



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104334540 B

(45) 授权公告日 2016. 03. 16

(21) 申请号 201380030138. X

(22) 申请日 2013. 06. 20

(30) 优先权数据

61/665, 956 2012. 06. 29 US

61/778, 969 2013. 03. 13 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 12. 01

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/046685 2013. 06. 20

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/004230 EN 2014. 01. 03

(73) 专利权人 伊莱利公司

地址 美国印第安纳州

(72) 发明人 M·J·布兰科-皮利亚多

T·N·韦特曼 M·J·菲舍尔

S·L·库克利什

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 隋晓平 黄革生

(51) Int. Cl.

C07D 401/04(2006. 01)

C07D 207/08(2006. 01)

C07D 211/42(2006. 01)

C07D 211/46(2006. 01)

A61K 31/445(2006. 01)

A61K 31/4709(2006. 01)

A61K 31/402(2006. 01)

A61K 31/4025(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

(56) 对比文件

US 2009105321 A1, 2009. 04. 23,

John Colucci et.al.. Discovery of 4-{1-[(1-[4-(trifluoromethyl) benzyl]-1H-indol-7-yl) carbonyl] amino} cyclopropyl} benzoic acid (MF-766), a highly potent and selective EP4 antagonist for treating inflammatory pain. 《Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters》. 2010, 第 20 卷 3760-3763.

审查员 郝小燕

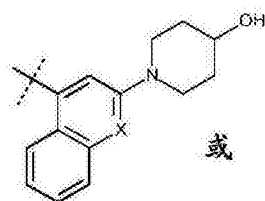
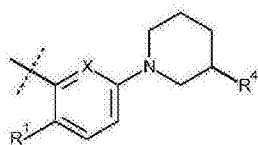
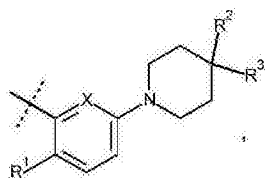
权利要求书2页 说明书59页

(54) 发明名称

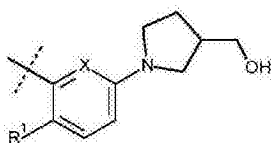
二甲基-苯甲酸化合物

(57) 摘要

本发明提供式 II 或其可药用的盐, 其中 A 为:



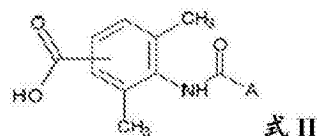
或



R¹ 为 CH₃、CF₃ 或 F; R² 为 H、CH₃ 或 F; R³ 为 CH₃、OCH₃、OH、F; R⁴ 为 OH 或 CH₂OH; 并且 X 为 CH 或 N。这些

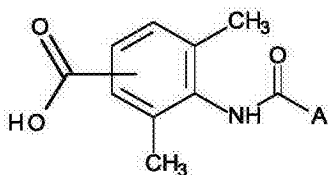
化合物为选择性 EP4 抑制剂, 可以用于治疗炎性

疾病, 如关节炎。

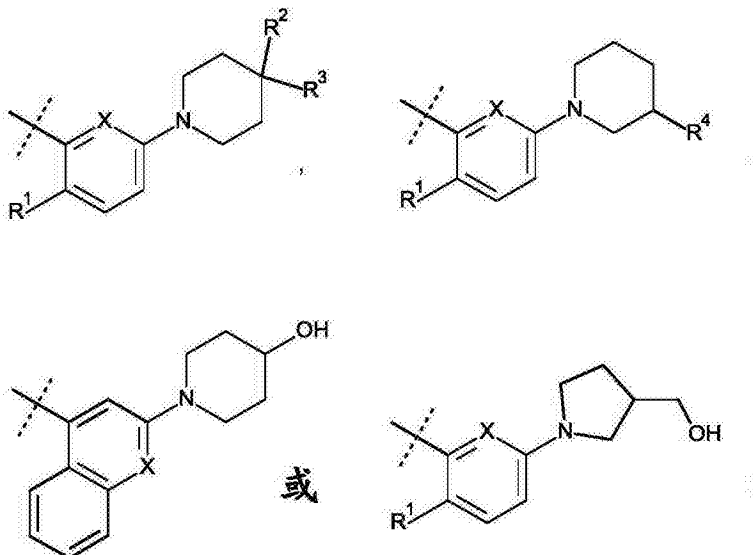


式 II

1. 下式的化合物或其可药用的盐：



其中 A 为：



R^1 为 CH_3 、 CF_3 或 F ；

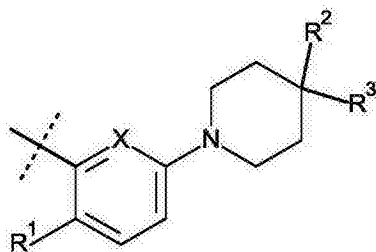
R^2 为 H 、 CH_3 或 F ；

R^3 为 CH_3 、 OCH_3 、 OH 、 F ；

R^4 为 OH 或 CH_2OH ；并且

X 为 CH 或 N 。

2. 权利要求 1 的化合物，其中 A 为：

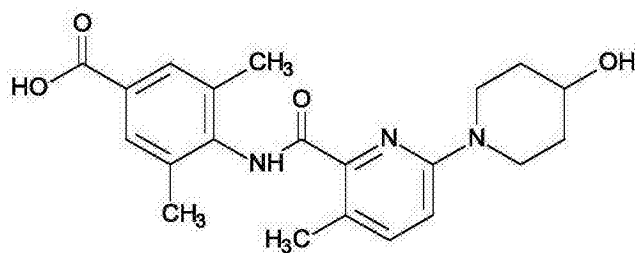


3. 权利要求 1 的化合物或盐，其中 R^1 为 CH_3 。

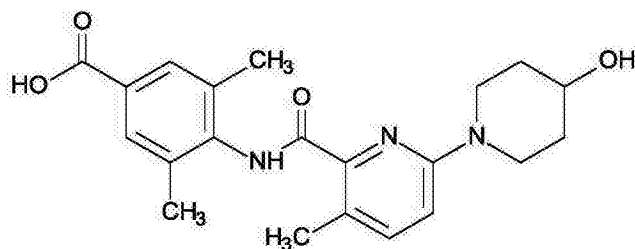
4. 权利要求 1 — 3 中任一项的化合物或盐，其中 X 为 N 。

5. 权利要求 1 — 3 中任一项的化合物或盐，其中 R^2 为 H 并且 R^3 为 OH 。

6. 权利要求 1 的化合物或其可药用的盐，所述化合物为：



7. 权利要求 1 的化合物,所述化合物为:



8. 权利要求 7 的化合物的水合物。

9. 权利要求 8 的化合物的水合物,其特征在于:在 X-射线衍射图谱中,衍射角 2θ 处的主峰为 9.0° ,衍射角 2θ 处还有选自下列的两个或多个峰: 5.8° 、 8.5° 、 9.8° 、 11.6° 、 11.8° 、 17.5° 和 24.2° 。

10. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐在制备治疗骨关节炎的药物中的用途。

11. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐在制备治疗类风湿性关节炎的药物中的用途。

12. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐在制备治疗与骨关节炎或类风湿性关节炎有关的疼痛的药物中的用途。

13. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐,用于治疗。

14. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐,用于治疗骨关节炎。

15. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐,用于治疗类风湿性关节炎。

16. 权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐,用于治疗与骨关节炎或类风湿性关节炎有关的疼痛。

17. 药用组合物,该药用组合物包含权利要求 1—9 中任一项的化合物或其可药用的盐以及一或多种可药用的载体、稀释剂或赋形剂。

二甲基 - 苯甲酸化合物

[0001] 本发明涉及新的二甲基 - 苯甲酸化合物、含有此类化合物的药用组合物、采用此类化合物治疗生理学疾病的方法以及在合成此类化合物中使用的中间体和方案。

[0002] 本发明属于炎性疾病治疗领域,例如关节炎,包括骨关节炎和类风湿性关节炎,还包括与这些疾病相关的疼痛。关节炎仅仅在美国就影响了数百万患者,是致残的主要原因。治疗通常包括 NSAIDs (非甾体抗炎药物) 或 COX-2 抑制剂,它们可能会导致不良的心血管副作用。因此,心血管功能差的患者 (例如高血压患者) 应当避免使用 NSAIDs 或 COX-2 抑制剂。所以,需要骨关节炎和类风湿性关节炎的可替代治疗方案,优选这些替代治疗方案没有现行疗法的副作用。

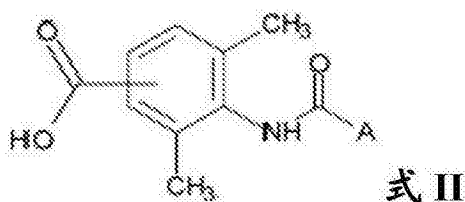
[0003] 已经鉴别了四种前列腺素 E₂ (PGE₂) 受体亚型,包括 EP₁、EP₂、EP₃ 和 EP₄。已经公开的是,在类风湿性关节炎和骨关节炎的啮齿类模型中,EP₄ 是与关节炎症疼痛有关的主要受体 (参见 J. Pharmacol. Exp. Ther., 325, 425 (2008))。因此,选择性 EP₄ 拮抗剂可以用于治疗关节炎,包括关节炎疼痛。另外,也有建议,因为 EP₄ 拮抗不能干扰前列环素例如 PGI₂ 和 TxA₂ 的生物合成,因此,选择性 EP₄ 拮抗剂不会具有 NSAIDs 和 COX-2 抑制剂的潜在的心血管副作用。(参见例如 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 21, 484 (2011))。

[0004] WO 96/02509 公开了某些喹啉衍生物,它们是选择性非肽 NK₃ 拮抗剂,用于治疗多种疾病,包括例如肺部疾病、CNS 疾病、神经源性炎症和炎症疼痛。另外,美国专利申请号 7,705,035 公开了某些二氢吡啶酰胺衍生物,作为 EP₄ 配体、激动剂或拮抗剂,它们可以用于治疗各种疾病,例如骨关节炎、类风湿性关节炎以及急性和慢性疼痛。

[0005] 本发明提供了某些新化合物,它们相对于 EP₁、EP₂ 和 EP₃ 而言是 EP₄ 的选择性抑制剂。此外,本发明提供了某些新化合物,与传统的 NSAIDs 相比,它们可能会减少心血管或胃肠道副作用。

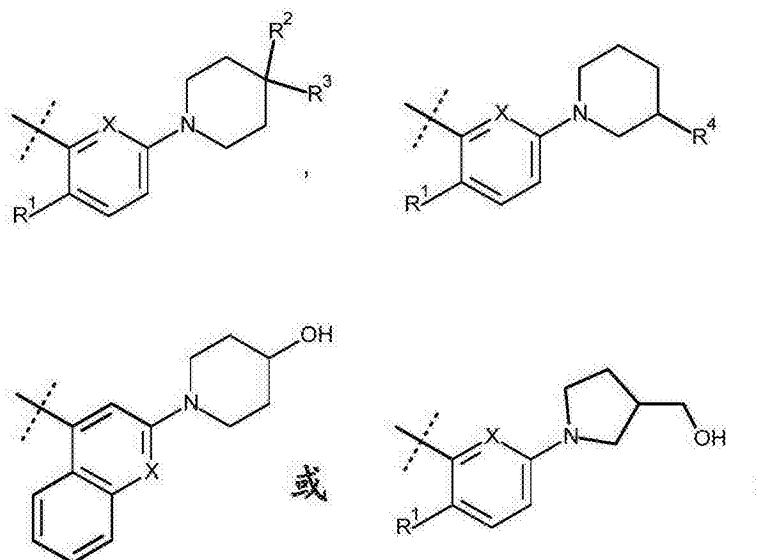
[0006] 因此,本发明提供了式 II 化合物或其可药用的盐:

[0007]



[0008] 其中 A 为:

[0009]



[0010] R¹为CH₃、CF₃或F；

[0011] R^2 为 H、CH₃ 或 F；

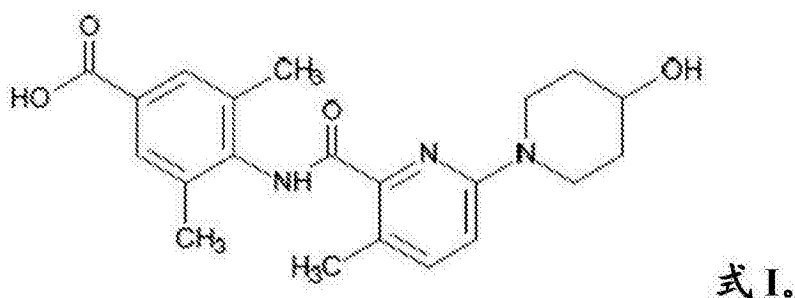
[0012] R^3 为 CH_3 、 OCH_3 、 OH 、 F ；

[0013] R^4 为 OH 或 CH_2OH ; 并且

[0014] X 为 CH。

[0015] 本发明还提供了式 I 化合物或其可药用的盐：

[0016]



[0017] 本发明还提供了式 I 化合物的水合物。

[0018] 本发明还提供了治疗患者关节炎的方法,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。本发明还提供了治疗患者骨关节炎的方法,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。另外,本发明还提供了治疗患者类风湿性关节炎的方法,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。本发明还提供了治疗与患者关节炎有关的疼痛的方法,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。本发明还提供了治疗与患者骨关节炎或类风湿性关节炎有关的疼痛的方法,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。

[0019] 另外,本发明提供了用于治疗式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐,特别是用于治疗骨关节炎。另外,本发明提供了用于治疗类风湿性关节炎的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。本发明还提供了用于治疗与骨关节炎或类风湿性关节炎有关的疼痛的式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。另外,本发明还提供了式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐在生

产用于治疗骨关节炎的药物中的用途。本发明提供了式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐在生产用于治疗类风湿性关节炎的药物中的用途。本发明提供了式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐在生产用于治疗骨关节炎或类风湿性关节炎的药物中的用途。

[0020] 本发明还提供了药用组合物,该组合物包含式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐以及与之组合的一或多种可药用的载体、稀释剂或赋形剂。在一个具体的实施方案中,该组合物还含有一或多种其它治疗药物。

[0021] 本发明还包括用于合成式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐的新的中间体和方法。

[0022] 另外,本发明包括治疗患者炎性疾病的方法,例如关节炎,包括骨关节炎和类风湿性关节炎,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的促炎前列腺素拮抗剂(例如 EP4 拮抗剂)以及与之组合的有效量的脂氧素(lipoxin)或消退素(resolvin)受体的调节剂,例如 BLT-1、BLT-2、ALX/FPR1、GPR32、CysLT1、CysLT2 或 ChemR23 的调节剂。

[0023] 本发明的另一方面包括治疗患者炎性疾病的方法,例如关节炎,包括骨关节炎和类风湿性关节炎,该方法包括给予需要此类治疗的患者有效量的促炎前列腺素合成酶的拮抗剂(例如 mPGES-1 抑制剂)以及与之组合有效量的脂氧素(lipoxin)或消退素(resolvin)受体的调节剂,例如 BLT-1、BLT-2、ALX/FPR1、GPR32、CysLT1、CysLT2 或 ChemR23 的调节剂。

[0024] 本文中使用的术语“治疗”包括抑制、减缓、阻止或逆转现有症状或疾病的进展或严重程度。

[0025] 本文中使用的术语“患者”是指哺乳动物,例如小鼠、豚鼠、兔、犬或人。应当理解,优选的患者为人类。

[0026] 本文中使用的术语“有效量”是指当单剂量或多剂量给予患者时能够在患者的诊断或治疗中达到预期效果的本发明化合物或其可药用的盐的数量或剂量。

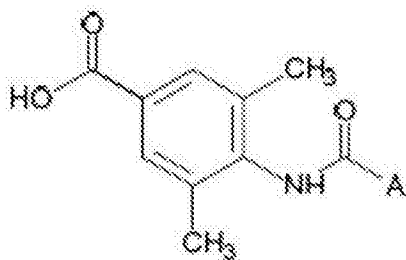
[0027] 有效量可以由作为本领域技术人员的主治诊断医师通过采用已知的技术手段并且通过类似情况下获得的观察结果容易地确定。在确定患者有效量时,主治诊断医师应当考虑多种因素,包括但不限于:哺乳动物的种类;其大小、年龄和一般健康情况;涉及到的具体的疾病或病症;疾病或病症的程度或损害或严重性;个体患者的响应;给予的特定化合物;给药的模式;给予的制剂的生物利用度特性;选择的剂量方案;合并用药的使用等其它相关情况。

[0028] 式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐通常在较宽的剂量范围内是有效的。例如,每天的剂量范围通常在约 0.01 至约 50mg/kg 体重。在某些情况下,低于上述范围的低限的剂量水平可能就足够了,而在其它情况下,可以采用产生可接受的副作用的较大的剂量,因此,上述剂量范围不应当以任何方式限定本发明的范围。

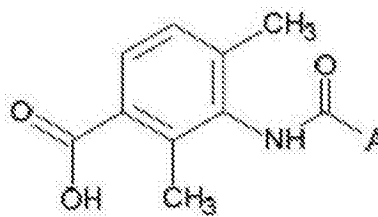
[0029] 本发明化合物优选配制为药用组合物,其可以通过使得该化合物生物可利用的任何途径给药。最优选该类组合物通过口服途径给药。此类药用组合物和制备方法在本领域中是公知的。(参见,例如,Remington:The Science and Practice of Pharmacy(雷明顿:药物科学与实践)(D. B. Troy, Editor, 第 21 版, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006)。

[0030] 应当理解,式 II 包括式 IIa 和 IIb:

[0031]



式 IIa

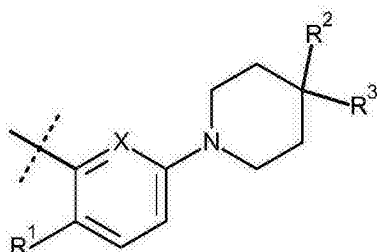


式 IIb

[0032] 式 I 或式 II 化合物可以特别用于本发明的治疗方法,但优选某些基团、取代基和构型。下面的段落描述了此类优选的基团、取代基和构型。应当理解,这些优选参数既适用于治疗方法,也适用于新的本发明化合物。

[0033] 优选 A 为:

[0034]



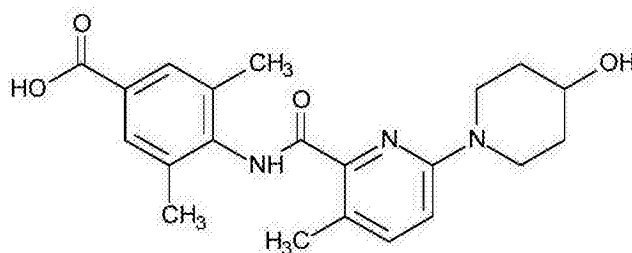
[0035] 优选 R^1 为 CH_3 。

[0036] 优选 X 为 N。

[0037] 进一步优选当 R^2 为 H 时, R^3 为 OH。

[0038] 优选的化合物为 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸或其可药用的盐,它是:

[0039]



[0040] 特别优选 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸。

[0041] 还优选 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸水合物。

[0042] 也优选特征如下的 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸水合物:在 X-射线衍射图谱中,衍射角 2θ 处的主峰(substantial peak)为 9.0° , 衍射角 2θ 处还有选自下列的两个或多个峰: 5.8° 、 8.5° 、 9.8° 、 11.6° 、 11.8° 、 17.5° 和 24.2° 。

[0043] 本文中使用的“DMEM”是指达尔伯克氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified

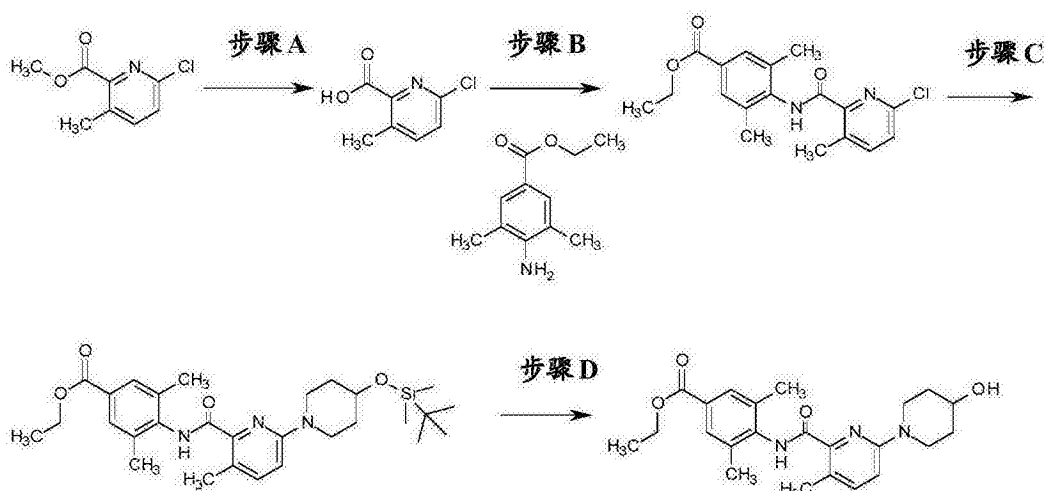
Eagle's Medium) ;“DMSO”是指二甲基亚砷 ;“IPA”是指异丙醇 ;“MeOH”是指甲醇 ;“EtOH”是指乙醇 ;“DMF”是指二甲基甲酰胺 ;“THF”是指四氢呋喃 ;“EtOAc”是指乙酸乙酯 ;“FBS”是指胎牛血清 ;“PGE₂”是指前列腺素 E₂ ;“FBS”是指胎牛血清 ;“IBMX”是指 (3- 异丁基 -1- 甲基黄嘌呤) ;“MES”是指 (2-(N- 吗啉代) 乙磺酸) ;“HEPES”是指 (2-[4-(2- 羟基乙基) 哌嗪 -1- 基] 乙磺酸) ;“HTRF”是指均相时间分辨荧光技术 (homogeneous time-resolved fluorescence technology) ;“HEK”是指人胚胎肾 ;和“IC₅₀”是指成分能够产生 50% 该成分可能存在的最大抑制响应的浓度。

[0044] 制备它们的药学上可接受的盐和常规方法在本领域中是公知的。参见,例如, Gould, P. L., “基本药物的盐选择 (selection for basic drugs),” International Journal of Pharmaceutics, 33:201 – 217(1986) ;Bastin, R. J. 等, “药物新化学实体的盐选择和优化工艺 (Salt Selection and Optimization Procedures for Pharmaceutical New Chemical Entities),” 有机方法研究及进展 (Organic Process Research and Development, 4:427 – 435(2000) ;S. M. Berge 等, “药用盐 (Pharmaceutical Salts),” Journal of Pharmaceutical Sciences, 66:1 – 19(1977)。本领域技术人员应当理解,采用本领域技术人员众所周知的技术和条件,式 I 化合物可以容易地转化并且被分离为药学上可接受的盐。

[0045] 本发明化合物或其可药用的盐可以根据本领域众所周知的各种方法制备,某些方法描述于下面的流程、制备和实施例中。所述每种路线的具体合成步骤可以通过不同的方式组合使用,或者不同流程中的步骤组合使用,以制备式 I 或式 II 化合物或其可药用的盐。下面流程中每个步骤的产品可以通过常规方法回收,包括萃取、蒸发、沉淀、色谱、过滤、研磨和结晶方法。试剂和原料对于本领域技术人员而言可以容易地获得。除非另有说明,所有取代基均如上所定义。应当理解,这些流程、制备和实施例不应当以任何方式限定本发明的范围。

