



(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)



1-0028838

(51)⁷ C07D 401/12; A61K 31/4025; A61K 31/427; A61K 31/4439; A61K 38/07; C07K 5/02; A61P 35/00; C07D 207/08; C07D 417/12; C07D 417/14; A61K 31/401; A61K 38/40 (13) B

(21) 1-2015-04387

(22) 25/04/2014

(86) PCT/EP2014/058427 25/04/2014

(87) WO2014/174064 30/10/2014

(30) 1353793 25/04/2013 FR

(45) 25/07/2021 400

(43) 25/02/2016 335A

(73) PIERRE FABRE MEDICAMENT (FR)

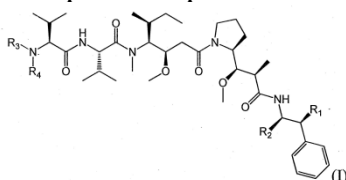
45, place Abel Gance, F-92100 Boulogne-Billancourt, France

(72) PEREZ, Michel (FR); RILATT, Ian (GB); LAMONTHE, Marie (FR).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT DOLASTATIN 10 VÀ AURISTATIN, DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ CHÚNG

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) sau:



trong đó:

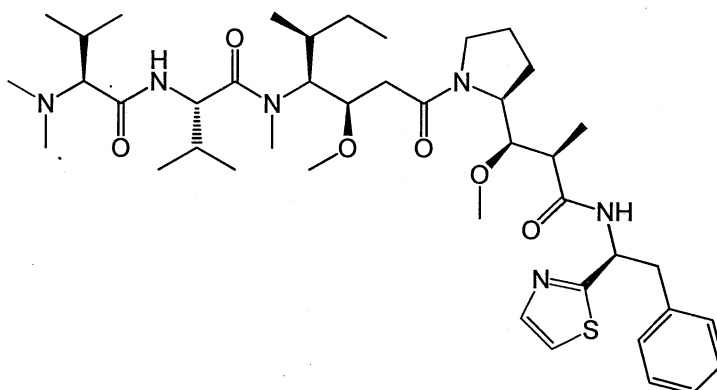
- R₁ là H hoặc OH,
- R₂ là nhóm (C₁-C₆)alkyl, COOH, COO-((C₁-C₆)alkyl) hoặc thiazolyl,
- R₃ là H hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl, và
- R₄ là nhóm aryl-(C₁-C₈)alkyl được thế bởi một hoặc nhiều nhóm được chọn trong số các nhóm OH và NR₉R₁₀, hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của chúng, để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư, dược phẩm chứa chúng và phương pháp điều chế chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

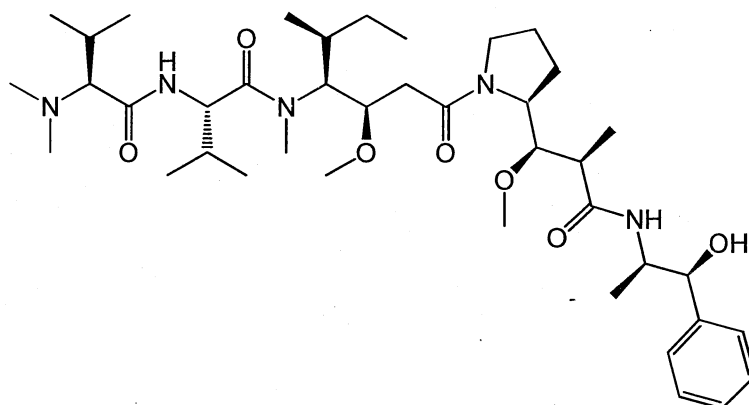
Sáng chế đề cập đến các hợp chất dẫn xuất của dolastatin 10 và auristatin, phương pháp điều chế chúng, dược phẩm chứa chúng để sử dụng làm thuốc, đặc biệt là để điều trị bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

