



(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)



1-0023404

(51)⁷ C07D 401/04; A61K 31/4025; A61K 31/445; A61K 31/4709; C07D 207/08; C07D 211/42; C07D 211/46; A61K 31/402; A61P 29/00 (13) B

(21) 1-2014-04331

(22) 20/06/2013

(86) PCT/US2013/046685 20/06/2013

(87) WO2014/004230 03/01/2014

(30) 61/665,956 29/06/2012 US; 61/778,969 13/03/2013 US

(45) 27/04/2020 385

(43) 25/03/2015 324A

(73) ELI LILLY AND COMPANY (US)

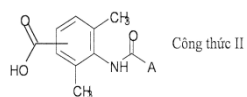
Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, United States of America

(72) BLANCO-PILLADO, Maria-Jesus (US); VETMAN, Tatiana Natali (US); FISHER, Matthew Joseph (US); KUKLISH, Steven Lee (US)

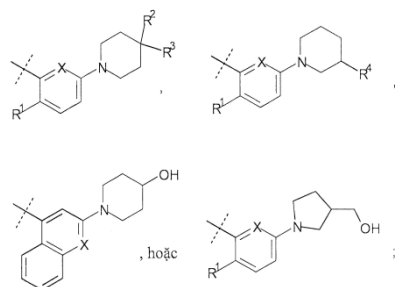
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT AXIT ĐIMETYL-BENZOIC VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II:



trong đó A là:



R^1 là CH_3 , CF_3 , hoặc F;

R^2 là H, CH_3 , hoặc F;

R^3 là CH_3 , OCH_3 , OH, F;

R^4 là OH hoặc CH_2OH ; và

X là CH hoặc N;

hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này là hữu hiệu để điều trị tình trạng viêm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất axit dimethyl-benzoic, được phẩm chứa hợp chất này, là hữu ích để điều trị các rối loạn sinh lý, và các chất trung gian và các quy trình hữu ích để tổng hợp hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế này thuộc lĩnh vực điều trị các tình trạng viêm, như chứng viêm khớp, bao gồm bệnh viêm khớp và bệnh viêm khớp mãn tính, và còn bao gồm các chứng đau đi kèm với các tình trạng này. Chứng viêm khớp tấn công hàng triệu bệnh nhân tính riêng ở Mỹ và là nguyên nhân gây tàn phế hàng đầu. Việc điều trị thường bao gồm việc sử dụng NSAID (các thuốc kháng viêm không steroid) hoặc các chất ức chế COX-2, mà nó có thể tạo ra các tác dụng phụ không mong muốn cho hệ tim mạch. Như vậy, các bệnh nhân có profin hệ tim mạch kém, như cao huyết áp, cần được loại trừ không cho sử dụng NSAID hoặc các chất ức chế COX-2. Do vậy, cần tìm ra liệu pháp khác để điều trị bệnh viêm khớp và bệnh viêm khớp mãn tính, tốt hơn là không có các tác dụng phụ như các liệu pháp điều trị hiện hành.

Bốn nhóm phụ của thụ thể prostaglandin E₂ (PGE₂) đã được nhận diện như sau: EP1, EP2, EP3 và EP4. Đã được bộc lộ là EP4 là thụ thể sơ cấp có liên quan đến chứng đau do viêm khớp ở mô hình loài gặm nhấm mắc bệnh viêm khớp mãn tính và bệnh viêm khớp (xem tài liệu: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 325, 425 (2008)). Do đó, chất đối kháng EP4 chọn lọc có thể là hữu ích trong việc điều trị chứng viêm khớp, bao gồm chứng đau do viêm khớp. Thêm vào đó, đã có đề xuất là do cơ chế đối kháng của EP4 không gây trở ngại cho quá trình sinh tổng hợp prostanoit, như PGI₂ và TxA₂, nên chất đối kháng EP4 chọn lọc không thể có tác dụng phụ cho hệ tim mạch tiềm tàng như quan sát được với NSAID và các chất ức chế COX-2. (ví dụ, xem *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 484 (2011)).

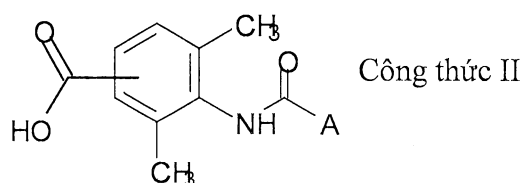
WO 96/02509 bộc lộ các chất dẫn xuất quinolin nhất định là các chất đối kháng NK3 không peptit chọn lọc hữu ích trong việc điều trị nhiều loại rối loạn bao gồm, ví dụ, các rối loạn ở phổi, các rối loạn của hệ thần kinh trung ương, chứng viêm thần

kinh, và chứng đau do viêm. Thêm vào đó, patent Mỹ số 7,705,035 bộc lộ các chất dẫn xuất indolin amit nhất định hữu ích làm phối tử, chất chủ vận, hoặc các chất đối kháng EP4 hữu ích trong việc điều trị một số rối loạn, như bệnh viêm khớp, bệnh viêm khớp mãn tính, và chứng đau cấp tính và mạn tính.

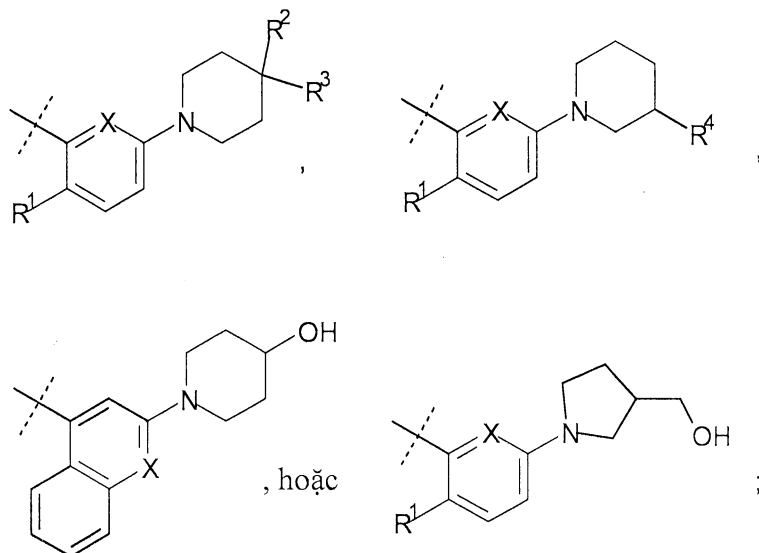
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất một số hợp chất là các chất ức chế EP4 chọn lọc hơn EP1, EP2, và EP3. Thêm vào đó, sáng chế đề xuất một số hợp chất có tiềm năng làm giảm các tác dụng phụ với hệ tim mạch hoặc đường dạ dày-ruột so với các NSAID truyền thống.

Do đó, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức II:



trong đó A là:



R^1 là CH_3 , CF_3 , hoặc F;

R^2 là H, CH_3 , hoặc F;

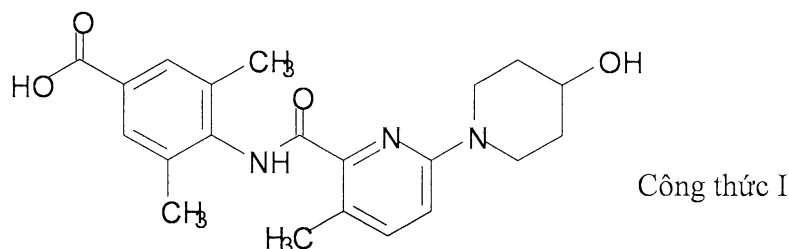
R^3 là CH_3 , OCH_3 , OH, F;

R^4 là OH hoặc CH_2OH ; và

X là CH hoặc N;

hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức I:



hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất hydrat hóa có công thức I.

Hơn thế nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó để dùng trong trị liệu, cụ thể là để điều trị bệnh viêm khớp. Thêm vào đó, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó dùng để điều trị bệnh viêm khớp mãn tính. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó dùng để điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp. Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó dùng để điều trị chứng đau đi kèm với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp mãn tính. Hơn thế nữa, phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó, để bào chế thuốc để điều trị bệnh viêm khớp. Phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó, để bào chế thuốc để điều trị bệnh viêm khớp mãn tính. Phần mô tả còn bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó, để bào chế thuốc để điều trị chứng đau đi kèm với bệnh viêm khớp hoặc bệnh viêm khớp mãn tính.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng. Theo phương án cụ thể, dược phẩm còn chứa một hoặc nhiều tác nhân trị liệu khác. Sáng chế còn bao hàm các chất trung gian và các quy trình để tổng hợp hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “việc điều trị” hoặc “điều trị” bao gồm làm kiềm chế, làm chậm, làm dừng, hoặc làm đảo chiều sự tiến triển hoặc mức độ nghiêm trọng của triệu chứng hoặc rối loạn hiện hành.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “bệnh nhân” dùng để chỉ động vật có vú, như chuột nhắt, chuột lang, chuột cống, chó, hoặc người. Cần hiểu rằng bệnh nhân được ưu tiên là người.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “lượng hữu hiệu” dùng để chỉ lượng hoặc liều của hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng của nó, mà khi dùng ở dạng đơn hoặc đa liều cho bệnh nhân, tạo ra tác dụng mong muốn cho bệnh nhân đang chẩn đoán hoặc điều trị.

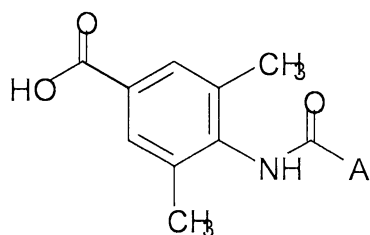
Lượng hữu hiệu có thể được xác định một cách dễ dàng bởi các bác sĩ khám bệnh, như chuyên gia trong lĩnh vực này, bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết và bằng cách quan sát các kết quả thu được trong các điều kiện tương tự. Trong quá trình xác định lượng hữu hiệu cho bệnh nhân, rất nhiều yếu tố được các bác sĩ khám bệnh xem xét, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: loài động vật có vú; kích thước của chúng, tuổi, và tình trạng sức khỏe chung; bệnh hoặc rối loạn cụ thể có liên quan; mức độ liên quan hoặc mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc rối loạn; sự đáp ứng của từng bệnh nhân; hợp chất cụ thể được dùng; đường dùng; đặc tính sinh khả dụng của chế phẩm được dùng; phác đồ liều được chọn; việc sử dụng thuốc đi kèm; và các điều kiện có liên quan khác.

Nói chung, hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó, là hữu hiệu trong khoảng liều rộng. Ví dụ, liều mỗi ngày thường nằm trong khoảng từ 0,01 đến khoảng 50mg/kg thể trọng. Trong một vài trường hợp, lượng liều thấp hơn giới hạn dưới của khoảng nêu trên có thể lớn hơn mức thỏa đáng, trong khi trong trường hợp khác vẫn có thể sử dụng liều cao hơn với tác dụng phụ chấp nhận được, và do vậy, khoảng liều nêu trên không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

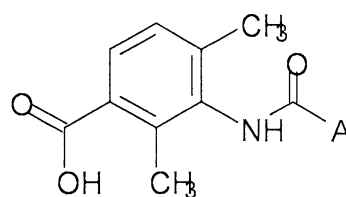
Tốt hơn là, hợp chất theo sáng chế được bào chế dưới dạng dược phẩm được dùng qua đường bất kỳ mà làm cho hợp chất này sinh khả dụng. Tốt nhất là, các dược

phẩm này để dùng qua đường miệng. Các dược phẩm này và các quy trình bào chế chúng là đã biết rõ trong lĩnh vực này. (ví dụ, xem Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21st Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

Cần hiểu rằng hợp chất có công thức II bao gồm hợp chất có công thức IIa và IIb:



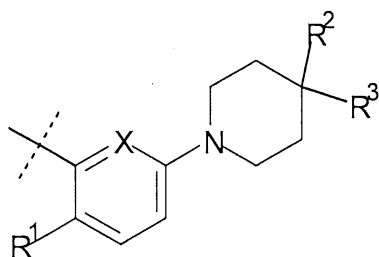
Công thức IIa



Công thức IIb

Hợp chất có công thức I và công thức II là đặc biệt hữu ích trong việc điều trị theo sáng chế, nhưng một số nhóm, phần tử thay thế, và cấu hình nhất định là được ưu tiên. Các đoạn sau mô tả các nhóm, phần tử thay thế, và cấu hình được ưu tiên này. Cần hiểu rằng sự ưu tiên này là áp dụng được cho cả việc điều trị lẫn hợp chất theo sáng chế.

Được ưu tiên nếu A là:

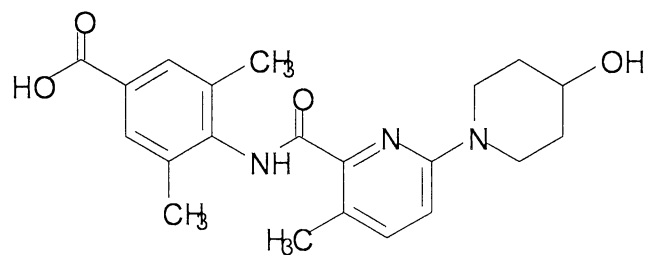


Được ưu tiên nếu R^1 là CH_3 .

Được ưu tiên nếu X là N.

Cũng được ưu tiên là khi R^2 là H, thì R^3 là OH.

Hợp chất được ưu tiên là axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-methyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoic, có công thức:



hoặc muối được dụng của nó.

Axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-methyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoic là được đặc biệt ưu tiên.

Axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-methyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoic hydrat hóa là cũng được ưu tiên.

Axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-methyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoic hydrat hóa được đặc trưng bởi đỉnh quan trọng trong phổ nhiễu xạ tia X, ở góc nhiễu xạ 2-theta, bằng $9,0^\circ$, kết hợp với hai hoặc nhiều đỉnh ở góc nhiễu xạ 2-theta được chọn từ nhóm bao gồm $5,8^\circ$, $8,5^\circ$, $9,8^\circ$, $11,6^\circ$, $11,8^\circ$, $17,5^\circ$, và $24,2^\circ$, là cũng được ưu tiên.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “DMEM” dùng để chỉ môi trường Eagle được biến tính bằng Dulbecco; “DMSO” dùng để chỉ dimethylsulfoxit; “IPA” dùng để chỉ rượu isopropylic; “MeOH” dùng để chỉ metanol; “EtOH” dùng để chỉ etanol; “DMF” dùng để chỉ dimethylformamit; “THF” dùng để chỉ tetrahydrofuran; “EtOAc” dùng để chỉ etyl axetat; “FBS” dùng để chỉ huyết thanh bào thai bê; “PGE₂” dùng để chỉ prostaglandin E₂; “FBS” dùng để chỉ huyết thanh bào thai bê; “IBMX” dùng để chỉ (3-isobutyl-1-methylxanthin); “MES” dùng để chỉ axit (2-(N-morpholino)etansulfonic; “HEPES” dùng để chỉ axit (2-[4-(2-hydroxyetyl)piperazin-1-yl]etansulfonic); “HTRF” dùng để chỉ kỹ thuật đo huỳnh quang phân giải thời gian đồng nhất; “HEK” dùng để chỉ thận phôi người; và “IC₅₀” dùng để chỉ nồng độ của tác nhân để tạo ra 50% sự đáp ứng ức chế tối đa có thể cho tác nhân đó.

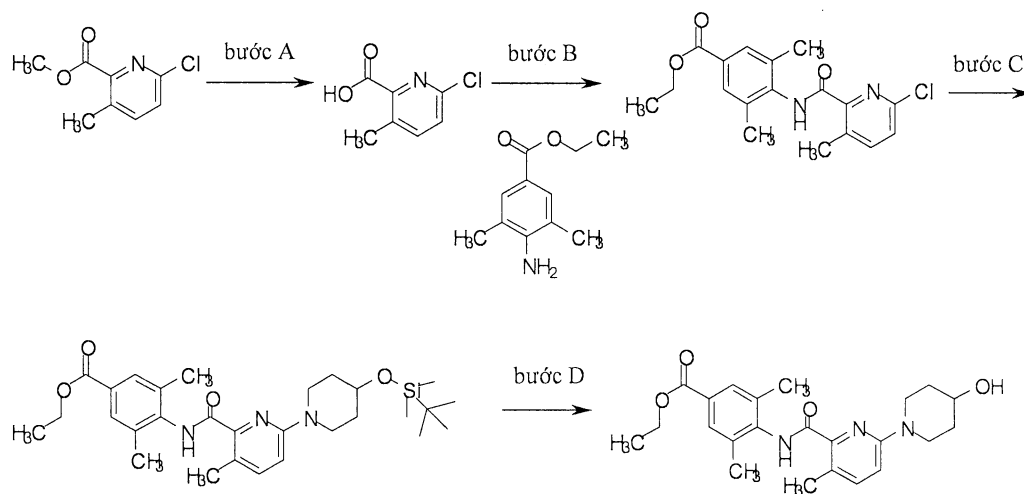
Các muối được dụng và phương pháp chung để điều chế chúng là đã biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, xem tài liệu Gould, P.L., “Salt selection for basic drugs,” *International Journal of Pharmaceutics*, 33: 201-217 (1986); Bastin, R.J., *et al.* “Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities,” *Organic Process Research and Development*, 4: 427-435 (2000); và S.M. Berge, *et*

al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977).
Chuyên gia trong lĩnh vực tổng hợp sẽ hiểu được rằng hợp chất có công thức I có thể chuyển hóa một cách dễ dàng thành và có thể tách được dưới dạng muối được dụng bằng cách sử dụng các kỹ thuật và điều kiện mà chuyên gia trong lĩnh vực này đã biết rõ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

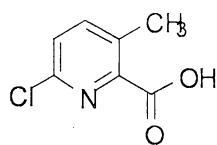
Hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng của nó, có thể được điều chế bằng nhiều loại quy trình đã biết trong lĩnh vực này, một số quy trình trong số này được minh họa trên các sơ đồ, quy trình điều chế, và ví dụ dưới đây. Các bước tổng hợp cụ thể của mỗi quy trình được mô tả có thể được kết hợp theo nhiều cách, hoặc cùng với các bước của các sơ đồ khác, để điều chế hợp chất có công thức I hoặc công thức II, hoặc muối được dụng của nó. Sản phẩm của mỗi bước trên các sơ đồ dưới đây có thể thu hồi được bằng các phương pháp thông thường, bao gồm chiết, làm bay hơi, kết tủa, sắc ký, lọc, nghiền, và kết tinh. Các chất phản ứng và nguyên liệu ban đầu có thể kiếm được một cách dễ dàng bởi chuyên gia trong lĩnh vực này. Tất cả các phần tử thay thế, trừ khi có quy định khác, là được xác định như trên. Cần hiểu rằng các sơ đồ, quy trình, và ví dụ này là không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

Sơ đồ 1



Quy trình điều chế 1

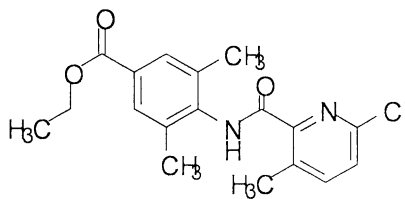
Tổng hợp axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic.



Sơ đồ 1, bước A. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 1N (10ml) vào dung dịch chứa methyl 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylat (1,0g, 5,39mmol) trong THF:MeOH (10ml:2ml) trong khi khuấy. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 giờ. Dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất bán rắn được hòa tan trong nước và axit hóa đến độ pH=1-2 bằng dung dịch nước HCl 1N. Chất kết tủa thu được là được lọc, rửa bằng nước, và sấy khô ở nhiệt độ 40°C trong lò chân không trong thời gian 12 giờ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (780mg, 84%). Phổ khối (m/z): 172,0 (M+1).

Quy trình điều chế 2

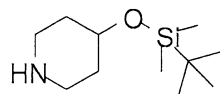
Tổng hợp etyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 1, bước B. Bổ sung etyl 4-amino-3,5-đimetyl-benzoat (0,878g, 4,55mmol) và N,N-diisopropyletylamin (1,98ml, 11,36mmol) vào dung dịch chứa axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic (0,78g, 4,55mmol) trong CH₂Cl₂ (15ml) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 3,25ml, 5,46mmol) được bổ sung vào qua xyranh. Sau 48 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng gradient bằng 0-40% etyl axetat trong hexan. Sau khi tinh chế, chất rắn được nghiền với 30% etyl axetat trong hexan và lọc để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng bột màu trắng (0,907g, 57,5%). Phổ khối (m/z): 347,2 (M+1).

Quy trình điều chế 3

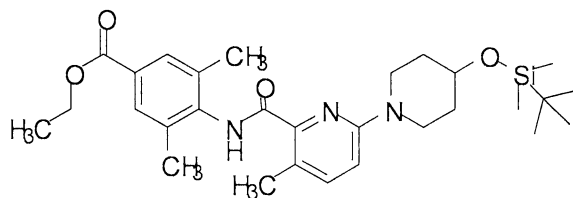
Tổng hợp tert-butyl-dimetyl-(4-piperidyloxy)silan.



Sơ đồ 1, chất phản ứng bước C. Bổ sung 1*H*-imidazol (2,69g, 39,55mmol), tiếp theo là, t-butylđimetylclosilan (3,58g, 23,73mmol) vào dung dịch chứa 4-hydroxypiperidin (2,00g, 9,89mmol) trong CH₂Cl₂ (30ml) và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 12 giờ, hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước, dung dịch bão hòa NaHCO₃, và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 100% CH₂Cl₂ đến 10% 7N amoniac trong MeOH/90% CH₂Cl₂ để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,69g, 86,3%). Phổ khối (m/z): 216,2 (M+1).

Quy trình điều chế 4

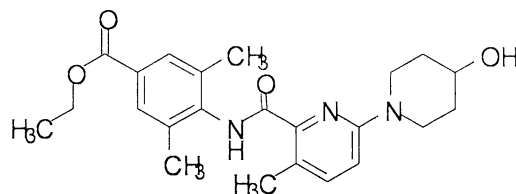
Tổng hợp etyl 4-[[6-[4-(tert-butyl(dimetyl)silyl)oxy-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 1, bước C. Bổ sung (iPr)Pd(xinamyl)Cl (16,43mg, 0,03mmol) tiếp theo là, lithi bis(trimetylsilyl)amit (3,81ml) vào dung dịch chứa etyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-dimetyl-benzoat, (440mg, 1,27mmol) trong THF (1,6ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 18 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với dung dịch NaHCO₃ bão hòa và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 0 - 30% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (278mg, 41%). Phổ khối (m/z): 526,2 (M+1).

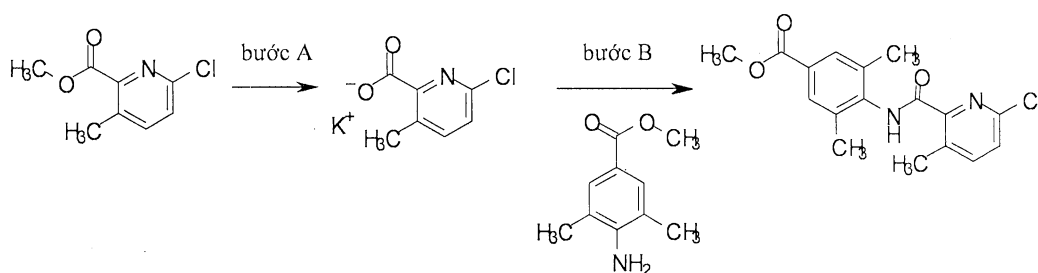
Quy trình điều chế 5

Tổng hợp etyl 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat.



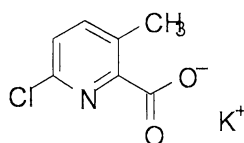
Sơ đồ 1, bước D. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (0,975ml, 0,975mmol) vào dung dịch chứa etyl 4-[[6-[4-(tert-butyl(dimethyl)silyl)oxy-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat (342mg, 0,650mmol) trong THF (4ml) ở nhiệt độ 0°C . Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 12 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 0 - 40% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (223mg, 83,3%). Phổ khối (m/z): 412,2 ($M+1$).

Sơ đồ 2



Quy trình điều chế 6

Tổng hợp kali 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylat.