[0046] 流程 1

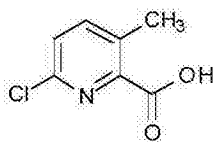
[0047]



[0048] 制备 1

[0049] 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸的合成。

[0050]

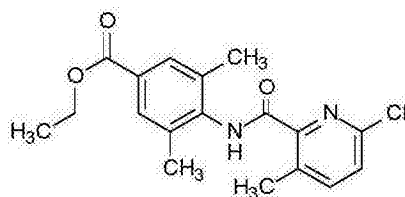


[0051] 流程 1, 步骤 A. 将 1N NaOH 水溶液 (10mL) 加至搅拌的 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸甲酯 (1.0g, 5.39mmol) 的 THF:MeOH(10ml:2mL) 溶液中。将混合物于室温下搅拌 3 小时。减压除去有机溶剂, 将半固体溶于水中, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH 1—2。过滤获得的沉淀物, 用水洗涤, 在真空箱中于 40℃干燥 12 小时, 获得目标化合物, 为白色固体 (780mg, 84%)。质谱 (m/z): 172.0 (M+1)。

[0052] 制备 2

[0053] 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯的合成。

[0054]

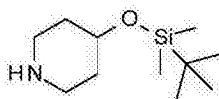


[0055] 流程 1, 步骤 B. 于室温下, 向 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸 (0.78g, 4.55mmol) 的 CH₂Cl₂ (15mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (0.878g, 4.55mmol) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (1.98mL, 11.36mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50%的乙酸乙酯溶液, 3.25mL, 5.46mmol)。48 小时后, 减压除去溶剂, 残留物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶) 采用 0—40%的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱。纯化后, 将固体在 30%乙酸乙酯己烷溶液中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为白色粉末 (0.907g, 57.5%)。质谱 (m/z): 347.2 (M+1)。

[0056] 制备 3

[0057] 叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷的合成。

[0058]

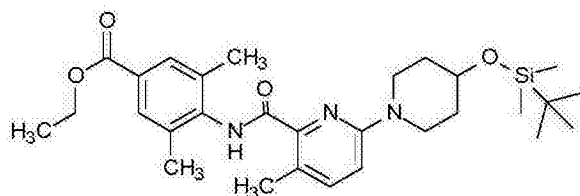


[0059] 流程 1, 步骤 C 试剂. 向 4-羟基哌啶 (2.00g, 9.89mmol) 的 CH₂Cl₂ (30mL) 溶液中加入 1H-咪唑 (2.69g, 39.55mmol), 随后加入叔-丁基二甲基氯代硅烷 (3.58g, 23.73mmol), 将反应混合物于室温下搅拌。12 小时后, 将反应混合物用水、饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 100% CH₂Cl₂—10% 7N 氨的 MeOH 溶液/90% CH₂Cl₂ 洗脱, 获得目标化合物 (3.69g, 86.3%)。质谱 (m/z): 216.2 (M+1)。

[0060] 制备 4

[0061] 4-[[6-[4-(叔-丁基(二甲基)甲硅烷基)氧基-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯的合成。

[0062]

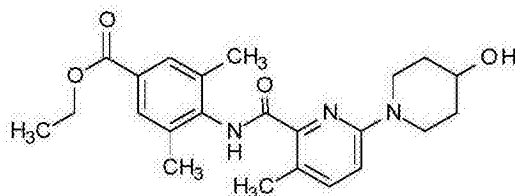


[0063] 流程 1, 步骤 C. 向 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (440mg, 1.27mmol) 的 THF (1.6mL) 溶液中加入 (iPr)Pd(肉桂基)Cl (16.43mg, 0.03mmol), 随后加入二(三甲基甲硅烷基)氯化锂 (3.81mL)。向反应混合物中充入氮气 5 分钟, 然后于室温下搅拌。18 小时后, 反应物用饱和的碳酸氢钠水溶液稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—30% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物 (278mg, 41%)。质谱 (m/z): 526.2 (M+1)。

[0064] 制备 5

[0065] 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯的合成。

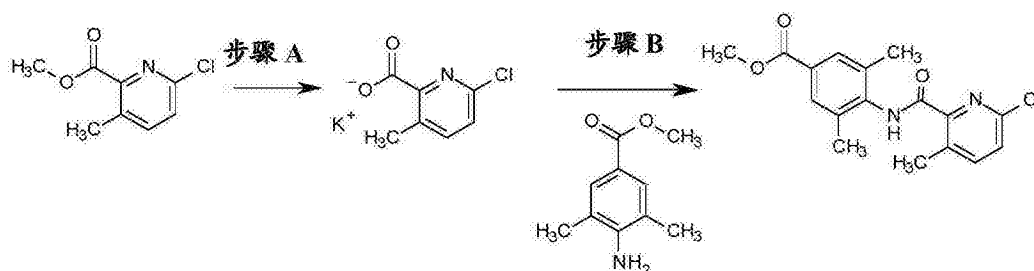
[0066]



[0067] 流程 1, 步骤 D. 于 0℃, 向 4-[[6-(4-(叔-丁基(二甲基)甲硅烷基)氧基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (342mg, 0.650mmol) 的 THF (4mL) 溶液中加入 Bu₄NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.975mL, 0.975mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。12 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物 (223mg, 83.3%)。质谱 (m/z): 412.2 (M+1)。

[0068] 流程 2

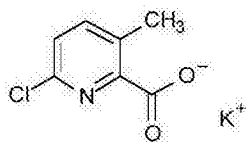
[0069]



[0070] 制备 6

[0071] 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸钾的合成。

[0072]

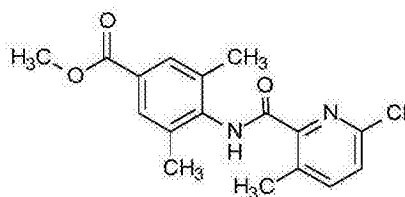


[0073] 流程 2, 步骤 A. 将 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸甲酯 (50g, 269.4mmols) 加至氢氧化钾 (18.7g, 282.9mmols) 的异丙醇 (2000mL) 溶液中。将混合物于室温下搅拌 1 小时。加入己烷 (500mL), 过滤固体, 用己烷洗涤, 于 45℃ 减压干燥 4 小时, 获得目标化合物 (52g, 92 %)。质谱 (m/z): 172.0 ($M+1$)。 ^1H NMR (300MHz, D_2O): 7.62 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 7.27 (d, $J = 8.0\text{Hz}$, 1H), 2.23 (s, 3H)。

[0074] 制备 7

[0075] 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

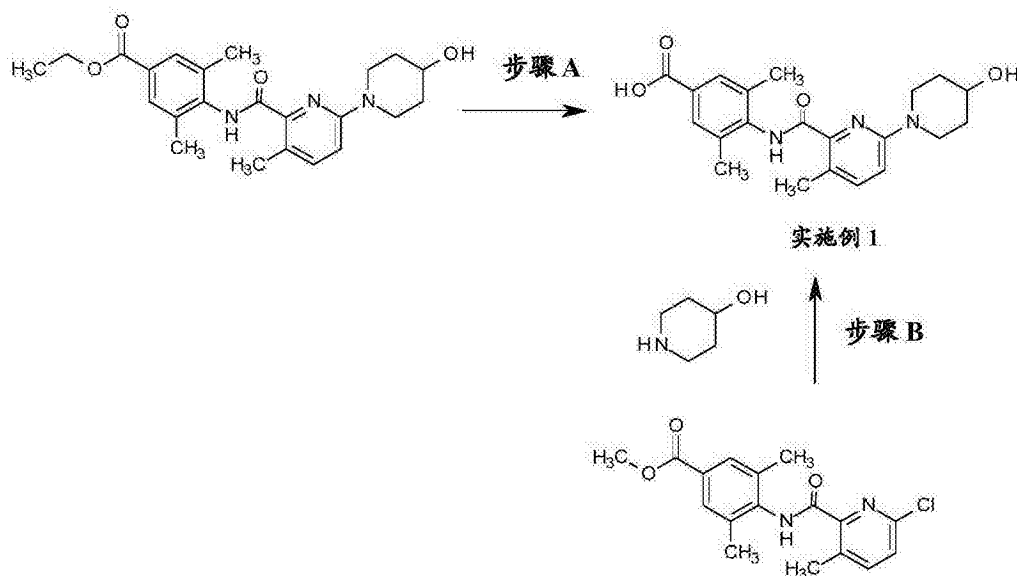
[0076]



[0077] 流程 2, 步骤 B. 向 6-氯代吡啶-2-甲酸钾 (52g, 265.8mmols) 的二甲基甲酰胺 (676mL) 悬浮液中加入二 (2-氧代-3-噁唑烷基) 膦酰氯 (115g, 451.8mmols)。将混合物于室温下搅拌 30 分钟。加入 4-氨基-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (42.9g, 239.2mmols, 参见制备 12) 和二异丙基乙基胺 (115.9mL, 664.5mmols)。将反应物于室温下搅拌 16 小时。然后将混合物倒入水 (2000mL) 中并搅拌 30 分钟。过滤获得的固体, 于 45℃ 减压干燥。将干燥物在己烷 (1400mL) 中研磨 2 小时以上。过滤固体并真空干燥, 获得目标化合物 (69g, 78%), 为白色固体。质谱 (m/z): 333.05 ($M+1$)。 ^1H NMR (300MHz, DMSO): 10.16 (s, 1H), 7.89 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 1H), 7.73 (s, 2H), 7.63 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.28 (s, 6H)。

[0078] 流程 3

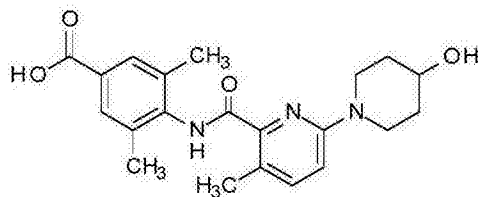
[0079]



[0080] 实施例 1

[0081] 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

[0082]



[0083] 流程 3, 步骤 A. 将 1N NaOH 水溶液 (1.08mL) 加至搅拌的 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (223mg, 0.541mmol) 的 THF:MeOH(4mL:2mL) 溶液中。于 40℃ 加热 12 小时后, 减压除去有机溶剂, 将半固体溶于水, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH3。过滤获得的沉淀物, 用水洗涤, 在真空箱中于 40℃ 干燥 12 小时, 获得目标化合物, 为白色固体 (160mg, 77%)。质谱 (m/z): 384.2 (M+1)。

[0084] 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的另一种合成方法。

[0085] 流程 3, 步骤 B. 将 4-羟基哌啶 (171.2g, 1660mmols) 加至 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (69g, 207.3mmols) 的 N-甲基吡咯烷酮 (483mL) 溶液中, 将混合物于 150℃ 搅拌 4 小时。将混合物冷却至室温, 倒入水 (1000mL) 中。将混合物用甲基叔-丁基醚 (300mL) 洗涤。然后采用 36% 的 HCl 水溶液将水层酸化至 pH2。混合物用 1/1 乙酸乙酯 / 甲基-叔-丁基醚溶液萃取 (3×250mL)。将有机层蒸发至干。向残留物中加入水 (500mL), 将获得的混合物搅拌 30 分钟, 过滤, 将过滤物在真空中于 45℃ 干燥过夜。将干燥的浅棕色固体溶于丙酮 (500mL), 加热至 50℃。缓慢加入水 (1000mL), 将混合物于 50℃ 搅拌 2 小时。将混合物冷却至室温, 过滤, 将过滤物于 45℃ 减压干燥。将干燥产物在乙酸乙酯 (600mL) 中于 50℃ 搅拌 2 小时。将混合物冷却至室温, 过滤, 将过滤物于 45℃ 减压干燥过夜, 获得目标化合物, 为白色固体 (50.8g, 64%)。质谱 (m/z): 384.2 (M+1)。¹H NMR (300MHz, DMSO): 12.85 (s, 1H), 9.87 (s, 1H), 7.71 (s, 2H), 7.49 (d, J = 8.7Hz, 1H), 7.01 (d, J = 8.7Hz, 1H), 4.68 (d, J = 4.1Hz, 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)。

[0086] X-射线粉末衍射

[0087] 结晶固体的 XRD 图谱获自 Bruker D4Endeavor X-粉末衍射仪, 配备 CuKα 源 ($\lambda = 1.54060 \text{ \AA}$) 和 Vantec 检测仪, 以 35kV 和 50mA 操作。样品在 2θ 的 4—40° 之间扫描, 采用 2θ 的步幅为 0.0087°、扫描速度为 0.5 秒 / 步幅、0.6mm 散度 (divergence), 5.28mm 固定防散射 (fixed anti-scatter) 和 9.5mm 检测器狭缝 (detector slits)。将干燥粉末填装到石英样品架上, 采用载玻片获得光滑平面。在晶体学领域中众所周知的是, 对于任何指定的晶型而言, 衍射峰的相对强度可能由于多种因素例如晶体形态和习性导致的择优取向而改变。当存在择优取向的影响时, 峰强度会发生改变, 多晶型物的特征峰位置不会改变。参见, 例如美国药典 35 版 - 国家处方集第 30 章 <941> 结晶和部分结晶的固体 X-射线粉末衍射 (XRPD) 特征, 官方版 2012 年 12 月 1 日 - 2013 年 5 月 1 日。另外, 在晶体学领域中众所周知的是, 对于任何指定的晶型而言, 角峰位置可能略有差异。例如, 由于

样品分析时温度或湿度的变化、样品的置换或者内标的存在与否都可能会导致峰位置的偏移。在目前情况下,在 2θ 中峰位置偏移 ± 0.2 将考虑这些可能存在的变化而不会妨碍对指定晶型的明确鉴别。可以根据特征峰(以 2θ 的单位 $^{\circ}$ 表示)的任何独特组合确认晶型,所述峰通常是较显著的峰。于环境温度和相对湿度获得的晶型衍射图谱可以根据 8.85 和 $26.77^{\circ} 2\theta$ 处的 NIST 675 标准峰进行调整。

[0088] 实施例 A

[0089] 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸水合物的制备。

[0090] 将 4-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸 (240.7mg) 溶于 10ml 的 1:1 丙酮:水中获得澄清的灰白色溶液。将混合物于室温下浓缩,结晶水合物在数分钟内开始自溶液中缓慢沉淀。过滤获得固体并空气干燥,获得 197.5mg 目标化合物。

[0091] 制备的实施例 A 的目标化合物样品通过采用 CuK α 放射源的 X-射线粉末衍射图谱定性,其衍射峰 (2θ 值) 如下面表 1 所示。特定的图谱包含 9.0° 峰以及两个或多个选自下列的峰: 5.8° 、 8.5° 、 9.8° 、 11.6° 、 11.8° 、 17.5° 和 24.2° , 衍射角的允许误差为 0.2° 。

[0092] 表 1. 实施例 A 的 X-射线粉末衍射峰。

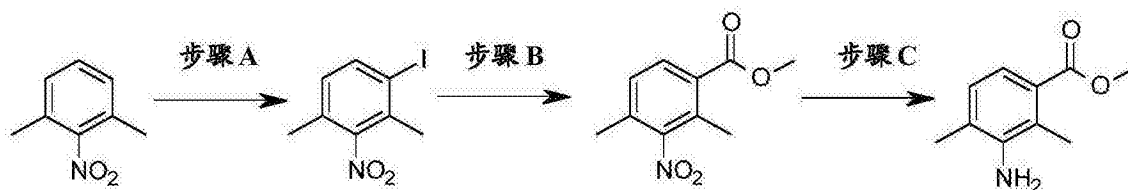
[0093]

峰	角 ($2\theta^{\circ}$)	强度 (%)
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

[0094] 流程 4

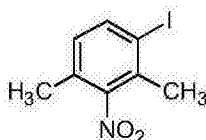
[0095]



[0096] 制备 8

[0097] 1-碘-2,4-二甲基-3-硝基-苯的合成。

[0098]

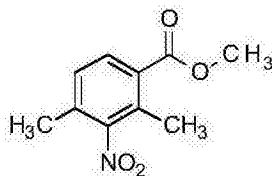


[0099] 流程 4, 步骤 A: 向 1,3-二甲基-2-硝基-苯 (68.5g, 453.2mmol) 中加入硫酸 (27.2ml, 510mmol)、乙酸 (543.8ml, 9.49mol)、碘 (46g, 181.3mmol) 和 HIO_4 (91.9g, 403.3mmol)。将反应物加热至 90℃ 7 天。将反应混合物冷却至室温, 加入水 (500mL)。过滤收集获得的固体, 用冷水洗涤。将固体于 45℃ 减压干燥过夜, 获得目标化合物, 为黄色固体 (119g, 95%)。 ^1H NMR (300.16MHz, CDCl_3): δ 7.80 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 1H), 6.85 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 1H), 2.37 (s, 3H), 2.23 (s, 3H)。

[0100] 制备 9

[0101] 2,4-二甲基-3-硝基-苯甲酸甲酯的合成。

[0102]



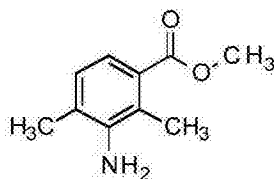
[0103] 流程 4, 步骤 B: 向配备机械搅拌的 2L ParrTM 高压釜中加入 1-碘-2,4-二甲基-3-硝基-苯 (70g, 252.7mmol)、 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (2.8g, 12.6mmol)、1,4-二(二苯基膦基)丁烷 (6.5g, 15.2mmol)、乙腈 (462mL)、三乙胺 (88.2mL) 和甲醇 (280mL)。将 ParrTM 高压釜密封, 充入 CO 并增压至 551.6kPa (80psig)。将混合物加热至 100℃ 2 小时。将混合物冷却至室温, 然后排出。随后将混合物减压浓缩至干。加入乙酸乙酯 (300mL) 和水 (300mL)。分层, 弃去水层。有机层经硫酸镁干燥, 过滤并浓缩至干, 获得为红色油状物的目标化合物, 静置后结晶 (52g, 98%)。 ^1H NMR (300.13MHz, CDCl_3): δ 7.89 (d, $J = 8.2\text{Hz}$, 1H), 7.19 (d, $J =$

8. 2Hz, 1H), 3. 91 (s, 3H), 2. 49 (s, 3H), 2. 33 (s, 3H)。

[0104] 制备 10

[0105] 3-氨基-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

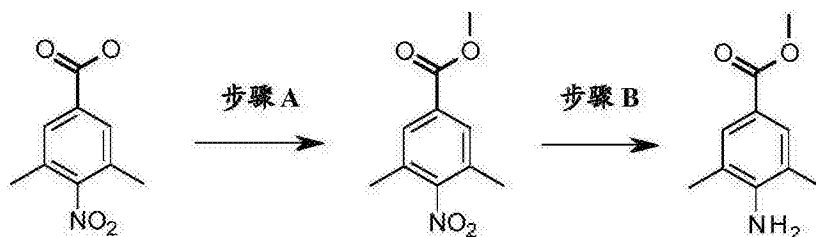
[0106]



[0107] 流程 4, 步骤 C: 向 2,4-二甲基-3-硝基-苯甲酸甲酯 (37g, 176.9mmol) 的甲醇 (370mL) 溶液中加入 10% 披钨炭 (50% 湿的) (5.6g)。向反应物中充入氢气, 在氢气环境中放置 6 天。混合物通过硅藻土过滤, 将滤液蒸发至干。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 20% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为黄色油状物 (20.5g, 65%)。质谱 (m/z): 180.1 (M+1)。¹H NMR (300.16MHz, DMSO-d₆): δ 6.89 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.23 (s, 3H), 2.12 (s, 3H)。

[0108] 流程 5

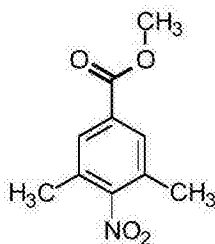
[0109]



[0110] 制备 11

[0111] 3,5-二甲基-4-硝基-苯甲酸甲酯的合成。

[0112]

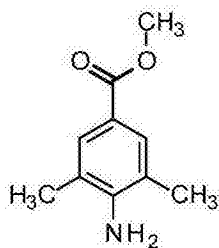


[0113] 流程 5, 步骤 A. 于 0℃, 向 3,5-二甲基-4-硝基-苯甲酸 (10.0g, 0.0512mol) 的 MeOH (150mL) 溶液中加入亚硫酸氯 (10mL), 将反应物加热至 80℃。16h 后, 将反应混合物冷却至室温, 减压除去溶剂。残留物用水稀释 (50mL), 采用饱和的 NaHCO₃ 溶液碱化至 pH 7-8, 用 EtOAc 萃取 (2×120mL)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (10.71g, 98.3%)。¹H NMR (400MHz, DMSO): δ 7.83 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 2.30 (s, 6H)。

[0114] 制备 12

[0115] 4-氨基-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

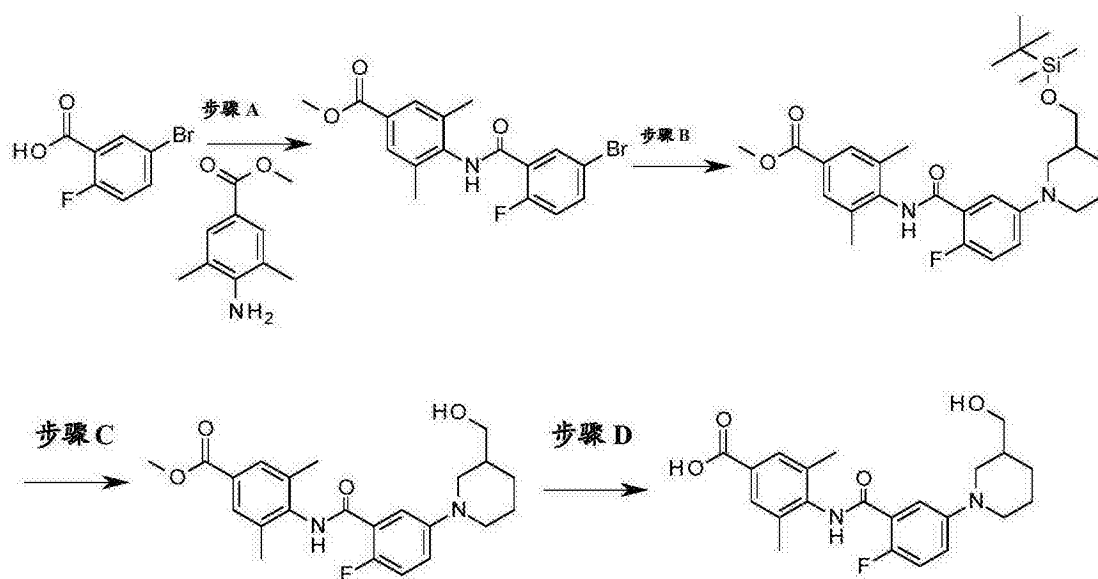
[0116]



[0117] 流程 5, 步骤 B. 于 0℃, 向 3,5-二甲基-4-硝基苯甲酸甲酯 (10.0g, 0.0478mol) 的甲醇 (100mL) 溶液中加入铁粉 (15.7g, 0.2869mol) 和 37% HCl (1.72g, 0.0478mol)。将反应物于 80℃ 加热 16 小时。将混合物冷却至室温, 通过 Celite™ 床过滤, 用甲醇洗涤, 随后将滤液蒸发至干, 获得目标化合物, 为棕色固体 (7.8g, 99%)。质谱 (m/z): 180.2 (M+1)。