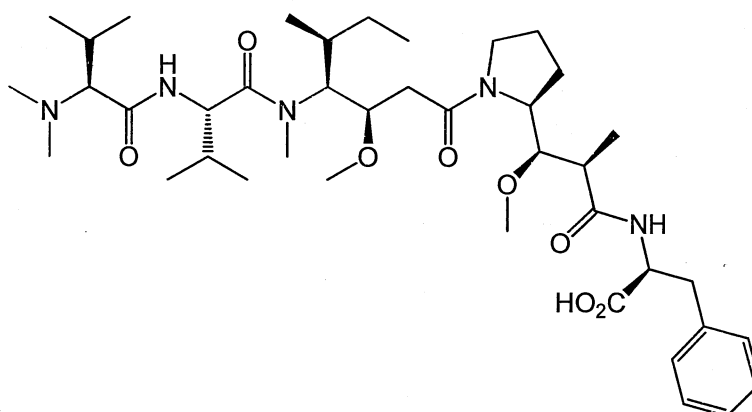
Dolastatin 10 (D10) là hợp chất dẫn xuất peptit gây độc tế bào được tách từ nhuyễn thể biển (*Dolabella auricularia*), hợp chất này có cấu hình tuyệt đối đã được xác định và sau đó được xác nhận sau khi tổng hợp toàn bộ sản phẩm (Pettit G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 6883; Pettit G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1987, 109, 7581; Pettit, G. R. *Heterocycles* 1989, 28, 553; Pettit, G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 5015; Pettit G. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 6692). D10 được tạo ra từ 5 đơn vị được gọi là dolavalin (Dov), valin (Val), dolaisoleuxin (Dil), dolaproin (Dap) và dolaphenin (Doe). Một số nhất định các chất tương tự của hợp chất này đã được tổng hợp bằng cách biến đổi bản chất các axit amin thành phần của nó (Pettit G. R. *Med. Chem.* 1990, 33, 3133; Miyazaki K. *Peptide Chemistry* 1993, 31, 85; Miyazaki K. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 1706). Các biến đổi ở phần đầu tận C (đầu bên phải) cũng đã được thực hiện và đã tạo ra nhiều dẫn xuất, bao gồm auristatin E hoặc F (Pettit G. R. *Anticancer Drug Design*, 1998, 13, 243; Pettit G. R. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 1998, 2961).



Dolastatin 10



Auristatin E



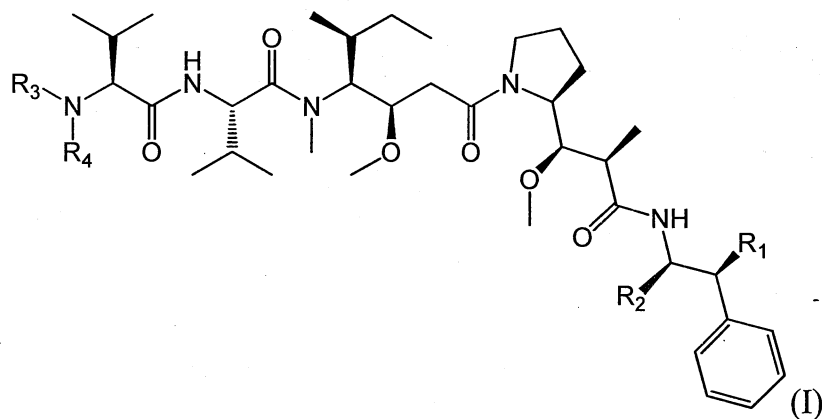
Auristatin F

Sáng chế này tập trung vào biến đổi ở phần đầu tận N (đầu bên trái) của các dẫn xuất của dolastatin 10 và auristatin E và F. Một vài ví dụ đã được công bố trong các tài liệu về các biến đổi được thực hiện ở vị trí này dẫn đến làm mất hoạt tính (Miyazaki K. *Am. Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 1706). Các hợp chất được mô tả trong sáng chế này khác với các hợp chất đã biết ở cấu trúc hóa học ban đầu của chúng và cả ở hoạt tính sinh học đặc biệt của chúng, là hoàn toàn bất ngờ so với hoạt tính của các hợp chất được công bố trong các tài liệu chuyên ngành. Hoạt tính đặc biệt này làm cho các hợp chất là thích hợp để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư.

Ngoài ra, các hợp chất này có ưu điểm là vừa có tác dụng như chất gây độc tế bào và vừa hòa tan tốt hơn so với các hợp chất gốc.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức sau (I) sau:



trong đó:

- $R_1 = \text{OH}$ và $R_2 = \text{metyl}$, hoặc
 $R_1 = \text{H}$ và $R_2 = \text{COOH}$, COOMe hoặc thiazol-2-yl,
- R_3 là nhóm $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)\text{alkyl}$, và
- R_4 là nhóm aryl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_8)\text{alkyl}$ được thế bởi một nhóm (tốt hơn là trên phần aryl) được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} với mỗi R_9 và R_{10} độc lập với nhau là H hoặc nhóm $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)\text{alkyl}$ (như metyl), trong đó nhóm aryl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_8)\text{alkyl}$ là nhóm phenyl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ được nối với phần còn lại của phân tử qua gốc $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ của nó,

hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của chúng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các gốc R_2 đến R_4 , và đặc biệt là R_4 , có thể là nhóm bất đối và có thể ở dạng chất đồng phân lập thể khác nhau của chúng và tùy ý ở dạng hỗn hợp gồm các chất đồng phân lập thể.