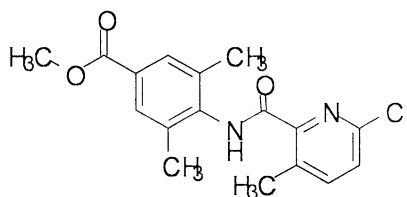


Sơ đồ 2, bước A. Bổ sung methyl 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylat (50g, 269,4mmol) vào dung dịch chứa kali hydroxit (18,7g, 282,9mmol) trong rượu isopropylic (2000ml). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian

1 giờ. Hexan (500ml) được bổ sung vào, và chất rắn là được lọc, rửa bằng hexan, và sấy khô trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 4 giờ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này (52g, 92%). Phổ khối (m/z): 172,0 (M+1). ^1H NMR (300 MHz, D_2O): 7,62 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 2,23 (s, 3H).

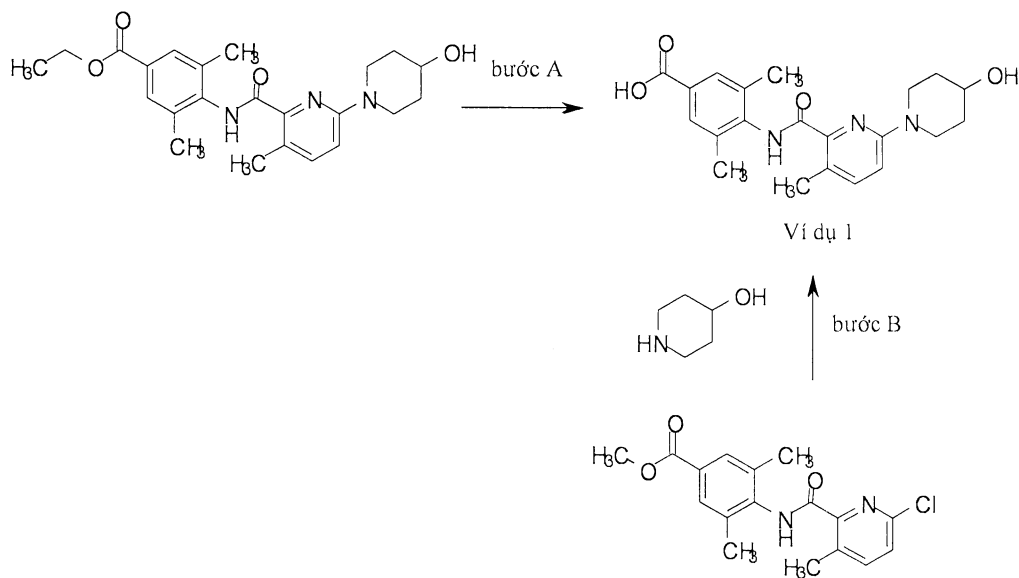
Quy trình điều chế 7

Tổng hợp methyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-dimetyl-benzoat.



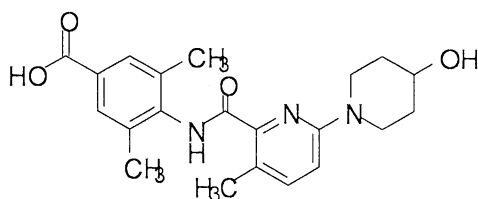
Sơ đồ 2, bước B. Bổ sung bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphonic clorua (115g, 451,8mmol) vào huyền phù chứa kali 6-clopyridin-2-carboxylat (52g, 265,8mmol) trong dimetylformamit (676ml). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 30 phút. Metyl 4-amino-3,5-dimetyl-benzoat (42,9g, 239,2mmol, xem quy trình điều chế 12) và diisopropyletylamin (115,9ml, 664,5mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 16 giờ. Tiếp đó, rót hỗn hợp này vào nước (2000ml) và khuấy trong thời gian 30 phút. Chất rắn thu được được lọc và sấy khô trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 45°C. Chất khô được nghiền với hexan (1400ml) trong thời gian 2 giờ. Chất rắn thu được được lọc và sấy khô trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này (69g, 78%) ở dạng chất rắn màu trắng. Phổ khối (m/z): 333,05 (M+1). ^1H NMR (300 MHz, DMSO): 10,16 (s, 1H), 7,89 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,73 (s, 2H), 7,63 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,49 (s, 3H), 2,28 (s, 6H).

Sơ đồ 3



Ví dụ 1

Tổng hợp axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoic.



Sơ đồ 3, bước A. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 1N (1,08ml) vào trong khi khuấy dung dịch chứa ethyl 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat (223mg, 0,541mmol) trong THF:MeOH (4ml:2ml). Sau khi đun nóng ở 40°C trong thời gian 12 giờ, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất bán rắn được hòa tan trong nước và axit hóa đến độ pH=3 bằng dung dịch nước HCl 1N. Chất kết tủa thu được được lọc, rửa bằng nước, và sấy khô ở nhiệt độ 40°C trong lò chân không trong thời gian 12 giờ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (160mg, 77%). Phổ khối (m/z): 384,2 (M+1).

Quy trình khác để tổng hợp axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoic.

Sơ đồ 3, bước B. Bổ sung 4-hydroxypiperidin (171,2g, 1660mmol) vào dung dịch chứa metyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-dimetyl-benzoat (69g, 207,3mmol) trong N-metylpyrrolidon (483ml) và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 150°C trong thời gian 4 giờ. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và rót vào nước (1000ml). Hỗn hợp này được rửa bằng metyl *t*-butyl ete (300ml). Tiếp theo, axit hóa lớp nước đến độ pH=2 bằng dung dịch nước HCl 36%. Hỗn hợp này được chiết bằng dung dịch chứa 1/1 etyl axetat/metyl-*t*-butyl ete (3x250ml). Lớp hữu cơ được làm bay hơi đến khô. Bổ sung nước (500ml) vào cặn và hỗn hợp thu được được khuấy trong thời gian 30 phút, lọc và các chất lọc được sấy khô trong lò chân không ở nhiệt độ 45°C qua đêm. Chất rắn màu nâu nhạt đã sấy khô được hòa tan trong axeton (500ml) và đun nóng đến 50°C. Bổ sung từ từ nước (1000ml) vào và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc, và các chất lọc được sấy khô trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 45°C. Các chất đã sấy khô được khuấy trong etyl axetat (600ml) ở nhiệt độ 50°C trong thời gian hai giờ. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc, và các chất lọc được sấy khô trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 45°C qua đêm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (50,8g, 64%). Phổ khối (m/z): 384,2 (M+1). ¹H NMR (300 MHz, DMSO): 12,85 (s, 1H), 9,87 (s, 1H), 7,71 (s, 2H), 7,49 (d, *J*= 8,7 Hz, 1H), 7,01 (d, *J*= 8,7 Hz, 1H), 4,68 (d, *J*= 4,1 Hz, 1H), 4,11-4,04 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,15-3,07 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,27 (s, 6H), 1,81-1,77 (m, 2H), 1,44-1,32 (m, 2H).

Phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột

Có thể thu được phổ nhiễu xạ tia X (XRD - X-ray nhiễu xạ) của chất rắn dạng tinh thể bằng cách sử dụng nhiễu xạ kế tia X cho mẫu bột Bruker D4 Endeavor, có gắn nguồn CuKα $\lambda = 0,154060\text{nm}$ (1,54060 Å) và đầu dò Vantec, vận hành ở 35kV và 50mA. Mẫu được quét với góc nhiễu xạ 2θ nằm trong khoảng từ 4 đến 40°, với cỡ bước là 0,0087° và tốc độ quét là 0,5 giây/bước, và độ lệch 0,6mm, bộ phận chống tán xạ cố định 5,28mm, và các khe dò 9,5 mm. Bột khô được đưa vào thiết bị chứa mẫu

thạch anh và tạo bề mặt trơn nhẵn bằng cách sử dụng cái gạt thủy tinh. Đã biết rõ trong lĩnh vực tinh thể học là, đối với dạng tinh thể đã cho, cường độ tương đối của đỉnh nhiễu xạ có thể thay đổi do sự định hướng được ưu tiên do các yếu tố như hình thái học tinh thể và thói quen. Khi tác dụng của sự định hướng được ưu tiên có mặt, cường độ đỉnh thay đổi, nhưng vị trí đỉnh đặc trưng của dạng đa hình là không đổi. Ví dụ, xem The U. S. Pharmacopeia 35 - National formulary 30 Chapter <941> Characterization of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction (XRPD) Official December 1, 2012-May 1, 2013. Hơn thế nữa, cũng đã biết rõ trong lĩnh vực tinh thể học là đối với dạng tinh thể đã cho vị trí đỉnh ở góc có thể thay đổi một chút. Ví dụ, vị trí đỉnh có thể dịch chuyển do sự biến đổi về nhiệt độ hoặc độ ẩm tại đó mẫu được phân tích, mẫu được thay thế, hoặc khi có hoặc không có mặt chất nội chuẩn. Trong thử nghiệm này, những biến thiên vị trí đỉnh tính theo góc nhiễu xạ 2θ là $\pm 0,2$ sẽ được xem xét và được xem là những biến thiên không ảnh hưởng đến việc xác định một cách rõ ràng dạng tinh thể cần xem xét. Có thể xác nhận một dạng tinh thể trên cơ sở tổ hợp đơn nhất các đỉnh phân biệt (theo đơn vị góc nhiễu xạ $^{\circ}2\theta$), thường là các đỉnh nổi bật hơn. Phổ nhiễu xạ cho dạng tinh thể, thu được ở nhiệt độ môi trường xung quanh và độ ẩm tương đối, được hiệu chỉnh bằng cách dựa vào các đỉnh chuẩn NIST 675 (mica) ở các đỉnh ở góc nhiễu xạ 2θ là $8,85^{\circ}$ và $26,77^{\circ}$.

Ví dụ A

Quy trình điều chế axit 4-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-dimetyl-benzoic hydrat hóa.

Axit 4-[[6-(4-Hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoic (240,7 mg) được hòa tan trong 10ml hỗn hợp axeton:nước với tỷ lệ 1:1 để tạo ra dung dịch màu nhợt trong suốt. Hỗn hợp này được cô ở nhiệt độ trong phòng và dạng hydrat hóa tinh thể bắt đầu để kết tủa từ từ ra khỏi dung dịch trong thời gian vài phút. Chất rắn thu được được lọc và để khô trong không khí để tạo ra 197,5mg hợp chất nêu ở đề mục này.

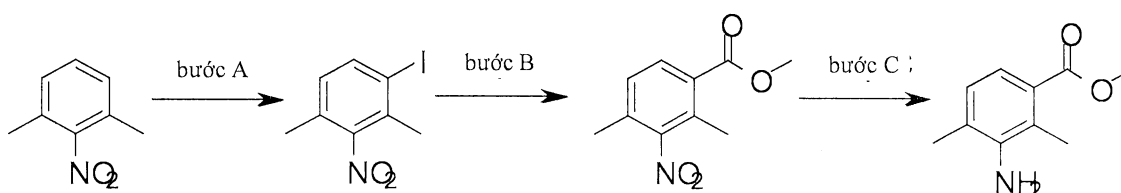
Mẫu được điều chế của hợp chất nêu ở đề mục của Ví dụ A là được đặc trưng bởi phổ nhiễu xạ tia X trên mẫu bột bằng cách sử dụng sự bức xạ CuK α do có đỉnh nhiễu xạ (trị số 2-theta) như được mô tả trong Bảng 1 dưới đây. Cụ thể, kiểu chứa

đỉnh ở $9,0^\circ$ kết hợp với hai hoặc nhiều đỉnh được chọn từ nhóm bao gồm $5,8^\circ$, $8,5^\circ$, $9,8^\circ$, $11,6^\circ$, $11,8^\circ$, $17,5^\circ$, và $24,2^\circ$ với độ dung sai cho góc nhiễu xạ bằng $0,2^\circ$.

Bảng 1. Đỉnh nhiễu xạ tia X trên mẫu bột của Ví dụ A.

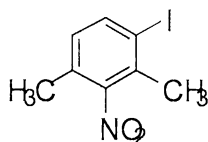
Pic	Góc (2-Theta $^\circ$)	Cường độ (%)
1	5,8	43
2	8,5	16
3	9,0	100
4	9,8	21
5	11,6	62
6	11,8	34
7	14,1	9
8	15,3	15
9	15,4	30
10	17,5	43
11	20,4	11
12	20,8	21
13	22,7	13
14	24,2	35
15	24,6	19
16	27,5	9

Sơ đồ 4



Quy trình điều chế 8

Tổng hợp 1-iodo-2,4-đimetyl-3-nitro-benzen.

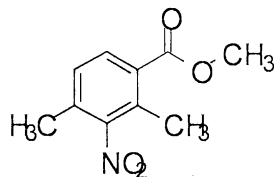


Sơ đồ 4, bước A: Bổ sung axit sulfuric (27,2ml, 510mmol), axit axetic (543,8ml, 9,49mol), iot (46g, 181,3mmol) và HIO₄ (91,9g, 403,3mmol) vào 1,3-đimetyl-2-nitro-benzen (68,5g, 453,2mmol). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 90°C trong thời gian 7 ngày. Hỗn hợp phản ứng này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và nước (500ml) được bổ sung vào. Chất rắn thu được được gom bằng cách lọc

và rửa bằng nước lạnh. Chất rắn thu được được sấy khô trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 45°C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng (119g, 95%). ^1H NMR (300,16 MHz, CDCl_3): δ 7,80 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,23 (s, 3H).

Quy trình điều chế 9

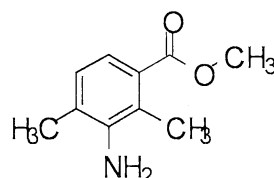
Tổng hợp methyl 2,4-đimetyl-3-nitro-benzoat.



Sơ đồ 4, Bước B: Bổ sung 1-iodo-2,4-đimetyl-3-nitro-benzen (70g, 252,7mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (2,8g, 12,6mmol), 1,4-bis(điphenylphosphino)butan (6,5g, 15,2mmol), axetonitril (462ml), triethylamin (88,2ml), và metanol (280ml) vào nồi hấp ParrTM dung tích 2 lít có lắp khuấy cơ. Nồi hấp ParrTM này được bật lại, đuổi khí và điều áp bằng CO đến áp suất 551,6 kPa (80 psig). Hỗn hợp này được đun nóng đến 100°C trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và tiếp theo, xả khí. Tiếp đó, cô hỗn hợp này đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Etyl axetat (300ml) và nước (300ml) được bổ sung vào. Các lớp được tách và lớp nước được bỏ đi. Lớp hữu cơ được làm khô trên MgSO_4 , lọc, và cô đến khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng màu đỏ dầu mà nó kết tinh khi để yên (52g, 98%). ^1H NMR (300,13 MHz, CDCl_3): δ 7,89 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,19 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 2,49 (s, 3H), 2,33 (s, 3H).

Quy trình điều chế 10

Tổng hợp methyl 3-amino-2,4-đimetyl-benzoat.

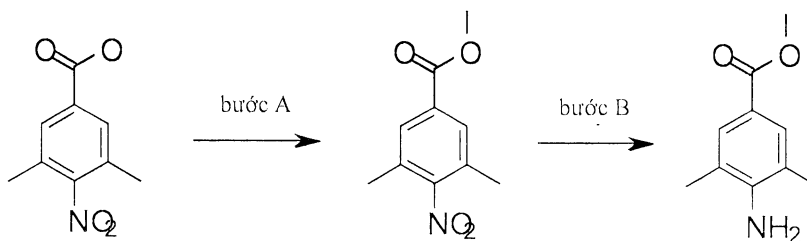


Sơ đồ 4, Bước C: Bổ sung 10% paladi trên than ướt 50% (5,6 g) vào dung dịch chứa methyl 2,4-đimetyl-3-nitro-benzoat (37g, 176,9mmol) trong metanol (370ml). Hỗn hợp phản ứng được sục hydro và đặt trong khí quyển hydro trong 6 ngày. Hỗn hợp này được lọc qua đất tảo diatomit và dịch lọc được làm bay hơi đến khô. Cặn thu

được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel), rửa giải bằng etyl axetat 20% trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu màu vàng (20,5g, 65%).

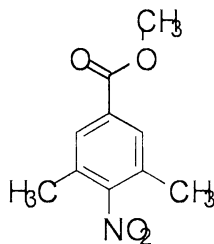
Phổ khối (m/z): 180,1 (M+1). ^1H NMR (300,16 MHz, DMSO- d_6): δ 6,89 (s, 2H), 4,78 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,12 (s, 3H).

Sơ đồ 5



Quy trình điều chế 11

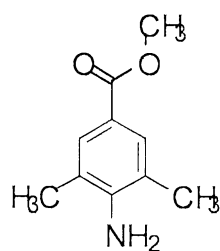
Tổng hợp methyl 3,5-đimetyl-4-nitro-benzoat.



Sơ đồ 5, bước A. Bổ sung thionyl clorua (10ml) ở nhiệt độ 0 °C vào dung dịch chứa axit 3,5-đimetyl-4-nitro-benzoic (10,0g, 0,0512mol) trong MeOH (150ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 80°C. Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng này được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Cặn này được pha loãng với nước (50ml) và bazơ hóa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa đến độ pH=7-8 và chiết bằng EtOAc (2x120ml). Gôm các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (10,71g, 98,3%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO): δ 7,83 (s, 2H), 3,88 (s, 3H), 2,30 (s, 6H).

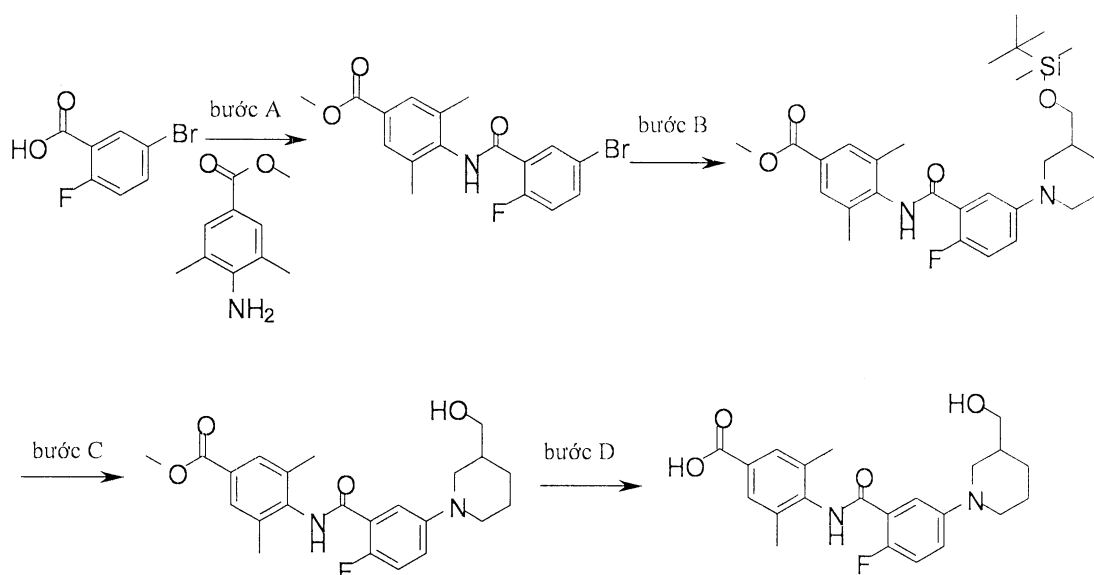
Quy trình điều chế 12

Tổng hợp methyl 4-amino-3,5-đimetyl-benzoat.



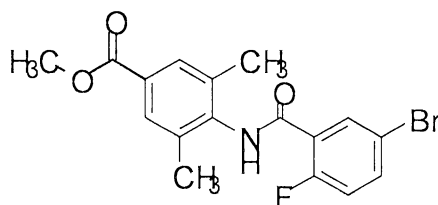
Sơ đồ 5, bước B. Bổ sung bột sắt (15,7g, 0,2869mol) và dung dịch HCl 37% (1,72g, 0,0478mol) ở 0 °C vào dung dịch chứa metyl 3,5-đimetyl-4-nitrobenzoat (10,0g, 0,0478mol) trong metanol (100ml). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở nhiệt độ 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và lọc qua đệm Celite™ và rửa bằng metanol, tiếp theo là, làm bay hơi dịch lọc đến khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu (7,8g, 99%). Phổ khối (m/z): 180,2 (M+1).

Sơ đồ 6



Quy trình điều chế 13

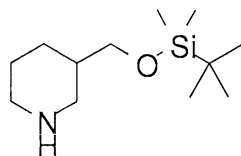
Tổng hợp metyl 4-[(5-bromo-2-flo-benzoyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 6, bước A. Bổ sung methyl 4-amino-3,5-dimethylbenzoat (2,86g, 15,9mmol, xem quy trình điều chế 12) và N,N-diisopropyletylamin (8,35ml, 47,9mmol) vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-flobenzoic (3,50g, 15,9mmol) trong CH_2Cl_2 (50ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 20,5ml, 31,9mmol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 36 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na_2SO_4 , lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 10% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (4,20g, 69%). Phổ khối (m/z): 380,2 ($\text{M}+1$).

Quy trình điều chế 14

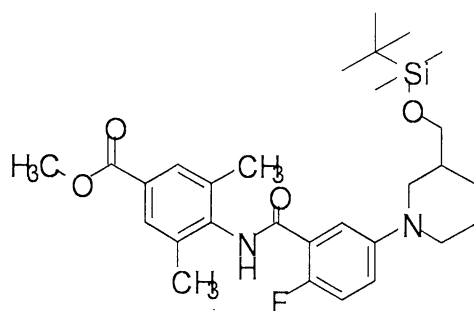
Tổng hợp tert-butyl-đimetyl-(3-piperidylmetoxy)silan.



Sơ đồ 6, bước B. Bổ sung trietylamin (5,53g, 0,0547mol) tiếp theo là, t-butylđimetylclosilan (4,127g, 0,0275mol) vào dung dịch chứa piperidin-3-ylmetanol (2,10g, 0,018mol) trong CH_2Cl_2 (20ml) và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 24 giờ, hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước, dung dịch bão hòa NaHCO_3 , và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 0-10% MeOH trong diclometan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,50g, 60%). Phổ khối (m/z): 231,2 ($\text{M}+1$).

Quy trình điều chế 15

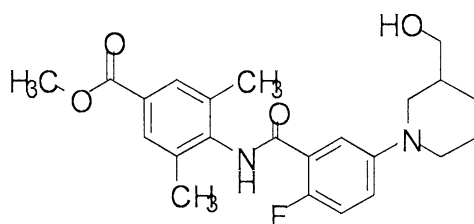
Tổng hợp methyl 4-[[5-[3-[[tert-butyl(đimetyl)silyl]oxymetyl]-1-piperidyl]-2-flobenzoyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 6, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,10g, 0,105mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,043g, 0,105mmol) vào dung dịch chứa methyl 4-[(5-bromo-2-fluorobenzoyl)amino]-3,5-dimethylbenzoat (0,40g, 1,05mmol), tert-butyl-dimethyl-(3-piperidylmethoxy)silan (0,362g, 1,57mmol) và Cs_2CO_3 (1,04g, 3,15mmol) trong 1,4-dioxan (6ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 90°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gôm dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 10% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu màu vàng nhợt (0,22g, 40%). Phổ khối (m/z): 529,2 (M+1).

Quy trình điều chế 16

Tổng hợp methyl 4-[[2-fluoro-5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimethylbenzoat.

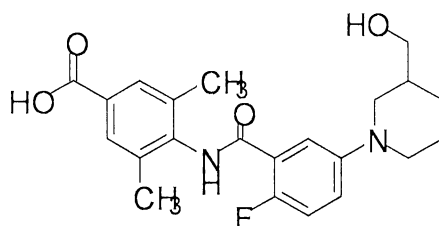


Sơ đồ 6, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (0,35g, 1,60mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 4-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-fluorobenzoyl]amino]-3,5-dimethylbenzoat (0,30g, 0,54mmol) trong THF (8ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 4 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gôm các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng

dùng etyl axetat trong hexan làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,10g, 55%). Phổ khối (m/z): 414,2 (M+1).

Ví dụ 2

Tổng hợp axit 4-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoic.



Sơ đồ 6, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2,00ml) vào dung dịch chứa metyl 4-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoat (0,18g, 0,43mmol) trong THF:MeOH (3ml:1ml) trong khi khuấy. Sau 16 giờ ở 50°C, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N và chiết bằng CH₂Cl₂. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,12g, 69%). Phổ khối (m/z): 401,2 (M+1).