[0118] 流程 6

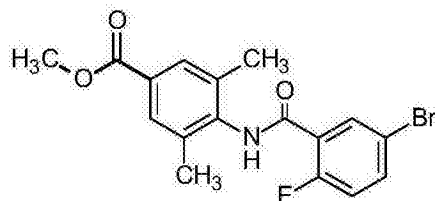
[0119]



[0120] 制备 13

[0121] 4-[(5-溴-2-氟-苯甲酰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0122]

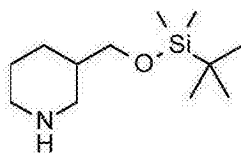


[0123] 流程 6, 步骤 A. 于 0℃, 向 5-溴-2-氟苯甲酸 (3.50g, 15.9mmol) 的 CH₂Cl₂ (50mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (2.86g, 15.9mmol, 参见制备 12) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (8.35ml, 47.9mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 20.5ml, 31.9mmol), 于室温下搅拌。36 小时后, 减压除去溶剂, 残留物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (4.20g, 69%)。质谱 (m/z): 380.2 (M+1)。

[0124] 制备 14

[0125] 叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷的合成。

[0126]

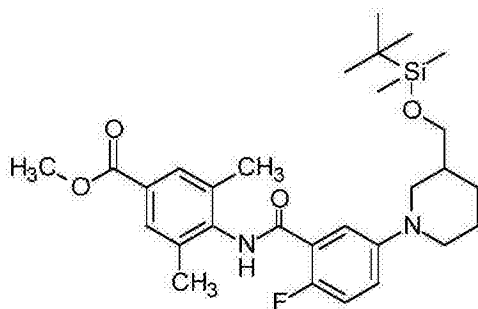


[0127] 流程 6, 步骤 B. 向哌啶-3-基甲醇 (2.10g, 0.018mol) 的 CH_2Cl_2 (20mL) 溶液中加入三乙胺 (5.53g, 0.0547mol), 随后加入叔-丁基二甲基氯代硅烷 (4.127g, 0.0275mol), 将反应混合物于室温下搅拌。24 小时后, 将反应混合物用水、饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—10% 的 MeOH 二氯甲烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物 (2.50g, 60%)。质谱 (m/z): 231.2 ($M+1$)。

[0128] 制备 15

[0129] 4-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-氟-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0130]

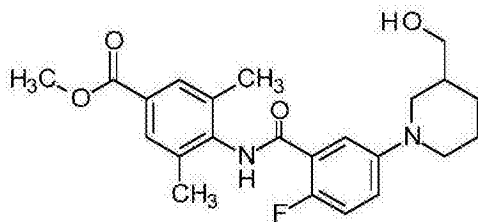


[0131] 流程 6, 步骤 B. 向 4-[(5-溴-2-氟-苯甲酰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.40g, 1.05mmol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (0.362g, 1.57mmol) 和 Cs_2CO_3 (1.04g, 3.15mmol) 的 1,4-二氧六环 (6mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.10g, 0.105mmol), 随后加入 S-Phos (0.043g, 0.105mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 90℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10% 的 EtOAc 己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为浅黄色油状物 (0.22g, 40%)。质谱 (m/z): 529.2 ($M+1$)。

[0132] 制备 16

[0133] 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0134]

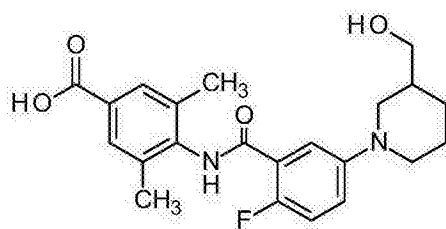


[0135] 流程 6, 步骤 C. 于 0℃, 向 4-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-氟-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.30g, 0.54mmol) 的 THF (8mL) 溶液中加入 Bu₄NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.35g, 1.60mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。4 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化(硅胶), 采用乙酸乙酯己烷溶液作为洗脱液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.10g, 55%)。质谱 (m/z): 414.2 (M+1)。

[0136] 实施例 2

[0137] 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

[0138]



[0139] 流程 6, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.18g, 0.43mmol) 的 THF:MeOH (3mL:1mL) 溶液中。于 50℃ 16h 后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用 CH₂Cl₂ 萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.12g, 69%)。质谱 (m/z): 401.2 (M+1)。外消旋的 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的手性制备。

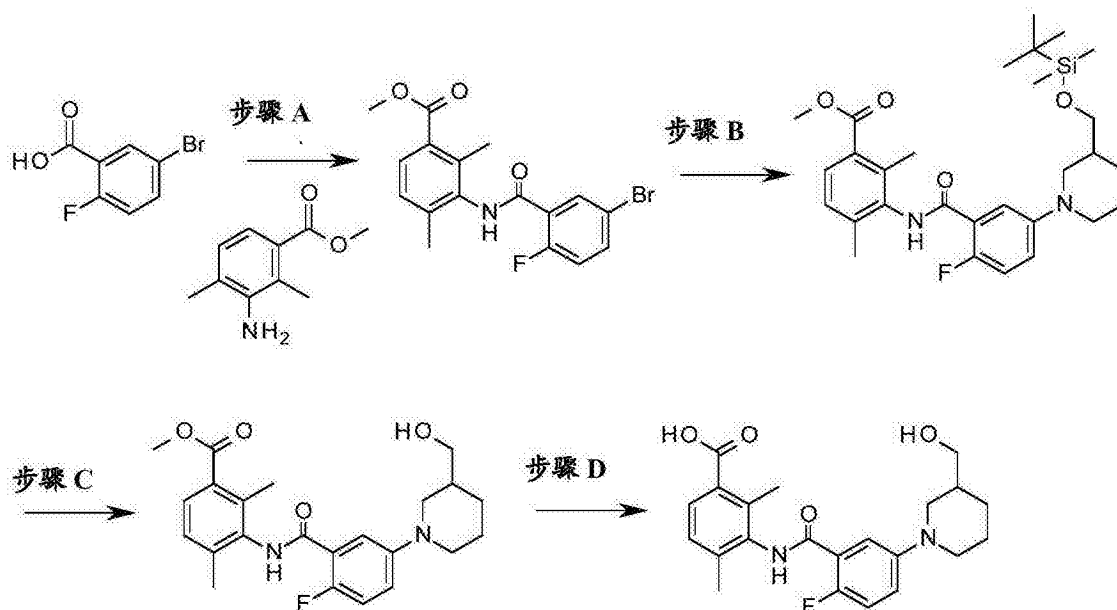
[0140] 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸通过手性色谱分离, 采用 Chiralpak™ AD-H, 25% MeOH/CO₂, 5ml/min, 225nm 获得:

[0141] 实施例 2A: 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸异构体 1。于 2.52min 洗脱出峰。质谱 (m/z): 401.2 (M+1)。

[0142] 实施例 2B: 4-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸异构体 2。于 2.93min 洗脱出峰。质谱 (m/z): 401.2 (M+1)。

[0143] 流程 7

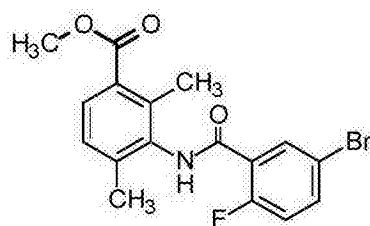
[0144]



[0145] 制备 17

[0146] 3-[(5-溴-2-氟-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0147]

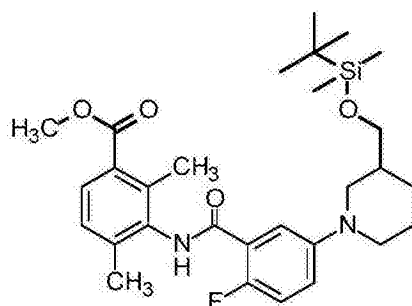


[0148] 流程 7, 步骤 A. 于 0℃, 向 5-溴-2-氟-苯甲酸 (500mg, 2.28mmol) 的 CH₂Cl₂ (15mL) 溶液中加入 3-氨基-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (409mg, 2.28mmol, 参见制备 10) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (737.6mg, 5.71mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 1.74g, 2.74mmol), 于 50℃ 搅拌。16 小时后, 减压除去溶剂, 残留物在 MeOH 中研磨, 获得目标化合物, 为白色固体 (450mg, 51.8%)。质谱 (m/z): 380.2 (M+1)。

[0149] 制备 18

[0150] 3-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-氟-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0151]



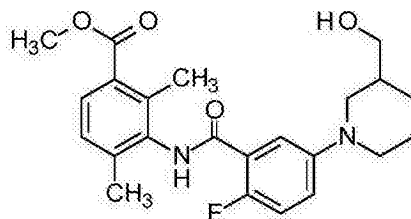
[0152] 流程 7, 步骤 B. 向 3-[(5-溴-2-氟-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸

甲酯 (0.7g, 1.84mmol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (2.53g, 11.03mmol, 参见制备 14) 和 Cs_2CO_3 (1.81g, 5.50mmol) 的 1,4-二氧六环 (15mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.168g, 0.184mmol), 随后加入 S-Phos (0.075g, 0.184mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 于 120℃ 加热。6 小时后, 将反应混合物减压浓缩, 残留物无需进一步纯化可以直接用于后面的反应。

[0153] 制备 19

[0154] 3-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0155]

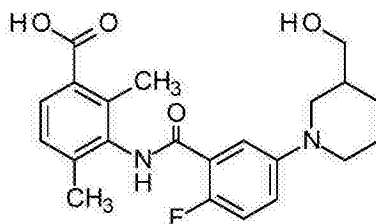


[0156] 流程 7, 步骤 C. 于 0℃, 向 3-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-氟-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (2.9g, 5.48mmol) 的 THF (20mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (5.73g, 0.0219mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。4 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 35 — 45% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.38g, 16.8%)。质谱 (m/z): 415.2 ($M+1$)。

[0157] 实施例 3

[0158] 3-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

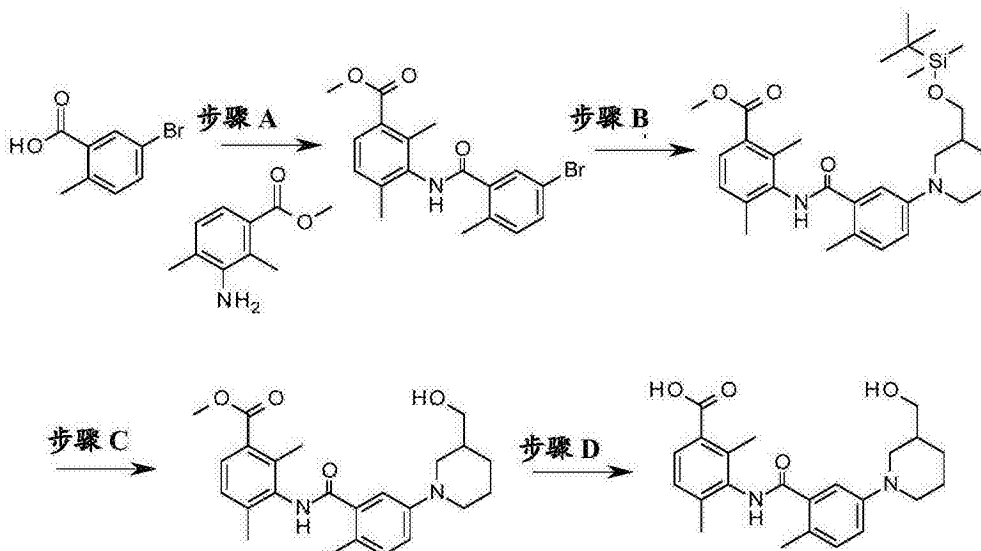
[0159]



[0160] 流程 7, 步骤 D. 将 NaOH (0.146mg, 0.00366mmol) 的 1.5mL H_2O 溶液加至搅拌的 3-[[2-氟-5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.38g, 0.000916mmol) 的 THF:EtOH (3mL:2mL) 溶液中。于室温下 4 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (85mg, 36.8%)。质谱 (m/z): 401.2 ($M+1$)。

[0161] 流程 8

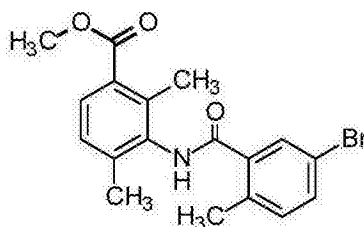
[0162]



[0163] 制备 20

[0164] 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0165]

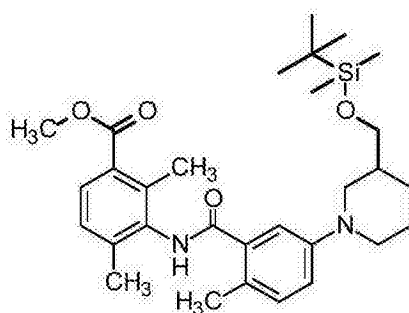


[0166] 流程 8, 步骤 A. 于 0℃, 向 5-溴-2-甲基苯甲酸 (2.0g, 0.0093mol) 的 CH₂Cl₂ (20mL) 溶液中加入 3-氨基-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (1.49g, 0.0084mol, 参见制备 10) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (4.79g, 0.0372mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 8.87g, 0.028mol), 于 50℃ 搅拌。16 小时后, 减压除去溶剂, 残留物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取二次。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (2.80g, 80%)。质谱 (m/z): 376.1 (M+1)。

[0167] 制备 21

[0168] 3-[[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0169]



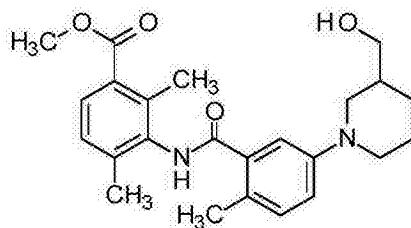
[0170] 流程 8, 步骤 B. 向 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸

甲酯 (0.5g, 1.32mmol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (0.45g, 1.99mmol, 参见制备 14) 和 Cs_2CO_3 (1.29g, 3.98mmol) 的 1,4-二氧六环 (15mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.12g, 0.132mmol), 随后加入 S-Phos (0.050g, 0.132mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 于 110℃ 加热。6 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 15% 的 EtOAc 己烷作为洗脱液, 获得目标化合物, 为棕色半固体 (0.6g, 85%)。质谱 (m/z): 525.2 ($M+1$)。

[0171] 制备 22

[0172] 3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0173]

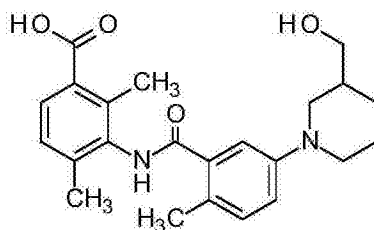


[0174] 流程 8, 步骤 C. 于 0℃, 向 3-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.60g, 1.14mmol) 的 THF (15mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.596g, 2.28mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。1 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 4% 的甲醇二氯甲烷溶液作为洗脱液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.4g, 85.5%)。质谱 (m/z): 411.4 ($M+1$)。

[0175] 实施例 4

[0176] 3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

[0177]



[0178] 流程 8, 步骤 D. 将 4N NaOH 水溶液 (4.00mL) 加至搅拌的 3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.4g, 0.975mmol) 的 THF:MeOH (10mL:5mL) 溶液中。于室温下 4 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用 10% 的 IPA CH_2Cl_2 溶液萃取二次。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为浅棕色固体 (0.28g, 72.5%)。质谱 (m/z): 397.2 ($M+1$)。

[0179] 外消旋 3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的手性制备。

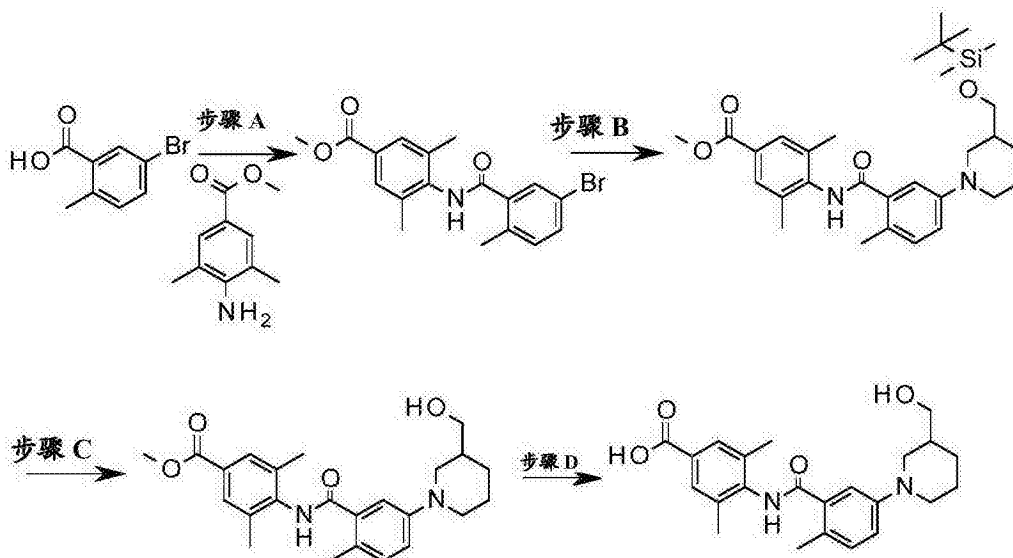
[0180] 3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸通过手性色谱分离,采用 Chiralcel™ OJ-H, 15% MeOH/CO₂, 5ml/min, 225nm 获得:

[0181] 实施例 4A:3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸异构体 1。于 1.76min 洗脱出峰。质谱 (m/z):397.2 (M+1)。

[0182] 实施例 4B:3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸异构体 2。于 2.49min 洗脱出峰。质谱 (m/z):397.2 (M+1)。

[0183] 流程 9

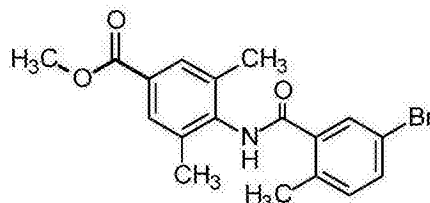
[0184]



[0185] 制备 23

[0186] 4-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0187]

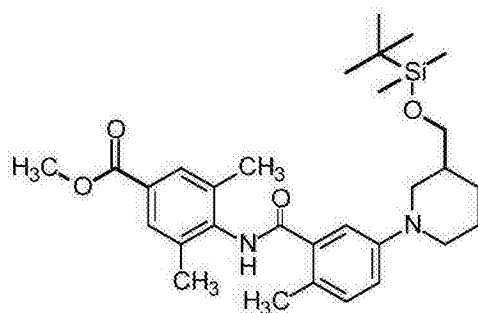


[0188] 流程 9, 步骤 A. 于 0℃, 向 5-溴-2-甲基苯甲酸 (2.0g, 0.008mol) 的 CH₂Cl₂ (20mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (1.28g, 0.0072, 参见制备 12) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (4.12g, 0.032mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后,通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50%的乙酸乙酯溶液, 7.63g, 0.024mol), 于 50℃ 搅拌。16 小时后,减压除去溶剂,残留物用水稀释,用乙酸乙酯萃取二次。合并有机层,经无水硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶),采用 12% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱,获得目标化合物,为白色固体 (2.9g, 97%)。质谱 (m/z):376.0 (M+1)。

[0189] 制备 24

[0190] 4-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0191]

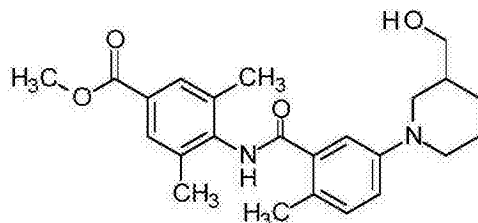


[0192] 流程 9, 步骤 B. 向 4-(5-溴-2-甲基苯甲酰氨基 (benzamido))-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.5g, 0.0013mol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (0.45g, 0.0019mol, 制备 14) 和 Cs_2CO_3 (1.29g, 0.0039mol) 的 1,4-二氧六环 (15mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.12g, 0.00013mol), 随后加入 S-Phos (0.054g, 0.00013mol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 110℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 15% 的乙酸乙酯己烷溶液作为洗脱液, 获得目标化合物, 为棕色半固体 (0.4g, 57.3%)。质谱 (m/z): 525.2 (M+1)。

[0193] 制备 25

[0194] 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0195]

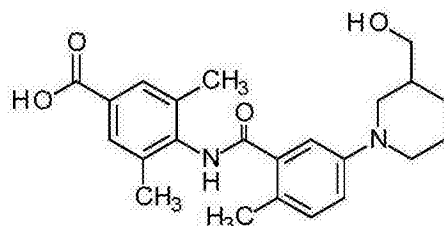


[0196] 流程 9, 步骤 C. 于 0℃, 向 4-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.40g, 0.76mmol) 的 THF (10mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.39g, 1.52mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。1 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 4% 的 MeOH 二氯甲烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为浅棕色固体 (0.30g, 96%)。质谱 (m/z): 411.5 (M+1)。

[0197] 实施例 5

[0198] 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

[0199]



[0200] 流程 9, 步骤 D. 将 4N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.3g, 0.73mmol) 的 THF:MeOH(10ml:5mL) 溶液中。于室温下 16 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用 10% 的 IPA CH_2Cl_2 溶液萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为浅棕色固体 (0.27g, 90%)。质谱 (m/z): 397.2 ($M+1$)。

[0201] 外消旋 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的手性制备。

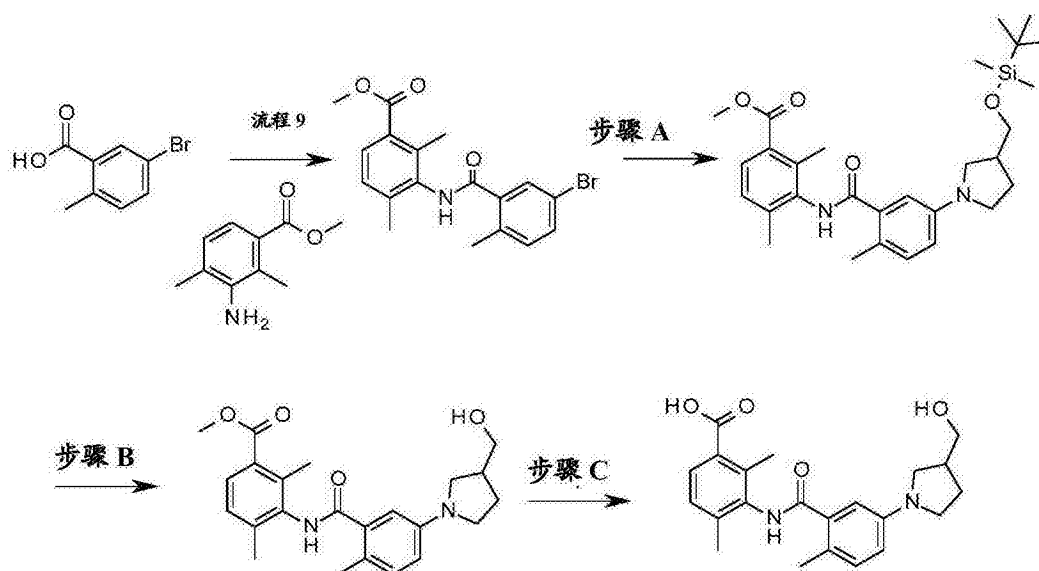
[0202] 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸通过手性色谱分离, 采用 Chiralpak AD-H, 30% EtOH/ CO_2 , 5ml/min, 225nm 获得:

[0203] 实施例 5A: 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸异构体 1。于 4.22min 洗脱出峰。质谱 (m/z): 397.2 ($M+1$)。