"Chất đồng phân lập thể", trong bản mô tả này, có nghĩa là chất đồng phân dị hình hoặc chất đồng phân quang học.

Các chất đồng phân dị hình được tạo ra từ các phân tử thế ở vị trí khác nhau trên liên kết đôi, từ đó có thể có cấu hình Z hoặc E.

Đặc biệt, các chất đồng phân quang học được tạo ra từ các phân tử thế ở vị trí khác nhau trong không gian trên nguyên tử cacbon chứa 4 phần tử thế khác nhau. Nguyên tử cacbon này tạo ra tâm bất đối hoặc không đối xứng. Chất đồng phân quang học bao gồm chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân đối ảnh. Các chất đồng phân quang học là ảnh của nhau qua gương nhưng không chồng khít lên

nhau được gọi là "chất đồng phân đối ảnh". Các chất đồng phân quang học không phải là ảnh chùng khít được của nhau qua gương được gọi là "chất đồng phân không đối quang".

Hỗn hợp chứa các lượng bằng nhau của hai dạng chất đồng phân đối ảnh riêng có tính bất đối xứng gương ngược nhau được gọi là "hỗn hợp racemic".

Theo sáng chế, "dược dụng" có nghĩa là thành phần có thể được dùng trong việc bào chế dược phẩm, thường là an toàn, không độc và không có tác dụng không mong muốn về mặt sinh học hoặc tác dụng không mong muốn khác, và chấp nhận được để dùng trong thú y cũng như dùng làm thuốc cho người.

"Muối, hydrat hoặc solvat dược dụng" của hợp chất có nghĩa là muối, hydrat hoặc solvat là loại dược dụng như được định nghĩa trong bản mô tả này và có tác dụng dược lý mong muốn của hợp chất gốc.

Các muối dược dụng đáng lưu ý bao gồm:

(1) các muối cộng của axit dược dụng được tạo ra với axit vô cơ dược dụng như axit clohydric, bromhydric, phosphoric, sulfuric và các axit tương tự; hoặc được tạo ra với axit hữu cơ dược dụng như axit axetic, trifloaxetic, propionic, succinic, fumaric, malic, tartaric, xitric, ascorbic, maleic, glutamic, benzoic, salixylic, toluensulfonic, metansulfonic, stearic, lactic và các axit tương tự; và

(2) các muối cộng của bazơ dược dụng được tạo ra khi proton axit có mặt trong hợp chất gốc được thay thế bằng ion kim loại, ví dụ, ion kim loại kiềm, ion kim loại kiềm thổ hoặc ion nhôm; hoặc được phối trí với bazơ hữu cơ dược dụng như lysin, arginin và các chất tương tự; hoặc với bazơ vô cơ dược dụng như natri hydroxit, kali cacbonat, canxi hydroxit và các chất tương tự.

Các muối này có thể được điều chế từ các hợp chất theo sáng chế chứa chức bazơ hoặc axit, và các axit hoặc bazơ tương ứng theo phương pháp hóa học thông thường.

Tốt hơn là, hợp chất có công thức (I) theo sáng chế ở dạng muối, và đặc biệt là muối cộng axit dược dụng.

Tốt hơn là, các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế là ở dạng muối cộng axit dược dụng, axit này có thể là axit trifloaxetic, axit axetic hoặc axit clohydric, ví dụ, và đặc biệt là axit trifloaxetic.

Solvat bao gồm các solvat thông thường thu được ở bước điều chế cuối của hợp chất theo sáng chế do sự có mặt của dung môi, dung môi này có thể là etanol chẳng hạn.

"Alkyl" trong sáng chế này có nghĩa là hydrocacbon bão hòa, mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Ví dụ, có thể bao gồm các nhóm metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, *sec*-butyl, *tert*-butyl, pentyl hoặc hexyl.