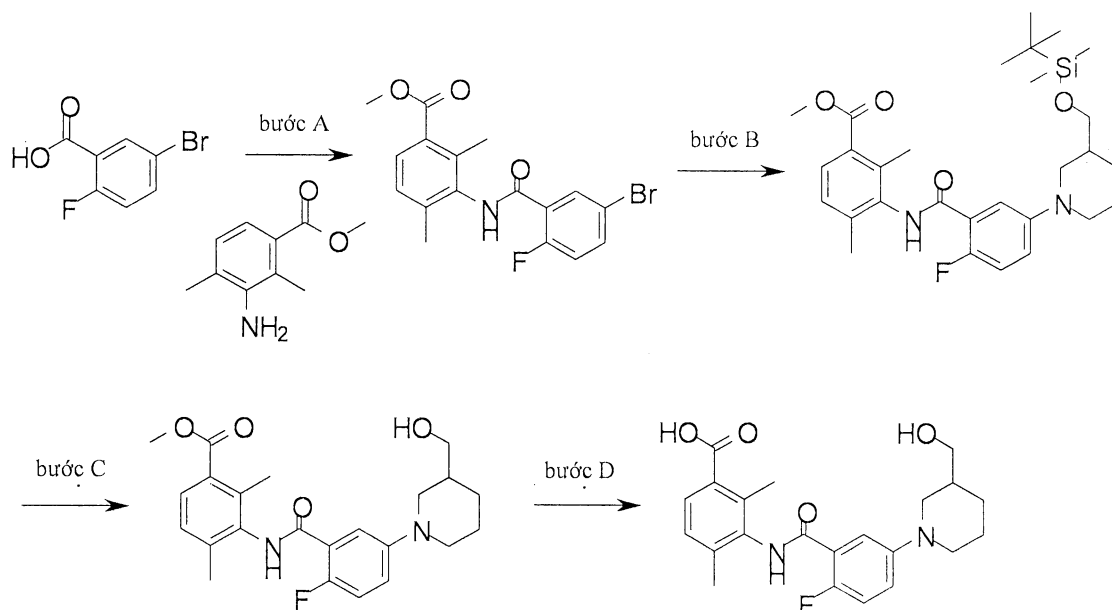
Tách bất đối xứng raxemic axit 4-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoic.

Axit 4-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoic được tách bằng sắc ký bất đối xứng bằng cách sử dụng Chiralpak™ AD-H, 25% MeOH/CO₂, 5ml/phút, 225nm để tạo ra:

Ví dụ 2A: chất đồng phân 1 axit 4-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoic. Đỉnh rửa giải ở 2,52 phút. Phổ khối (m/z): 401,2 (M+1).

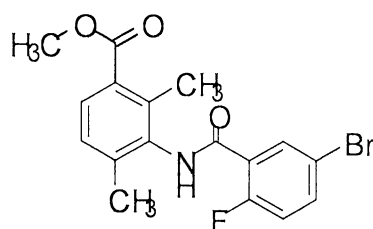
Ví dụ 2B: chất đồng phân 2 axit 4-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoic. Đỉnh rửa giải ở 2,93 phút. Phổ khối (m/z): 401,2 (M+1).

Sơ đồ 7



Quy trình điều chế 17

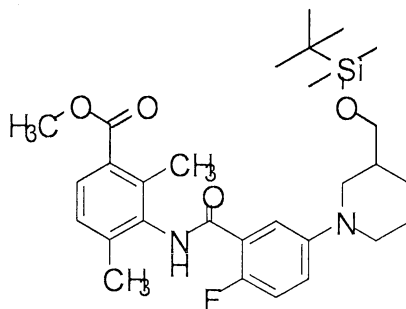
Tổng hợp methyl 3-[(5-bromo-2-fluorobenzoyl)amino]-2,4-dimethylbenzoat.



Sơ đồ 7, bước A. Bổ sung methyl 3-amino-2,4-dimethylbenzoat (409mg, 2,28mmol, xem quy trình điều chế 10) và N,N-diisopropyletylamin (737,6mg, 5,71mmol) vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-fluorobenzoic (500mg, 2,28mmol) trong CH_2Cl_2 (15ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 1,74g, 2,74mmol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ 50°C . Sau 16 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được nghiền với MeOH để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (450mg, 51,8%). Phổ khối (m/z): 380,2 (M+1).

Quy trình điều chế 18

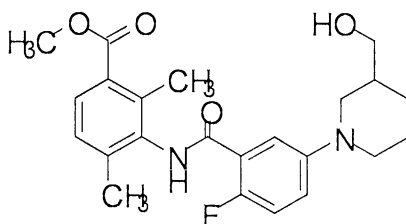
Tổng hợp metyl 3-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-flo-benzoyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 7, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,168g, 0,184mol) tiếp theo là, S-Phos (0,075g, 0,184mol) vào dung dịch chứa metyl 3-[(5-bromo-2-flo-benzoyl)amino]-2,4-dimetyl-benzoat (0,7g, 1,84mmol), tert-butyl-dimetyl-(3-piperidylmetoxy)silan (2,53g, 11,03mmol, xem quy trình điều chế 14) và Cs_2CO_3 (1,81g, 5,50mmol) trong 1,4-dioxan (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 120°C . Sau 6 giờ, hỗn hợp phản ứng này được cô trong điều kiện áp suất giảm và cạn được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Quy trình điều chế 19

Tổng hợp metyl 3-[[2-flo-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat.

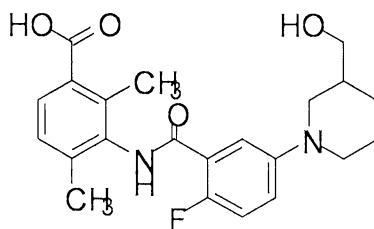


Sơ đồ 7, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (5,73g, 0,0219mol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl 3-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-flo-benzoyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat (2,9g, 5,48mmol) trong THF (20ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 4 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm

để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 35-45% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,38g, 16,8%). Phổ khối (m/z): 415,2 ($M+1$).

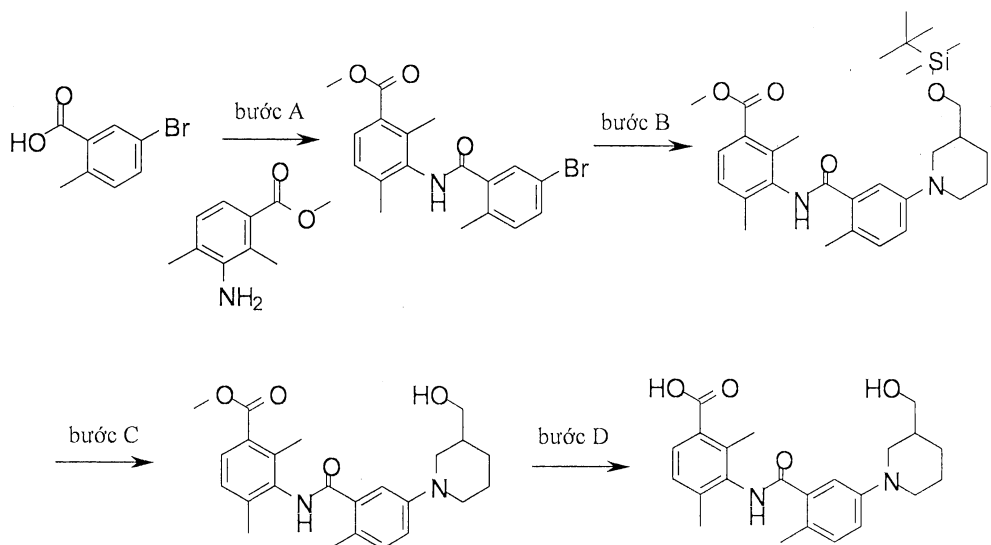
Ví dụ 3

Tổng hợp axit 3-[[2-flu-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-2,4-dimetylbenzoic.



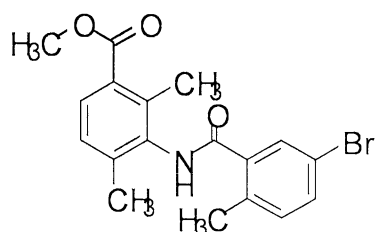
Sơ đồ 7, bước D. Bổ sung dung dịch chứa NaOH (0,146mg, 0,00366mol) trong 1,5ml H₂O vào dung dịch chứa metyl 3-[[2-flu-5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]benzoyl]amino]-2,4-dimetylbenzoat (0,38g, 0,000916mol) trong THF:EtOH (3ml:2ml) trong khi khuấy. Sau 4 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ được kết hợp và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (85 mgg, 36,8%). Phổ khối (m/z): 401,2 ($M+1$).

Sơ đồ 8



Quy trình điều chế 20

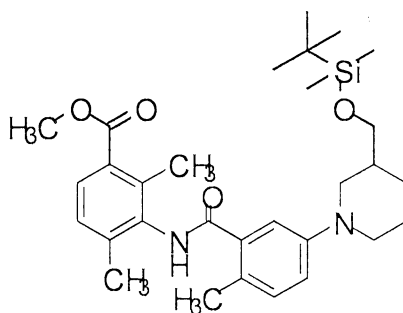
Tổng hợp methyl 3-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-2,4-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 8, bước A. Bổ sung methyl 3-amino-2,4-dimetylbenzoat (1,49g, 0,0084mol, xem quy trình điều chế 10) và N,N-diisopropyletylamin (4,79g, 0,0372mol) vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-metylbenzoic (2,0g, 0,0093mol) trong CH₂Cl₂ (20ml) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, 1-propanphosphonic anhydrit vòng của axit (50% dung dịch trong etyl axetat, 8,87g, 0,028mol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ 50°C. Sau 16 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước và chiết hai lần bằng etyl axetat. Gôm các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na₂SO₄, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 10% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (2,80g, 80%). Phổ khối (m/z): 376,1 (M+1).

Quy trình điều chế 21

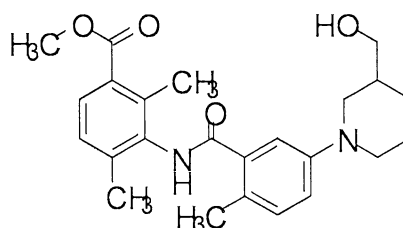
Tổng hợp methyl 3-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 8, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,12g, 0,132mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,050g, 0,132mmol) vào dung dịch chứa methyl 3-[(5-bromo-2-methyl-benzoyl)-amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,5g, 1,32mmol), tert-butyl-dimethyl-(3-piperidyl-methoxy)silan (0,45g, 1,99mmol, xem quy trình điều chế 14) và Cs_2CO_3 (1,29g, 3,98mmol) trong 1,4-dioxan (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 110°C . Sau 6 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 15% EtOAc trong hexan làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu nâu (0,6g, 85%). Phổ khối (m/z): 525,2 ($\text{M}+1$).

Quy trình điều chế 22

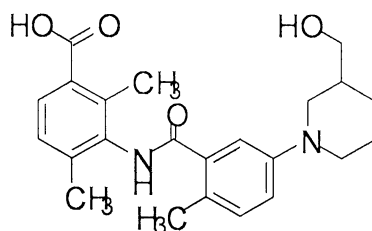
Tổng hợp methyl 3-[[5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 8, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (0,596g, 2,28mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 3-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,60g, 1,14mmol) trong THF (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng ethyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 4% metanol trong diclometan làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,4g, 85,5%). Phổ khối (m/z): 411,4 (M+1).

Ví dụ 4

Tổng hợp axit 3-[[5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoic.



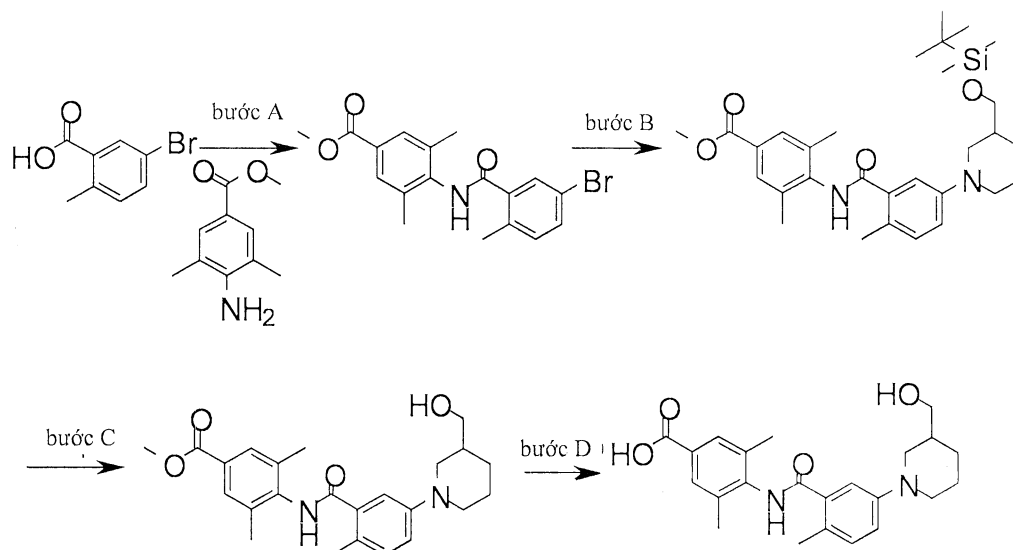
Sơ đồ 8, bước D. Bổ sung Dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 4N (4,00ml) vào dung dịch chứa methyl 3-[[5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]-amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,4g, 0,975mmol) trong THF:MeOH (10ml:5ml) trong khi khuấy. Sau 4 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết hai lần bằng 10% IPA trong CH_2Cl_2 . Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với diethyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu nhạt (0,28g, 72,5%). Phổ khối (m/z): 397,2 (M+1). Tách bất đối xứng racemic axit 3-[[5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoic.

Axit 3-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoic được tách bằng sắc ký bất đối xứng bằng cách sử dụng Chiralcel™ OJ-H, 15% MeOH/CO₂, 5ml/phút, 225nm để tạo ra:

Ví dụ 4A: chất đồng phân 1 axit 3-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoic. Đỉnh rửa giải ở 1,76 phút. Phổ khối (m/z): 397,2 (M+1).

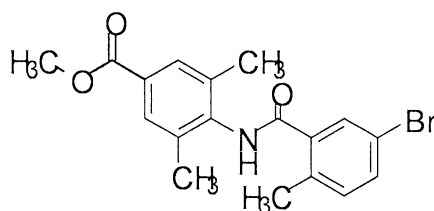
Ví dụ 4B: chất đồng phân 2 axit 3-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoic. Đỉnh rửa giải ở 2,49 phút. Phổ khối (m/z): 397,2 (M+1).

Sơ đồ 9



Quy trình điều chế 23

Tổng hợp methyl 4-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat.

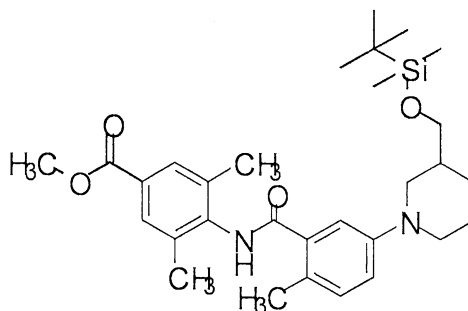


Sơ đồ 9, bước A. Bổ sung methyl 4-amino-3,5-đimetylbenzoat (1,28g, 0,0072, xem quy trình điều chế 12) và N,N-điisopropyletylamin (4,12g, 0,032mol) vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-metylbenzoic (2,0g, 0,008mol) trong CH₂Cl₂ (20ml) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 7,63g, 0,024mol) được

bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ 50°C. Sau 16 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước và chiết hai lần bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na₂SO₄, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 12% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (2,9g, 97%). Phổ khối (m/z): 376,0 (M+1).

Quy trình điều chế 24

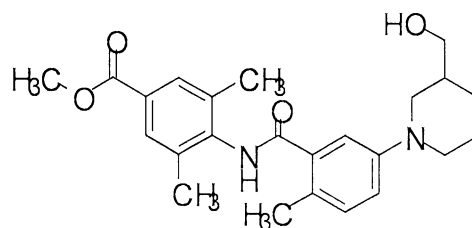
Tổng hợp metyl 4-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-metylbenzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoat.



Sơ đồ 9, bước B. Bổ sung Pd₂(dba)₃ (0,12g, 0,00013mol) tiếp theo là, S-Phos (0,054g, 0,00013mol) vào dung dịch chứa metyl 4-(5-bromo-2-metylbenzamido)-3,5-dimetylbenzoat (0,5g, 0,0013mol), tert-butyl-dimetyl-(3-piperidylmetoxy)silan (0,45g, 0,0019mol, preparation 14) và Cs₂CO₃ (1,29g, 0,0039mol) trong 1,4-dioxan (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 110°C. Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 15% etyl axetat trong hexan làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu nâu (0,4g, 57,3%). Phổ khối (m/z): 525,2 (M+1).

Quy trình điều chế 25

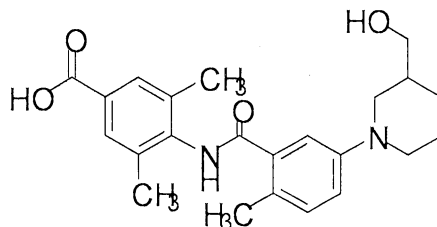
Tổng hợp metyl 4-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metylbenzoyl]amino]-3,5-dimetylbenzoat.



Sơ đồ 9, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (0,39g, 1,52mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 4-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoat (0,40g, 0,76mmol) trong THF (10ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 4% MeOH trong điclorometan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu nhạt (0,30g, 96%). Phổ khối (m/z): 411,5 ($M+1$).

Ví dụ 5

Tổng hợp axit 4-[[5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoic.



Sơ đồ 9, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 4N (2,00ml) vào dung dịch chứa methyl 4-[[5-[3-(hydroxymethyl)-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoat (0,3g, 0,73mmol) trong THF:MeOH (10ml:5ml) trong khi khuấy. Sau 16 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết bằng 10% IPA trong CH_2Cl_2 . Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với diethyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu nhạt (0,27g, 90%). Phổ khối (m/z): 397,2 ($M+1$).

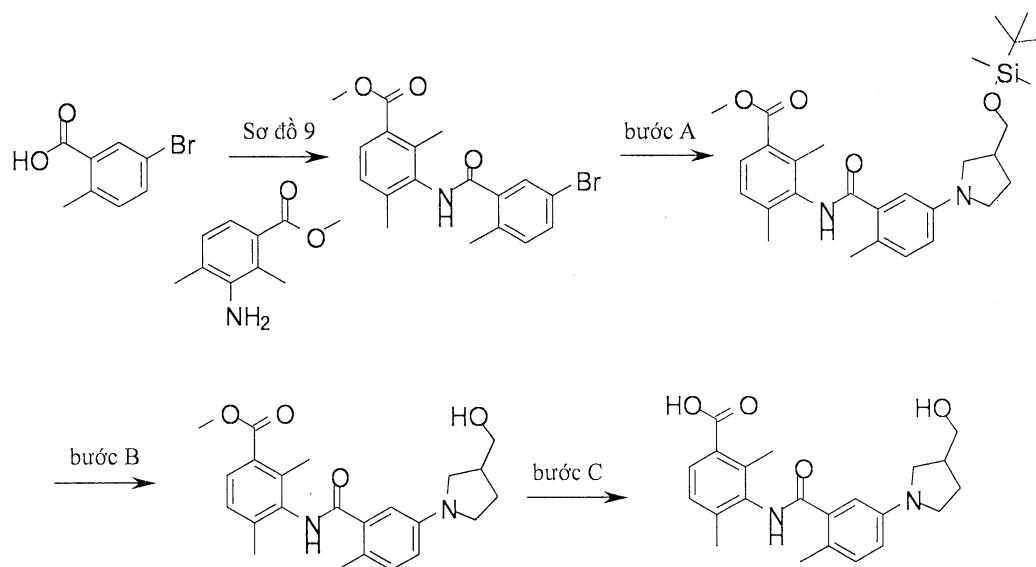
Tách bất đối xứng racemic axit 4-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoic.

Axit 4-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoic được tách bằng sắc ký bất đối xứng bằng cách sử dụng Chiralpak AD-H, 30% EtOH/CO₂, 5ml/phút, 225nm để tạo ra:

Ví dụ 5A: chất đồng phân 1 4-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-3,5-axit đimetyl-benzoic. Đỉnh rửa giải ở 4,22 phút. Phổ khối (m/z): 397,2 (M+1).

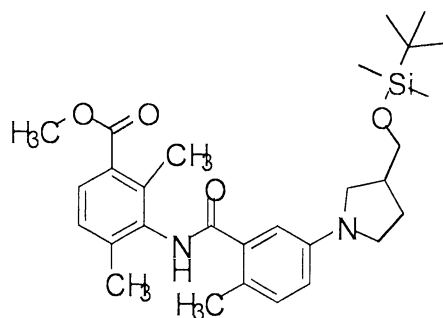
Ví dụ 5B: Chất đồng phân 2 axit 4-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoic. Đỉnh rửa giải ở 5,30 phút. Phổ khối (m/z): 397,2 (M+1).

Sơ đồ 10



Quy trình điều chế 26

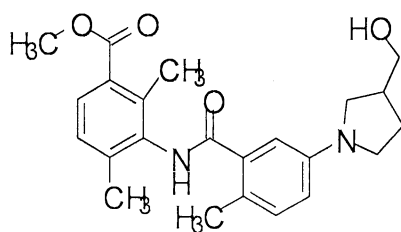
Tổng hợp methyl 3-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymetyl]pyrrolidin-1-yl]-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 10, bước A. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,12g, 0,132mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,054g, 0,132mmol) vào dung dịch chứa methyl 3-[(5-bromo-2-methyl-benzoyl)amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,5g, 1,32mmol), tert-butyl-dimethyl-(pyrrolidin-3-ylmetoxy)silan (0,4g, 1,99mmol) và Cs_2CO_3 (1,2g, 3,99mmol) trong 1,4-dioxan (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 100°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gôm dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 20% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu nâu (0,36g, 53%). Phổ khối (m/z): 511,2 (M+1).

Quy trình điều chế 27

Tổng hợp methyl 3-[[5-[3-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.

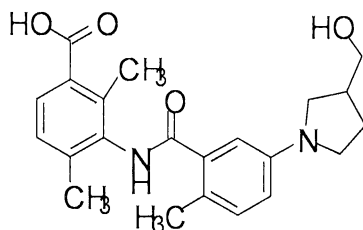


Sơ đồ 10, bước B. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (0,537g, 2,05mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 3-[[5-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-pyrrolidin-1-yl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,35g, 0,686mmol) trong THF (50ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết hai lần bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel)

bằng gradient sử dụng 50% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu (150mg, 51%).

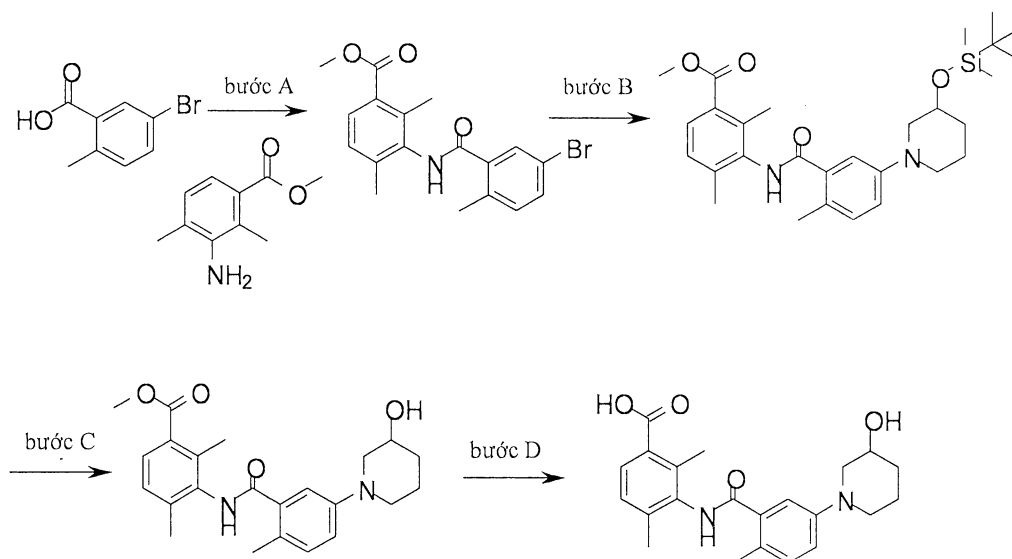
Ví dụ 6

Tổng hợp axit 3-[[5-[3-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl]-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoic.