[0204] 实施例 5B: 4-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸异构体 2。于 5.30min 洗脱出峰。质谱 (m/z): 397.2 ($M+1$)。

[0205] 流程 10

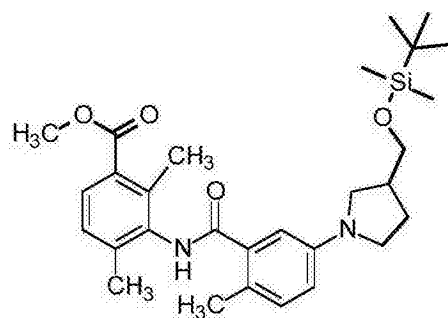
[0206]



[0207] 制备 26

[0208] 3-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]吡咯烷-1-基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0209]

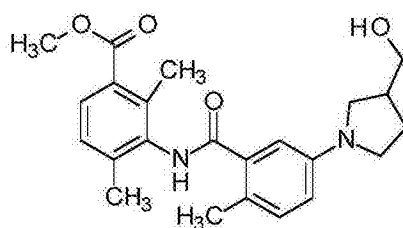


[0210] 流程 10, 步骤 A. 向 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.5g, 1.32mmol)、叔-丁基-二甲基-(吡咯烷-3-基甲氧基)硅烷 (0.4g, 1.99mmol) 和 Cs_2CO_3 (1.2g, 3.99mmol) 的 1,4-二氧六环 (15mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.12g, 0.132mmol), 随后加入 S-Phos (0.054g, 0.132mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 100℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 20% 的 EtOAc 己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色半固体 (0.36g, 53%)。质谱 (m/z): 511.2 ($M+1$)。

[0211] 制备 27

[0212] 3-[[5-[3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0213]

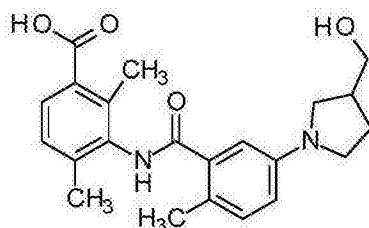


[0214] 流程 10, 步骤 B. 于 0℃, 向 3-[[5-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]吡咯烷-1-基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.35g, 0.686mmol) 的 THF (50mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.537g, 2.05mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。2 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取二次。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 50% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为棕色固体 (150mg, 51%)。

[0215] 实施例 6

[0216] 3-[[5-[3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

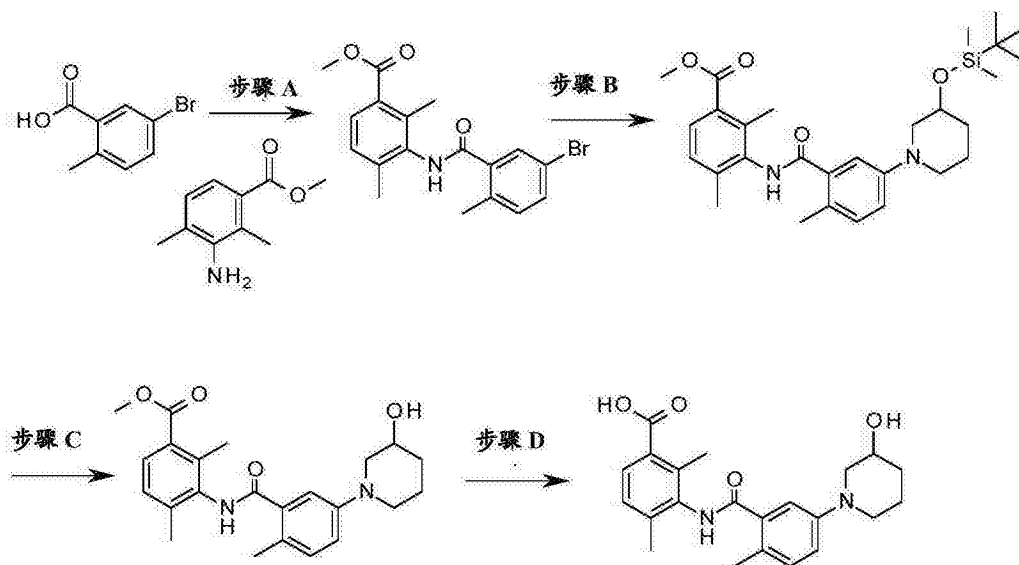
[0217]



[0218] 流程 10, 步骤 C. 将 5N NaOH 水溶液 (5.00mL) 加至搅拌的 3-[[5-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.4g, 0.975mmol) 的 MeOH (5mL) 溶液中。于室温下 5 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用 10% 的 IPA CH_2Cl_2 溶液萃取二次。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为棕色固体 (70mg, 56%)。质谱 (m/z): 381.2 ($M-1$)。

[0219] 流程 11

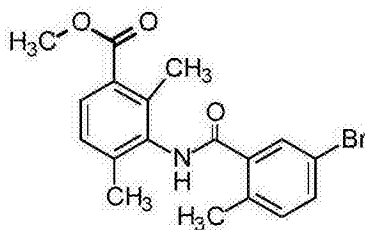
[0220]



[0221] 制备 28

[0222] 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0223]

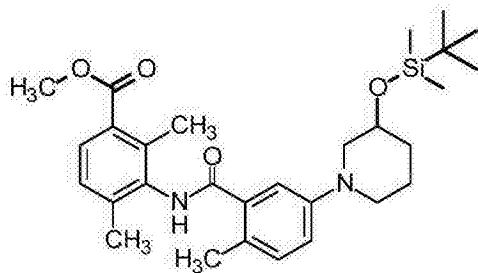


[0224] 流程 11, 步骤 A. 于室温下, 向 5-溴-2-甲基-苯甲酸 (2.0g, 0.0093mol) 的 CH_2Cl_2 (20mL) 溶液中加入 3-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (1.49g, 0.0083mol, 参见制备 12) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (4.79g, 0.037mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 8.87g, 0.027mol), 于 50℃ 加热。16 小时后, 将反应混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用水和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10% 的 EtOA 己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色粉末 (2.8g, 80%)。

[0225] 制备 29

[0226] 3-[[5-[3-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0227]



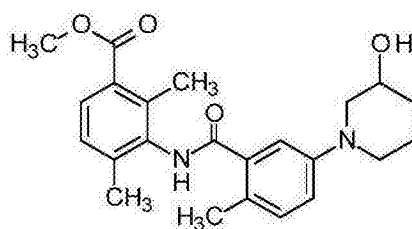
[0228] 流程 11, 步骤 B. 向 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲

基-苯甲酸甲酯 (0.5g, 1.32mmol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基氧基)硅烷 (0.425g, 1.98mmol) 和 Cs_2CO_3 (1.28g, 3.96mmol) 的 1,4-二氧六环 (15mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.12g, 0.132mmol), 随后加入 S-Phos (0.054g, 0.132mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 100℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10% 的 EtOAc 己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色半固体 (0.4g, 60%)。

[0229] 制备 30

[0230] 3-[[5-(3-羟基-1-哌啶基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0231]

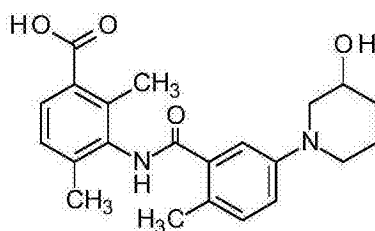


[0232] 流程 11, 步骤 C. 于 0℃, 向 3-[[5-[3-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.4g, 0.78mmol) 的 THF (20mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.409g, 1.56mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。1 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取二次。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 3% 的甲醇二氯甲烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.3g, 97%)。

[0233] 实施例 7

[0234] 3-[[5-(3-羟基-1-哌啶基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

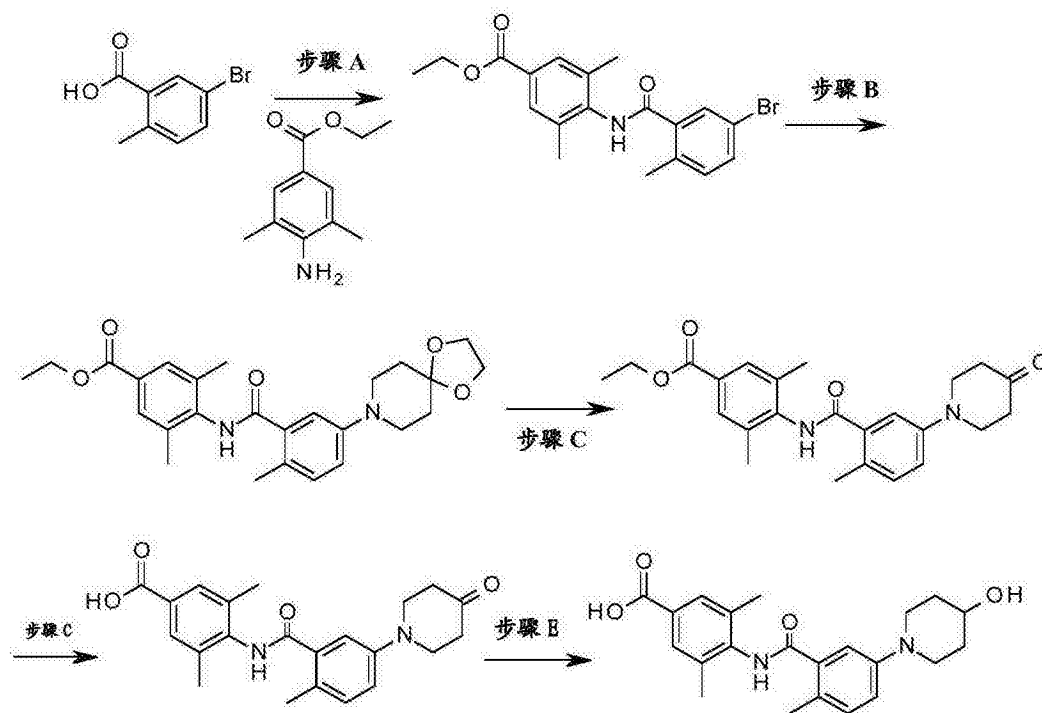
[0235]



[0236] 流程 11, 步骤 D. 将 4N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 3-[[5-(3-羟基-1-哌啶基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.3g, 0.75mmol) 的 THF:MeOH (5mL:2mL) 溶液中。于室温下 3 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用 10% 的 IPA CH_2Cl_2 溶液萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 将获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (0.274g, 94%)。质谱 (m/z): 383.2 ($M+1$)。

[0237] 流程 12

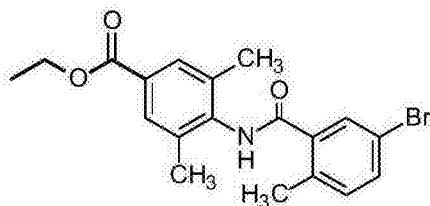
[0238]



[0239] 制备 31

[0240] 4-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯。

[0241]

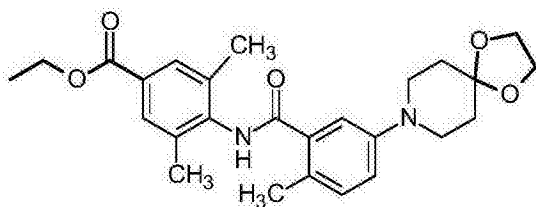


[0242] 流程 12, 步骤 A. 于 0 °C, 向 5-溴-2-甲基-苯甲酸 (1.35g, 6.15mmol) 的 THF (15mL)、CH₂Cl₂ (15mL) 和 DMF (14.27 μl, 184.57 μmol) 溶液中滴加草酰氯 (587.12 μl, 6.77mmol), 将反应混合物缓慢温热至室温。2 小时后, 减压除去溶剂。向残留物中加入 CH₂Cl₂ (30mL), 将反应混合物冷却至 0 °C, 随后加入 4-氨基-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (1.19g, 6.15mmol), 然后加入 4-吡啶胺, N,N-二甲基- (37.58mg, 307.61 μmol) 和吡啶 (1.49mL, 18.46mmol)。移除冷水浴, 将澄清的溶液温热至室温。5 小时后, 除去溶剂, 反应混合物用乙酸乙酯稀释, 用 1N HCl、饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。将获得的残留物在己烷中研磨, 过滤收集获得的固体, 获得目标化合物, 为白色固体 (1.80g; 75.2%)。质谱 (m/z): 390.2 (M+1)。

[0243] 制备 32

[0244] 4-[[5-(1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸-8-基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯的制备。

[0245]

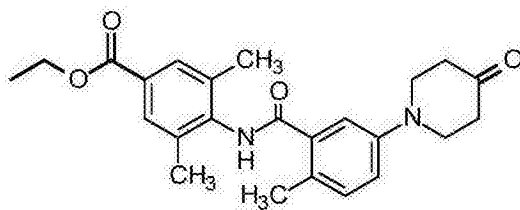


[0246] 流程 12, 步骤 B. 向 4-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (0.5g, 1.28mmol)、1,4-二氧杂-8-氮杂螺(4.5)癸烷 (0.22g, 1.54mmol) 和 Cs_2CO_3 (1.25g, 3.84mmol) 的 THF (10mL) 的溶液中加入 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.04g, 0.19mmol), 最后加入外消旋的-2,2'-二(二苯基膦基)-1,1'-联萘 (119.7mg, 0.19mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 90℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 用氯化铵稀释, 用 EtOAc 萃取二次。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化(硅胶), 采用 0—100% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色固体 (0.21g, 36.2%)。质谱 (m/z): 453.2 ($M+1$)。

[0247] 制备 33

[0248] 3,5-二甲基-4-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸乙酯的合成。

[0249]

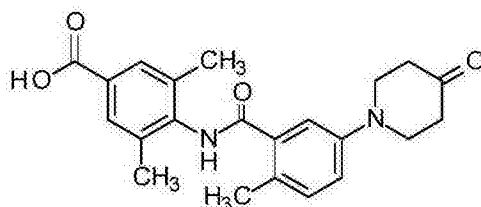


[0250] 流程 12, 步骤 C. 向 4-[[5-(1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸-8-基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (205mg, 452.99 μmol s) 的丙酮 (5mL) 溶液中加入 5M HCl (1mL) 的 H_2O (1mL) 混合物, 加热至 60℃。12 小时后, 将混合物冷却至室温, 用 2M NaOH 稀释至 pH6, 用乙酸乙酯萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化(硅胶), 采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为灰白色泡沫物 (0.11g, 61%)。质谱 (m/z): 409.2 ($M+1$)。

[0251] 制备 34

[0252] 3,5-二甲基-4-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸的合成。

[0253]



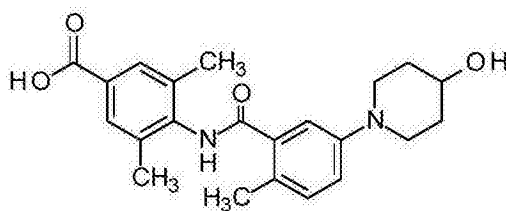
[0254] 流程 12, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 3,5-二甲基-4-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸乙酯 (0.11g, 269.28 μmol) 的 THF:MeOH (2.4mL:1.2mL) 溶液中。于室温下 16 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀

释,采用 1N HCl 酸化至 pH7,用乙酸乙酯萃取二次。合并有机层和水层,减压浓缩。将获得的固体在 1:1 的乙腈和乙醇混合物中研磨,获得白色浆状物,通过 Celite™ 床过滤。将滤液减压浓缩,将沉淀物在丙酮中研磨并过滤,获得目标化合物,为灰白色固体 (99mg, 99%)。质谱 (m/z): 381.2 (M+1)。

[0255] 实施例 8

[0256] 4-[[5-(4-羟基-1-哌啶基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

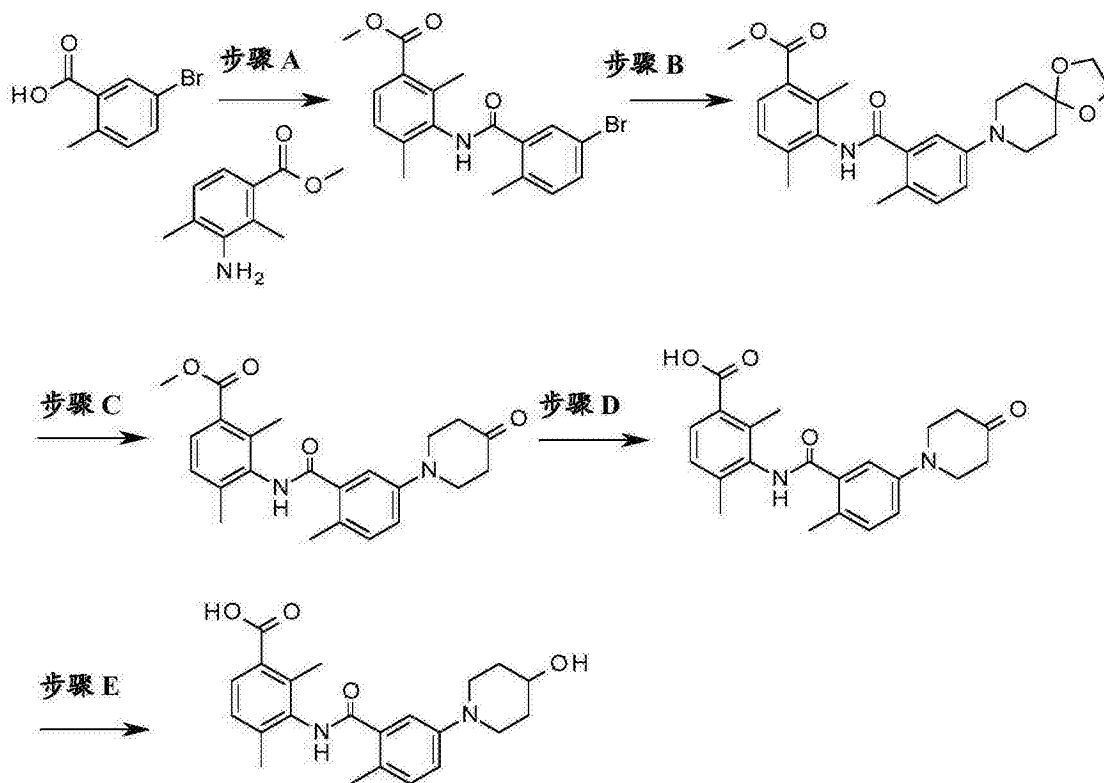
[0257]



[0258] 流程 12, 步骤 E. 向 3,5-二甲基-4-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸 (69.5mg, 182.68 μ mol) 的甲醇 (1.83mL) 溶液中加入四氢硼酸钠 (13.82mg, 365.36 μ mol), 将获得的混合物于室温下搅拌。1 小时后, 混合物采用饱和的 NH_4Cl 溶液 (0.2mL) 骤冷, 用 CHCl_3 (3mL): IPA (1mL) 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的固体在 H_2O (5mL) 中研磨, 过滤, 用 H_2O (5mL) 洗涤。残留物通过反相色谱 (C18) 纯化, 采用含有 0.1% 甲酸的 20% 的乙腈水溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色粉末 (0.01g, 15.7%)。质谱 (m/z): 383.2 (M+1)。

[0259] 流程 13

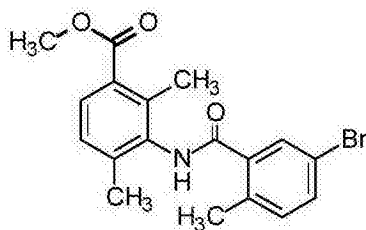
[0260]



[0261] 制备 35

[0262] 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0263]

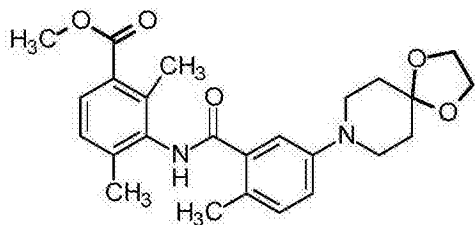


[0264] 流程 13, 步骤 A. 于 0 °C, 向 5-溴-2-甲基-苯甲酸 (2.45g, 11.16mmol) 的 THF (10mL)、CH₂Cl₂ (10mL) 和 DMF (20.00 μl, 258.65 μmol) 溶液中滴加草酰氯 (1.16ml, 13.39mmol), 将反应混合物缓慢温热至室温。2 小时后, 减压除去溶剂。向残留物中加入 CH₂Cl₂ (40mL), 将反应混合物冷却至 0 °C, 随后加入 4-氨基-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (2g, 11.16mmol), 然后加入 N,N-二甲基吡啶-4-胺 (13.63mg, 0.11mmol) 和吡啶 (2.71ml, 33.48mmol)。移除冷浴, 将澄清的溶液温热至室温。2 小时后, 除去溶剂, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 用 1N HCl、饱和的碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (4.0g; 95.5%)。质谱 (m/z): 376.0 (M+1)。

[0265] 制备 36

[0266] 3-[[5-(1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸-8-基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0267]

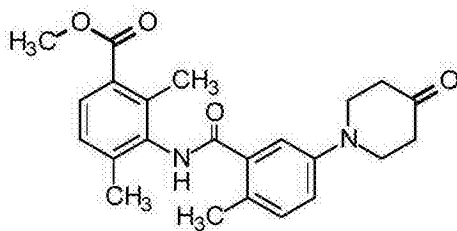


[0268] 流程 13, 步骤 B. 向 3-[(5-溴-2-甲基-苯甲酰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.5g, 1.33mmol)、1,4-二氧杂-8-氮杂螺(4.5)癸烷 (228.34mg, 1.59mmol) 和 Cs₂CO₃ (1.3g, 3.99mmol) 的 1,4-二氧六环 (10mL) 溶液中加入 Pd(OAc)₂ (29.84mg, 132.89 μmol), 随后加入外消旋-2,2'-二(二苯基膦基)-1,1'-联萘 (82.75mg, 132.89 μmol)。将反应混合物充入氮气 10 分钟, 然后加热至 90 °C。3 小时后, 形成非常少量的产物。向该反应混合物中加入 Pd(OAc)₂ (29.84mg, 132.89 μmol), 随后加入外消旋-2,2'-二(二苯基膦基)-1,1'-联萘 (82.75mg, 132.89 μmol), 加热至 100 °C。12 小时后, 将反应物冷却至室温, 用水稀释, 用 EtOAc 萃取。合并的有机层用盐水洗涤, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0-100% 的乙酸乙酯/己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色固体 (0.26g, 44.62%)。质谱 (m/z): 439.2 (M+1)。

[0269] 制备 37

[0270] 2,4-二甲基-3-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸甲酯的合成。

[0271]

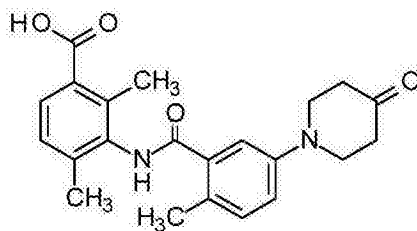


[0272] 流程 13, 步骤 C. 向 3-[[5-(1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸-8-基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (250mg, 570.09 μmol s) 的 THF (2mL) 溶液中加入 4M HCl (1mL), 于室温下搅拌。将混合物减压浓缩, 再溶于丙酮 (5mL), 随后加入 5N HCl (1mL)。于 60°C 22 小时后, 将混合物冷却至室温, 用 2M NaOH 稀释至 pH6, 用乙酸乙酯萃取两次。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0-50% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为灰白色泡沫物 (0.12g, 53.36%)。质谱 (m/z): 395.2 (M+1)。

[0273] 制备 38

[0274] 2,4-二甲基-3-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸的合成。

[0275]

