/z) 490 (M+H)⁺.

Ví dụ 12

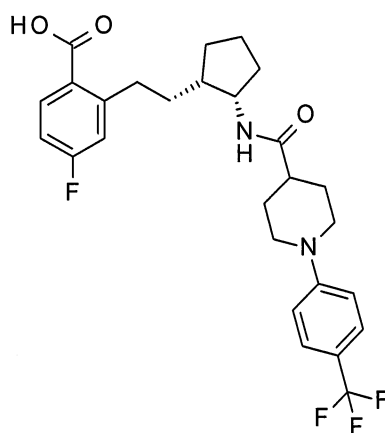
Axit 4-metyl-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Hòa tan etyl 4-metyl-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat (369 mg, 0,714 mmol) trong tetrahydrofuran (30 mL) và metanol (10 mL). Bỏ sung dung dịch nước lithi hydroxit (0,5M, 15 mL) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp này ở 45°C và khuấy qua đêm. Sau 22 giờ, tăng nhiệt độ đến 70°C trong một giờ sau đó bảo quản hỗn hợp này ở 4°C cho đến khi việc gia nhiệt được bắt đầu lại. Gia nhiệt phản ứng ở 55°C trong 5 giờ. Cô hỗn hợp này, bổ sung dung dịch HCl 5N vào để axit hóa hỗn hợp đến độ pH bằng 1. Khuấy trong 20 phút. Tách kết tủa màu trắng bằng cách lọc. Làm khô chất rắn trong tủ chân không ở 40°C để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (338 mg, 0,672 mmol, 94%). ESMS (m/z) 503 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 13

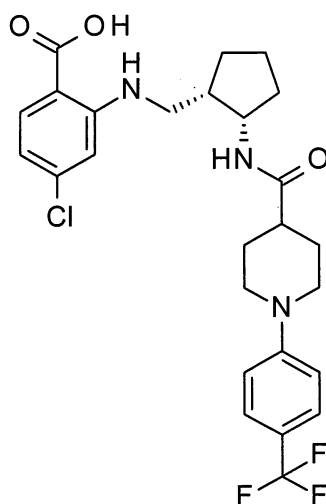
Axit 4-flo-2-(2-((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Hòa tan methyl 4-fluor-2-(2-(((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)cyclopentyl)ethyl)benzoat (127 mg, 0,244 mmol) trong tetrahydrofuran (3 mL), metanol (1 mL) và dung dịch nước lithi hydroxit (0,5M, 1,5 mL). Gia nhiệt dung dịch này ở 45°C qua đêm. Cô một phần dung dịch này để loại bỏ các chất hữu cơ và điều chỉnh dung dịch nước này đến độ pH bằng 1 bằng HCl. Tách kết tủa màu trắng bằng cách lọc và làm khô bằng cách thổi không khí qua kết tủa để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (116 mg, 0,229 mmol, 94%). ESMS (m/z) 507 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 14

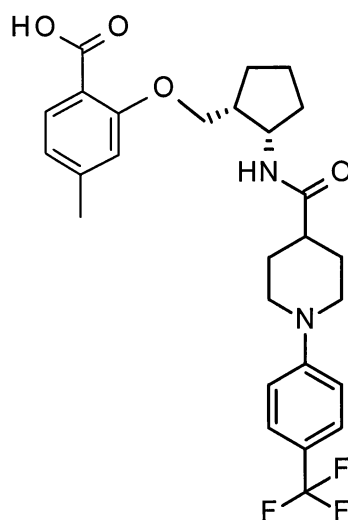
Axit 4-clo-2-((((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)cyclopentyl)methyl)amino)benzoic