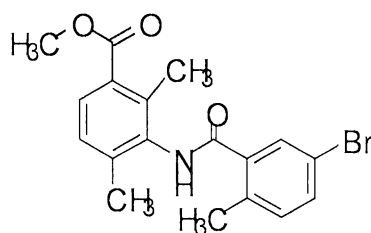
Sơ đồ 10, bước C. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 5N (5,00ml) vào dung dịch chứa metyl 3-[[5-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-2-metyl-benzoyl]-amino]-2,4-đimetyl-benzoat (0,4g, 0,975mmol) trong MeOH (5ml) trong khi khuấy. Sau 5 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết hai lần bằng 10% IPA trong CH₂Cl₂. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu (70mg, 56%). Phổ khối (m/z): 381,2 (M-1).

Sơ đồ 11



Quy trình điều chế 28

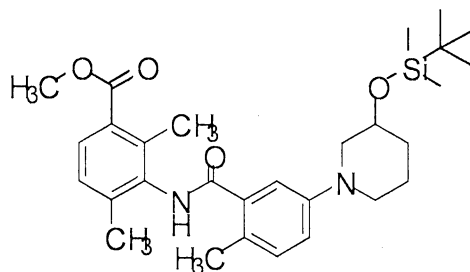
Tổng hợp methyl 3-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-2,4-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 11, bước A. Bổ sung methyl 3-amino-3,5-dimetylbenzoat (1,49g, 0,0083mol, xem quy trình điều chế 12) và N,N-điisopropyletylamin (4,79g, 0,037mol) vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-metyl-benzoic (2,0g, 0,0093mol) trong CH_2Cl_2 (20ml) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 8,87g, 0,027mol) được bổ sung vào qua xyranh và được đun nóng ở nhiệt độ 50°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với CH_2Cl_2 , rửa bằng nước và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na_2SO_4 , lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 10% EtOAc trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng bột màu trắng (2,8g, 80%).

Quy trình điều chế 29

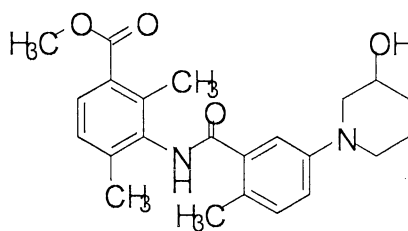
Tổng hợp metyl 3-[[5-[3-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]-amino]-2,4-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 11, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,12g, 0,132mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,054g, 0,132mmol) vào dung dịch chứa metyl 3-[(5-bromo-2-methyl-benzoyl)-amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,5g, 1,32mmol), tert-butyl-dimethyl-(3-piperidyloxy)-silan (0,425g, 1,98mmol) và Cs_2CO_3 (1,28g, 3,96mmol) trong 1,4-dioxan (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 100°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 10% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu nâu (0,4g, 60%).

Quy trình điều chế 30

Tổng hợp metyl 3-[[5-(3-hydroxy-1-piperidyl)-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.

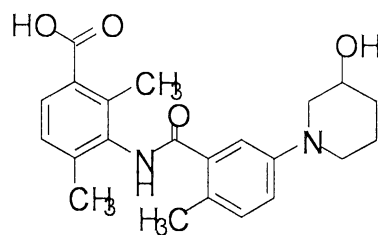


Sơ đồ 11, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (0,409g, 1,56mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl 3-[[5-[3-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,4g, 0,78mmol) trong THF (20ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết hai lần bằng etyl

axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 3% metanol trong điclorometan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,3g, 97%).

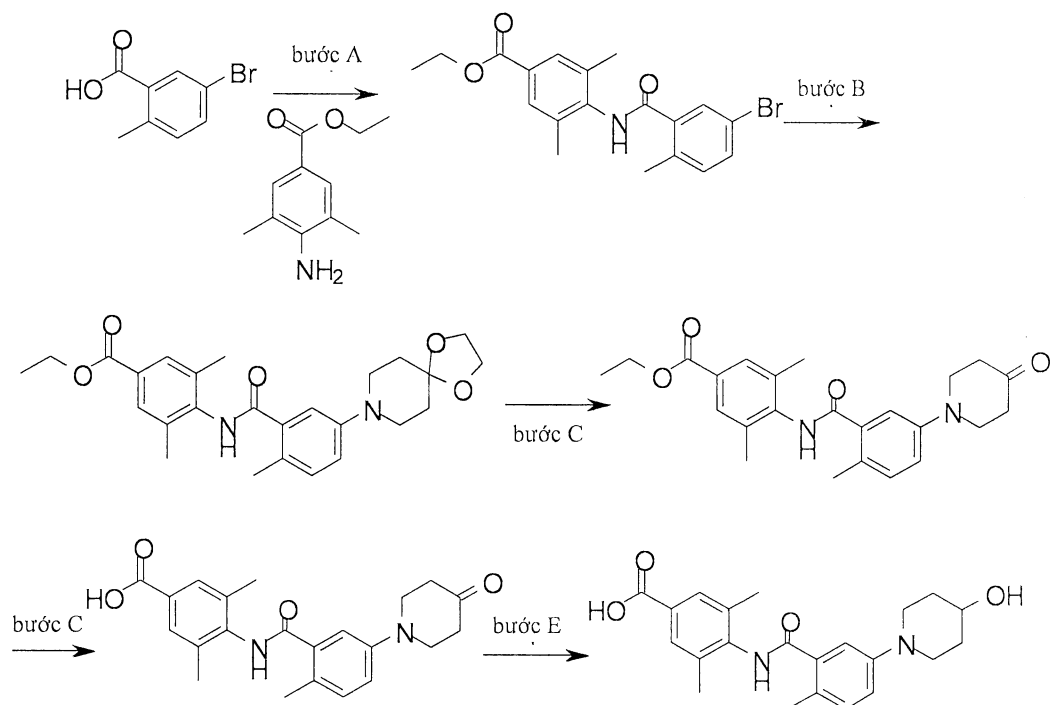
Ví dụ 7

Tổng hợp axit 3-[[5-(3-hydroxy-1-piperidyl)-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-dimetylbenzoic.



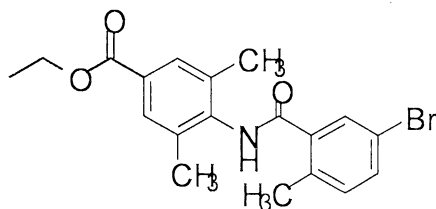
Sơ đồ 11, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 4N (2,00ml) vào dung dịch chứa methyl 3-[[5-(3-hydroxy-1-piperidyl)-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-dimetylbenzoat (0,3g, 0,75mmol) trong THF:MeOH (5ml:2ml) trong khi khuấy. Sau 3 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết bằng 10% IPA trong CH₂Cl₂. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,274g, 94%). Phổ khối (m/z): 383,2 (M+1).

Sơ đồ 12



Quy trình điều chế 31

Tổng hợp etyl 4-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat.

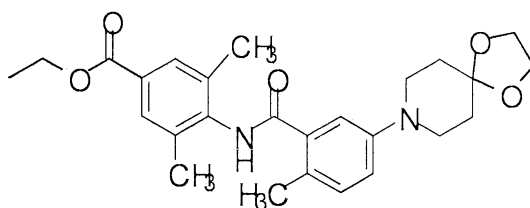


Sơ đồ 12, bước A. Bổ sung nhỏ giọt oxalyl clorua (587,12 μ l, 6,77mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-metyl-benzoic (1,35g, 6,15mmol) trong THF (15ml), CH_2Cl_2 (15ml) và DMF (14,27 μ l, 184,57 μ mol) và hỗn hợp phản ứng được để ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung CH_2Cl_2 (30ml) vào căn này và hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống 0°C, tiếp theo bổ sung etyl 4-amino-3,5-đimetyl-benzoat (1,19g, 6,15mmol), tiếp theo là, 4-pyridinamin, N,N-đimetyl- (37,58mg, 307,61 μ mol) và pyridin (1,49ml, 18,46mmol). Bể làm mát được lấy đi và dung dịch trong suốt được để ấm đến nhiệt độ môi trường. Sau 5 giờ, dung môi được loại bỏ và hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với etyl axetat và rửa bằng dung dịch HCl 1N, dung dịch

natri bicacbonat bão hòa, và nước muối. Gôm các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na_2SO_4 , lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được nghiền với hexan và chất rắn thu được được gom bằng cách lọc để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (1,80 g; 75,2%). Phổ khối (m/z): 390,2 (M+1).

Quy trình điều chế 32

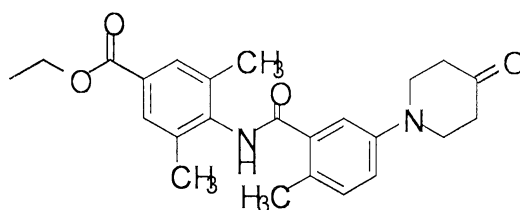
Tổng hợp etyl 4-[[5-(1,4-đioxa-8-azaspiro[4,5]đecan-8-yl)-2-metyl-benzoyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 12, bước B. Bổ sung $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,04g, 0,19mmol), tiếp theo là, raxemic-2,2'-bis(điphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl (119,7mg, 0,19mmol) vào dung dịch chứa etyl 4-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat (0,5g, 1,28mmol), 1,4-đioxa-8-azaspiro(4,5)đecan (0,22g, 1,54mmol) và Cs_2CO_3 (1,25g, 3,84mmol) trong THF (10ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 90°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và pha loãng với amoni clorua và chiết hai lần bằng EtOAc. Gôm các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-100% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu (0,21g, 36,2%). Phổ khối (m/z): 453,2 (M+1).

Quy trình điều chế 33

Tổng hợp etyl 3,5-đimetyl-4-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]benzoat.

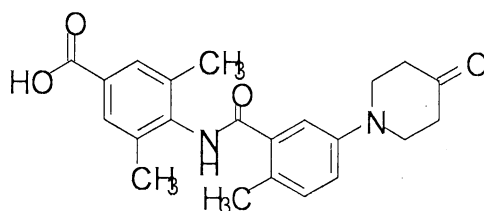


Sơ đồ 12, bước C. Bổ sung hỗn hợp gồm dung dịch HCl 5M (1ml) trong H_2O (1ml) vào dung dịch chứa etyl 4-[[5-(1,4-đioxa-8-azaspiro[4,5]đecan-8-yl)-2-metyl-

benzoyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat (205mg, 452,99 μmol) trong axeton (5ml) và đun nóng đến 60°C . Sau 12 giờ, hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, pha loãng với dung dịch NaOH 2M đến độ pH=6 và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-40% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng bột màu trắng đục (0,11g, 61%). Phổ khối (m/z): 409,2 ($\text{M}+1$).

Quy trình điều chế 34

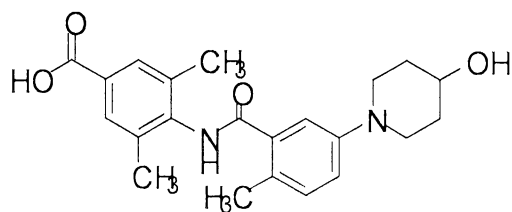
Tổng hợp axit 3,5-đimetyl-4-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]benzoic.



Sơ đồ 12, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2,00ml) vào trong khi khuấy dung dịch chứa etyl 3,5-đimetyl-4-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]benzoat (0,11g, 269,28 μmol) trong THF:MeOH (2,4ml:1,2ml). Sau 16 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=7 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết hai lần bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ với lớp nước và cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất rắn thu được được nghiền với hỗn hợp gồm axetonitril và etanol với tỷ lệ 1:1 để tạo ra bột nhão màu trắng, nó được lọc qua đệm Celite™. Dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa được nghiền với axeton và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (99mg, 99%). Phổ khối (m/z): 381,2 ($\text{M}+1$).

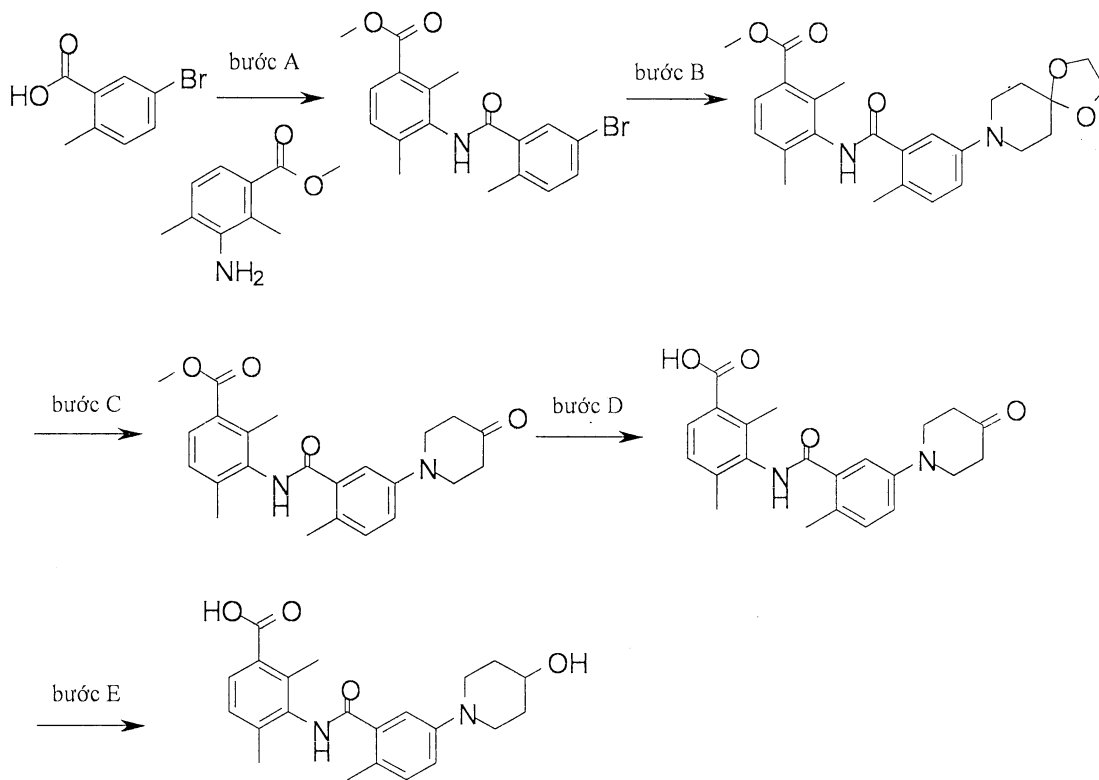
Ví dụ 8

Tổng hợp axit 4-[[5-(4-hydroxy-1-piperidyl)-2-metyl-benzoyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoic.



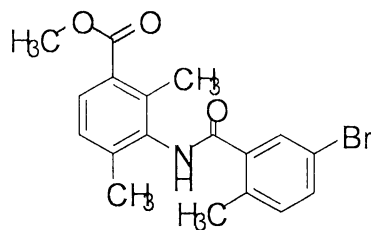
Sơ đồ 12, bước E. Bổ sung natri tetrahydroborat (13,82mg. 365,36 μmol) vào dung dịch chứa axit 3,5-đimetyl-4-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]-benzoic (69,5mg, 182,68 μmol) trong metanol (1,83ml) và hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp này được tôi bằng dung dịch NH_4Cl bão hòa (0,2ml) và chiết bằng CHCl_3 (3ml):IPA (1ml). Gôm các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất rắn thu được được nghiền với H_2O (5ml), lọc, và rửa bằng H_2O (5ml). Cặn này được tinh chế bằng sắc ký pha đảo (C18) bằng cách sử dụng 20% axetonitril trong H_2O với axit formic 0,1% để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng bột màu trắng (0,01g, 15,7%). Phổ khối (m/z): 383,2 ($M+1$).

Sơ đồ 13



Quy trình điều chế 35

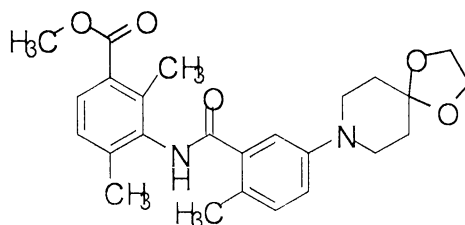
Tổng hợp methyl 3-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-2,4-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 13, bước A. Bổ sung nhỏ giọt oxalyl clorua (1,16ml, 13,39mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-metyl-benzoic (2,45g, 11,16mmol) trong THF (10ml), CH₂Cl₂ (10ml) và DMF (20,00μl, 258,65μmol) và hỗn hợp phản ứng này được để ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung CH₂Cl₂ (40ml) vào căn này và hỗn hợp phản ứng này được làm mát xuống 0°C, tiếp theo bổ sung ethyl 4-amino-3,5-đimetyl-benzoat (2g, 11,16mmol), tiếp theo là, N,N-đimetylpyridin-4-amin (13,63mg, 0,11mmol) và pyridin (2,71ml, 33,48mmol). Bể làm mát được lấy đi và dung dịch trong suốt được để ấm đến nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, dung môi được loại bỏ và hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với ethyl axetat và rửa bằng dung dịch HCl 1N, dung dịch natri bicacbonat bão hòa, và nước muối. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên khan Na₂SO₄, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (4,0 g; 95,5%). Phổ khối (m/z): 376,0 (M+1).

Quy trình điều chế 36

Tổng hợp methyl 3-[[5-(1,4-đioxa-8-azaspiro[4,5]đecan-8-yl)-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat.

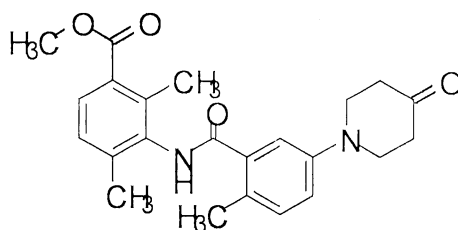


Sơ đồ 13, bước B. Bổ sung Pd(OAc)₂ (29,84mg, 132,89μmol), tiếp theo là, raxemic-2,2'-bis(điphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl (82,75mg, 132,89μmol) vào dung dịch chứa methyl 3-[(5-bromo-2-metyl-benzoyl)amino]-2,4-đimetyl-benzoat (0,5g, 1,33mmol), 1,4-đioxa-8-azaspiro(4,5)đecan (228,34mg, 1,59mmol) và Cs₂CO₃ (1,3g,

3,99mmol) trong 1,4-dioxan (10ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong 10 phút và tiếp theo, đun nóng đến 90°C. Sau 3 giờ, một lượng sản phẩm rất nhỏ được tạo thành. Bổ sung Pd(OAc)₂ (29,84mg, 132,89 μ mol) tiếp theo là, racemic-2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl (82,75mg, 132,89 μ mol) vào hỗn hợp phản ứng này và đun nóng đến 100°C. Sau 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và pha loãng với nước và chiết bằng EtOAc. Gom các lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-100% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu (0,26g, 44,62%). Phổ khối (m/z): 439,2 (M+1).

Quy trình điều chế 37

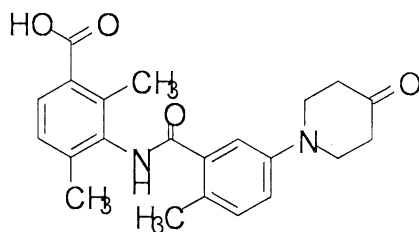
Tổng hợp methyl 2,4-dimethyl-3-[[2-methyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]-benzoat.



Sơ đồ 13, bước C. Bổ sung dung dịch HCl 4M (1ml) vào dung dịch chứa methyl 3-[[5-(1,4-dioxo-8-azaspiro[4,5]decan-8-yl)-2-methyl-benzoyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat (250mg, 570,09 μ mol) trong THF (2ml) và khuấy ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp này được cô trong điều kiện áp suất giảm và được hòa tan lại trong axeton (5ml) tiếp theo là, bổ sung dung dịch HCl 5N (1ml) vào. Sau 22 giờ ở 60°C, hỗn hợp này được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và pha loãng với dung dịch NaOH 2M đến độ pH=6 và chiết hai lần bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-50% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng bột màu trắng đục (0,12g, 53,36%). Phổ khối (m/z): 395,2 (M+1).

Quy trình điều chế 38

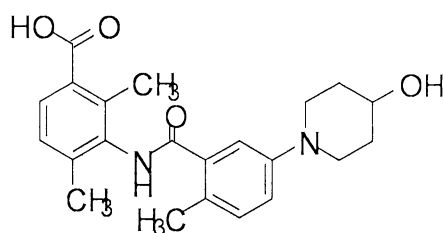
Tổng hợp axit 2,4-đimetyl-3-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]benzoic.



Sơ đồ 13, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (1,00ml) vào dung dịch chứa metyl 2,4-đimetyl-3-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]-amino]benzoat (0,12g, 304,20 μ mol) trong THF:MeOH (2ml:1ml) trong khi khuấy. Sau 16 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ với lớp nước và cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong axetonitril/H₂O và làm đông khô nhanh để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (58mg, 50,12%). Phổ khối (m/z): 381,2 (M+1).

Ví dụ 9

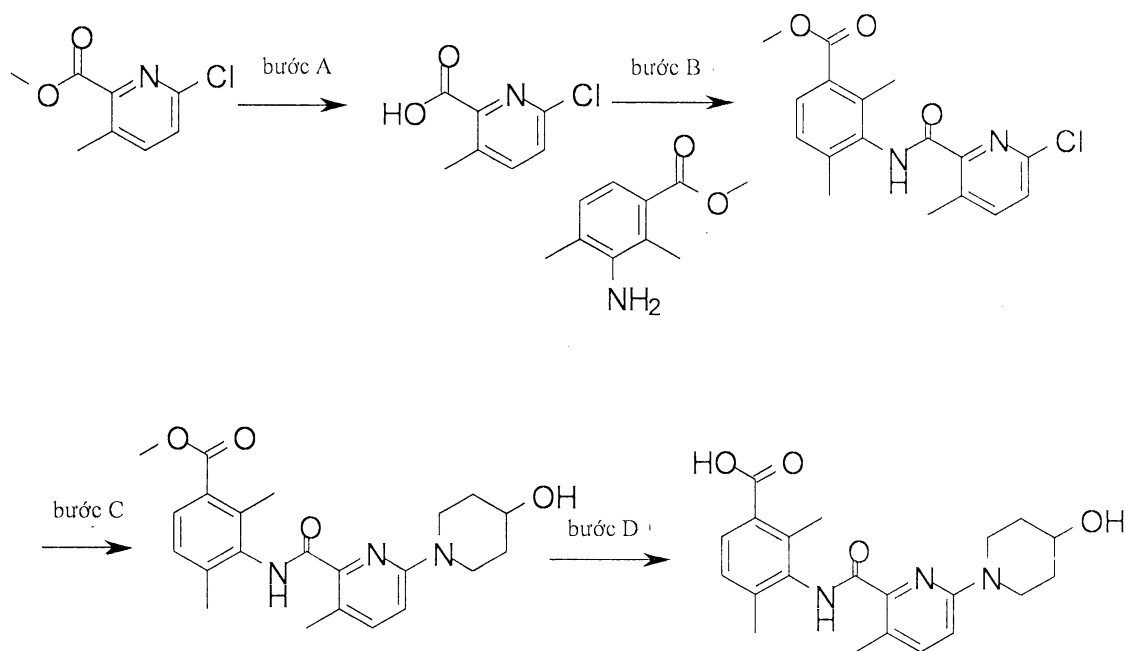
Tổng hợp axit 3-[[5-(4-hydroxy-1-piperidyl)-2-metyl-benzoyl]amino]-2,4-đimetylbenzoic.



Sơ đồ 13, bước E. Bổ sung natri tetrahydroborat (10,14mg, 268,11 μ mol) vào dung dịch chứa axit 2,4-đimetyl-3-[[2-metyl-5-(4-oxo-1-piperidyl)benzoyl]amino]benzoic (51mg, 134,05 μ mol) trong metanol (1,34ml) và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp này được tôi và điều chỉnh độ pH đến 7 bằng dung dịch NH₄Cl bão hòa và chiết hai lần bằng CHCl₃ (3ml):IPA(1ml) . Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan lại trong hỗn hợp CHCl₃:IPA với tỷ lệ 3:1 và pha loãng với HCl

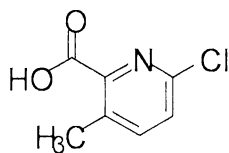
đến độ pH=2 và chiết bằng hỗn hợp CHCl_3 :IPA với tỷ lệ 3:1. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được hấp thu trong MeOH và lọc qua nút bằng bông. Dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm tiếp theo là, hòa tan trong H_2O và làm đông khô nhanh trong thời gian 12 giờ để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng bột màu trắng đục (0,04g, 81,9%).
Phổ khối (m/z): 383,2 (M+1).

Sơ đồ 14



Quy trình điều chế 39

Tổng hợp axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic.