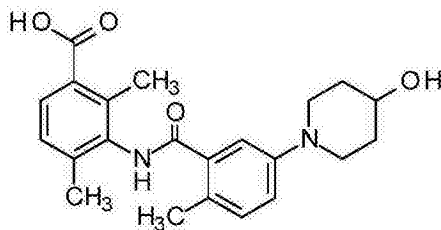


[0276] 流程 13, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (1.00mL) 加至搅拌的 2,4-二甲基-3-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸甲酯 (0.12g, 304.20 μmol) 的 THF:MeOH (2mL:1mL) 溶液中。于室温下 16 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH6, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层和水层, 减压浓缩。将获得的固体溶于乙腈/H₂O 并冷冻干燥, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (58mg, 50.12%)。质谱 (m/z): 381.2 (M+1)。

[0277] 实施例 9

[0278] 3-[[5-(4-羟基-1-哌啶基)-2-甲基-苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

[0279]

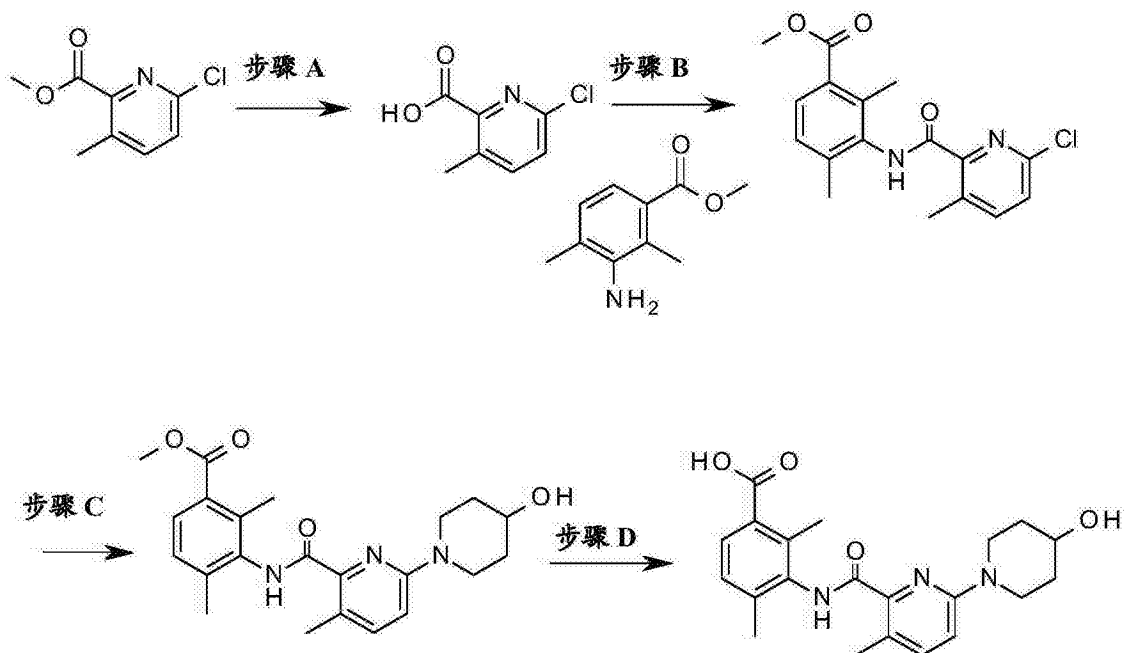


[0280] 流程 13, 步骤 E. 向 2,4-二甲基-3-[[2-甲基-5-(4-氧代-1-哌啶基)苯甲酰基]氨基]苯甲酸 (51mg, 134.05 μmol s) 的甲醇 (1.34mL) 溶液中加入四氢硼酸钠 (10.14mg, 268.11 μmol s), 将混合物于室温下搅拌。1 小时后, 将混合物骤冷, 采用饱和的

NH_4Cl 溶液调节 pH 至 7, 用 CHCl_3 (3mL) : IPA (1mL) 萃取二次。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。将固体再溶于 3:1 CHCl_3 :IPA, 用 HCl 稀释至 pH2, 用 3:1 CHCl_3 :IPA 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。将获得的残留物溶于 MeOH, 通过棉塞过滤。将滤液减压浓缩, 随后溶于水中, 冷冻干燥 12 小时, 获得目标化合物, 为灰白色粉末 (0.04g, 81.9%)。质谱 (m/z): 383.2 ($M+1$)。

[0281] 流程 14

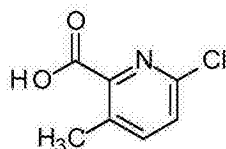
[0282]



[0283] 制备 39

[0284] 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸的合成。

[0285]

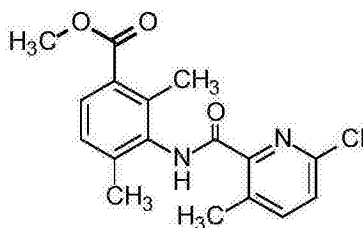


[0286] 流程 14, 步骤 A. 将 1N NaOH 溶液 (10.00mL) 加至搅拌的 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸甲酯 (1.0g, 5.39mmols) 的 THF:MeOH (10mL:2mL) 溶液中。将混合物于室温下搅拌 3 小时。减压除去有机溶剂, 将半固体溶于水中, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH 1—2。过滤获得的沉淀物, 用水洗涤, 于 40°C 在真空箱中干燥 12 小时, 获得目标化合物, 为白色固体 (780mg, 84%)。质谱 (m/z): 172.0 ($M+1$)。

[0287] 制备 40

[0288] 3-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0289]

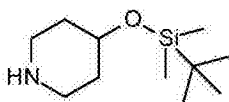


[0290] 流程 14, 步骤 B. 于室温下, 向 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸 (0.35g, 0.20mmol) 的 CH_2Cl_2 (6mL) 溶液中加入 3-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.36g, 0.20mmol, 参见制备 12) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (0.77g, 0.60mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 2.54g, 0.80mmol)。于室温下 16 小时后, 将反应混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用水和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为白色粉末 (0.52g, 76%)。质谱 (m/z): 333.2 (M+1)。

[0291] 制备 41

[0292] 叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷的合成。

[0293]

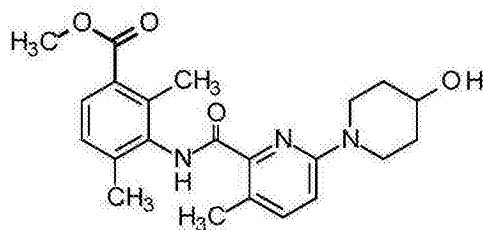


[0294] 流程 14, 步骤 C. 向 4-羟基哌啶 (2.00g, 9.89mmols) 的 CH_2Cl_2 (30mL) 溶液中加入 1H-咪唑 (2.69g, 39.55mmols), 随后加入叔-丁基二甲基氯代硅烷 (3.58g, 23.73mmols), 将反应混合物于室温下搅拌。12 小时后, 将反应混合物用水、饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 100% CH_2Cl_2 至 10% 的 7N 氨的 MeOH 溶液 / 90% CH_2Cl_2 梯度洗脱, 获得目标化合物 (3.69g, 86.3%)。质谱 (m/z): 216.2 (M+1)。

[0295] 制备 42

[0296] 3-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0297]

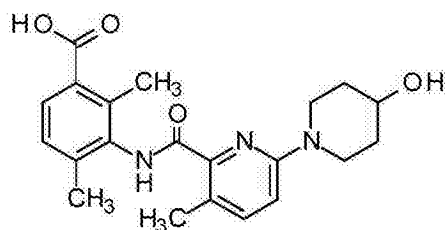


[0298] 流程 14, 步骤 C. 向 3-(6-氯代-3-甲基烟酰氨基 (picolinamido))-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.50g, 0.0015mol)、叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷 (0.90g, 0.0045mol) 和 Cs_2CO_3 (2.00g, 0.006mol) 的甲苯 (6mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.14g, 0.00015mol), 随后加入 BINAP (0.086g, 0.00015mol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 120℃ 加热。4 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为白色半固体 (0.220g, 29%)。质谱 (m/z): 398.2 (M+1)。

[0299] 实施例 10

[0300] 3-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

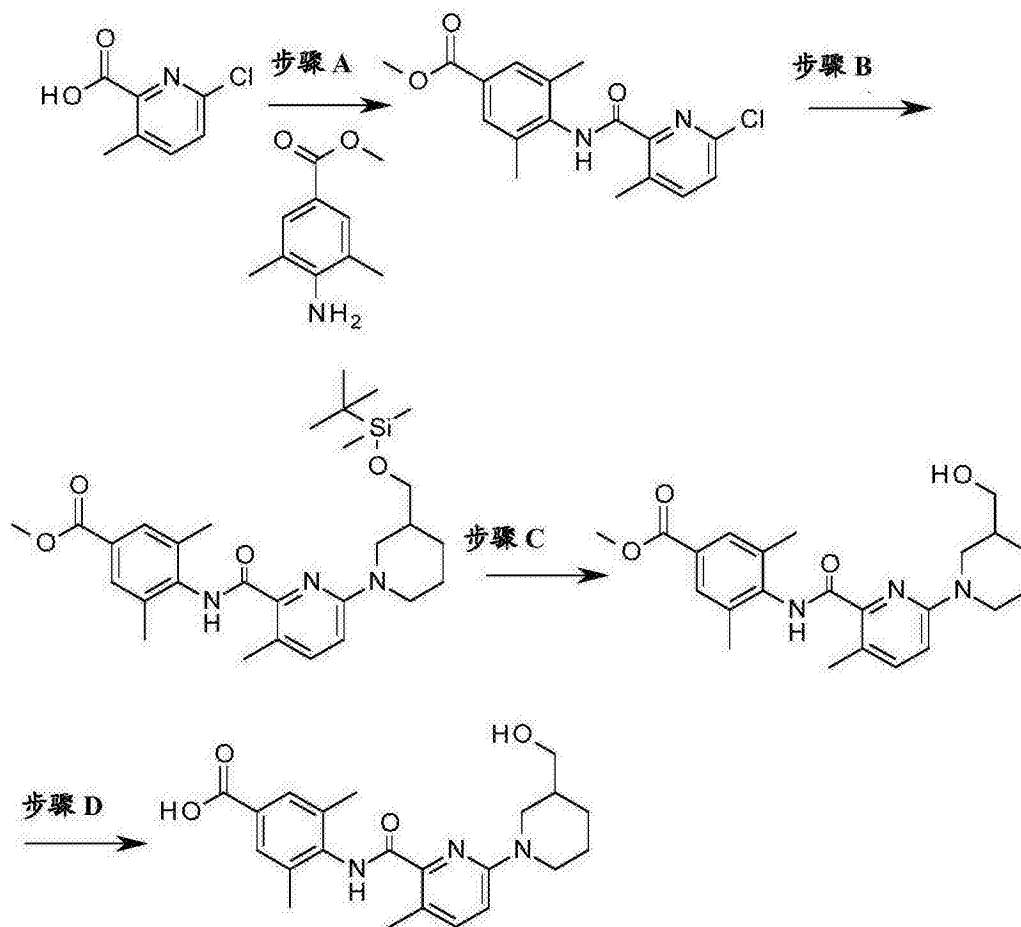
[0301]



[0302] 流程 14, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 3-[[6-(4-羟基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.21g, 0.52mmol) 的 THF:MeOH(3mL:1mL) 溶液中。于室温下 16 小时后,减压除去有机溶剂,残留物用水稀释,采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH6,用乙酸乙酯萃取 (2×20mL)。合并有机层,经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂,获得的沉淀物在戊烷中研磨并过滤,获得目标化合物,为白色固体 (0.082g, 39%)。质谱 (m/z):384.2 (M+1)。

[0303] 流程 15

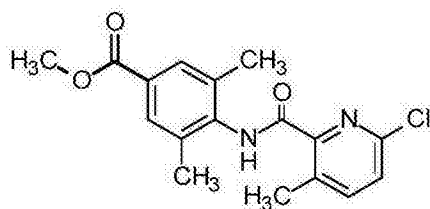
[0304]



[0305] 制备 43

[0306] 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0307]

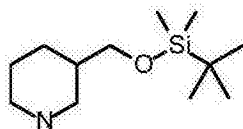


[0308] 流程 15, 步骤 A. 于 0℃, 向 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸 (0.70g, 4.093mmol, 参见制备 1) 的 CH_2Cl_2 (6mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.74g, 4.093mmol, 参见制备 12) 和三乙胺 (0.83g, 8.187mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 2.60g, 8.187mmol), 于室温下搅拌。12 小时后, 减压除去溶剂, 残留物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (1.10g, 81%)。质谱 (m/z): 333.2 ($M+1$)。

[0309] 制备 44

[0310] 叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷的合成。

[0311]

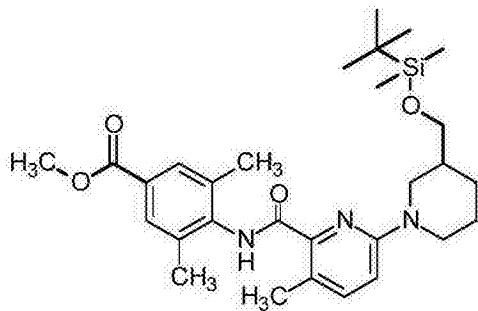


[0312] 流程 15, 步骤 B. 向哌啶-3-基甲醇 (2.10g, 0.018mol) 的 CH_2Cl_2 (20mL) 的溶液中加入三乙胺 (5.53g, 0.0547mol), 随后加入叔-丁基二甲基氯代硅烷 (4.127g, 0.0275mol), 将反应混合物于室温下搅拌。24 小时后, 将反应混合物用水、饱和的碳酸氢钠水溶液和盐水洗涤。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—10% 的 MeOH 二氯甲烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物 (2.50g, 60%)。质谱 (m/z): 231.2 ($M+1$)。

[0313] 制备 45

[0314] 4-[[[6-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0315]



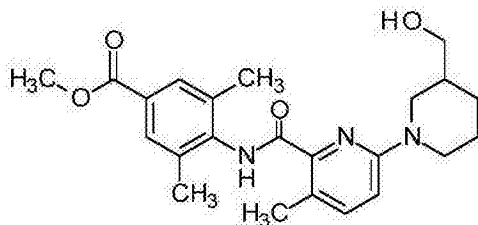
[0316] 流程 15, 步骤 B. 向 4-(6-氯代-3-甲基烟酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.50g, 0.0015mol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (0.42g, 0.0018mol) 和 Cs_2CO_3 (1.96g, 0.0060mol) 的 1,4-二氧六环 (20mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.14g, 0.00015mol), 随后加入 S-Phos (0.062g, 0.00015mol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 80℃ 加热。24 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用

EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化(硅胶),获得目标化合物,为白色半固体(0.230g,30%)。质谱(m/z):526.5(M+1)。

[0317] 制备 46

[0318] 4-[[6-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0319]

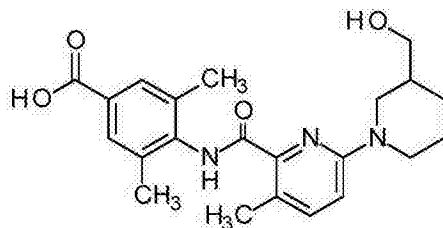


[0320] 流程 15, 步骤 C. 于 0℃, 向 4-[[6-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯(0.22g, 0.873mmol) 的 THF (3mL) 溶液中加入 Bu₄NF 1.0M 的 THF 溶液 (2.00mL)。将反应混合物逐步温热至室温。8 小时后,将反应混合物用冰水稀释,用乙酸乙酯萃取二次。合并有机层,经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化(硅胶),采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱,获得目标化合物,为白色固体(0.06g,30%)。质谱(m/z):412.2(M+1)。

[0321] 实施例 11

[0322] 4-[[6-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

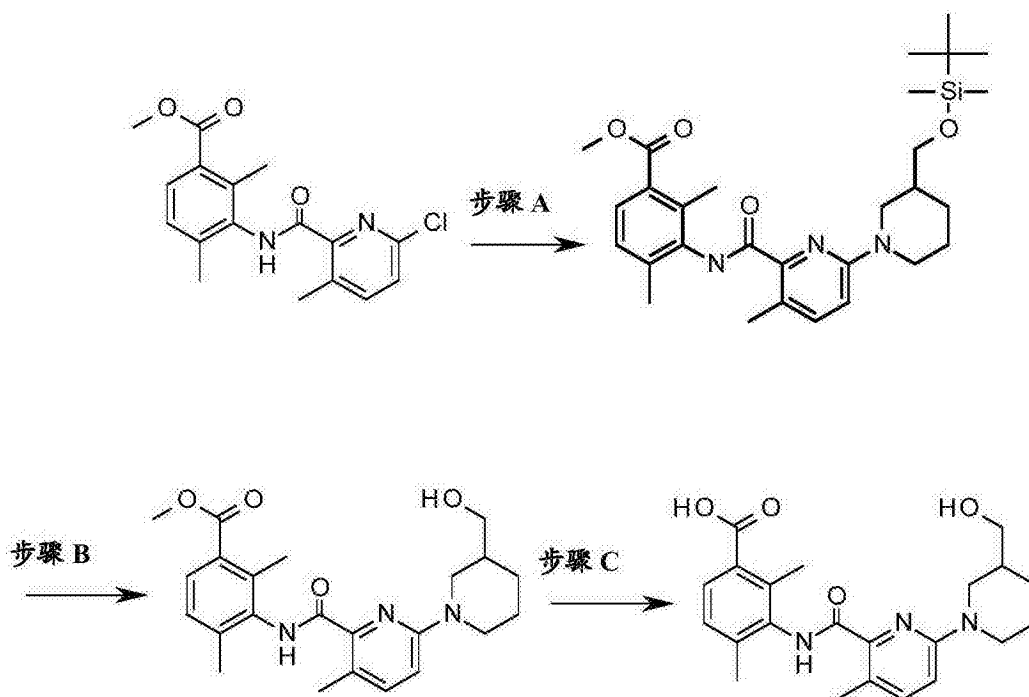
[0323]



[0324] 流程 15, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 4-(6-(3-(羟基甲基)哌啶-1-基)-3-甲基烟酰胺氨基)-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.06g, 0.146mmol) 的 THF:MeOH(4ml:1mL) 溶液中。于室温下 12 小时后,减压除去有机溶剂,残留物用水稀释,采用柠檬酸水溶液酸化至 pH3,用乙酸乙酯萃取 (2×10mL)。合并有机层,经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂,获得的沉淀物在戊烷中研磨并过滤,获得目标化合物,为灰白色固体(0.03g,48%)。质谱(m/z):398.2(M+1)。

[0325] 流程 16

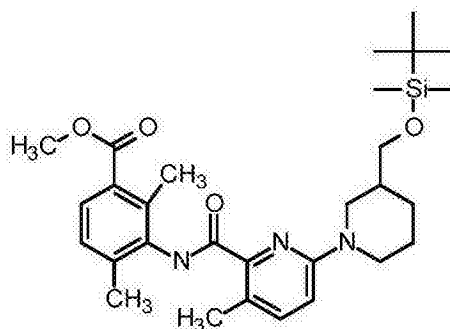
[0326]



[0327] 制备 47

[0328] 3-[[6-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0329]

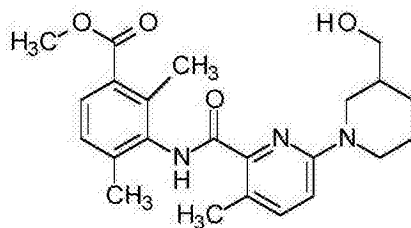


[0330] 流程 16, 步骤 A. 向 3-[[6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.5g, 0.0015mol, 参见制备 40)、叔-丁基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (0.41g, 0.0018mol, 参见制备 14) 和 Cs_2CO_3 (1.95g, 0.006mol) 的 1,4-二氧六环 (20mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.137g, 0.00015mol), 随后加入 S-Phos (0.06g, 0.00015mol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 80℃ 加热。24 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 20% 的 EtOAc 己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色半固体 (0.2g, 38%)。质谱 (m/z): 525.2 ($M+1$)。

[0331] 制备 48

[0332] 3-[[6-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0333]

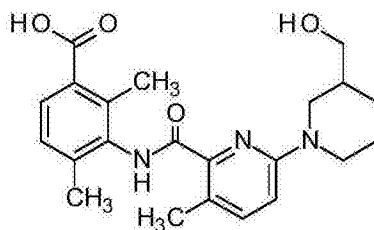


[0334] 流程 16, 步骤 B. 于 0℃, 向 3-[[6-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.20g, 0.38mmol) 的 THF (4mL) 溶液中加入 Bu₄NF 1.0M 的 THF 溶液 (1.5mL)。将反应混合物逐步温热至室温。8 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (中性氧化铝), 采用 50% 乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.18g, 115%)。质谱 (m/z): 412.2 (M+1)。

[0335] 实施例 12

[0336] 3-[[6-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

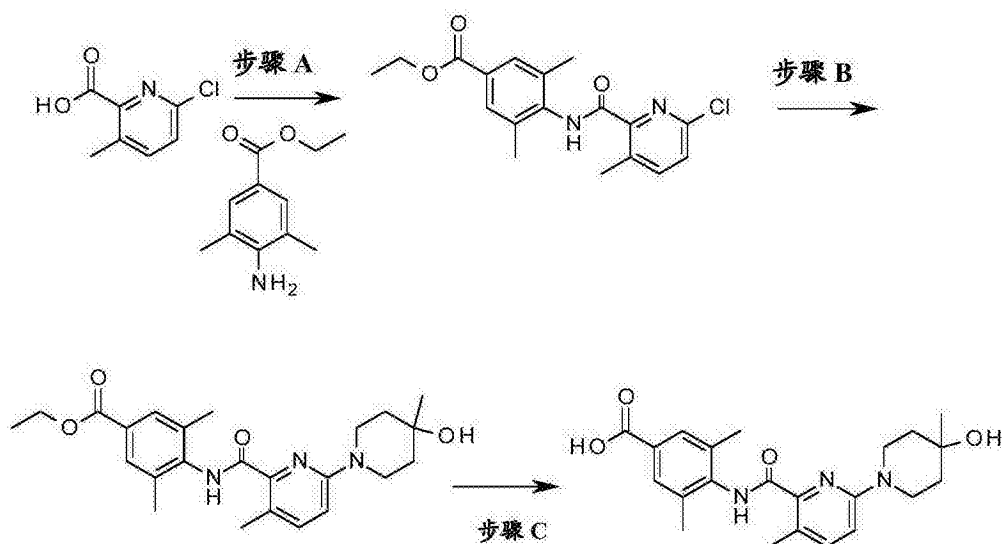
[0337]



[0338] 流程 16, 步骤 C. 将 2N NaOH 水溶液 (3.00mL) 加至搅拌的 3-[[6-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.18g, 0.437mmol) 的 THF (8mL) 溶液中。于室温下 12 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用柠檬酸酸化至 pH4, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的残留物通过制备性 HPLC 纯化, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (57mg, 14%)。质谱 (m/z): 398.2 (M+1)。

[0339] 流程 17

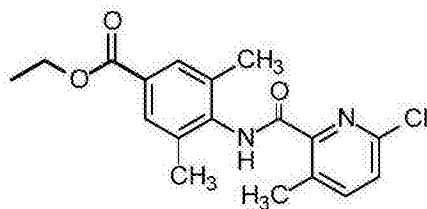
[0340]



[0341] 制备 49

[0342] 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯的合成。

[0343]