Hòa tan methyl 4-clo-2-((((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(trifluoromethyl)phenyl) piperidin-4-carboxamido)cyclopentyl)methyl)amino)benzoat (0,25 g, 0,46 mmol) trong tetrahydrofuran (10 mL) và metanol (1 mL). Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5,0M (0,19 mL, 0,93 mmol) vào đó. Bịt kín bình phản ứng lại và gia nhiệt trong lò vi sóng Biotage Initiator™ ở 100°C trong 30 phút. Pha loãng hỗn hợp bằng nước (50 mL) và bổ sung lô thứ hai axit 4-clo-2-((((1*S*,2*S*)-2-(1-(4-(trifluoromethyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)cyclopentyl)methyl)amino)benzoic (0,29 g, 0,52 mmol) được điều chế theo cách tương tự vào đó. Bổ sung dung dịch nước HCl 1,0N vào dung dịch đang được khuấy mạnh cho đến khi độ pH đạt đến 7. Tách kết tủa bằng cách lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (0,50 g, 0,95 mmol, hiệu suất chung là 84%). ESMS (m/z) (³⁵Cl/³⁷Cl) 537/539 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 15

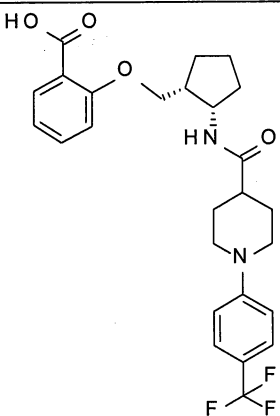
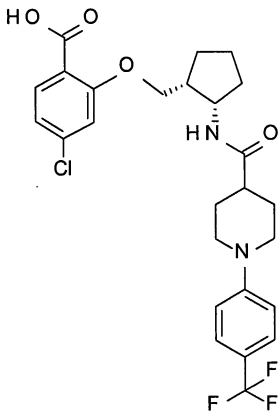
Axit 4-metyl-2-(((1*R*,2*S*)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)methoxy)benzoic



Kết hợp axit 2-flo-4-metylbenzoic (50 mg, 0,32 mmol) và *N*-(((1*S*,2*R*)-2-(hydroxymetyl)xyclopentyl)-1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamit (141 mg, 0,324 mmol), và tetrahydrofuran (3,24 mL). Bổ sung từng phần natri hydrua (60% trong dầu khoáng, 97 mg, 2,43 mmol) vào đó. Gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ hồi lưu qua đêm. Làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ môi trường. Pha loãng bằng EtOAc và tách riêng pha hữu cơ và pha nước. Làm khô pha hữu cơ bằng Na₂SO₄; lọc; thu gom dịch lọc; và cô trong điều kiện áp suất giảm. Thực hiện sắc ký cột nhanh pha đảo đối với cặn thu được, rửa giải bằng 10% đến 100% axetonitril trong nước. Thu gom các phân đoạn mong muốn. Loại bỏ dung môi và làm khô cặn thu được trong chân không ở 50°C để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (59,4 mg, 0,117 mmol, 36%). ESMS (*m/z*) 505 (M+H)⁺.

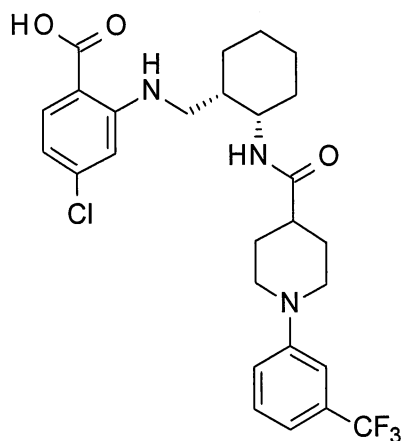
Điều chế các hợp chất dưới đây trong bảng 5 về cơ bản là theo quy trình nêu trên đây trong ví dụ 15.

Bảng 5

Ví dụ số	Tên hóa học	Công thức cấu tạo	ESMS (m/z) ($M+1$) ⁺
16	Axit 2-(((1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)methoxy)benzoic		481
17	Axit 4-clo-2-(((1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)methoxy)benzoic		(³⁵ Cl/ ³⁷ Cl) 525/527