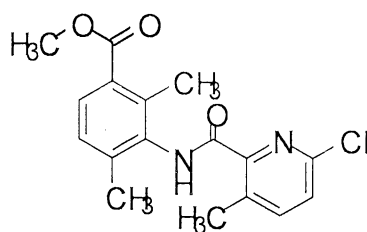


Sơ đồ 14, bước A. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 1N (10,00ml) vào dung dịch chứa methyl 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylat (1,0g, 5,39mmol) trong THF:MeOH (10ml:2ml) trong khi khuấy. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong thời gian 3 giờ. Dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất bán rắn được hòa tan trong nước và axit hóa đến độ

pH=1-2 bằng dung dịch nước HCl 1N. Chất kết tủa thu được được lọc, rửa bằng nước, và sấy khô ở nhiệt độ 40°C trong lò chân không trong thời gian 12 giờ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (780mg, 84%). Phổ khối (m/z): 172,0 (M+1).

Quy trình điều chế 40

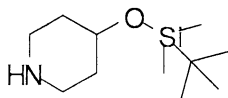
Tổng hợp methyl 3-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-2,4-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 14, bước B. Bổ sung methyl 3-amino-3,5-dimetylbenzoat (0,36g, 0,20mmol, xem quy trình điều chế 12), và N,N-diisopropyletylamin (0,77g, 0,60mmol) vào dung dịch chứa axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic (0,35g, 0,20mmol) trong CH₂Cl₂ (6ml) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 2,54g, 0,80mmol) được bổ sung vào qua xyranh. Sau 16 giờ ở nhiệt độ môi trường, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với CH₂Cl₂, rửa bằng nước và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na₂SO₄, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng bột màu trắng (0,52g, 76%). Phổ khối (m/z): 333,2 (M+1).

Quy trình điều chế 41

Tổng hợp tert-butyl-dimetyl-(4-piperidyloxy)silan.

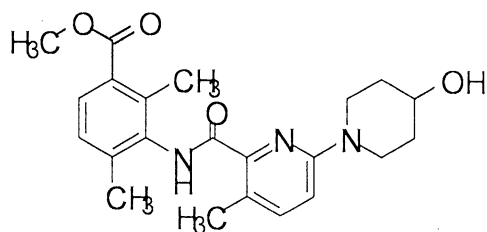


Sơ đồ 14, bước C. Bổ sung 1H-imidazol (2,69g, 39,55mmol) tiếp theo là, t-butylđimetylclosilan (3,58g, 23,73mmol) vào dung dịch chứa 4-hydroxypiperidin (2,00g, 9,89mmol) trong CH₂Cl₂ (30ml) và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 12 giờ, hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước, dung dịch bão hòa NaHCO₃, và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký

nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 100% CH₂Cl₂ đến 10% amoniac 7N trong MeOH/90% CH₂Cl₂ để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,69g, 86,3%). Phổ khối (m/z): 216,2 (M+1).

Quy trình điều chế 42

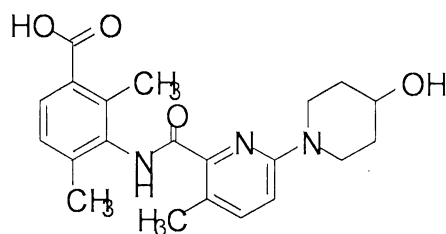
Tổng hợp metyl 3-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 14, bước C. Bổ sung Pd₂(dba)₃ (0,14g, 0,00015mol) tiếp theo là, BINAP (0,086g, 0,00015mol) vào dung dịch chứa metyl 3-(6-clo-3-methylpicolinamido)-2,4-đimetylbenzoat (0,50g, 0,0015mol), tert-butyl-đimetyl-(4-piperidyloxy)silan (0,90g, 0,0045mol) và Cs₂CO₃ (2,00g, 0,006mol) trong toluen (6ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 120°C. Sau 4 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng màu trắng chất bán rắn (0,220g, 29%). Phổ khối (m/z): 398,2 (M+1).

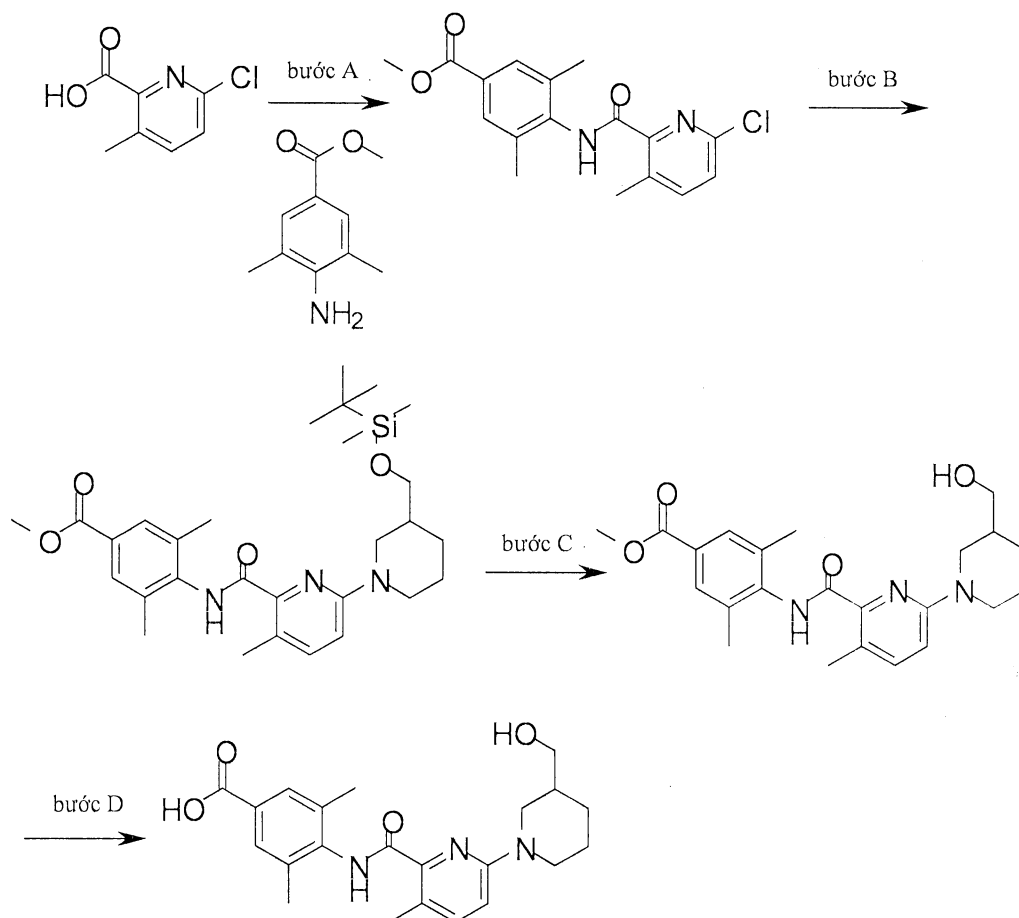
Ví dụ 10

Tổng hợp axit 3-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoic.



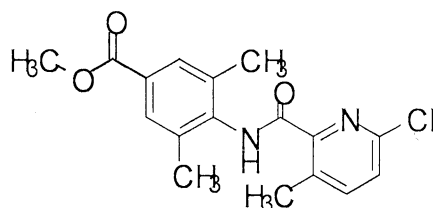
Sơ đồ 14, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2,00ml) vào dung dịch chứa metyl 3-[[6-(4-hydroxy-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat (0,21g, 0,52mmol) trong THF:MeOH (3ml:1ml) trong khi khuấy. Sau 16 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ

trong điều kiện áp suất giảm và cạn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch nước HCl 1N, và chiết bằng etyl axetat ($2 \times 20\text{ml}$). Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với pentan và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,082g, 39%). Phổ khối (m/z): 384,2 (M+1). Sơ đồ 15



Quy trình điều chế 43

Tổng hợp methyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-dimetyl-benzoat.

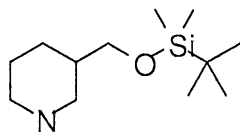


Sơ đồ 15, bước A. Bổ sung methyl 4-amino-3,5-dimetylbenzoat (0,74g, 4,093mmol, xem quy trình điều chế 12), và trietylamin (0,83g, 8,187mmol) vào dung

dịch chứa axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic (0,70g, 4,093mmol, xem quy trình điều chế 1) trong CH_2Cl_2 (6ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 2,60g, 8,187mmol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 12 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na_2SO_4 , lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng gradient bằng 0-40% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (1,10g, 81%). Phổ khối (m/z): 333,2 (M+1).

Quy trình điều chế 44

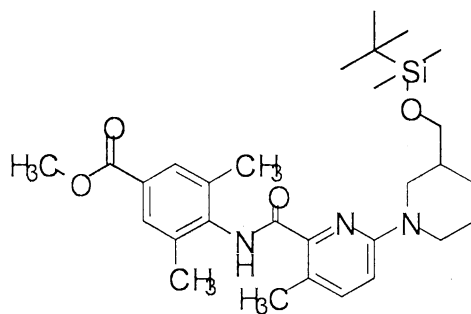
Tổng hợp tert-butyl-đimetyl-(3-piperidylmetoxy)silan.



Sơ đồ 15, bước B. Bổ sung triethylamin (5,53g, 0,0547mol) tiếp theo là, t-butylđimethylclosilan (4,127g, 0,0275mol) vào dung dịch chứa piperidin-3-ylmetanol (2,10g, 0,018mol) trong CH_2Cl_2 (20ml) và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 24 giờ, hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước, dung dịch bão hòa NaHCO_3 , và nước muối. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 0-10% MeOH trong điclorometan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,50g, 60%). Phổ khối (m/z): 231,2 (M+1).

Quy trình điều chế 45

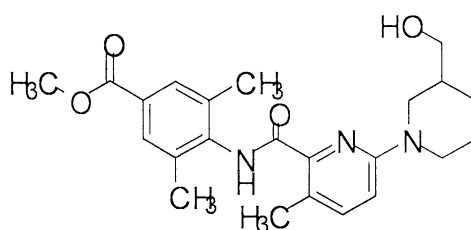
Tổng hợp metyl 4-[[6-[3-[[tert-butyl(đimetyl)silyl]oxymetyl]-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 15, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,14g, 0,00015mol) tiếp theo là, S-Phos (0,062g, 0,00015mol) vào dung dịch chứa methyl 4-(6-clo-3-methylpicolinamido)-2,4-dimethylbenzoat (0,50g, 0,0015mol), tert-butyl-dimetyl-(3-piperidylmetoxy)silan (0,42g, 0,0018mol) và Cs_2CO_3 (1,96g, 0,0060mol) trong 1,4-dioxan (20ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 80°C . Sau 24 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng màu trắng chất bán rắn (0,230g, 30%). Phổ khối (m/z): 526,5 (M+1).

Quy trình điều chế 46

Tổng hợp methyl 4-[[[6-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-dimetyl-benzoat.

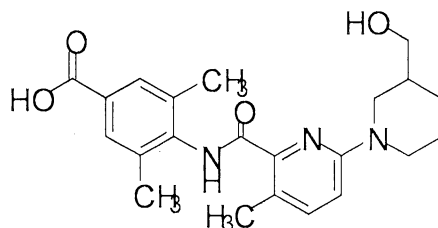


Sơ đồ 15, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (2,00ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 4-[[[6-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymetyl]-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat (0,22g, 0,873mmol) trong THF (3ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 8 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết hai lần bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng

gradient sử dụng 0 - 40% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,06g, 30%). Phổ khối (m/z): 412,2 (M+1).

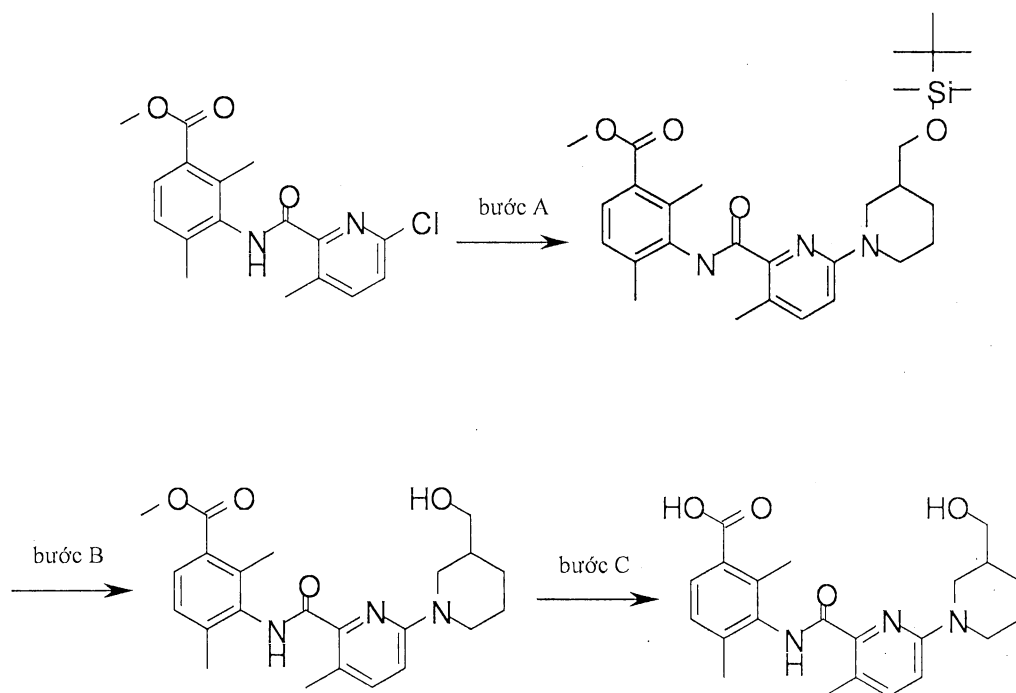
Ví dụ 11

Tổng hợp axit 4-[[6-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5- dimetyl-benzoic.



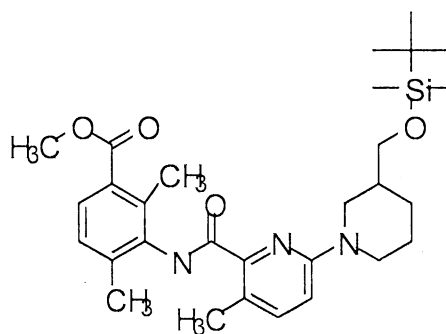
Sơ đồ 15, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2,00ml) vào dung dịch chứa metyl 4-(6-(3-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)-3-methylpicolinamido)-3,5-dimethylbenzoat (0,06g, 0,146mmol) trong THF:MeOH (4ml:1ml) trong khi khuấy. Sau 12 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=3 bằng dung dịch nước axit xitric, và chiết bằng etyl axetat (2 × 10ml). Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với pentan và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,03g, 48%). Phổ khối (m/z): 398,2 (M+1).

Sơ đồ 16



Quy trình điều chế 47

Tổng hợp methyl 3-[[6-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-piperidyl]-3-methylpyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.

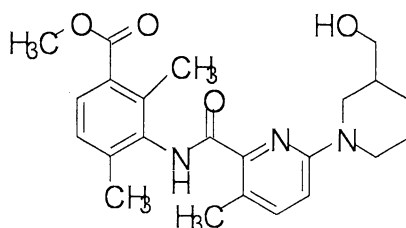


Sơ đồ 16, bước A. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,137g, 0,00015mol) tiếp theo là, S-Phos (0,06g, 0,00015mol) vào dung dịch chứa methyl 3-[[6-(6-chloro-3-methylpyridin-2-carbonyl)amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,5g, 0,0015mol, xem quy trình điều chế 40), tert-butyl-dimethyl-(3-piperidylmethoxy)silan (0,41g, 0,0018mol, xem quy trình điều chế 14) và Cs_2CO_3 (1,95g, 0,006mol) trong 1,4-dioxan (20ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 80°C . Sau 24 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện

áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 20% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu nâu (0,2g, 38%). Phổ khối (m/z): 525,2 (M+1).

Quy trình điều chế 48

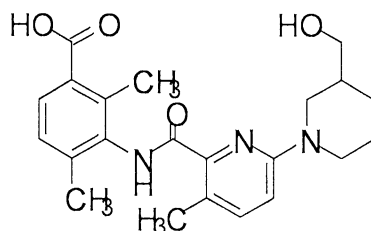
Tổng hợp metyl 3-[[6-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-2,4-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 16, bước B. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (1,5ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl 3-[[6-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymetyl]-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat (0,20g, 0,38mmol) trong THF (4ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 8 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (nhôm oxit trung tính) bằng gradient sử dụng 50% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,18g, 115%). Phổ khối (m/z): 412,2 (M+1).

Ví dụ 12

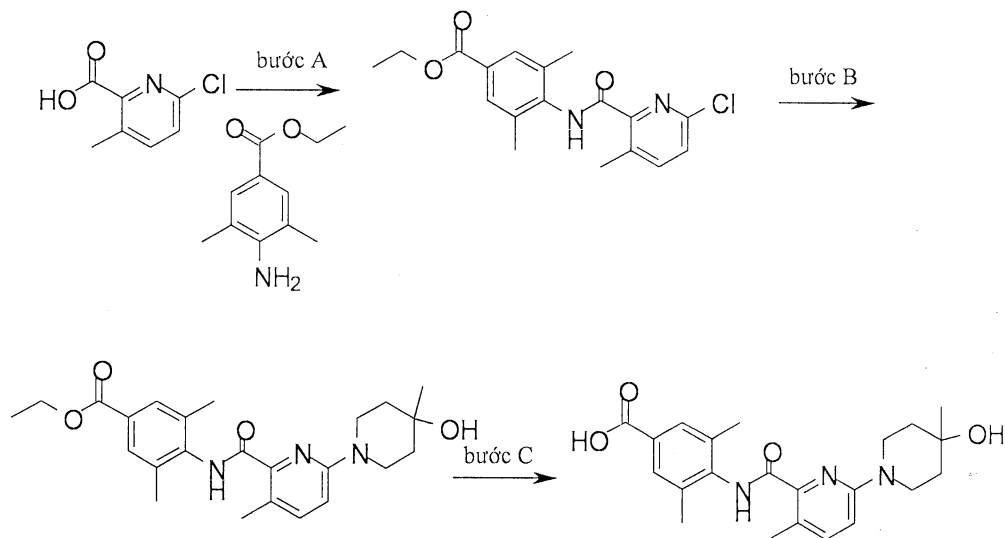
Tổng hợp axit 3-[[6-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-2,4-dimetyl-benzoic.



Sơ đồ 16, bước C. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (3,00ml) vào trong khi khuấy dung dịch chứa metyl 3-[[6-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat (0,18g, 0,437mmol) trong THF (8ml). Sau 12 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều

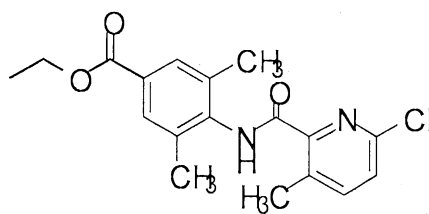
kiện áp suất giảm và cạn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng axit xitric, và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cạn thu được được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (57mg, 14%). Phổ khối (m/z): 398,2 (M+1).

Sơ đồ 17



Quy trình điều chế 49

Tổng hợp etyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat.

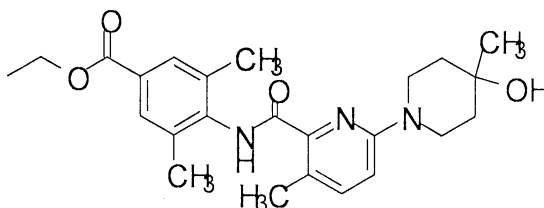


Sơ đồ 17, bước A. Bổ sung nhỏ giọt oxalyl clorua (0,3ml, 3,46mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic (465mg, 2,71mmol) trong THF (5ml), CH₂Cl₂ (5ml) và DMF (0,01ml, 129,33μmol) và hỗn hợp phản ứng được để ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cạn. Bổ sung CH₂Cl₂ (20ml) vào cạn này và hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống 0°C, tiếp theo bổ sung etyl 4-amino-3,5-đimetyl-benzoat (520mg, 2,69mmol), tiếp theo là, N,N-đimetylpyridin-4-amin (15mg, 122,78μmol) và pyridin (0,66ml, 8,16mmol). Bể làm mát được lấy đi và dung dịch màu vàng trong suốt được để ấm đến nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, dung môi được

loại bỏ và hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với etyl axetat và rửa bằng dung dịch HCl 0,5N, dung dịch natri bicacbonat bão hòa, và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên Na_2SO_4 khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-50% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn (790mg, 84%). Phổ khối (m/z): 347,2 (M+1).

Quy trình điều chế 50

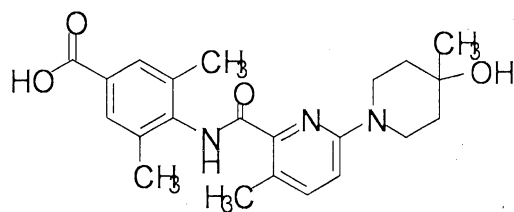
Tổng hợp etyl 4-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 17, bước B. Bổ sung $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (27mg, 120,26 μmol) tiếp theo là, raxemic-2,2'-bis(điphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl (54mg, 86,72 μmol) vào dung dịch chứa etyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat (275mg, 792,93 μmol), 4-metyl-piperidin-4-ol (120mg, 1,04mmol) và Cs_2CO_3 (0,8g, 2,46mmol) trong 1,4-dioxan (6ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, đun nóng đến nhiệt độ hồi lưu. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và pha loãng với amoni clorua và chiết hai lần bằng EtOAc. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-70% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu màu vàng (0,27g, 80%). Phổ khối (m/z): 426,2 (M+1).

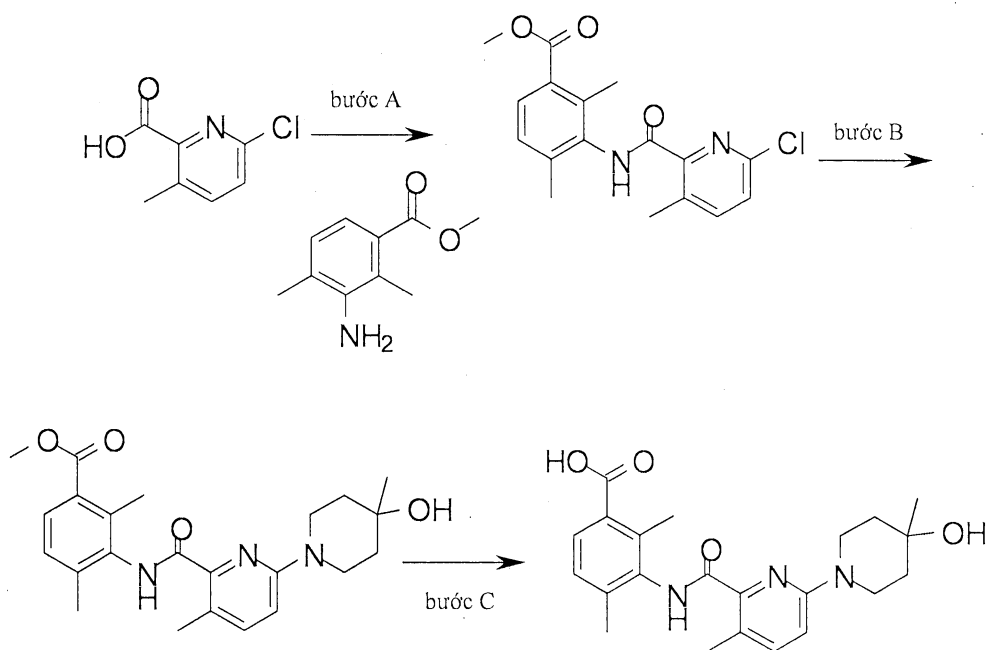
Ví dụ 13

Tổng hợp 4-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-axit đimetyl-benzoic.



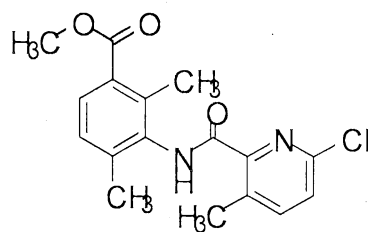
Sơ đồ 17, bước C. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (5,00ml) vào dung dịch chứa etyl 4-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat (0,27g, 634,51mmol) trong THF:MeOH (10ml:5ml) trong khi khuấy. Sau 1 giờ ở nhiệt độ 50°C, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch HCl 5N, và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ với lớp nước và cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất rắn thu được được nghiền với axeton/axetonitril và được lọc. Dịch lọc được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,11g, 43,6%). Phổ khối (m/z): 398,2 (M+1).