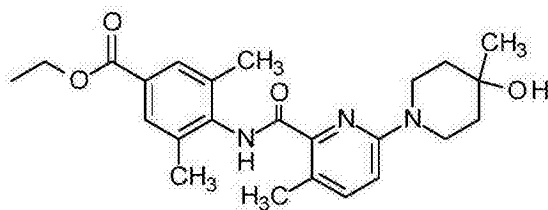


[0344] 流程 17, 步骤 A. 于 0℃, 向 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸 (465mg, 2.71mmol) 的 THF (5mL)、CH₂Cl₂ (5mL) 和 DMF (0.01mL, 129.33 μmol) 溶液中滴加草酰氯 (0.3mL, 3.46mmol), 将反应混合物缓慢温热至室温。2 小时后, 减压除去溶剂。向残留物中加入 CH₂Cl₂ (20mL), 将反应混合物冷却至 0℃, 随后加入 4-氨基-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (520mg, 2.69mmol), 然后加入 N,N-二甲基吡啶-4-胺 (15mg, 122.78 μmol) 和吡啶 (0.66mL, 8.16mmol)。移除冷浴, 将澄清的黄色溶液温热至室温。1 小时后, 除去溶剂, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 用 0.5N HCl、饱和的碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0 = 50% 乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得为固体的目标化合物 (790mg, 84%)。质谱 (m/z): 347.2 (M+1)。

[0345] 制备 50

[0346] 4-[[6-(4-羟基-4-甲基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯的合成。

[0347]



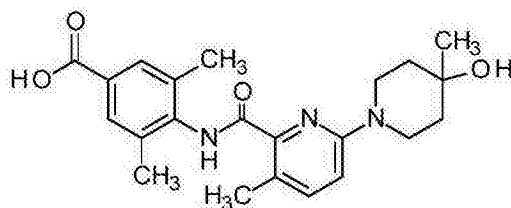
[0348] 流程 17, 步骤 B. 向 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (275mg, 792.93 μmol)、4-甲基哌啶-4-醇

(120mg, 1.04mmol) 和 Cs_2CO_3 (0.8g, 2.46mmol) 的 1,4-二氧六环 (6mL) 溶液中加入 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (27mg, 120.26 μmol s), 随后加入外消旋-2,2'-二(二苯基膦基)-1,1'-联萘 (54mg, 86.72 μmol s)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后加热至回流。2 小时后, 将反应物冷却至室温, 用氯化铵稀释, 用 EtOAc 萃取二次。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0-70% 乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为黄色油状物 (0.27g, 80%)。质谱 (m/z): 426.2 ($M+1$)。

[0349] 实施例 13

[0350] 4-[[6-(4-羟基-4-甲基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

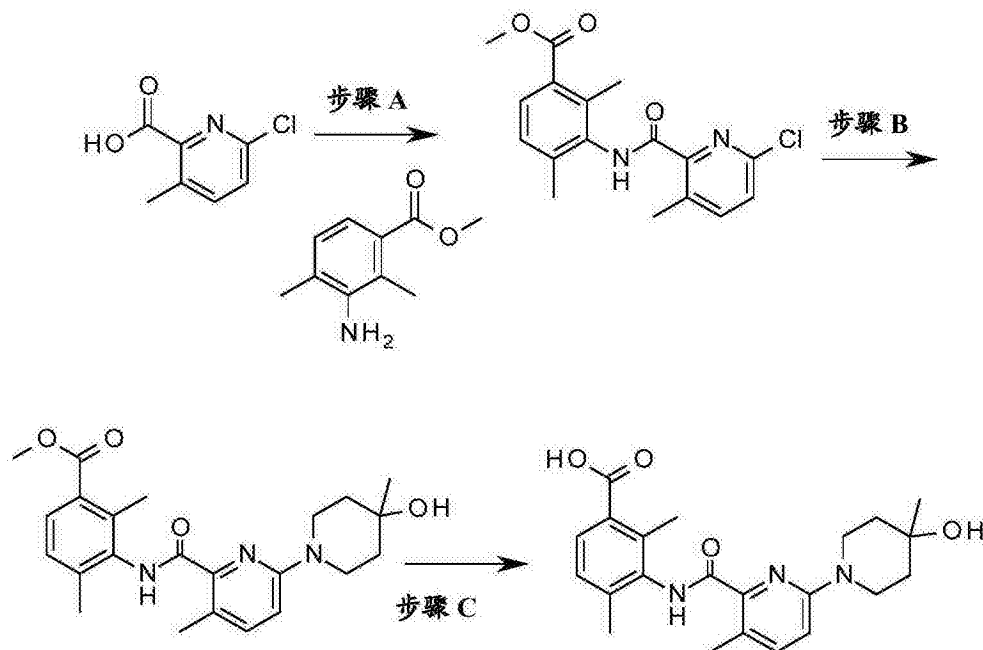
[0351]



[0352] 流程 17, 步骤 C. 将 2N NaOH 水溶液 (5.00mL) 加至搅拌的 4-[[6-(4-羟基-4-甲基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸乙酯 (0.27g, 634.51mmol) 的 THF:MeOH (10mL:5mL) 溶液中。于 50°C 1 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 5N HCl 酸化至 pH6, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层和水层, 减压浓缩。将固体在丙酮/乙腈中研磨并过滤。滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (0.11g, 43.6%)。质谱 (m/z): 398.2 ($M+1$)。

[0353] 流程 18

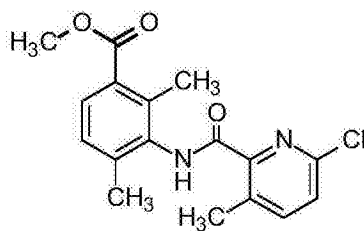
[0354]



[0355] 制备 51

[0356] 3-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0357]

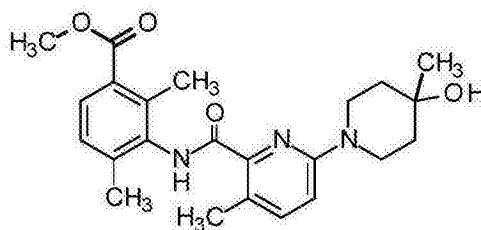


[0358] 流程 18, 步骤 A. 于 0℃, 向 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸 (465mg, 2.71mmol) 的 THF (5mL)、CH₂Cl₂ (5mL) 和 DMF (0.01mL, 129.33 μmol) 溶液中滴加草酰氯 (0.3mL, 3.46mmol), 将反应混合物缓慢温热至室温。2 小时后, 减压除去溶剂。向残留物中加入 CH₂Cl₂ (20mL), 将反应混合物冷却至 0℃, 随后加入 3-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (490mg, 2.73mmol), 然后加入 N,N-二甲基吡啶-4-胺 (15mg, 122.78 μmol) 和吡啶 (0.66mL, 8.16mmol)。移除冷浴, 将澄清的溶液温热至室温。1.5 小时后, 除去溶剂, 将反应混合物用乙酸乙酯稀释, 用 0.5N HCl、饱和的碳酸氢钠溶液和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (664mg, 73%)。质谱 (m/z): 333.2 (M+1)。

[0359] 制备 52

[0360] 3-[[6-(4-羟基-4-甲基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0361]

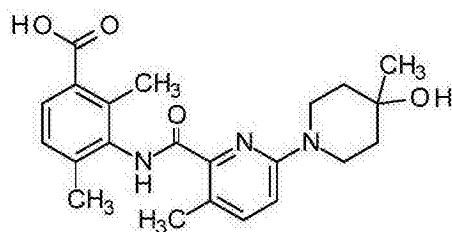


[0362] 流程 18, 步骤 B. 向 3-[[6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (315mg, 946.55 μmol)、4-甲基哌啶-4-醇 (130mg, 1.13mmol) 和 Cs₂CO₃ (0.9g, 2.76mmol) 的 1,4-二氧六环 (7mL) 溶液中加入 Pd(OAc)₂ (25mg, 89.93 μmol), 随后加入外消旋-2,2'-二(二苯基膦基)-1,1'-联萘 (56mg, 89.93 μmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后加热至回流。2 小时后, 将反应物冷却至室温, 用氯化铵稀释, 用 EtOAc 萃取。合并的有机层经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0-100% 乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色固体 (0.27g, 69%)。质谱 (m/z): 412.2 (M+1)。

[0363] 实施例 14

[0364] 3-[[6-(4-羟基-4-甲基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

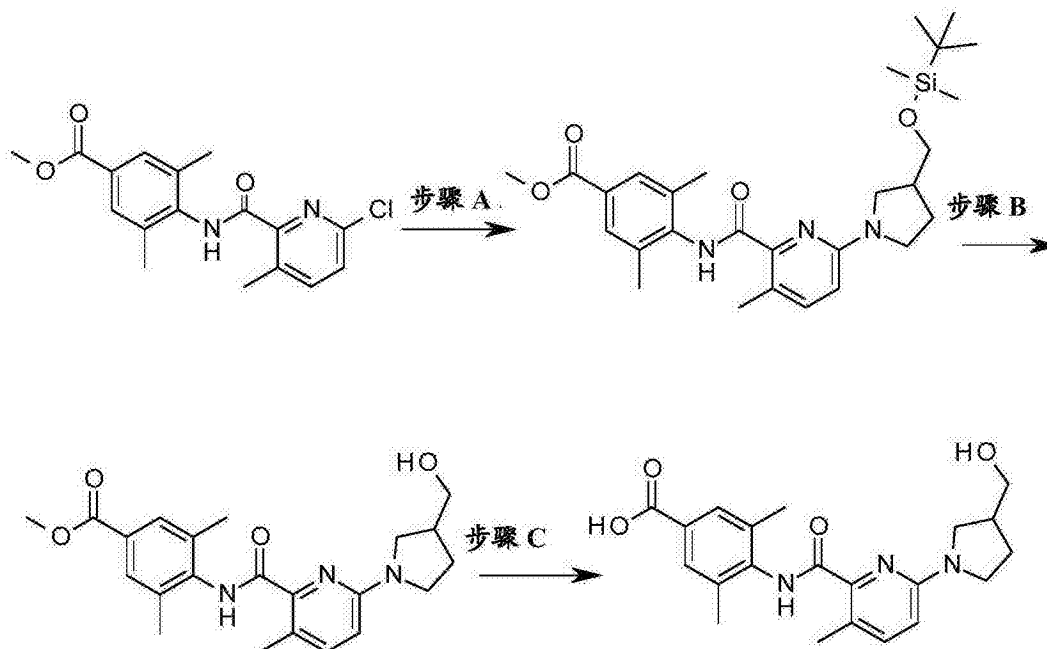
[0365]



[0366] 流程 18, 步骤 C. 将 2N NaOH 水溶液 (5.00mL) 加至搅拌的 3-[[[6-(4-羟基-4-甲基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.27g, 656.13mmol) 的 THF:MeOH(10ml:5mL) 溶液中。于 50℃ 1 小时后,减压除去有机溶剂,残留物用水稀释,采用 5N HCl 酸化至 pH6,用乙酸乙酯萃取。合并有机层,减压浓缩。将固体在丙酮/乙腈研磨并过滤。滤液经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩,获得目标化合物,为灰白色固体 (75mg, 29%)。质谱 (m/z):398.2 (M+1)。

[0367] 流程 19

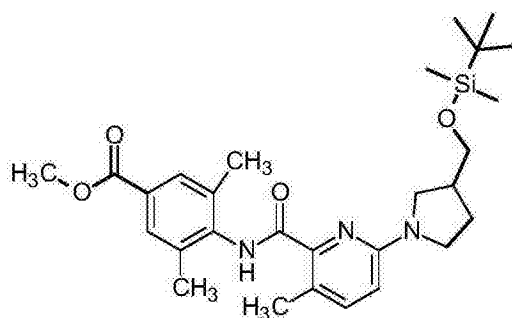
[0368]



[0369] 制备 53

[0370] 4-[[[6-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]吡咯烷-1-基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0371]



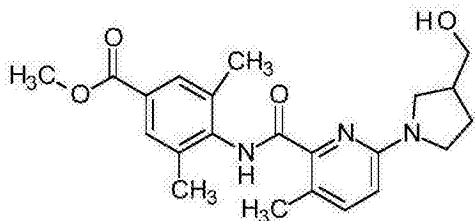
[0372] 流程 19, 步骤 A. 向 4-(6-氯代-3-甲基烟酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸

甲酯 (0.4g, 1.2mmol, 参见制备 2)、叔-丁基-二甲基-(吡咯烷-3-基甲氧基)硅烷 (0.775g, 3.6mmol) 和 Cs_2CO_3 (1.17g, 3.6mmol) 的 1,4-二氧六环 (5mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.1g, 0.12mmol), 随后加入 S-Phos (0.05g, 0.12mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 90℃ 加热。24 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10% 乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色半固体 (1.2g, 粗品)。质谱 (m/z): 512.2 ($M+1$)。

[0373] 制备 54

[0374] 4-[[6-[3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0375]

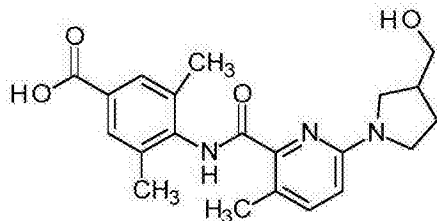


[0376] 流程 19, 步骤 B. 于 0℃ 向 4-[[6-[3-[[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基甲基]吡咯烷-1-基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (1.1g, 2.15mmol) 的 THF (7mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (5.00mL)。将反应混合物逐步温热至室温。6 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—50% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (0.36g, 42%)。质谱 (m/z): 398.2 ($M+1$)。

[0377] 实施例 15

[0378] 4-[[6-[3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

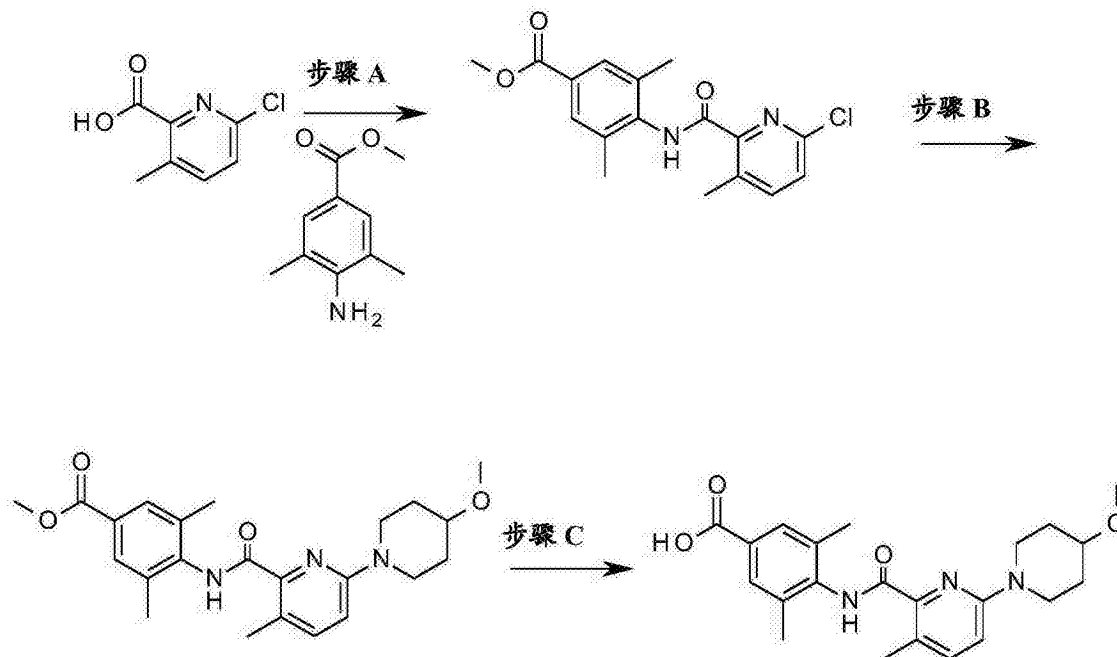
[0379]



[0380] 流程 19, 步骤 C. 将 NaOH (0.16g) 的 H_2O (1mL) 水溶液加至 4-[[6-[3-(羟基甲基)吡咯烷-1-基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.35g, 0.88mmol) 的 THF:MeOH (5mL:1mL) 溶液中。于室温下 8 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用柠檬酸水溶液酸化至 pH3, 用乙酸乙酯萃取 (2×10mL)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 将获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (73mg, 33.7%)。质谱 (m/z): 384.2 ($M+1$)。

[0381] 流程 20

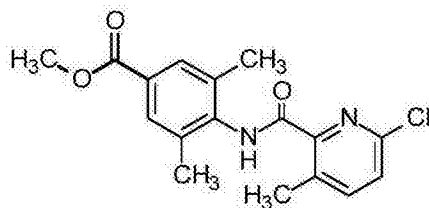
[0382]



[0383] 制备 55

[0384] 4-[(6-氯代-3-甲基-吡啶-2-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0385]

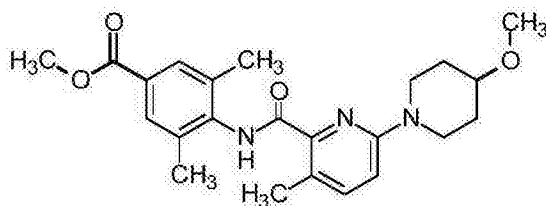


[0386] 流程 20, 步骤 A. 于 0℃, 向 6-氯代-3-甲基-吡啶-2-甲酸 (6.00g, 0.03508mol) 的 CH₂Cl₂ (50mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (5.65g, 0.03157mol) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (15.1ml, 0.0877mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50%的乙酸乙酯溶液, 22.32g, 0.07016mol), 于 60℃ 搅拌。3 小时后, 减压除去溶剂, 残留物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (8.70g, 74%)。质谱 (m/z): 333.2 (M+1)。

[0387] 制备 56

[0388] 4-[[6-(4-甲氧基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0389]



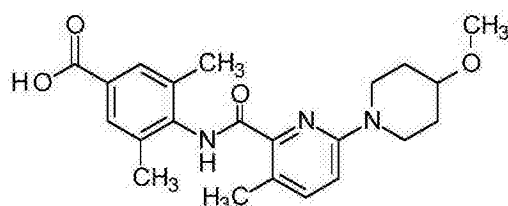
[0390] 流程 20, 步骤 B. 向 4-(6-氯代-3-甲基烟酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲

酯 (0.30g, 0.90mmol)、4-甲氧基哌啶 (0.178g, 1.8mmol) 和 Cs_2CO_3 (0.88g, 2.7mmol) 的 1,4-二氧六环 (5mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.082g, 0.09mmol), 随后加入 S-Phos (0.037g, 0.09mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 130℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 20% 乙酸乙酯己烷溶液系统, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (0.14g, 34%)。

[0391] 实施例 16

[0392] 4-[[6-(4-甲氧基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

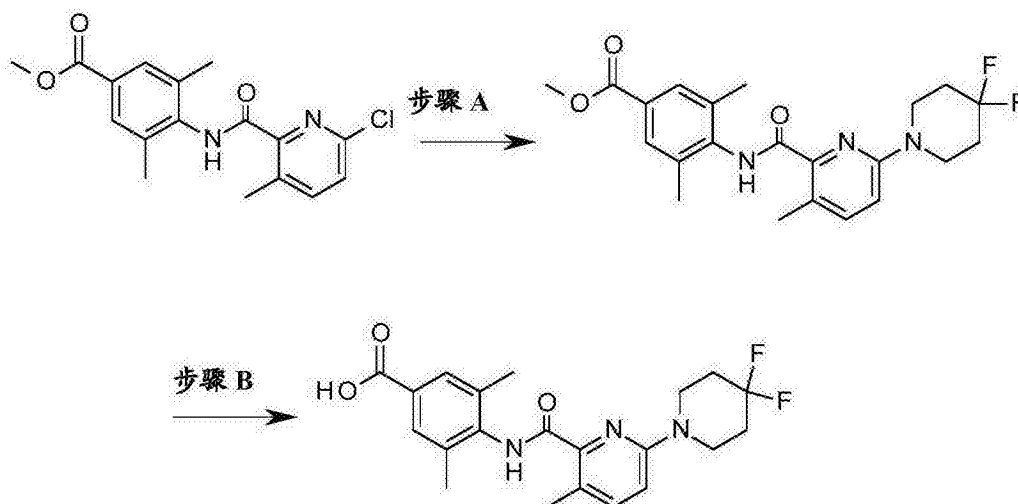
[0393]



[0394] 流程 20, 步骤 C. 将氢氧化锂 ($\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.026g, 0.62mmol) 加至搅拌的 4-[[6-(4-甲氧基-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.129g, 0.313mmol) 的 THF: H_2O :MeOH (0.7mL:0.3mL:0.7mL) 溶液中。于 50℃ 2 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH6, 用乙酸乙酯萃取 ($3 \times 20\text{mL}$)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 将获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (0.11g, 88%)。质谱 (m/z): 398.2 ($\text{M}+1$)。

[0395] 流程 21

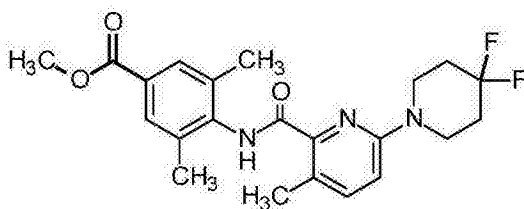
[0396]



[0397] 制备 57

[0398] 4-[[6-(4,4-二氟-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0399]

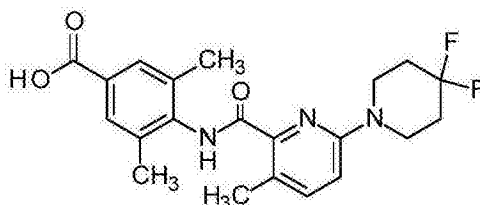


[0400] 流程 21, 步骤 A. 向 4-(6-氯代-3-甲基烟酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.30g, 0.90mmol, 参见制备 43)、4,4-二氟哌啶 (0.283g, 1.8mmol) 和 Cs_2CO_3 (1.17g, 3.6mmol) 的 1,4-二氧六环 (5mL) 溶液中加入 $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0.082g, 0.0903mmol), 随后加入 S-Phos (0.037g, 0.0903mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 130℃ 加热。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (0.240g, 63%)。质谱 (m/z): 418.2 (M+1)。