Ví dụ 18

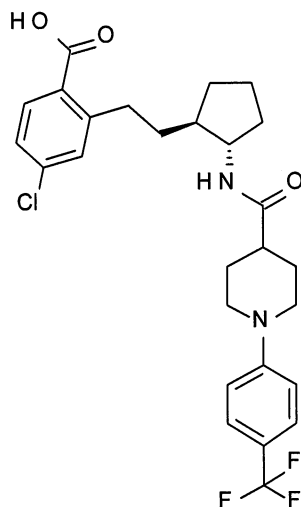
Axit 4-clo-2-[[[(1*S*,2*S*)-2-[[1-[3-(triflometyl)phenyl]piperidin-4-carbonyl]amino]xyclohexyl]methylamino]benzoic



Hòa tan methyl 4-clo-2-[[1-(1*S*,2*S*)-2-[[1-[3-(triflometyl)phenyl]piperidin-4-carbonyl]amino]xyclohexyl]methylamino]benzoat (0,046 g, 0,083 mmol) trong tetrahydrofuran (2 mL), và metanol (1 mL). Bổ sung dung dịch natri hydroxit 5N trong nước (1,00 mL, 5,00 mmol) vào đó. Khuấy qua đêm. Axit hóa hỗn hợp này đến độ pH bằng 7 sử dụng dung dịch nước hydro clorua 1N. Cô hỗn hợp này trong điều kiện áp suất giảm đến thể tích ~3 mL. Thu gom chất rắn bằng cách lọc và rửa chất rắn bằng nước. Làm khô chất rắn này trong lò chân không ở 50 °C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (0,032 g, 71%). ESMS (m/z) ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 538/540 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Ví dụ 19

Axit (±)-4-clo-2-(2-(*trans*-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoic



Hòa tan methyl 4-clo-2-(2-(*trans*-2-(1-(4-(triflometyl)phenyl)piperidin-4-carboxamido)xyclopentyl)etyl)benzoat (0,046 g, 0,085 mmol) trong tetrahydrofuran (2 mL) và MeOH (0,5 mL). Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5M (0,034 mL, 0,17 mmol) vào đó. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng bằng nước (5 mL) và điều chỉnh độ pH đến 4 bằng cách bổ sung từng giọt dung dịch nước HCl 0,1M. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3 × 10 mL). Gom các phần chiết hữu cơ lại; rửa 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 dưới dạng chất rắn màu trắng (0,041 g, 89%). ESMS (m/z) ($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$) 523/525 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

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 HEK-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; axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) 0,1mM; glutathion 1mM) và nghiền bằng sóng siêu âm 5×30 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 chặt 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 lỗ của 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 6,52µg/mL và 1,67µM. Sau 2,5 phút ủ ở nhiệt độ trong phòng, bổ sung SnCl₂ 1mg/mL trong dung dịch HCl 0,5N với lượng 2,5µL/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 Biocius 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 IC_{50} μM là nhỏ hơn 100nM. Kết quả này chứng minh rằng hợp chất theo ví dụ 1 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 sinh trưởng tế bào (môi trường nuôi cấy tế bào Kaighn F12 + 10% huyết thanh thai bò (FBS)), trong khí quyển ẩm 5% CO_2 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 thu hoạch 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 sinh trưởng tế bào 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 sinh trưởng tế bào. 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 ($90\mu\text{L}/\text{lỗ}$) được bổ sung vào các tế bào này. Các hợp chất được bổ sung với lượng $1\mu\text{L}/\text{lỗ}$, $n=2$, 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% CO_2 . Sự sản sinh prostaglandin E_2 được gây cảm ứng bằng việc bổ sung interleukin 1β tái tổ hợp của người (rhIL- 1β) được pha loãng trong môi trường sinh trưởng tế bào đến 10 lần nồng độ cuối cùng. Phần phân ước được bổ sung vào với lượng $10\mu\text{L}/\text{lỗ}$ để thu được nồng độ rhIL- 1β cuối cùng là $0,1\text{ng}/\text{mL}$. 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 PGE_2 và prostaglandin I_2 (PGI_2) 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 ($1\mu\text{L}$) được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ đã được phủ bằng kháng thể bất giữ và chứa dung dịch đệm EIA ($49\mu\text{L}$) được cung cấp bởi nhà sản xuất. Chất đánh dấu được pha loãng bằng dung dịch đệm EIA ($50\mu\text{L}$). Kháng thể phát hiện được pha

loãng bằng dung dịch đệm EIA (50 μ L). Đĩa được phủ bằng màng bít 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 mẫu. Ví dụ 1 ức chế sự tạo thành PGE₂ trong thử nghiệm này với IC₅₀ là 0,0053 μ M.