Sơ đồ 18



Quy trình điều chế 51

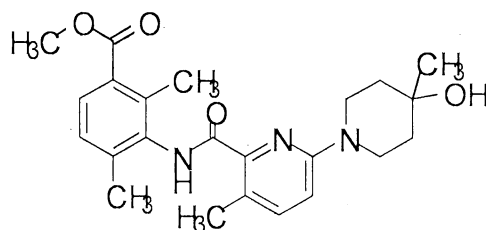
Tổng hợp methyl 3-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 18, bước A. Bổ sung nhỏ giọt oxalyl clorua (0,3ml, 3,46mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic (465mg, 2,71mmol) trong THF (5ml), CH₂Cl₂ (5ml) và DMF (0,01ml, 129,33μmol) và hỗn hợp phản ứng này được để ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung CH₂Cl₂ (20ml) vào cặn này và hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống 0°C, tiếp theo bổ sung metyl 3-amino-3,5-dimetylbenzoat (490mg, 2,73mmol), tiếp theo là, N,N-dimetylpyridin-4-amin (15mg, 122,78 μmol) và pyridin (0,66ml, 8,16mmol). Bể làm mát được lấy đi và dung dịch trong suốt được để ấm đến nhiệt độ môi trường. Sau 1,5 giờ, dung môi được loại bỏ và hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với etyl axetat và rửa bằng dung dịch HCl 0,5N, dung dịch natri bicacbonat bão hòa, và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên Na₂SO₄ khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (664mg, 73%). Phổ khối (m/z): 333,2 (M+1).

Quy trình điều chế 52

Tổng hợp metyl 3-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-2,4-dimetyl-benzoat.

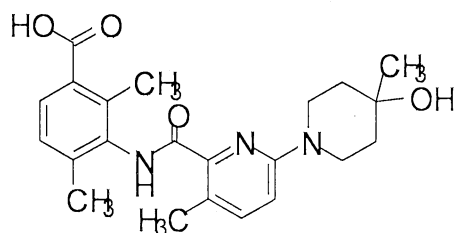


Sơ đồ 18, bước B. Bổ sung Pd(OAc)₂ (25mg, 89,93μmol), tiếp theo là, raxemic-2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl (56mg, 89,93 μmol) vào dung dịch chứa metyl 3-[[6-(4-chloro-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-2,4-dimetyl-benzoat (315mg, 946,55 μmol), 4-metylpiperidin-4-ol (130mg, 1,13mmol) và Cs₂CO₃ (0,9g, 2,76mmol) trong 1,4-dioxan (7ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời

gian 5 phút và tiếp theo, đun nóng đến nhiệt độ hồi lưu. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường và pha loãng với amoni clorua và chiết bằng EtOAc. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 0-100% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu nâu (0,27g, 69%). Phổ khối (m/z): 412,2 ($M+1$).

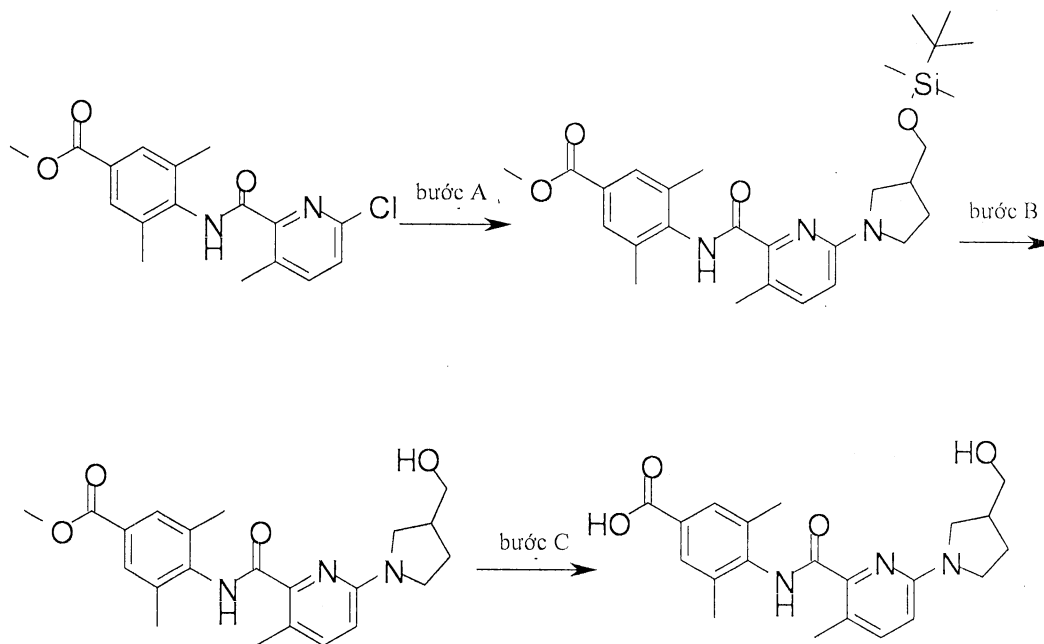
Ví dụ 14

Tổng hợp axit 3-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-2,4-đimetyl-benzoic.



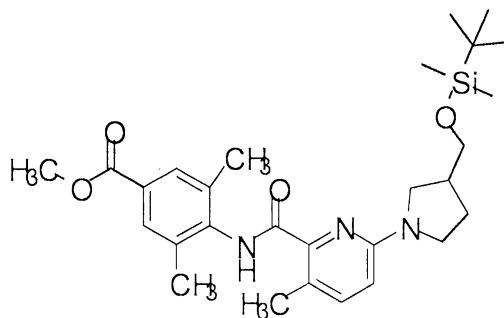
Sơ đồ 18, bước C. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (5,00ml) vào dung dịch chứa methyl 3-[[6-(4-hydroxy-4-metyl-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat (0,27g, 656,13mmol) trong THF:MeOH (10ml:5ml) trong khi khuấy. Sau 1 giờ 50°C, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch HCl 5N, và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất rắn thu được được nghiền với axeton/axetonitril và được lọc. Dịch lọc được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (75mg, 29%). Phổ khối (m/z): 398,2 ($M+1$).

Sơ đồ 19



Quy trình điều chế 53

Tổng hợp methyl 4-[[[6-[3-[[tert-butyl(đimetyl)silyl]oxymetyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methylpyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat.

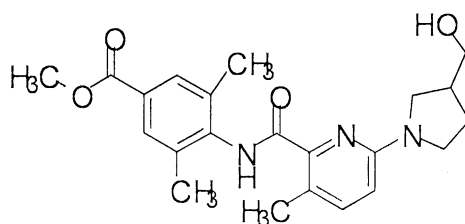


Sơ đồ 19, bước A. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,1g, 0,12mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,05g, 0,12mmol) vào dung dịch chứa methyl 4-(6-clo-3-methylpicolinamido)-2,4-đimetylbenzoat (0,4g, 1,2mmol, xem quy trình điều chế 2), tert-butyl-đimetyl-(pyrrolidin-3-ylmetoxy)silan (0,775g, 3,6mmol) và Cs_2CO_3 (1,17g, 3,6mmol) trong 1,4-đioxan (5ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 90°C . Sau 24 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gôm dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 10% etyl axetat trong hexan để

thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng màu trắng chất bán rắn (1,2g, thô). Phổ khối (m/z): 512,2 (M+1).

Quy trình điều chế 54

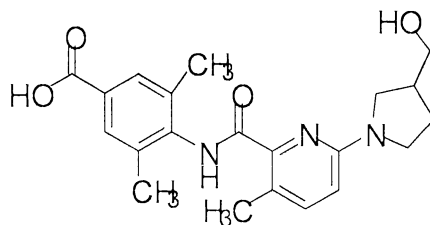
Tổng hợp metyl 4-[[6-[3-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 19, bước B. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (5,00ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl 4-[[6-[3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymetyl]pyrrolidin-1-yl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat (1,1g, 2,15mmol) trong THF (7ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 6 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 0 - 50% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,36g, 42%). Phổ khối (m/z): 398,2 (M+1).

Ví dụ 15

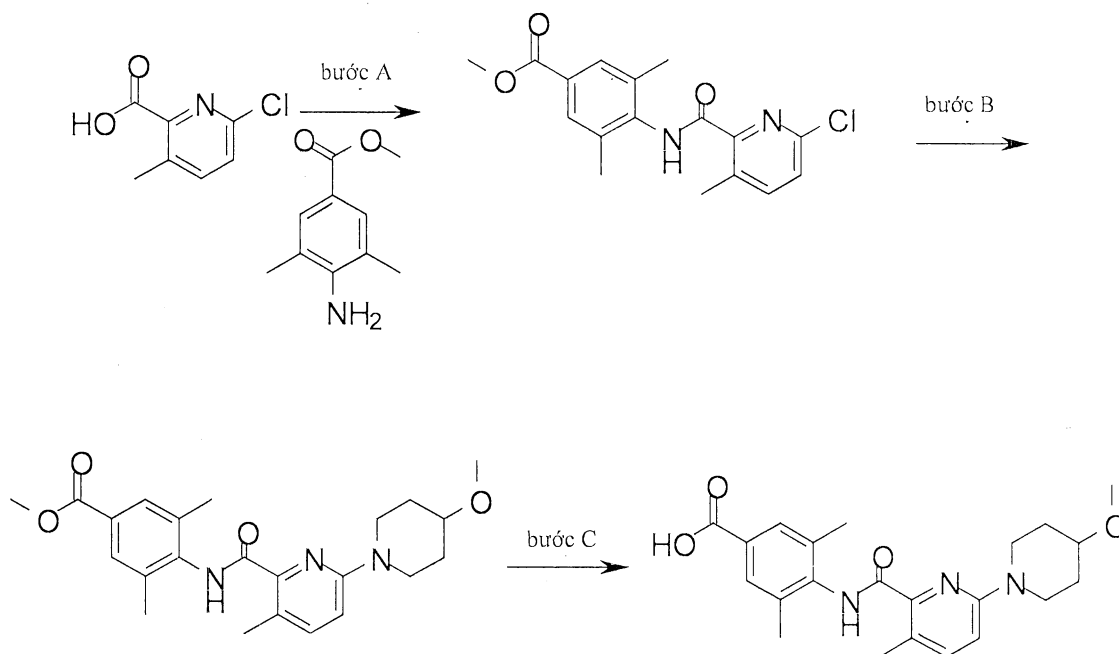
Tổng hợp axit 4-[[6-[3-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-đimetyl-benzoic.



Sơ đồ 19, bước C. Bổ sung dung dịch chứa NaOH (0,16 g) trong H_2O (1ml) vào dung dịch chứa metyl 4-[[6-[3-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat (0,35g, 0,88mmol) trong THF:MeOH (5ml:1ml) trong khi khuấy. Sau 8 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong

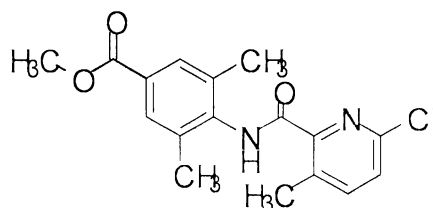
điều kiện áp suất giảm và cạn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=3 bằng dung dịch nước axit xitric, và chiết bằng etyl axetat ($2 \times 10\text{ml}$). Gôm các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (73mg, 33,7%). Phổ khối (m/z): 384,2 (M+1).

Sơ đồ 20



Quy trình điều chế 55

Tổng hợp methyl 4-[(6-clo-3-metyl-pyridin-2-carbonyl)amino]-3,5-đimetyl-benzoat.

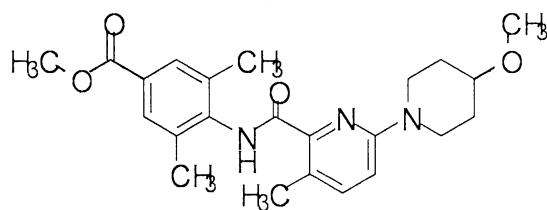


Sơ đồ 20, bước A. Bổ sung methyl 4-amino-3,5-đimetylbenzoat (5,65g, 0,03157mol), và N,N-diisopropyletylamin (15,1ml, 0,0877mol) vào dung dịch chứa axit 6-clo-3-metyl-pyridin-2-carboxylic (6,00g, 0,03508mol) trong CH_2Cl_2 (50ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 22,32g,

0,07016mol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ 60 °C. Sau 3 giờ, dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên Na₂SO₄ khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng gradient bằng 0-40% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (8,70g, 74%). Phổ khối (m/z): 333,2 (M+1).

Quy trình điều chế 56

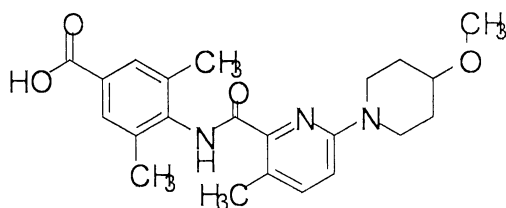
Tổng hợp methyl 4-[[6-(4-metoxi-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 20, bước B. Bổ sung Pd₂(dba)₃ (0,082g, 0,09mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,037g, 0,09mmol) vào dung dịch chứa methyl 4-(6-clo-3-metylpicolinamido)-2,4-đimetylbenzoat (0,30g, 0,90mmol), 4-metoxypiperidin (0,178g, 1,8mmol) và Cs₂CO₃ (0,88g, 2,7mmol) trong 1,4-dioxan (5ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 130°C. Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 20% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,14g, 34%).

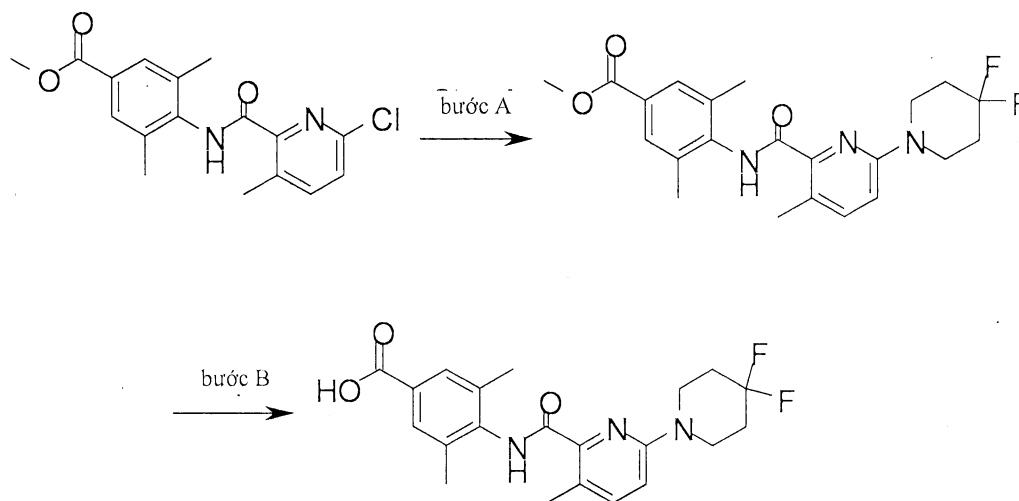
Ví dụ 16

Tổng hợp axit 4-[[6-(4-metoxi-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoic.



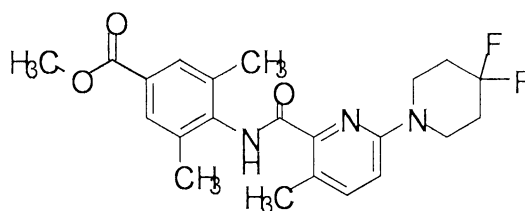
Sơ đồ 20, bước C. Bổ sung lithi hydroxit ($\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, 0,026g, 0,62mmol) vào dung dịch chứa metyl 4-[[6-(4-metoxi-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-đimetyl-benzoat (0,129g, 0,313mmol) trong THF: H_2O :MeOH (0,7ml:0,3ml:0,7ml) trong khi khuấy. Sau 2 giờ ở nhiệt độ 50°C , dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cạn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch nước HCl 1N, và chiết bằng etyl axetat ($3 \times 20\text{ml}$). Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,11g, 88%). Phổ khối (m/z): 398,2 (M+1).

Sơ đồ 21



Quy trình điều chế 57

Tổng hợp metyl 4-[[6-(4,4-điflo-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoat.

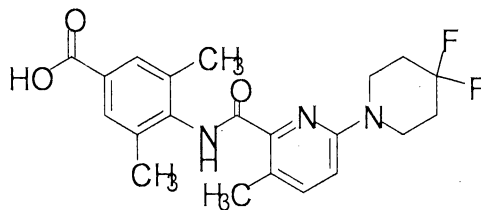


Sơ đồ 21, bước A. Bổ sung $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0,082g, 0,0903mmol) tiếp theo là, S-Phos (0,037g, 0,0903mmol) vào dung dịch chứa metyl 4-(6-clo-3-

methylpicolinamido)-2,4-dimethylbenzoat (0,30g, 0,90mmol, xem quy trình điều chế 43), 4,4-điflo-piperidin (0,283g, 1,8mmol) và Cs_2CO_3 (1,17g, 3,6mmol) trong 1,4-đioxan (5ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 130°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,240g, 63%). Phổ khối (m/z): 418,2 ($M+1$).

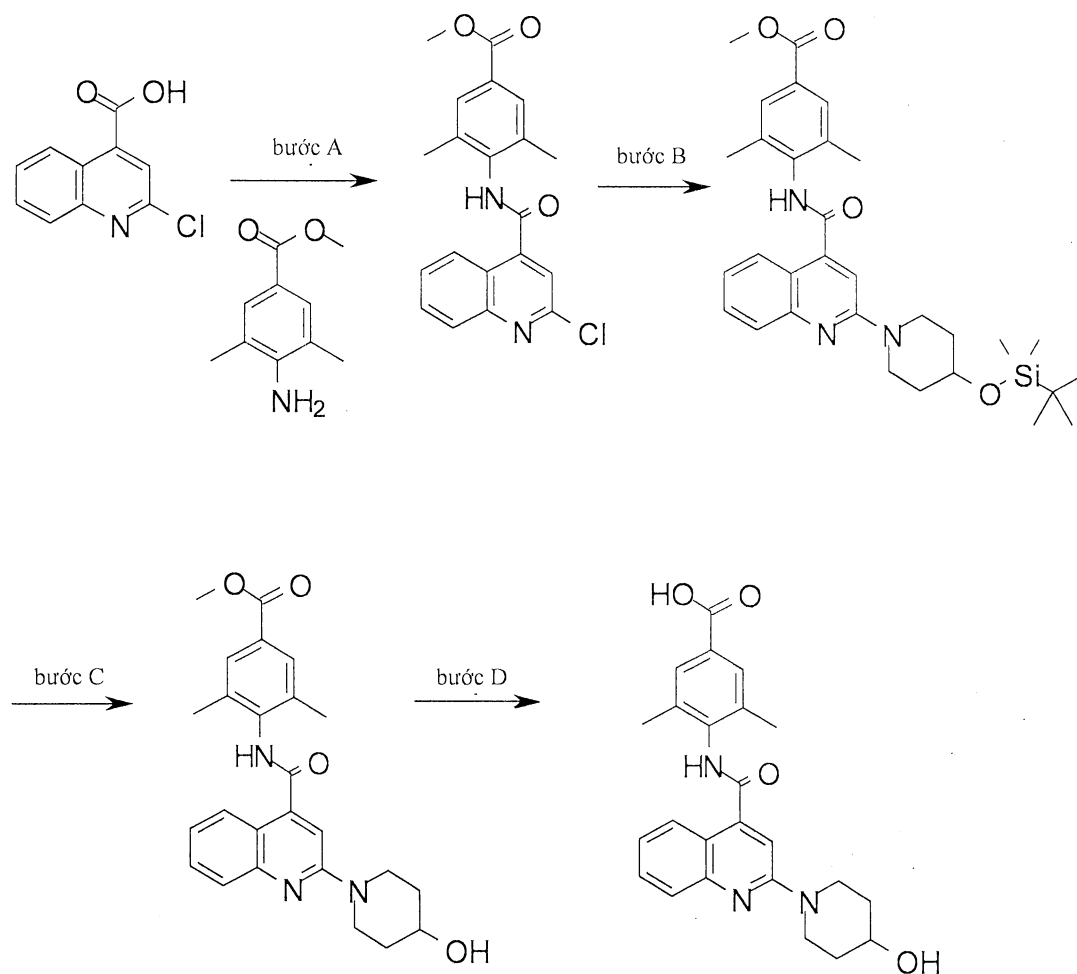
Ví dụ 17

Tổng hợp axit 4-[[6-(4,4-điflo-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-3,5-đimetyl-benzoic.



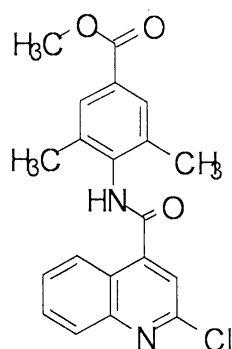
Sơ đồ 21, bước B. Bổ sung lithi hydroxit ($\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, 0,048g, 0,00115mol) vào dung dịch chứa methyl 4-[[6-(4,4-điflo-1-piperidyl)-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]-amino]-3,5-đimetyl-benzoat (0,24g, 0,575mmol) trong THF: H_2O :MeOH (1,5ml:0,7ml:1,5ml) trong khi khuấy. Sau 3 giờ ở nhiệt độ 50°C , dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch nước HCl 1N, và chiết bằng etyl axetat ($3 \times 20\text{ml}$). Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,166g, 71%). Phổ khối (m/z): 404,2 ($M+1$).

Sơ đồ 22



Quy trình điều chế 58

Tổng hợp methyl 4-[(2-cloquinolin-4-carbonyl)amino]-3,5-dimetyl-benzoat.

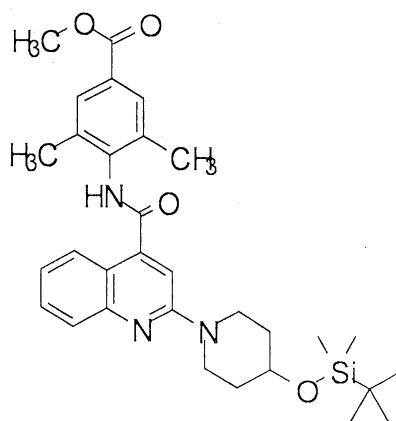


Sơ đồ 22, bước A. Bổ sung methyl 4-amino-3,5-dimetylbenzoat (3,88g, 0,02167mol, xem quy trình điều chế 12) và N,N-diisopropyletylamin (12,5ml, 0,07225mol) vào dung dịch chứa axit 2-cloquinolin-4-carboxylic (5,00g, 0,0024mol) trong CH_2Cl_2 (50ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời

gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 31,0ml, 0,048mol) được bổ sung vào qua xyranh và được đun nóng ở nhiệt độ 40°C. Sau 5 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với nước và chiết bằng điclorometan. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng gradient bằng 0-40% etyl axetat trong hexan. Sau khi tinh chế chất rắn được nghiền với 20% diethyl ete trong pentan và sấy khô để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (8,50g, 96%). Phổ khối (m/z): 369,1 (M+1).

Quy trình điều chế 59

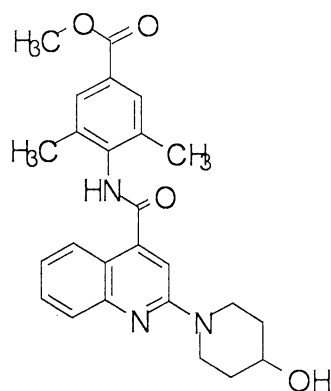
Tổng hợp methyl 4-[[2-[4-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]quinolin-4-carbonyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 22, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,124g, 0,000135mol) tiếp theo là, S-Phos (0,060g, 0,000135mol) vào dung dịch chứa methyl 4-(2-cloquinolin-4-carboxamido)-3,5-dimethylbenzoat, (0,50g, 0,00135mol), tert-butyl-dimethyl-(4-piperidyloxy)silan (0,32g, 0,0015mol, xem quy trình điều chế 3) và Cs_2CO_3 (1,77g, 0,0054mol) trong 1,4-đioxan (5ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, khuấy ở nhiệt độ 80°C. Sau 4 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,21g, 28%). Phổ khối (m/z): 548,2 (M+1).