[0401] 实施例 17

[0402] 4-[[6-(4,4-二氟-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

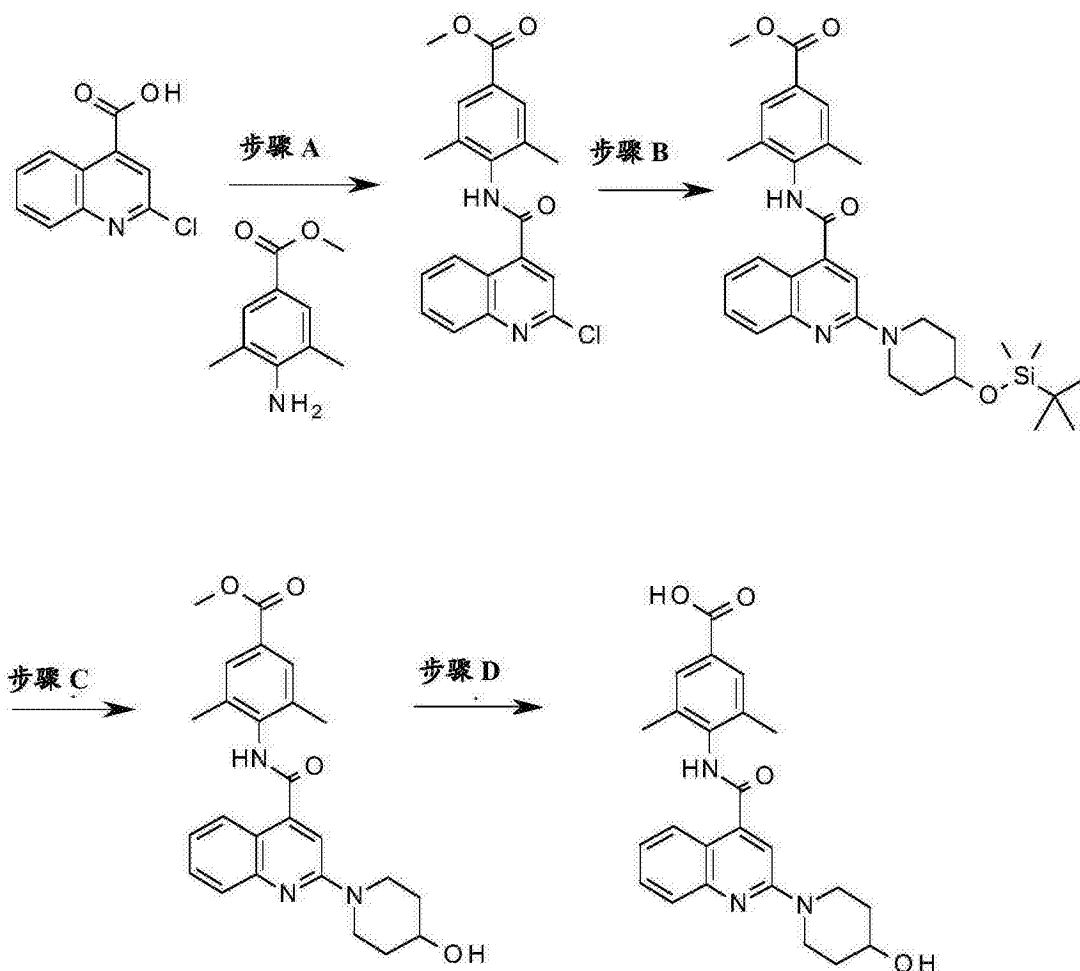
[0403]



[0404] 流程 21, 步骤 B. 将氢氧化锂 ($\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.048g, 0.00115mmol) 加至搅拌的 4-[[6-(4,4-二氟-1-哌啶基)-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.24g, 0.575mmol) 的 THF: H_2O :MeOH (1.5mL:0.7mL:1.5mL) 溶液中。于 50℃ 3 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH6, 用乙酸乙酯萃取 (3×20mL)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 将获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.166g, 71%)。质谱 (m/z): 404.2 (M+1)。

[0405] 流程 22

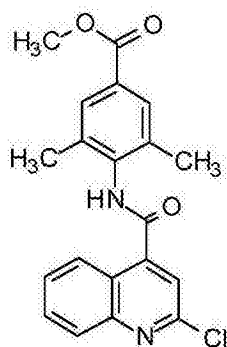
[0406]



[0407] 制备 58

[0408] 4-[(2-氯代喹啉-4-羰基)氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0409]

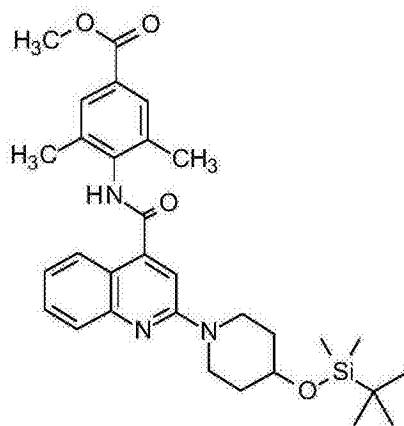


[0410] 流程 22, 步骤 A. 于 0℃, 向 2-氯代喹啉-4-甲酸 (5.00g, 0.0024mol) 的 CH_2Cl_2 (50mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (3.88g, 0.02167mol, 参见制备 12) 和 N,N-二异丙基乙基胺 (12.5ml, 0.07225mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 31.0ml, 0.048mol), 于 40℃ 加热。5 小时后, 将反应混合物用水稀释, 用二氯甲烷萃取。合并有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱。纯化后, 将固体在 20% 的乙醚戊烷溶液中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为白色固体 (8.50g, 96%)。质谱 (m/z): 369.1 ($M+1$)。

[0411] 制备 59

[0412] 4-[[2-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]喹啉-4-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0413]

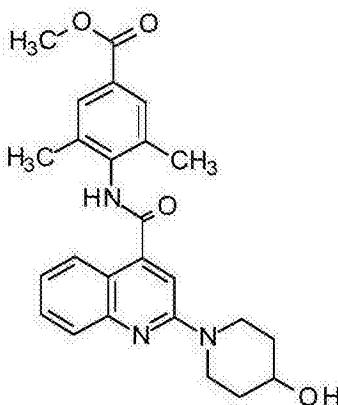


[0414] 流程 22, 步骤 B. 向 4-(2-氯代喹啉-4-甲酰氨基)-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.50g, 0.00135mol)、叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷 (0.32g, 0.0015mol, 参见制备 3) 和 Cs_2CO_3 (1.77g, 0.0054mol) 的 1,4-二氧六环 (5mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.124g, 0.000135mol), 随后加入 S-Phos (0.060g, 0.000135mol)。向反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 80℃ 搅拌。4 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物 (0.21g, 28%)。质谱 (m/z): 548.2 ($M+1$)。

[0415] 制备 60

[0416] 4-[[2-(4-羟基-1-哌啶基)喹啉-4-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0417]

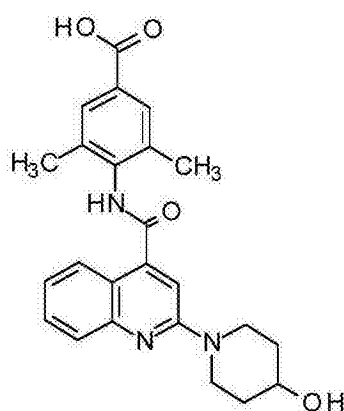


[0418] 流程 22, 步骤 C. 于 0℃, 向 4-(2-(4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)哌啶-1-基)喹啉-4-甲酰氨基)-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.21g, 0.00038mol) 的 THF (4mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (4.0mL)。将反应混合物逐步温热至室温。14 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 0—40% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (0.13g, 78%)。质谱 (m/z): 434.2 ($M+1$)。

[0419] 实施例 18

[0420] 4-[[2-(4-羟基-1-哌啶基)喹啉-4-羰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

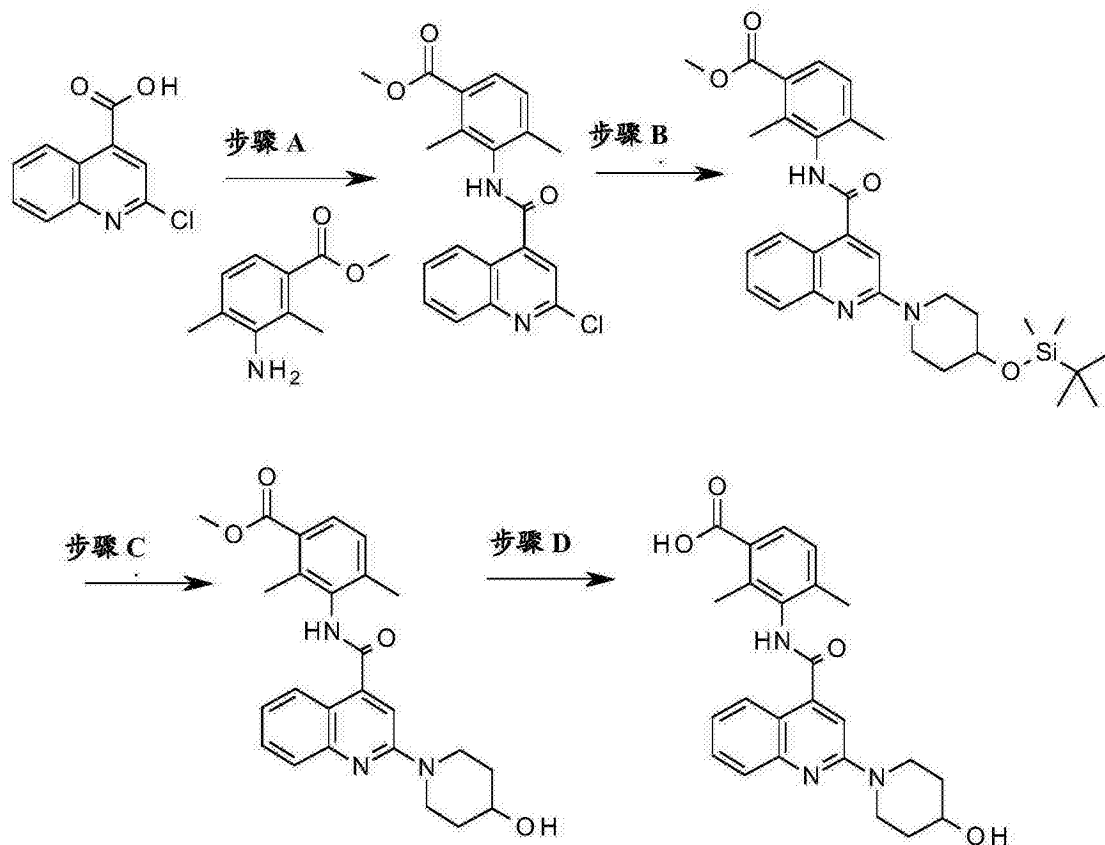
[0421]



[0422] 流程 22, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 4-(2-(4-羟基哌啶-1-基)喹啉-4-甲酰氨基)-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.13g, 0.0003mol) 的 THF:MeOH(5mL:2mL) 溶液中。于 50℃ 5h 后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH6, 用乙酸乙酯萃取 (2×20mL)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在戊烷和乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (0.05g, 40%)。质谱 (m/z): 420.2 (M+1)。

[0423] 流程 23

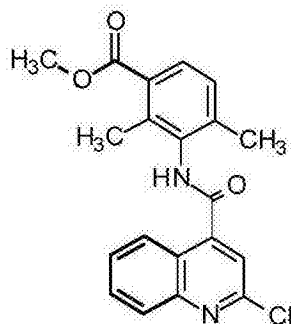
[0424]



[0425] 制备 61

[0426] 3-[(2-氯代喹啉-4-羰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0427]

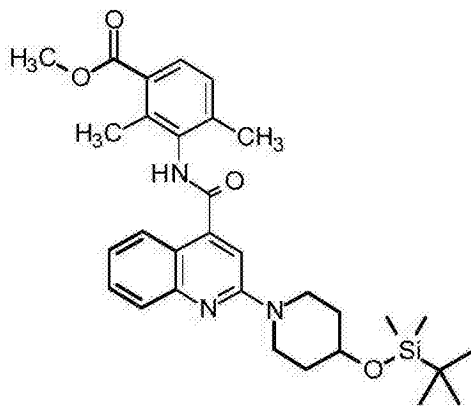


[0428] 流程 23, 步骤 A. 于 0 °C, 向 2-氯代喹啉-4-甲酸 (0.40g, 0.0019mol) 的 CH_2Cl_2 (8mL) 溶液中加入 3-氨基-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.31g, 0.0017mol, 参见制备 10) 和三乙胺 (0.80mL, 0.0058mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷磷环酐 (50%的乙酸乙酯溶液, 2.45mL, 0.0038mol), 于室温下搅拌。16 小时后, 反应物用水稀释, 用二氯甲烷萃取二次。合并有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。将获得的残留物在 20%的乙醚戊烷溶液中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (0.55g, 77%)。质谱 (m/z): 369.1 ($M+1$)。

[0429] 制备 62

[0430] 3-[[2-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]喹啉-4-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0431]



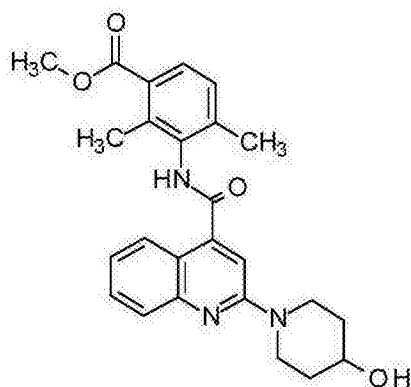
[0432] 流程 23, 步骤 B. 向 3-(2-氯代喹啉-4-甲酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.54g, 0.00146mol)、叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷 (0.63g, 0.00293mol, 参见制备 3) 和 Cs_2CO_3 (1.43g, 0.0044mol) 的 1,4-二氧六环 (8mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.134g, 0.000146mol), 随后加入 S-Phos (0.060g, 0.000146mol)。向反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 80 °C 搅拌。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为黑色半固体 (1.31g, 60%, 粗品)。质谱 (m/z): 548.2 ($M+1$)。

[0433] 制备 63

[0434] 3-[[2-(4-羟基-1-哌啶基)喹啉-4-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的

合成。

[0435]

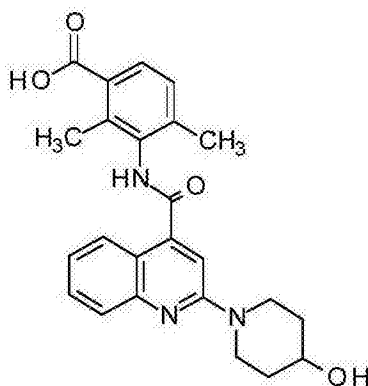


[0436] 流程 23, 步骤 C. 于 0℃, 向 3-(2-(4-((叔-丁基二甲基甲硅烷基)氧基)哌啶-1-基)喹啉-4-甲酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (1.30g, 0.00087mol) 的 THF (2.0mL) 溶液中加入 Bu₄NF 1.0M 的 THF 溶液 (10.0mL)。将反应混合物逐步温热至室温。14 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为黄色固体 (0.10g, 27%)。质谱 (m/z): 434.3 (M+1)。

[0437] 实施例 19

[0438] 3-[[2-(4-羟基-1-哌啶基)喹啉-4-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

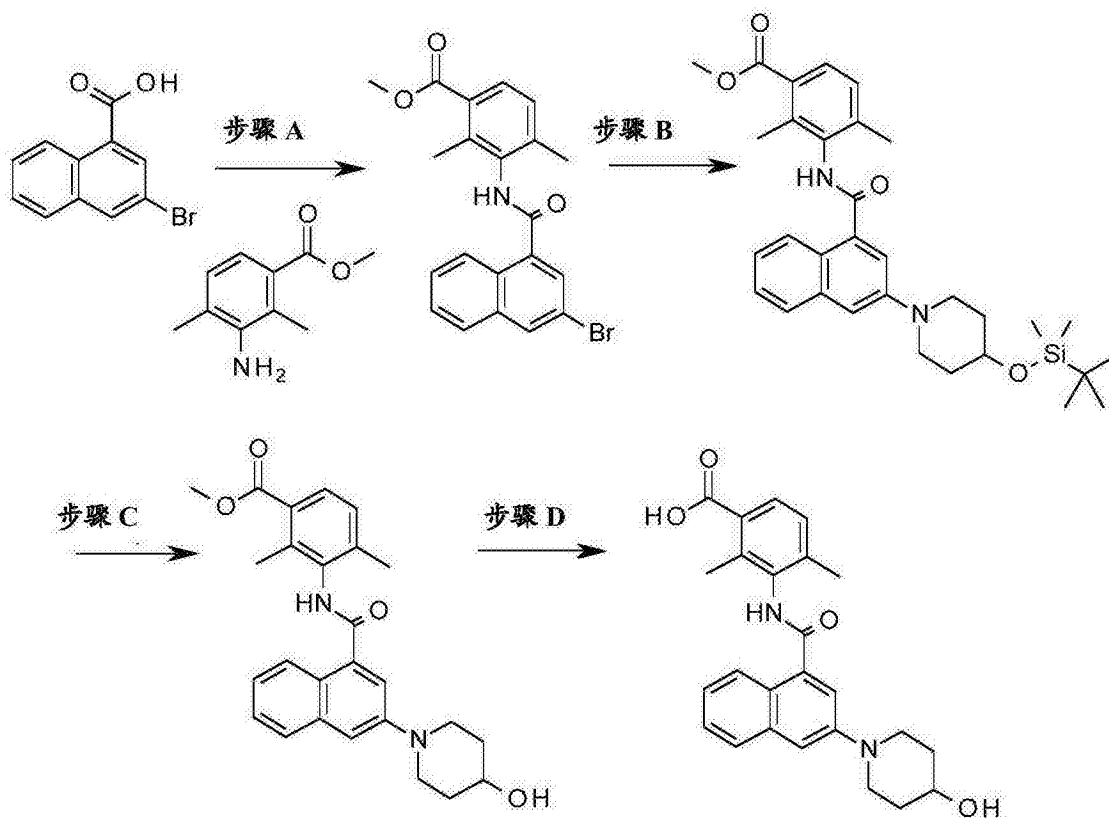
[0439]



[0440] 流程 23, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2.00mL) 加至搅拌的 3-(2-(4-羟基哌啶-1-基)喹啉-4-甲酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.10g, 0.00023mol) 的 THF:MeOH (4mL:2mL) 溶液中。于 50℃ 5h 后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH6, 用乙酸乙酯萃取 (2×20mL)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在戊烷和乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为浅黄色固体 (0.03g, 31%)。质谱 (m/z): 420.2 (M+1)。

[0441] 流程 24

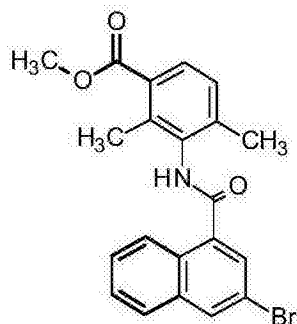
[0442]



[0443] 制备 64

[0444] 3-[[3-(3-溴萘-1-羰基)氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0445]

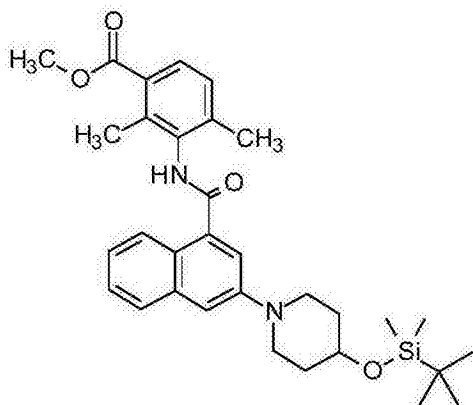


[0446] 流程 24, 步骤 A. 于 0℃, 向 3-溴-1-萘甲酸 (0.40g, 1.59mmol) 的 CH₂Cl₂ (8mL) 溶液中加入 3-氨基-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.26g, 1.43mmol, 参见制备 10) 和三乙胺 (0.78mL, 5.38mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 2.03mL, 3.18mmol), 于室温下搅拌。16 小时后, 将反应物用水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 5% 的 EtOAc 己烷溶液作为洗脱液洗脱, 获得产物, 为白色固体 (0.52g, 79%)。质谱 (m/z): 412.3 (M+1)。

[0447] 制备 65

[0448] 3-[[[3-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]萘-1-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0449]

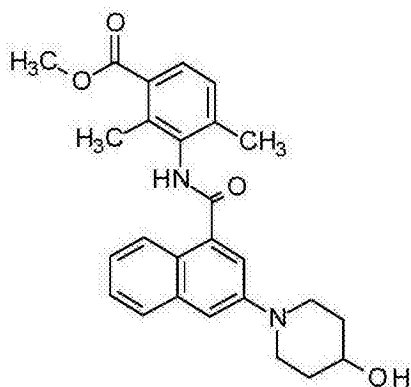


[0450] 流程 24, 步骤 B. 向 3-(3-溴-1-萘酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.48g, 0.0011mol)、叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷 (0.75g, 0.0034mol, 参见制备 3) 和 Cs_2CO_3 (1.00g, 0.0033mol) 的 1,4-二氧六环 (8mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.10g, 0.00011mol), 随后加入 S-Phos (0.045g, 0.00011mol)。向反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 80℃ 搅拌。16 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 获得目标化合物, 为黑色半固体 (0.52g, 粗品)。质谱 (m/z): 547.5 (M+1)。

[0451] 制备 66

[0452] 3-[[3-(4-羟基-1-哌啶基)萘-1-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0453]

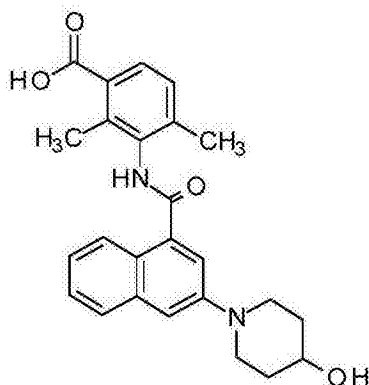


[0454] 流程 24, 步骤 C. 于 0℃, 向 3-[[3-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]萘-1-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.30g, 0.54mmol) 的 THF (8.0mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (0.35g, 1.60mmol)。将反应混合物逐步温热至室温。14 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.10g, 55%)。质谱 (m/z): 433.0 (M+1)。

[0455] 实施例 20

[0456] 3-[[3-(4-羟基-1-哌啶基)萘-1-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸的合成。

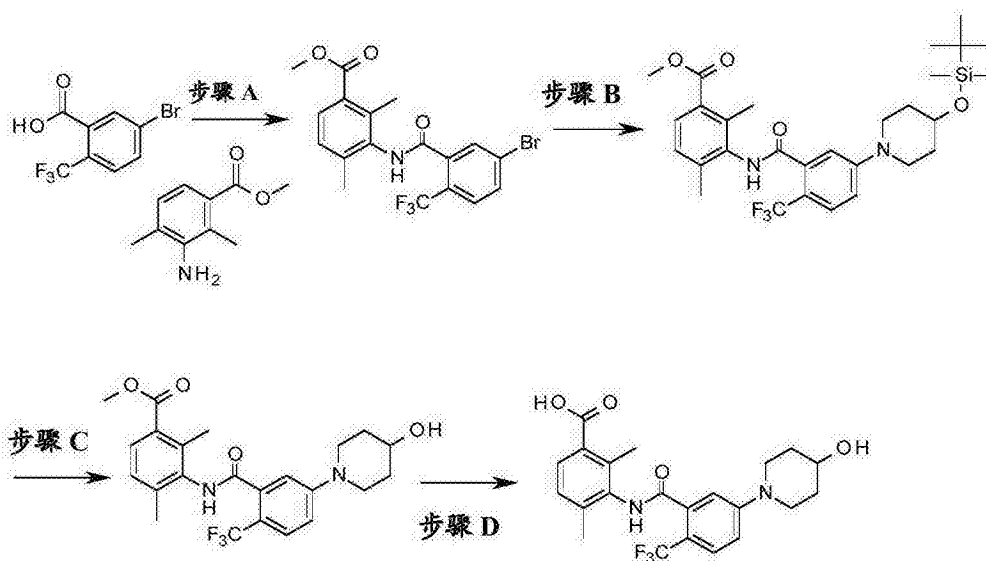
[0457]



[0458] 流程 24, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (3.00mL) 加至搅拌的 3-(3-(4-羟基哌啶-1-基)-1-萘甲酰氨基)-2,4-二甲基苯甲酸甲酯 (0.10g, 0.23mmol) 的 THF:MeOH(3mL:1mL) 溶液中。于室温下 12 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 水溶液酸化至 pH4, 用二氯甲烷萃取 (2×20mL)。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.028g, 29%)。质谱 (m/z): 419.2 (M+1)。