Thử nghiệm máu toàn phần của người

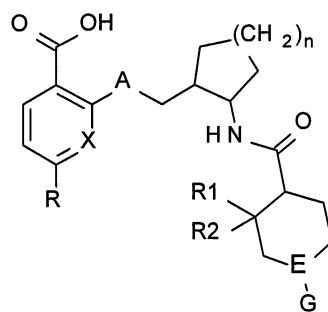
Máu được thu thập từ những người cho tình nguyện, bình thường vào các ống VACUTAINER chứa natri heparin. Người cho được chọn, một phần, trên sự xác nhận của họ rằng họ đã không dùng NSAID, aspirin, Celebrex®, hoặc các chất glucocorticoid trong vòng hai tuần cho máu. Tất cả các ống máu của mỗi người cho được gom lại vào các ống ly tâm hình nón Corning dung tích 250mL và 436,5 μ L/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 μ L/lỗ để tạo các đường cong 7 điểm. Máu được xử lý trước bằng các hợp chất ở 37°C, 5% CO₂, trong môi trường ẩm, được phủ bằng nắp MicroClima Environmental Microplate, trong 30 phút sau đó dung dịch chứa 5mg/mL lipopolysaccharit (LPS, Sigma, kiểu huyết thanh 0111:B4) trong 1mg/mL BSA/PBS được bổ sung với lượng 9 μ L/lỗ để tạo ra nồng độ LPS cuối cùng là 100 μ g/mL. Các đĩa được ủ trong 20-24 giờ, ở 37°C, 5% CO₂, trong môi trường ẩm. Các đĩa được bít 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 microlít được chuyển một cách định lượng vào các khối bó ống Costar và bổ sung với lượng 400 μ L/lỗ chất làm dừng phản ứng metanol và các chất nội chuẩn, *d*₄-PGE₂, *d*₄-PGF_{2 α} , và *d*₄-TXA_{2 β} 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 metanol (1 mL), sau đó bằng 0,1% axit formic trong nước (1 mL); Bước 2, 400 μ L mẫu được sử dụng cùng với 0,1% axit formic trong nước (900 μ L) và để liên kết trong 5 phút; Bước 3, chất nền được rửa bằng 0,1% axit formic trong nước (600 μ L), sau đó bằng hỗn hợp nước/metanol 80/20 (600 μ L); Bước 4, sản phẩm được rửa giải bằng EtOAc với lượng 2 đến 500 μ L; 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 μ L). Sản phẩm được phân tích bằng LC/MS/MS. Hợp chất theo Ví dụ 1 ức chế sự tạo thành PGE₂ trong thử nghiệm này với trị số IC₅₀ bằng $0,0059 \pm 0,0034$, n=6, độ tin cậy >95%. Kết quả này chứng minh rằng hợp chất theo Ví dụ 1 ức chế sự tổng hợp PGE₂ trong máu toàn phần của người.

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất có công thức 1:



1

trong đó:

n bằng 1 hoặc 2;

A được chọn từ: $-\text{CH}_2-$, $-\text{NH}-$, và $-\text{O}-$;

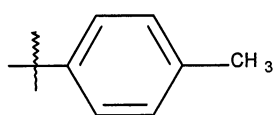
E là CH hoặc N;

X là N hoặc CH;

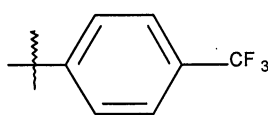
R được chọn từ: H, $-\text{CH}_3$, F, và Cl; và

mỗi R1 và R2 độc lập là H hoặc CH_3 ;

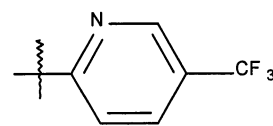
G được chọn từ:



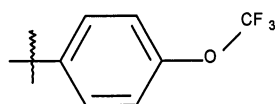
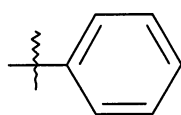
,



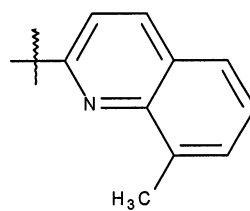
,



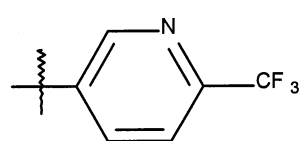
,



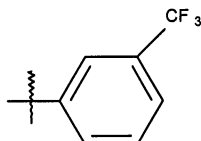
,



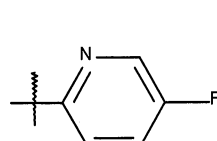
,



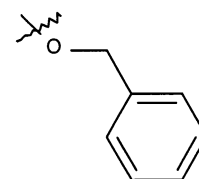
,



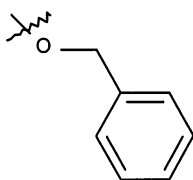
,



, và



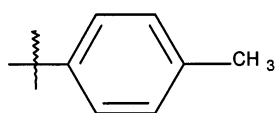
;



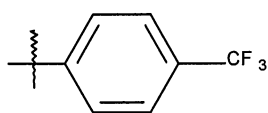
với điều kiện là nếu G là , thì E là CH; và với điều kiện là nếu A là -NH- hoặc -O-, thì X là CH; hoặc muối được dùng của nó.

2. Hợp chất có theo điểm 1, trong đó:

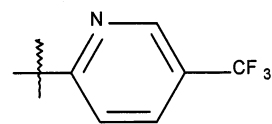
G được chọn từ:



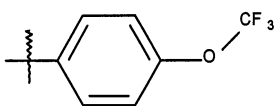
,



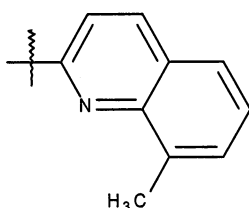
,



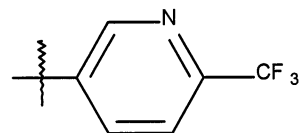
,



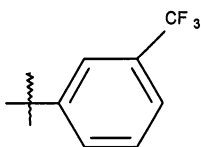
,



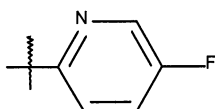
,



,



, và



;

hoặc muối được dùng của nó.

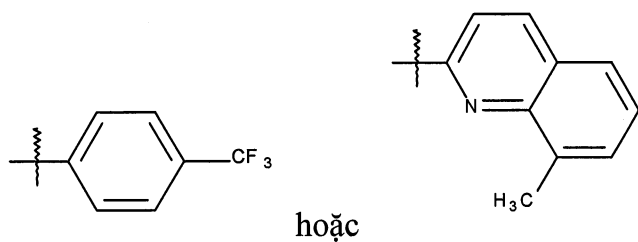
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó n bằng 1.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó E là N.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó R được chọn từ: H, -CH₃, và F.

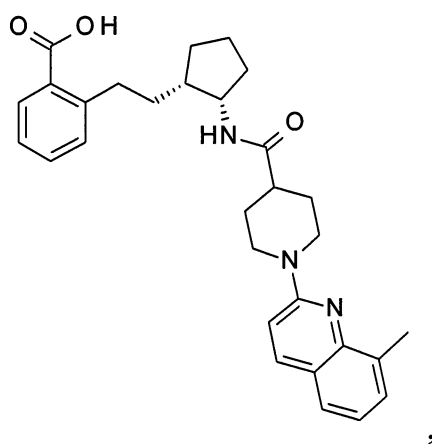
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó A là -O- hoặc -CH₂-.

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó G là:



8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó X là -CH-.

9. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối được dụng của nó.

10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó muối được dụng là muối natri.

11. Dược phẩm được dụng chứa hợp chất theo điểm bất kì trong số các điểm từ 1 đến 9, hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một chất mang, chất pha loãng hoặc tá được dụng.