Quy trình điều chế 60

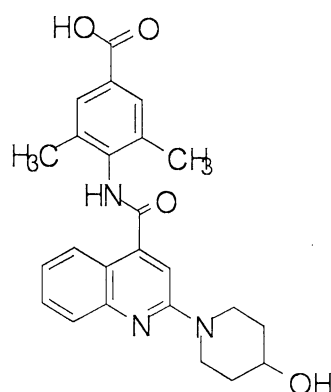
Tổng hợp methyl 4-[[2-(4-hydroxy-1-piperidyl)quinolin-4-carbonyl]amino]-3,5-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 22, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (4,0ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 4-(2-(4-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)piperidin-1-yl)quinolin-4-carboxamido)-3,5-dimethylbenzoat (0,21g, 0,00038mol) trong THF (4ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 14 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gôm các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 0 - 40% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,13g, 78%). Phổ khối (m/z): 434,2 ($M+1$).

Ví dụ 18

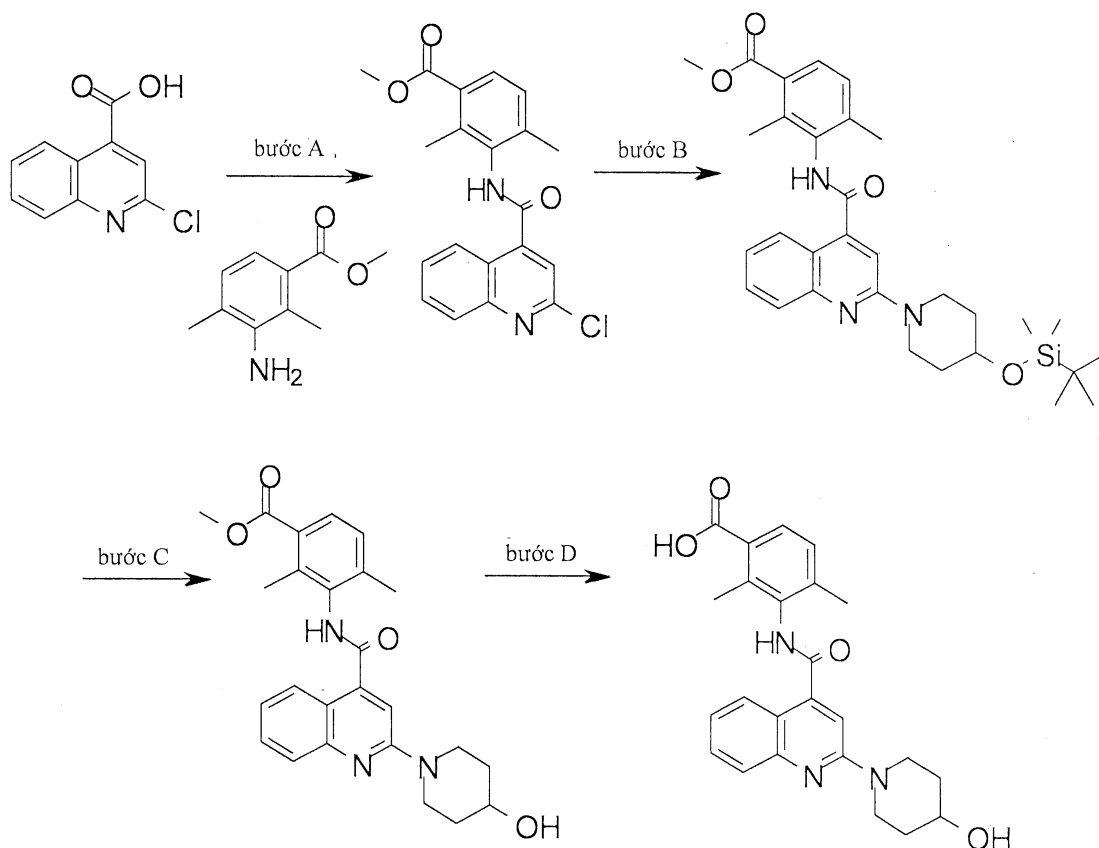
Tổng hợp axit 4-[[2-(4-hydroxy-1-piperidin-1-yl)quinolin-4-carbonyl]amino]-3,5-dimethylbenzoic.



Sơ đồ 22, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2,00ml) vào dung dịch chứa methyl 4-(2-(4-hydroxypiperidin-1-yl)quinolin-4-carboxamido)-3,5-dimethylbenzoat (0,13g, 0,0003mol) trong THF:MeOH (5ml:2ml) trong khi khuấy. Sau 5 giờ ở nhiệt độ 50°C , dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm

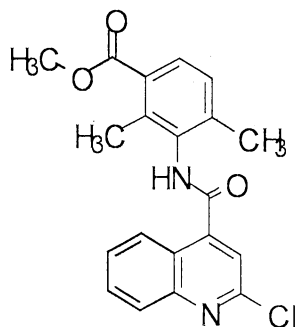
và cặn được pha loãng với nước axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch nước HCl 1N và chiết bằng etyl axetat (2 × 20ml). Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với pentan và dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,05g, 40%). Phổ khối (m/z): 420,2 (M+1).

Sơ đồ 23



Quy trình điều chế 61

Tổng hợp metyl 3-[(2-cloquinolin-4-carbonyl)amino]-2,4-dimetyl-benzoat.

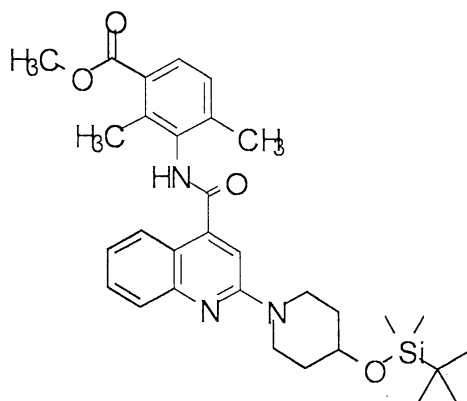


Sơ đồ 23, bước A. Bổ sung metyl 3-amino-2,4-dimetylbenzoat (0,31g, 0,0017mol, xem quy trình điều chế 10) và trietylamin (0,80ml, 0,0058mol) vào dung

dịch chứa axit 2-cloquinolin-4-carboxylic (0,40g, 0,0019mol) trong CH_2Cl_2 (8ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 2,45ml, 0,0038mol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước và chiết hai lần bằng diclometan. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được nghiền với 20% dietyl ete trong pentan và lọc để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,55g, 77%). Phổ khối (m/z): 369,1 ($\text{M}+1$).

Quy trình điều chế 62

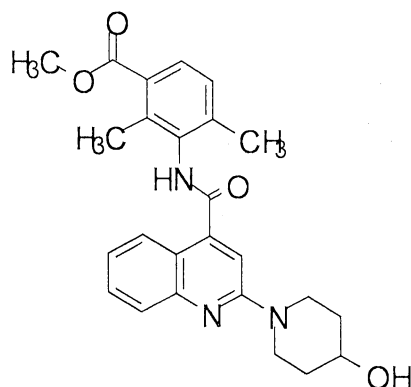
Tổng hợp methyl 3-[[2-[4-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]quinolin-4-carbonyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 23, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,134g, 0,000146mol) tiếp theo là, S-Phos (0,060g, 0,000146mol) vào dung dịch chứa methyl 3-(2-cloquinolin-4-carboxamido)-2,4-dimethylbenzoat (0,54g, 0,00146mol), tert-butyl-dimethyl-(4-piperidylloxy)silan (0,63g, 0,00293mol, xem quy trình điều chế 3) và Cs_2CO_3 (1,43g, 0,0044mol) trong 1,4-dioxan (8ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, khuấy ở nhiệt độ 80°C . Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu đen (1,31g, 60%, thô). Phổ khối (m/z): 548,2 ($\text{M}+1$).

Quy trình điều chế 63

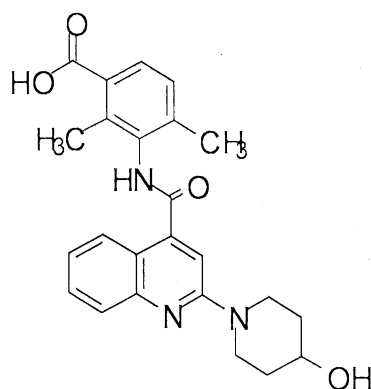
Tổng hợp metyl 3-[[2-(4-hydroxy-1-piperidyl)quinolin-4-carbonyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 23, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0 M trong THF (10,0ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl 3-(2-(4-((tert-butylđimetylsilyl)oxy)piperidin-1-yl)quinolin-4-carboxamido)-2,4-đimetylbenzoat (1,30g, 0,00087mol) trong THF (2,0ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 14 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) với etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng (0,10g, 27%). Phổ khối (m/z): 434,3 ($M+1$).

Ví dụ 19

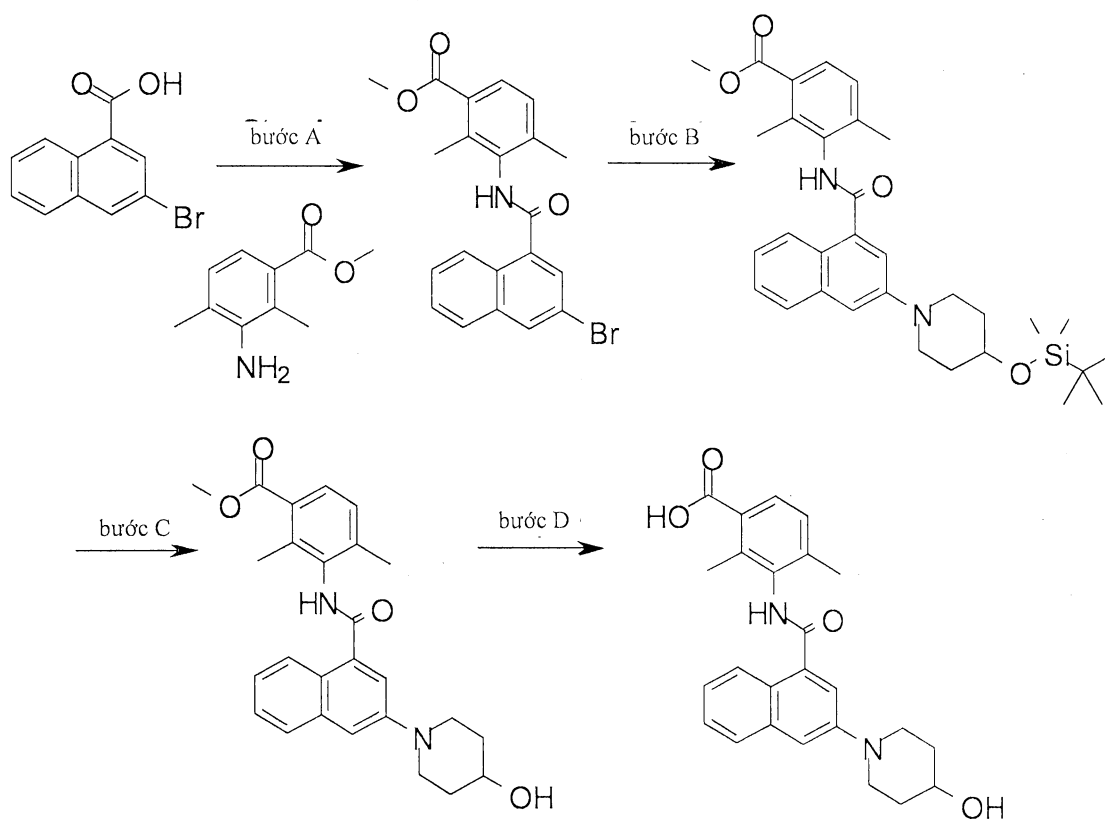
Tổng hợp axit 3-[[2-(4-hydroxy-1-piperidyl)quinolin-4-carbonyl]amino]-2,4-dimetylbenzoic.



Sơ đồ 23, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2,00ml) vào dung dịch chứa metyl 3-(2-(4-hydroxypiperidin-1-yl)quinolin-4-carboxamido)-

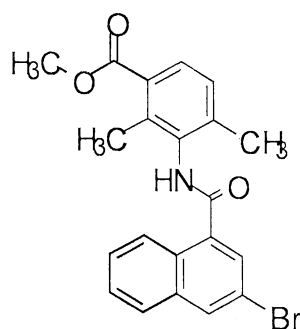
2,4-đimetylbenzoat (0,10g, 0,00023mol) trong THF:MeOH (4ml:2ml) trong khi khuấy. Sau 5 giờ ở nhiệt độ 50⁰C, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=6 bằng dung dịch nước HCl 1N, và chiết bằng etyl axetat (2 × 20ml). Gôm các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với pentan và dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,03g, 31%). Phổ khối (m/z): 420,2 (M+1).

Sơ đồ 24



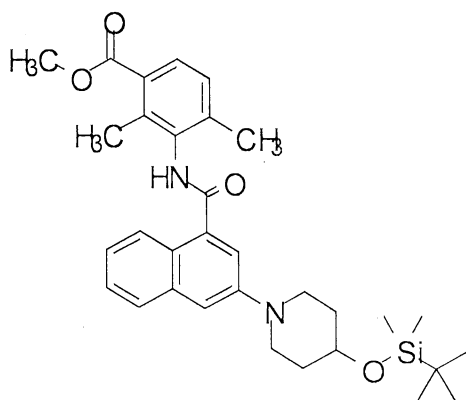
Quy trình điều chế 64

Tổng hợp methyl 3-[(3-bromonaphtalen-1-carbonyl)amino]-2,4-đimetyl-benzoat.



Sơ đồ 24, bước A. Bổ sung methyl 3-amino-2,4-đimetylbenzoat (0,26g, 1,43mmol, xem quy trình điều chế 10) và trietylamin (0,78ml, 5,38mmol) vào dung dịch chứa axit 3-bromo-1-naphthoic (0,40g, 1,59mmol) trong CH_2Cl_2 (8ml) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 2,03ml, 3,18mmol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) với 5% EtOAc trong hexan làm chất rửa giải để thu được sản phẩm ở dạng chất rắn màu trắng (0,52g, 79%). Phổ khối (m/z): 412,3 ($M+1$). Quy trình điều chế 65

Tổng hợp methyl 3-[[3-[4-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]naphthalen-1-carbonyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat.

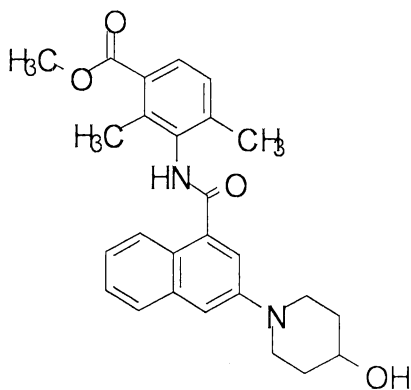


Sơ đồ 24, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,10g, 0,00011mol) tiếp theo là, S-Phos (0,045g, 0,00011mol) vào dung dịch chứa methyl 3-(3-bromo-1-naphthamido)-2,4-đimetylbenzoat (0,48g, 0,0011mol), tert-butyl-đimetyl-(4-piperidylloxy)silan (0,75g, 0,0034mol, xem quy trình điều chế 3) và Cs_2CO_3 (1,00g, 0,0033mol) trong 1,4-dioxan

(8ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, khuấy ở nhiệt độ 80°C. Sau 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu đen (0,52g, thô). Phổ khối (m/z): 547,5 (M+1).

Quy trình điều chế 66

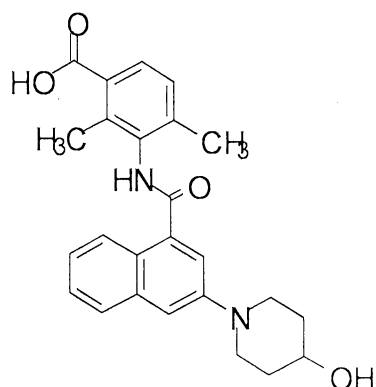
Tổng hợp methyl 3-[[3-(4-hydroxy-1-piperidyl)naphtalen-1-carbonyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat.



Sơ đồ 24, bước C. Bổ sung Bu₄NF 1,0M trong THF (0,35g, 1,60mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 3-[[3-[4-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]naphtalen-1-carbonyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoat (0,30g, 0,54mmol) trong THF (8,0ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 14 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) với etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,10g, 55%). Phổ khối (m/z): 433,0 (M+1).

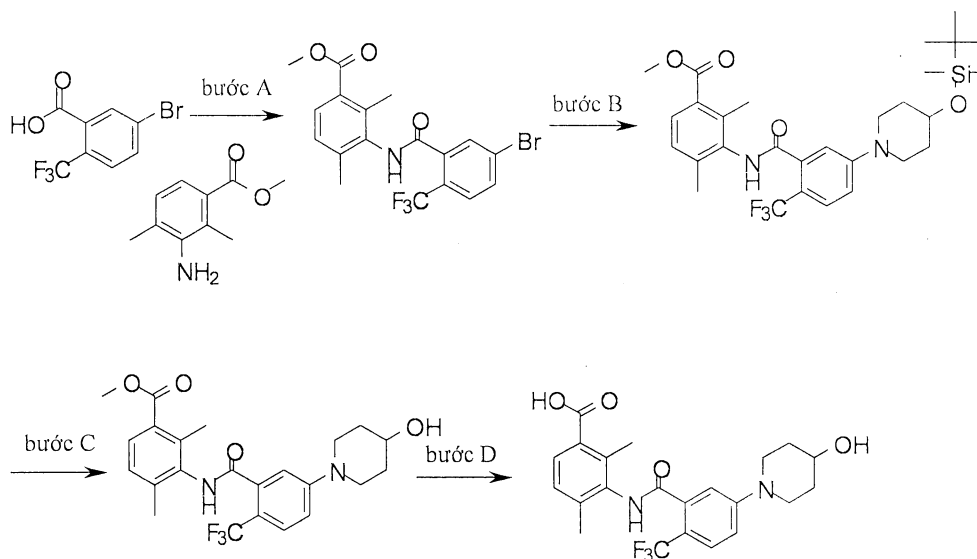
Ví dụ 20

Tổng hợp axit 3-[[3-(4-hydroxy-1-piperidyl)naphtalen-1-carbonyl]amino]-2,4-dimethyl-benzoic.



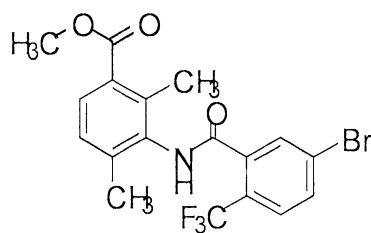
Sơ đồ 24, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (3,00ml) vào dung dịch chứa methyl 3-(3-(4-hydroxypiperidin-1-yl)-1-naphthamido)-2,4-dimethylbenzoat (0,10g, 0,23mmol) trong THF:MeOH (3ml:1ml) trong khi khuấy. Sau 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch nước HCl 1N và chiết bằng diclometan (2 × 20ml). Gôm các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,028g, 29%). Phổ khối (m/z): 419,2 (M+1).

Sơ đồ 25



Quy trình điều chế 67

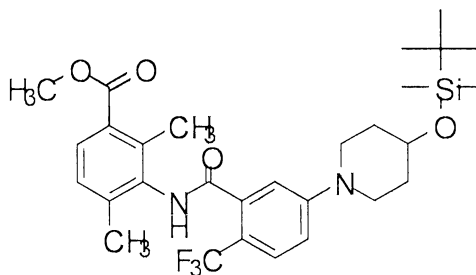
Tổng hợp methyl 3-[[5-bromo-2-(trifluoromethyl)benzoyl]amino]-2,4-dimethylbenzoat.



Sơ đồ 25, bước A. Bổ sung methyl 3-amino-3,5-đimetylbenzoat vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-(triflometyl)benzoic (1,0g, 3,53mmol) trong CH_2Cl_2 (6ml) ở nhiệt độ trong phòng (0,44g, 2,47mmol, xem quy trình điều chế 12) và trimetylamin (1,0ml, 7,06mmol). Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong etyl axetat, 5,6ml, 8,83mmol) được bổ sung vào qua xyranh. Sau 14 giờ ở nhiệt độ môi trường, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với CH_2Cl_2 , rửa bằng nước và nước muối. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên khan Na_2SO_4 , lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 20% etyl axetat trong hexan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0.6g, 39%).

Quy trình điều chế 68

Tổng hợp methyl 3-[[5-[4-[tert-butyl(đimetyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2-(triflometyl)-benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat.

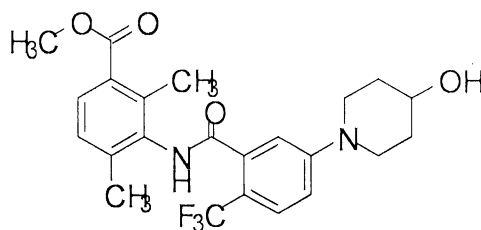


Sơ đồ 25, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (43mg, 0,046mmol) tiếp theo là, S-Phos (19,3mg, 0,046mmol) vào dung dịch chứa methyl 3-[[5-bromo-2-(triflometyl)benzoyl]amino]-2,4-đimetyl-benzoat (0,20g, 0,46mmol), tert-butyl-đimetyl-(3-piperidylmetoxy)silan (0,11g, 0,50mmol, xem quy trình điều chế 3) và Cs_2CO_3 (0,45g, 1,39mmol) trong 1,4-đioxan (15ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 110°C . Sau 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa

bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng cách sử dụng 30% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất bán rắn màu nâu (180mg, 68%). Phổ khối (m/z): 565,2 (M+1).

Quy trình điều chế 69

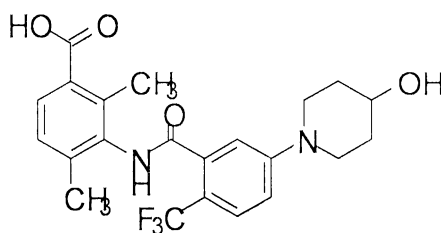
Tổng hợp metyl 3-[[5-(4-hydroxy-1-piperidyl)-2-(triflometyl)benzoyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 25, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (2,0ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl 3-[[5-[4-[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2(triflometyl)benzoyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat (180mg, 0,32mmol) trong THF (10,0ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 8 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (nhôm oxit trung tính) bằng gradient sử dụng 100% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (0,11g, 76%). Phổ khối (m/z): 451,2 (M+1).

Ví dụ 21

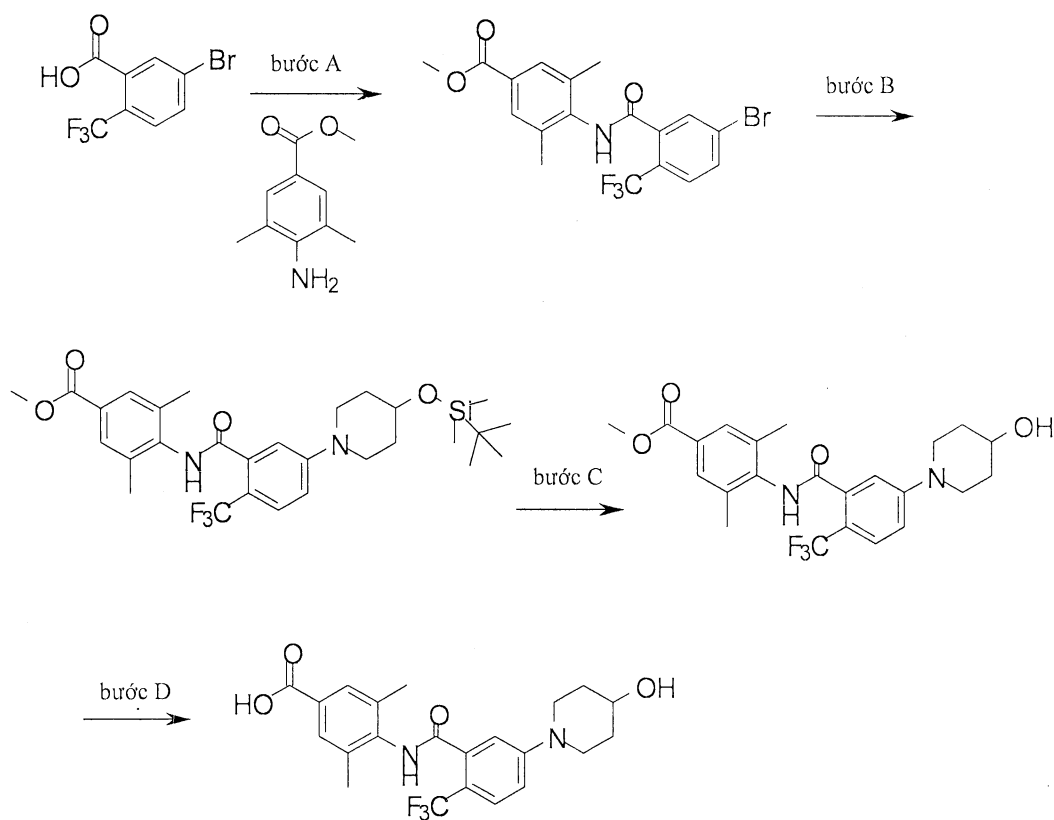
Tổng hợp axit 3-[[5-(4-hydroxy-1-piperidyl)-2-(triflometyl)benzoyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoic.