[0459] 流程 25

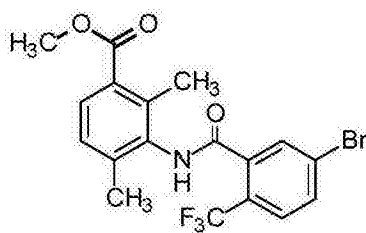
[0460]



[0461] 制备 67

[0462] 3-[[5-溴-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0463]



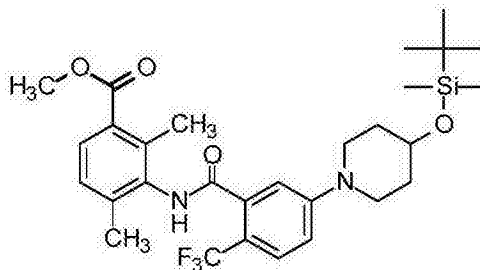
[0464] 流程 25, 步骤 A. 于室温下, 向 5-溴-2-(三氟甲基)苯甲酸 (1.0g, 3.53mmol) 的 CH_2Cl_2 (6mL) 溶液中加入 3-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.44g, 2.47mmol, 参见制备 12) 和三甲基胺 (1.0mL, 7.06mmol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸

环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 5.6ml, 8.83mmol), 于室温下 14 小时后, 将反应混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用水和盐水洗涤。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 20% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.6g, 39%)。

[0465] 制备 68

[0466] 3-[[5-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0467]

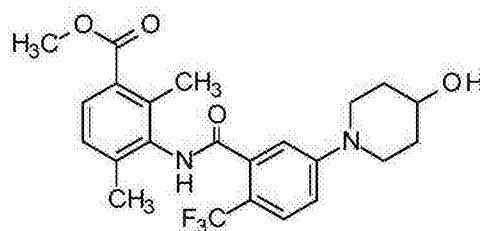


[0468] 流程 25, 步骤 B. 向 3-[[5-溴-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.20g, 0.46mmol)、叔-丁基-二甲基-(3-哌啶基甲氧基)硅烷 (0.11g, 0.50mmol, 参见制备 3) 和 Cs_2CO_3 (0.45g, 1.39mmol) 的 1,4-二氧六环 (15mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (43mg, 0.046mmol), 随后加入 S-Phos (19.3mg, 0.046mmol)。将反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 110°C 搅拌。12 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 30% 的乙酸乙酯己烷溶液洗脱, 获得目标化合物, 为棕色半固体 (180mg, 68%)。质谱 (m/z): 565.2 ($M+1$)。

[0469] 制备 69

[0470] 3-[[5-(4-羟基-1-哌啶基)-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0471]



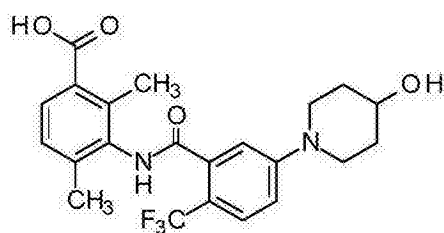
[0472] 流程 25, 步骤 C. 于 0°C, 向 3-[[5-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (180mg, 0.32mmol) 的 THF (10.0mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液 (2.0mL)。将反应混合物逐步温热至室温。8 小时后, 将反应混合物用冰水稀释, 用乙酸乙酯萃取。合并有机层, 经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化 (中性氧化铝), 采用 100% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱, 获得目标化合物, 为白色固体 (0.11g, 76%)。质谱 (m/z): 451.2 ($M+1$)。

[0473] 实施例 21

[0474] 3-[[5-(4-羟基-1-哌啶基)-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-2,4-二甲基-苯

甲酸的合成。

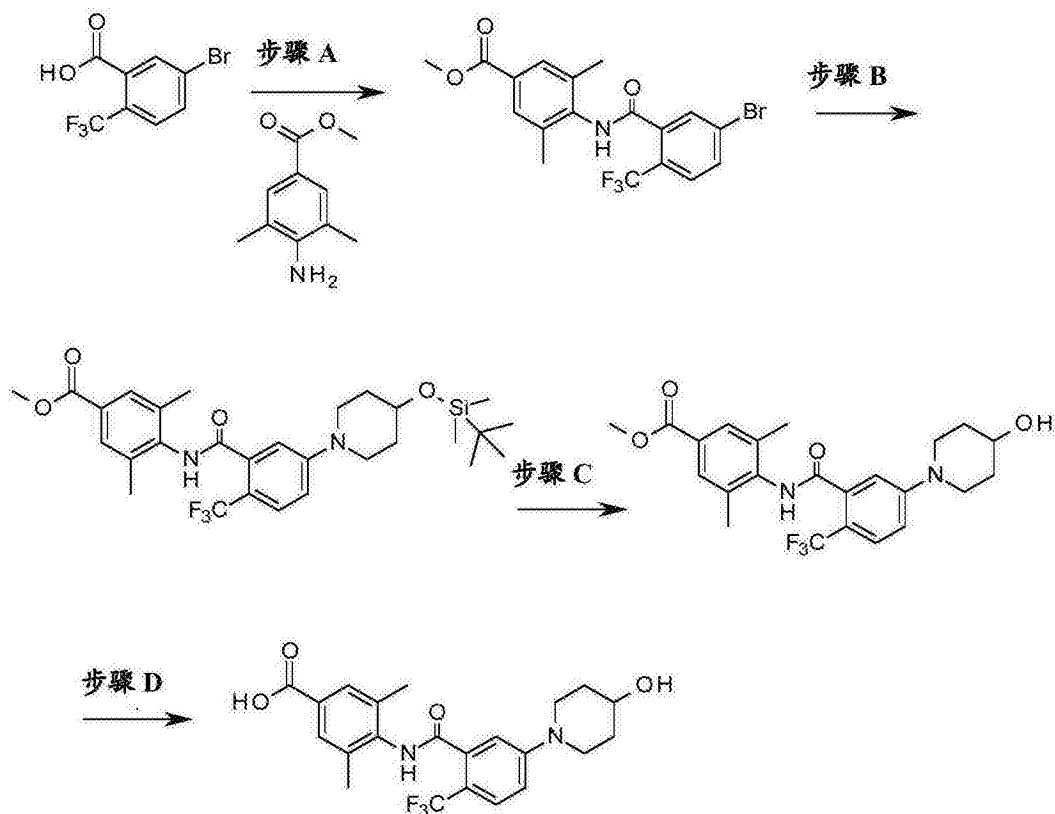
[0475]



[0476] 流程 25, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液 (2mL) 加至搅拌的 3-[[6-[3-(羟基甲基)-1-哌啶基]-3-甲基-吡啶-2-羰基]氨基]-2,4-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.11g, 0.24mmol) 的 THF (8mL) 溶液。于室温下 12 小时后, 减压除去有机溶剂, 残留物用水稀释, 采用 1N HCl 酸化至 pH4, 用二氯甲烷萃取二次。合并有机层, 经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 获得的沉淀物在戊烷和乙醚中研磨并过滤, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (95mg, 89%)。质谱 (m/z): 437.2 (M+1)。

[0477] 流程 26

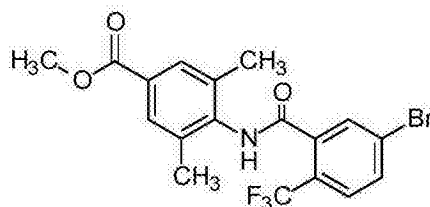
[0478]



[0479] 制备 70

[0480] 4-[[5-溴-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0481]

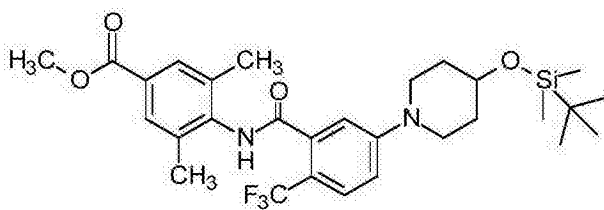


[0482] 流程 26, 步骤 A. 于室温下, 向 5-溴-2-(三氟甲基)苯甲酸 (1.00g, 0.00371mol) 的 CH_2Cl_2 (15mL) 溶液中加入 4-氨基-3,5-二甲基苯甲酸甲酯 (0.46g, 0.00260mol, 参见制备 12) 和三乙胺 (1.10mL, 0.00743mol)。将反应混合物搅拌 10 分钟后, 通过注射器加入 1-丙烷膦酸环酐 (50% 的乙酸乙酯溶液, 6.00mL, 0.00929mol), 于室温下搅拌。14 小时后, 将反应混合物用水稀释, 用二氯甲烷萃取。合并有机层, 经硫酸镁干燥, 过滤并减压浓缩。获得的残留物经快速色谱纯化 (硅胶), 采用 10—15% 的 EtOAc 洗脱, 获得目标化合物, 为灰白色固体 (0.45g, 27.67%)。质谱 (m/z): 430.0 ($M+1$)。

[0483] 制备 71

[0484] 4-[[5-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0485]

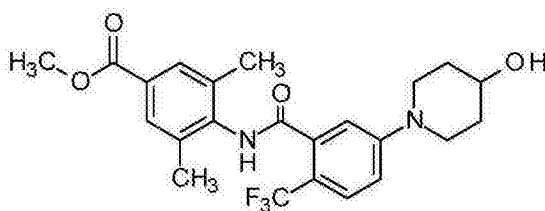


[0486] 流程 26, 步骤 B. 向 4-[[5-溴-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯 (0.10g, 232.44 μmol)、叔-丁基-二甲基-(4-哌啶基氧基)硅烷 (55.08mg, 255.68 μmol , 参见制备 3) 和 Cs_2CO_3 (227.2mg, 697.32 μmol) 的 1,4-二氧六环 (2.5mL) 溶液中加入 $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (21.28mg, 23.24 μmol), 随后加入 2-二环己基膦基-2',6'-二甲氧基联苯 (S-Phos) (9.54mg, 23.24 μmol)。向反应混合物充入氮气 5 分钟, 然后于 120℃ 搅拌。8 小时后, 将反应物冷却至室温, 通过 Celite™ 过滤, 用 EtOAc 洗涤。合并的滤液经硫酸钠干燥, 过滤并减压浓缩, 经快速色谱纯化 (中性氧化铝), 采用 15%—85% 的乙酸乙酯己烷溶液作为洗脱液, 获得目标化合物, 为浅黄色油状物 (0.10g, 80%)。质谱 (m/z): 565.4 ($M+1$)。

[0487] 制备 72

[0488] 4-[[5-(4-羟基-1-哌啶基)-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯的合成。

[0489]



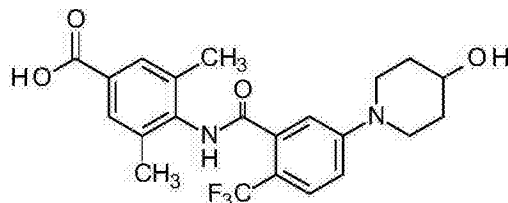
[0490] 流程 26, 步骤 C. 于 0℃, 向 4-[[5-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌

啉基]-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯(0.10g, 177.08 μmol s) 的 THF(4mL) 溶液中加入 Bu_4NF 1.0M 的 THF 溶液(1.0mL)。将反应混合物逐步温热至室温。6 小时后,将反应混合物用冰水稀释,用乙酸乙酯萃取。合并有机层,经硫酸钠干燥,过滤并减压浓缩获得残留物。残留物经快速色谱纯化(硅胶),采用 40—60% 的乙酸乙酯己烷溶液梯度洗脱,获得目标化合物,为浅黄色固体(0.06g, 81.5%)。质谱 (m/z): 451.2(M+1)。

[0491] 实施例 22

[0492] 4-[[5-(4-羟基-1-哌啶基)-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸的合成。

[0493]



[0494] 流程 26, 步骤 D. 将 2N NaOH 水溶液(1.5.00mL) 加至搅拌的 4-[[5-[4-[叔-丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-1-哌啶基]-2-(三氟甲基)苯甲酰基]氨基]-3,5-二甲基-苯甲酸甲酯(60.0mg, 133.20 μmol s) 的 THF:MeOH(5ml:0.5mL 溶液中)。于室温下 12h 后,减压除去有机溶剂,残留物用水稀释,采用柠檬酸酸化至 pH4,用乙酸乙酯萃取(2 $\times$ 20mL)。合并有机层,经无水硫酸钠干燥。减压除去溶剂,获得的沉淀物在戊烷和乙醚中研磨并过滤,获得目标化合物,为灰白色固体(0.04g, 60%)。质谱 (m/z): 437.2(M+1)。

[0495] 在体外与人 EP1、EP2、EP3 和 EP4 的结合

[0496] hEP1 和 hEP4 膜制备自稳定表达人 EP1 (Genbank 收录号 AY275470) 或 EP4 (Genbank 收录号 AY429109) 受体的重组 HEK293 细胞。hEP2 和 hEP3 膜制备自采用 EP2 (Genbank 收录号 AY275471) 或 EP3 (同工型 VI :Genbank 收录号 AY429108) 受体质粒瞬时转染的 HEK293 细胞。将冷冻的细胞沉淀在均化缓冲液中采用 Teflon/ 玻璃均化器均化。将膜蛋白平均等分,在干冰上快速冷冻,然后于 -80°C 储存。均化缓冲液含有 10mM Tris-HCl (pH7.4)、250mM 蔗糖、1mM EDTA、0.3mM 吡啶美辛和 plus CompleteTM以及 EDTA,该缓冲液获自 Roche Molecular Biochemicals (目录号 1 697 498)。

[0497] [^3H]-PGE₂与每种受体结合的 K_d 值可以通过饱和结合研究或同源竞争进行测定。采用能够产生 10-点曲线的三倍稀释系列以 96 孔模式测试化合物。在 $0.3 = 0.5\text{nM}$ [^3H]-PGE₂ (PerkinElmer, 118 = 180Ci/mmol) 存在下,将稀释的化合物与 20 μg /孔 EP1、10 μg /孔 EP2、1 μg /孔 EP3 或 10 = 20 μg /孔 EP4 膜一起于 25°C 温育 90 分。结合反应采用 0.5ml 聚苯乙烯 96-孔深孔板在 200 μL MES 缓冲液 (10mM MES pH 6.0、KOH、10mM MgCl_2 和 1mM EDTA) 中进行。通过比较存在和不存在 2 μM PGE₂ 的结合,计算非特异性结合。通过过滤收集膜 (TomTek 收集器),采用冷的缓冲液 (含有 KOH 的 10mM MES (pH6.0)、10mM MgCl_2) 洗涤四次,在 60°C 烘箱中干燥,采用 TopCount 检测器定量测定放射性,以每分钟计数 (CPM) 表示。特异性结合的百分比以不存在任何抑制剂的情况下的结合百分比计算,以存在 2 μM PGE₂ 的情况下的结合校正。采用 4-参数非线性对数方程 (基线方程 205) 如下分析数据: $y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$, 其中: y = % 特异性抑制, A = 曲线的底部; B = 曲线的顶

部 ;C = 相对 IC_{50} = 基于自顶部到底部的数据范围而产生 50% 抑制的浓度 ;D = 斜率 = 曲线的斜率。 K_i 换算自 IC_{50} 值 ($K_i = IC_{50} / (1 + [L] / K_d)$, 其中 $[L]$ 为配体浓度)。本文中实施例 1 = 22 的化合物基本上如上所述进行测试, 其对于 hEP4 的 K_i 值低于约 $2 \mu M$ 。

[0498] 表 2: 实施例 1 与人 EP1、EP2、EP3 和 EP4 的体外结合

[0499]

试验化合物	hEP1, K_i (nM)	hEP2, K_i (nM)	hEP3, K_i (nM)	hEP4, K_i (nM)
实施例 1	>17500 (n = 1)	>18900 (n = 1)	>14000 (n = 1)	76+47 (n = 7)

[0500] 基本上根据上述方法进行测定, 表 2 中的数据证明, 实施例 1 化合物与 hEP4 的结合浓度为低的纳摩尔级。表 2 中的数据也证明, 实施例 1 化合物与 hEP4 的结合强于与 hEP1、hEP2 和 hEP3 的结合, 说明了对 hEP4 受体的选择性。

[0501] 人 EP4 功能性拮抗剂的体外活性

[0502] 在稳定表达人 EP4 受体的 HEK293 细胞中进行试验。通过在 DMEM 中培养保存该细胞系, 该 DMEM 中含有高浓度葡萄糖和盐酸吡哆醇 (Invitrogen), 还补充有 10% 胎牛血清 (FBS)、1mM 丙酮酸钠、10mM HEPES、500 $\mu g/ml$ 遗传霉素和 2mM L- 谷氨酰胺。汇合培养物于 37°C、在含有 5% CO_2 的环境中生长。采用 2.5% 的胰岛素-EDTA 收集细胞, 以 10^7 个细胞 / mL 的浓度将其悬浮于冷冻介质 (含有 6% DMSO 的 FBS) 中, 等份储存在液氮中。在试验之前, 将细胞在 DMEM 中解冻、离心并悬浮于 cAMP 缓冲液中。

[0503] 采用 HTRF (Cisbio catalog # 62AM4PEB) 测定 EP4 拮抗剂对 PGE_2 - 刺激的 cAMP 产生的抑制。将相当于 4000 个细胞的等份量与 50 μL cAMP 试验缓冲液和拮抗剂一起于室温下温育 20 分钟, 所述缓冲液含有 PGE_2 的 EC_{80} (0.188nM PGE_2 , 获自 Sigma, catalog # P5640-10mg)。cAMP 试验缓冲液含有 500mL HBSS (Hank 平衡盐溶液)、0.1% BSA、20mM HEPES 和 200 μM IBMX (Sigma I5879)。CJ-042794 (4-[(1S)-1-[(5-氯代-2-[(4-氟苯基) 氧基] 苯基] 羰基) 氨基] 乙基] 苯甲酸) 作为阳性对照。为测定 cAMP 水平, 将 cAMP-d2 共轭物和抗 cAMP- 穴状化合物共轭物在裂解缓冲液中与已处理细胞一起于室温下温育 1 小时。HTRF 信号采用 **EnVision**[®] 读板仪 (Perkin-Elmer) 测定, 计算 665nm 与 620nm 的荧光比。采用每个实验制备的 cAMP 标准曲线, 将原始数据转换为 cAMP 量 (pmole/ 孔)。采用 4- 参数非线性对数方程 (基线方程 205) 如下分析数据: $y = (A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D))))$, 其中: y = % 特异性抑制, A = 曲线的底部; B = 曲线的顶部; C = 相对 IC_{50} = 基于自顶部到底部的数据范围而产生 50% 抑制的浓度; D = 斜率 = 曲线的斜率。

[0504] 基本上根据上述方法进行测定, 发现采用人 EP4 测定的实施例 1 化合物的 IC_{50} 为 $5.6 \pm 2.8 nM$ (n = 8)。这证明了实施例 1 化合物是人 EP4 在体外的有效拮抗剂。

[0505] EP4 功能性拮抗剂的大鼠体外活性

[0506] 将大鼠 EP4 cDNA (Genebank 收录号 NM_03276) 克隆到 pcDNA 3.1 载体中, 随后转染到 HEK293 细胞中进行受体表达。将大鼠 EP4 稳定的克隆按比例放大, 然后冷冻作为化合物进一步筛选的细胞库。为在 rEP4 细胞中测试 EP4 拮抗剂化合物, 将冷冻的细胞解冻, 然后将细胞悬浮于 cAMP 试验缓冲液中。cAMP 缓冲液通过 HBSS 制备, 不含酚红 (Phenol Red) (Hyclone, SH30268), 补充有 20mM HEPES (Hyclone, SH30237)、0.1% BSA (Gibco, 15260) 和 125 μM IBMX (Sigma, I5879)。将细胞涂布于平底聚苯乙烯黑色板 (Costar 3694) 的 96- 孔

板的一半的区域。将化合物采用 DMSO 系列稀释,获得 10- 点浓度响应曲线。然后将稀释的化合物加至 cAMP 试验缓冲液中,该缓冲液含有 PGE₂ (Cayman 14010, 应当是能够产生 EC₈₀ 的浓度), DMSO/ 缓冲液的比例为 1/100。在 PGE₂ (EC₈₀ 浓度) 存在下,将细胞于室温下采用化合物处理 30 分钟。自细胞中产生的 cAMP 水平通过 cAMP HTRF 分析试剂盒 (Cisbio 62AM4PEC) 定量测定。采用 HTRF 最优方案 (PerkinElmer), 在 EnVision 读板仪上读板。采用 Graphpad Prism(v. 4) 非线性回归、S 形 (sigmoidal) 剂量响应曲线拟合计算 IC₅₀。

[0507] 基本上根据上述方法进行测定,发现以大鼠 EP4 测定获得的实施例 1 化合物的 IC₅₀ 为 12nM。这证明了实施例 1 化合物为大鼠 EP4 体外的有效拮抗剂。

[0508] 在人全血中拮抗剂的体外活性

[0509] PGE₂ 对 LPS- 诱导的巨嗜细胞 / 单核细胞的 TNF α 产生的抑制作用被认为是由 EP4 受体介导的 (参见 Murase, A., 等, Life Sciences, 82:226-232 (2008))。实施例 1 化合物能够在人全血中逆转 PGE₂ 对 LPS- 诱导的 TNF α 产生的抑制作用的能力是功能性活性的标志。

[0510] 自正常志愿捐赠者中收集血液,收集到肝素钠真空管中。捐赠者在 48 小时内没有服用 NSAIDs 或塞来考昔 (celecoxib), 或在捐赠的两周内没有服用糖皮质激素。所有试管 / 供体均注入 50ml Falcon 圆锥形离心管中,以 98 μ L/ 孔的量分配到 96- 孔组织培养板 (Falcon 3072) 中。将化合物在 DMSO 中稀释至 100 $\times$ 终浓度,以 1 μ L/ 孔的量一式三份加至血液中,获得 7 点浓度响应曲线。将血液采用化合物于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 湿化环境中预处理 30 分钟,然后以 1 μ L/ 孔的量加入在 0.2mg/mL 胎牛血清 (BSA) / PBS+/-1mM PGE₂ (Cayman 14010) 中的 1mg/mL 脂多糖溶液 (LPS) (Sigma 0111:B4), 获得 LPS 的终浓度为 10 μ g/mL +/- 10nM PGE₂。将板于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 湿化环境温育 20 - 24 小时。在 Eppendorf 5810R 离心机中将板于 22 $^{\circ}$ C 以 1800 $\times$ g 离心 10 分钟。自细胞层移出血浆,将其转移至 v- 底聚丙烯板中。采用 Immulon 4HBX 板 (Thermo 3855) 和 3, 3', 5, 5' - 四甲基联苯 -4, 4' - 二胺底物 (KPL 50-76-03), 通过获自商业的酶免疫分析法 (R&D Systems DY210) 定量测定 2 μ L 血浆中的 **TNF α** 水平。采用 SOFTmaxPRO (v. 4. 3. 1) 软件,在读板仪 (Molecular Devices Versamax) 上于 A₄₅₀-A₆₅₀ 读板。采用 Graphpad Prism (v. 4) 非线性回归、S 形 (sigmoidal) 剂量响应曲线拟合计算 IC₅₀。结果表示为几何平均值 $\pm$ 标准差 ;n = 独立测定的次数。

[0511] 基本上根据上述方法进行测定,发现以人 EP4 测定的实施例 1 化合物的 IC₅₀ 为 123+81nM (n = 8)。这说明了实施例 1 化合物在人血液 TNF α 诱导试验中是有效的 EP4 拮抗剂。