Sơ đồ 25, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (2ml) vào dung dịch chứa metyl 3-[[6-[3-(hydroxymetyl)-1-piperidyl]-3-metyl-pyridin-2-carbonyl]amino]-2,4-dimetyl-benzoat (0,11g, 0,24mmol) trong THF (8ml) trong khi

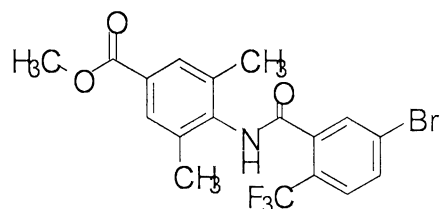
khuấy. Sau 12 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ pH=4 bằng dung dịch HCl 1N, và chiết hai lần bằng điclorometan. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với pentan và dietyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (95mg, 89%). Phổ khối (m/z): 437,2 (M+1).

Sơ đồ 26



Quy trình điều chế 70

Tổng hợp methyl 4-[[[5-bromo-2-(trifluoromethyl)benzoyl]amino]-3,5-dimethylbenzoat.

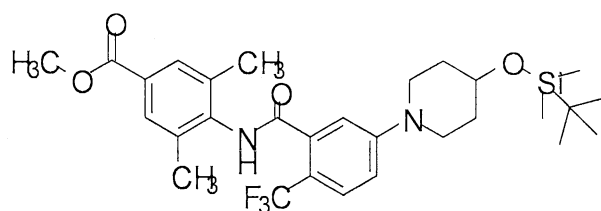


Sơ đồ 26, bước A. Bổ sung methyl 4-amino-3,5-dimethylbenzoat (0,46g, 0,00260mol, xem quy trình điều chế 12) và triethylamin (1,10ml, 0,00743mol) vào dung dịch chứa axit 5-bromo-2-(trifluoromethyl)benzoic (1,00g, 0,00371mol) trong

CH_2Cl_2 (15ml) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng này trong thời gian 10 phút, anhydrit vòng của axit 1-propanphosphonic (50% dung dịch trong ethyl axetat, 6,00ml, 0,00929mol) được bổ sung vào qua xyranh và khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 14 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với nước và chiết bằng điclorometan. Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên magie sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng 10-15% EtOAc để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,45g, 27,67%). Phổ khối (m/z): 430,0 (M+1).

Quy trình điều chế 71

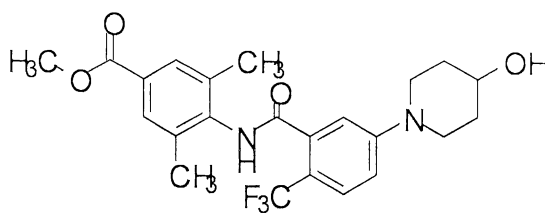
Tổng hợp metyl 4-[[5-[4-[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2-(triflometyl)benzoyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 26, bước B. Bổ sung $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (21,28mg, 23,24 μmol) tiếp theo là, 2-dicyclohexylphosphino-2',6'-đimethoxybiphenyl (S-Phos) (9,54mg, 23,24 μmol) vào dung dịch chứa metyl 4-[[5-bromo-2-(triflometyl)benzoyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat (0,10g, 232,44 μmol), tert-butyl-đimetyl-(4-piperidyloxy)silan (55,08mg, 255,68 μmol , xem quy trình điều chế 3) và Cs_2CO_3 (227,2mg, 697,32 μmol) trong 1,4-dioxan (2,5ml). Hỗn hợp phản ứng này được sục nitơ trong thời gian 5 phút và tiếp theo, được đun nóng ở nhiệt độ 120°C. Sau 8 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ môi trường, lọc qua Celite™, và rửa bằng EtOAc. Gom dịch lọc, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh (nhôm oxit trung tính) bằng cách sử dụng 15% - 85% ethyl axetat trong hexan làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng dầu màu vàng nhạt (0,10g, 80%). Phổ khối (m/z): 565,4 (M+1).

Quy trình điều chế 72

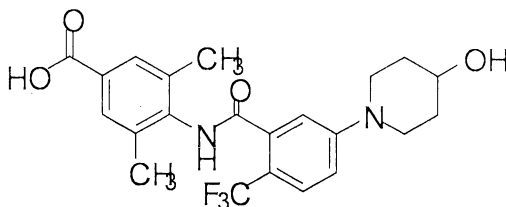
Tổng hợp metyl 4-[[5-(4-hydroxy-1-piperidyl)-2-(triflometyl)benzoyl]amino]-3,5-dimetyl-benzoat.



Sơ đồ 26, bước C. Bổ sung Bu_4NF 1,0M trong THF (1,0ml) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa methyl 4-[[5-[4-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2-(trifluoromethyl)benzoyl]amino]-3,5-dimethylbenzoat (0,10g, 177,08 μmol) trong THF (4ml). Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Sau 6 giờ, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng với hỗn hợp nước đá và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn. Cặn này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) bằng gradient sử dụng 40 - 60% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (0,06g, 81,5%). Phổ khối (m/z): 451,2 ($M+1$).

Ví dụ 22

Tổng hợp axit 4-[[5-(4-hydroxy-1-piperidyl)-2-(trifluoromethyl)benzoyl]amino]-3,5-dimethylbenzoic.



Sơ đồ 26, bước D. Bổ sung dung dịch chứa dung dịch nước NaOH 2N (1,5,00ml) vào dung dịch chứa methyl 4-[[5-[4-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxy-1-piperidyl]-2-(trifluoromethyl)benzoyl]amino]-3,5-dimethylbenzoat (60,0mg, 133,20 μmol) trong THF:MeOH (5ml:0,5ml) trong khi khuấy. Sau 12 giờ ở nhiệt độ môi trường, dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và cặn được pha loãng với nước, axit hóa đến độ $\text{pH}=4$ bằng dung dịch nước axit xitric, và chiết bằng etyl axetat ($2 \times 20\text{ml}$). Gom các lớp hữu cơ và làm khô trên natri sulfat khan. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm và chất kết tủa thu được được nghiền với pentan và diethyl ete và lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng đục (0,04g, 60%). Phổ khối (m/z): 437,2 ($M+1$).

Gắn kết *in vitro* với EP1, EP2, EP3 và EP4 của người

Màng hEP1 và hEP4 được điều chế từ các thụ thể tế bào HEK293 tái tổ hợp biểu hiện người một cách ổn định EP1 (số hiệu lưu trữ ngân hàng gen AY275470) hoặc EP4 (số hiệu lưu trữ ngân hàng gen AY429109). Màng hEP2 và hEP3 được điều chế từ các tế bào HEK293 được gây nhiễm tạm thời bằng plasmit thụ thể EP2 (số hiệu lưu trữ ngân hàng gen AY275471) hoặc EP3 (isoform VI: số hiệu lưu trữ ngân hàng gen AY429108). Các viên tế bào đông lạnh được làm đồng nhất trong dung dịch đệm đồng nhất bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa Teflon/thủy tinh. Protein màng được phân ước và làm đông lạnh nhanh trên đá khô trước khi bảo quản ở -80°C . Dung dịch đệm đồng nhất chứa 10mM Tris-HCl, pH=7,4, 250mM sucroza, 1mM EDTA, 0,3mM indometaxin và cộng với Complete™, với EDTA, thu được từ Roche Molecular Biochemicals (Catalog Number 1 697 498).

Trị số Kd của việc gắn kết $[^3\text{H}]\text{-PGE}_2$ với mỗi thụ thể được xác định các nghiên cứu gắn kết bão hòa hoặc cạnh tranh theo kiểu tương đồng. Các hợp chất được thử nghiệm trong định dạng 96 lỗ bằng cách sử dụng dãy pha loãng ba lần để tạo ra đường cong 10 điểm. Hợp chất đã pha loãng là được ủ với $20\mu\text{g/lỗ}$ màng EP1, $10\mu\text{g/lỗ}$ màng EP2, $1\mu\text{g/lỗ}$ màng EP3 hoặc từ 10 đến $20\mu\text{g/lỗ}$ màng EP4 trong 90 phút ở nhiệt độ 25°C với sự có mặt của từ 0,3 đến 0,5nM $[^3\text{H}]\text{-PGE}_2$ (PerkinElmer, từ 118 đến 180Ci/mmol). Phản ứng gắn kết được tiến hành trong $200\mu\text{L}$ dung dịch đệm MES (10mM MES pH=6,0 với KOH, 10mM MgCl_2 và 1mM EDTA) sử dụng đĩa 96 lỗ sâu polystyren $0,5\text{mL}$. Việc gắn kết không đặc hiệu được tính toán bằng cách so sánh việc gắn kết với sự có mặt của và không có $2\mu\text{M}$ PGE_2 . Màng được gom bằng cách lọc (thiết bị gom TomTek), được rửa 4 lần bằng dung dịch đệm lạnh (10mM MES pH=6,0 với KOH, 10mM MgCl_2), được sấy khô trong lò 60°C , và hoạt tính phóng xạ được định lượng theo số đếm trên một phút (counts per minute-CPM) bằng cách sử dụng bộ dò TopCount. Phần trăm gắn kết đặc hiệu được tính toán dưới dạng phần trăm gắn kết khi không có mặt chất ức chế bất kỳ, được hiệu chỉnh để gắn kết với sự có mặt của $2\mu\text{M}$ PGE_2 . Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng phương trình thống kê phi tuyến tính 4 thông số (Phương trình ABase 205) như sau: $y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$ trong đó, y =% ức chế đặc hiệu, A = đáy của đường cong; B = đỉnh của đường cong; C = IC_{50} tương đối = nồng độ gây ra sự ức chế 50% dựa trên

khoảng dữ liệu từ đỉnh đến đáy; D = Đồi, độ dốc = độ dốc của đường cong. K_i đổi từ trị số IC_{50} ($K_i = IC_{50}/(1 + [L]/K_d)$ trong đó $[L]$ là nồng độ phối tử). Hợp chất của các Ví dụ 1-22 trong bản mô tả này được thử nghiệm về cơ bản như được mô tả trên đây và có trị số K_i với hEP4 là nhỏ hơn $2\mu M$.

Bảng 2: Việc gắn kết *in vitro* của hợp chất Ví dụ 1 với EP1, EP2, EP3 và EP4 của người

Hợp chất thử nghiệm	hEP1, K_i (nM)	hEP2, K_i (nM)	hEP3, K_i (nM)	hEP4, K_i (nM)
Ví dụ 1	>17500 (n=1)	>18900 (n=1)	>14000 (n=1)	76 + 47 (n=7)

Theo quy trình về cơ bản như được mô tả trên đây, dữ liệu trong Bảng 2 chứng tỏ rằng hợp chất của Ví dụ 1 gắn kết với hEP4 ở nồng độ nanomol thấp. Dữ liệu trong Bảng 2 còn chứng tỏ hợp chất của Ví dụ 1 gắn kết với hEP4 mạnh hơn là gắn kết với hEP1, hEP2, và hEP3, thể hiện tính chọn lọc với thụ thể hEP4.

Hoạt tính đối kháng chức năng EP4 của người *in vitro*

Các thử nghiệm được tiến hành trên tế bào HEK293 tái tổ hợp biểu hiện người một cách ổn định thụ thể EP4. Các dòng tế bào được duy trì bằng cách nuôi cấy trong DMEM với nồng độ glucoza và pyridoxin hydroclorua (Invitrogen) cao được bổ trợ 10% huyết thanh bào thai bê (FBS), 1mM natri pyruvat, 10mM HEPES, 500 μ g/ml genetixin và 2mM L-glutamin. Các chủng nhập dòng được cho phát triển ở nhiệt độ 37°C trong khí quyển chứa 5% CO₂. Các tế bào được gom bằng cách sử dụng 2,5% Trypsin-EDTA, được tạo huyền phù trong môi trường đông lạnh (FBS chứa 6% DMSO) ở nồng độ 10⁷ tế bào/mL và các phần phân ước được bảo quản trong nitơ lỏng. Ngay trước thử nghiệm, các tế bào được rã đông trong DMEM, được ly tâm, và được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm cAMP.

Việc ức chế sự sản xuất cAMP được kích thích bằng PGE₂ bằng chất đối kháng EP4s được đo bằng cách sử dụng HTRF; (Cisbio catalog # 62AM4PEB). Phần phân ước tương đương với 4000 tế bào được ủ với 50 μ L dung dịch đệm thử nghiệm cAMP chứa EC₈₀ của PGE₂ (0,188nM PGE₂ từ Sigma, catalog # P5640-10mg) và các chất

đối kháng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 phút. Dung dịch đệm thử nghiệm cAMP chứa 500mL HBSS (dung dịch muối cân bằng Hank), 0,1% BSA, 20mM HEPES và 200 μ M IBMX (Sigma I5879). CJ-042794 (axit 4-((1S)-1-((5-clo-2-[(4-flophenyl)oxy]phenyl}carbonyl)amino)ethyl}benzoic) được dùng làm đối chứng dương tính. Để đo nồng độ cAMP, thể tiếp hợp cAMP-d2 và thể tiếp hợp kháng cAMP-cryptat trong dung dịch đệm dung giải được ủ với các tế bào đã được xử lý ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Tín hiệu HTRF được phát hiện bằng cách sử dụng đầu đọc đĩa EnVision® (Perkin-Elmer) để tính toán tỷ lệ phát huỳnh quang ở 665nm so với 620nm. Dữ liệu thô được chuyển hóa thành lượng cAMP (pmol/lỗ) bằng cách sử dụng đường cong chuẩn cAMP được tạo ra cho mỗi thử nghiệm. Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng phương trình thống kê phi tuyến tính 4-thông số (Phương trình ABase 205) như sau: $y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$ trong đó, y = % ức chế đặc hiệu, A = đáy của đường cong, B = đỉnh của đường cong, C = IC₅₀ tương đối = nồng độ gây ra sự ức chế 50% dựa trên khoảng dữ liệu từ đỉnh đến đáy. D = Độ dốc = độ dốc của đường cong.

Theo quy trình về cơ bản như được mô tả trên đây, hợp chất của Ví dụ 1 có IC₅₀ bằng 5,6 + 2,8 nM (n=8) được đo trên EP4 người. Điều này chứng tỏ rằng hợp chất của Ví dụ 1 là chất đối kháng tiềm tàng của EP4 người *in vitro*.

Hoạt tính đối kháng chức năng EP4 của chuột *in vitro*

ADN bổ trợ EP4 ở chuột (Genebank Accession# NM_03276) được tách dòng thành vật truyền pcDNA 3.1 và tiếp theo được gây nhiễm trong các tế bào HEK293 để biểu hiện thụ thể. Dòng EP4 ổn định ở chuột được sản xuất trên quy mô lớn và tiếp theo, làm đông lạnh xuống làm ngân hàng tế bào để sàng lọc hợp chất sau này. Để thử nghiệm hợp chất đối kháng EP4 trong các tế bào rEP4, làm rã đông các tế bào đông lạnh và tiếp theo, tái tạo huyền phù các tế bào trong dung dịch đệm thử nghiệm cAMP. Dung dịch đệm cAMP được làm từ HBSS không chứa phenol đỏ (Hyclone, SH30268) được bổ trợ 20mM HEPES (Hyclone, SH30237), 0,1% BSA (Gibco, 15260) và 125 μ M IBMX (Sigma, I5879). Các tế bào được dán mỏng vào đĩa polystyren màu đen 96 lỗ half area đáy phẳng (Costar 3694). Các hợp chất được pha loãng theo dãy với DMSO để tạo ra đường cong đáp ứng nồng độ 10 điểm. Tiếp theo.

bổ sung hợp chất đã pha loãng vào dung dịch đệm thử nghiệm cAMP chứa PGE₂ (Cayman 14010, với nồng độ được xác định sơ bộ để tạo ra EC₈₀) với tỷ lệ DMSO/dung dịch đệm bằng 1/100. Các tế bào được xử lý bằng hợp chất với sự có mặt của PGE₂ (nồng độ EC₈₀) trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Nồng độ cAMP được tạo ra từ các tế bào được định lượng bằng kit thử nghiệm cAMP HTRF (Cisbio 62AM4PEC). Các đĩa được đọc trên đầu đọc đĩa EnVision bằng cách sử dụng quy trình tối ưu hóa HTRF (PerkinElmer). IC₅₀'s được tính toán bằng cách sử dụng phép hồi quy phi tuyến tính Graphpad Prism (v. 4), hiệu chỉnh đường cong đáp ứng liều dạng xích ma.

Theo quy trình về cơ bản như được mô tả trên đây, hợp chất của Ví dụ 1 có IC₅₀ bằng 12 nM được đo trên EP4 của chuột. Điều này chứng tỏ rằng hợp chất của Ví dụ 1 là chất đối kháng tiềm tàng với EP4 của chuột *in vitro*.

Hoạt tính đối kháng *in vitro* trong máu toàn phần ở người

Tác dụng ức chế PGE₂ đối với việc sản xuất TNF α được kích thích bởi LPS từ đại thực bào/bạch cầu đơn nhân được cho là do các thụ thể EP4 gây ra (See Murase, A., et al., Life Sciences, 82:226-232 (2008)). Khả năng của hợp chất của Ví dụ 1 để đảo ngược tác dụng ức chế của PGE₂ đối với việc sản xuất TNF α được kích thích bởi LPS trong máu toàn phần ở người là dấu hiệu của hoạt tính chức năng.

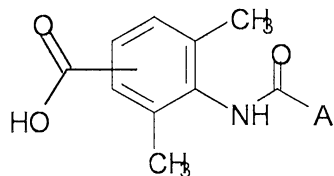
Máu được lấy từ các người cho tình nguyện bình thường vào ống chịu chân không chứa natri heparin. Người cho không được dùng NSAID hoặc celecoxib trong vòng 48 giờ hoặc glucocorticoid trong vòng hai tuần trước khi cho. Toàn bộ các ống/người cho được gom vào ống ly tâm hình nón Falcon 50ml và được chia vào đĩa nuôi cấy mô 96 lỗ (Falcon 3072) với lượng 98 μ L/lỗ. Các hợp chất được pha loãng trong DMSO đến nồng độ cuối cùng 100 X và 1 μ L/lỗ thành ba bộ và bổ sung máu vào để tạo ra đường cong đáp ứng nồng độ 7 điểm. Máu được xử lý sơ bộ bằng hợp chất ở nhiệt độ 37°C, trong khí quyển ẩm chứa 5% CO₂, trong 30 phút, sau đó bổ sung 1 μ L/lỗ dung dịch chứa 1mg/mL lipopolysaccharit (LPS) (Sigma 0111:B4) trong 0.2 mg/mL albumin huyết thanh bào thai bê (BSA)/PBS +/- 1mM PGE₂ (Cayman 14010) vào để tạo ra nồng độ LPS cuối cùng là 10 μ g/mL +/- 10 nM PGE₂. Các đĩa được ủ

trong thời gian 20-24 giờ ở nhiệt độ 37 °C trong khí quyển ẩm chứa 5% CO₂. Các đĩa được ly tâm với tốc độ 1800 × g, 10 phút ở 22°C, trong máy ly tâm Eppendorf 5810R. Huyết tương được loại bỏ khỏi lớp tế bào và được chuyển vào đĩa polypropylen đáy hình chữ v. Lượng TNF α trong 2 μ L huyết tương được định lượng bằng thử nghiệm miễn dịch enzym sẵn có trên thị trường (R&D Systems DY210), bằng cách sử dụng đĩa Immulon 4 HBX (Thermo 3855) và cơ chất 3,3',5,5' tetramethylbiphenyl-4,4'-diamin (KPL 50-76-03). Các đĩa được đọc ở A₄₅₀-A₆₅₀ trên đầu đọc đĩa (Molecular Devices Versamax) bằng cách sử dụng phần mềm SOFTmaxPRO (v. 4.3.1). IC₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng phép hồi quy phi tuyến tính Graphpad Prism (v. 4), hiệu chỉnh đường cong đáp ứng liều dạng xích ma. Kết quả được thể hiện dưới dạng số trung bình hình học $\pm$ sai số chuẩn; n = số lần xác định độc lập.

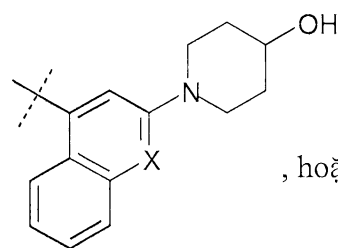
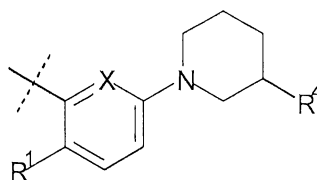
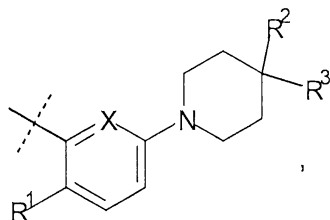
Theo quy trình về cơ bản như được mô tả trên đây, hợp chất của Ví dụ 1 có IC₅₀ bằng 123 + 81nM (n=8) được đo trên EP4 người. Điều này chứng tỏ rằng hợp chất của Ví dụ 1 là chất đối kháng tiềm tàng EP4 trong thử nghiệm kích thích TNF α trong máu người.

YÊU CẦU BẢO HỘ

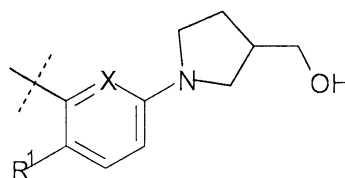
1. Hợp chất có công thức:



trong đó A là:



, hoặc



R^1 là CH_3 , CF_3 , hoặc F;

R^2 là H, CH_3 , hoặc F;

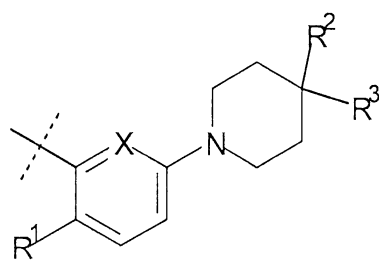
R^3 là CH_3 , OCH_3 , OH, F;

R^4 là OH hoặc CH_2OH ; và

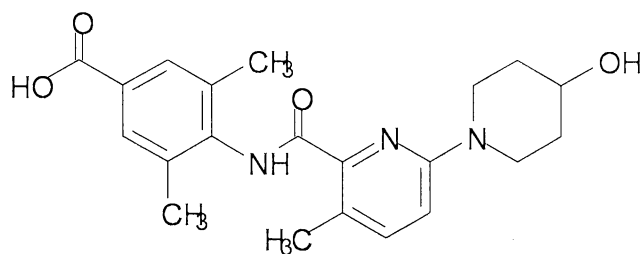
X là CH hoặc N;

hoặc muối được dựng của nó.

2. Hợp chất hoặc muối theo điểm 1, trong đó A là:

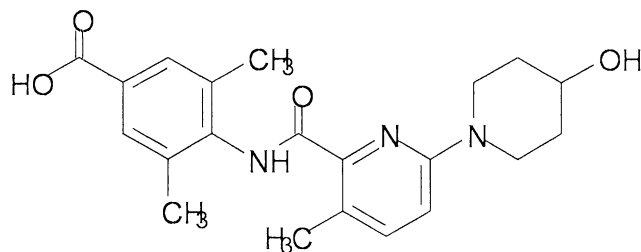


3. Hợp chất hoặc muối theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó R^1 là CH_3 .
4. Hợp chất hoặc muối theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó X là N.
5. Hợp chất hoặc muối theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó R^2 là H và R^3 là OH.
6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối được dùng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



8. Hợp chất theo điểm 7, trong đó hợp chất này được hydrat hóa.

9. Hợp chất theo điểm 8 được đặc trưng bởi đỉnh quan trọng trong phổ nhiễu xạ tia X, ở góc nhiễu xạ 2-theta, of $9,0^\circ$, kết hợp với hai hoặc nhiều đỉnh ở góc nhiễu xạ 2-theta được chọn từ nhóm bao gồm $5,8^\circ$, $8,5^\circ$, $9,8^\circ$, $11,6^\circ$, $11,8^\circ$, $17,5^\circ$, và $24,2^\circ$.
10. Dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối dược dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 kết hợp với một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược dược dụng.