"(C_x-C_y)alkyl" trong bản mô tả này có nghĩa là mạch alkyl như được định nghĩa trên đây có x đến y nguyên tử cacbon. Do đó, nhóm (C₁-C₆)alkyl là mạch alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

"Aryl" trong bản mô tả này có nghĩa là nhóm hydrocacbon thơm, tốt hơn là có 6 đến 10 nguyên tử cacbon và có thể có một hoặc hai vòng ngưng tụ. Ví dụ, có thể kể đến phenyl hoặc naphthyl. Có lợi, nếu aryl là phenyl.

"Aryl-(C₁-C₈)alkyl" trong bản mô tả này có nghĩa là nhóm aryl như được định nghĩa trên đây được liên kết với phần còn lại của phân tử thông qua nhóm alkyl như được định nghĩa trên đây và có 1 đến 8, đặc biệt là 1 đến 6, có lợi nếu có 1 đến 4, tốt hơn là 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon. Tốt hơn, nếu gốc aryl là gốc phenyl. Có lợi, nếu gốc (C₁-C₈)alkyl là (C₁-C₄)alkyl, tốt hơn là (C₁-C₂)alkyl. Đặc biệt là, nhóm aryl-(C₁-C₈)alkyl là nhóm benzyl hoặc phenetyl.

Trong số các hợp chất theo sáng chế, nhóm hợp chất được đặc biệt ưu tiên là các hợp chất có công thức (I) trong đó R₁ là OH và R₂ là metyl.

Một nhóm hợp chất khác được đặc biệt ưu tiên là các hợp chất có công thức (I) trong đó R₁ là hydro và R₂ là nhóm thiazol-2-yl.

Một nhóm hợp chất khác được đặc biệt ưu tiên là các hợp chất có công thức (I) trong đó R₁ là hydro và R₂ là COOMe.

Một nhóm hợp chất khác được đặc biệt ưu tiên là các hợp chất có công thức (I) trong đó R₁ là hydro và R₂ là nhóm COOH.

Do đó, các hợp chất theo sáng chế là hợp chất có công thức (I) trong đó:

- R₁=OH và R₂=Me (metyl), hoặc
- R₁=H và R₂=COOH, COOMe hoặc thiazol-2-yl.

Tốt hơn là, R₁ là H và R₂ là COOH hoặc COO(C₁-C₆)alkyl, đặc biệt là COOH hoặc COOMe.

Theo phương án ưu tiên thứ nhất, R₁ là H và R₂ là COOH.

Theo phương án ưu tiên thứ hai, R_1 là H và R_2 là COOMe.

Đặc biệt nếu R_3 là nhóm methyl.

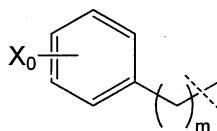
R_4 là nhóm aryl-(C_1 - C_2)alkyl, được thế bởi một nhóm được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} , và đặc biệt là NR_9R_{10} .

Có lợi, nếu R_4 là nhóm aryl-(C_1 - C_2)alkyl, được thế bởi một nhóm trên gốc aryl được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} , và đặc biệt là NR_9R_{10} .

Nhóm aryl là nhóm phenyl.

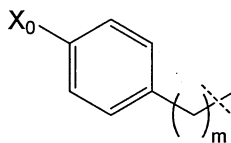
Do đó, R_4 là phenyl-(C_1 - C_2)alkyl được thế bởi một nhóm (tốt hơn là trên gốc phenyl) được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} , và đặc biệt là NR_9R_{10} .

Do đó, R_4 có thể có công thức sau:



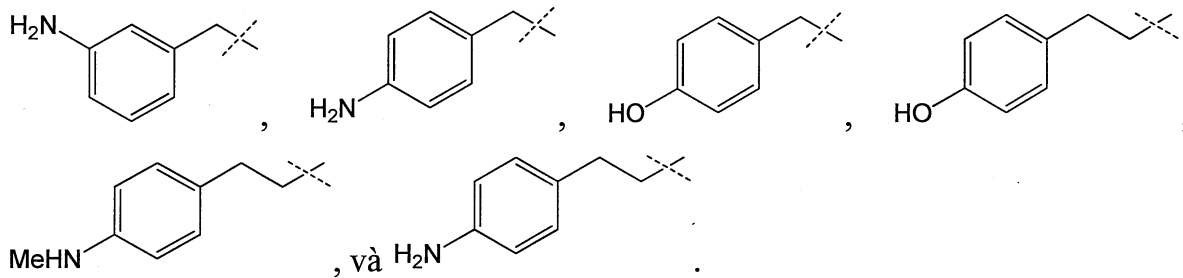
trong đó X_0 là OH hoặc NR_9R_{10} , đặc biệt là NR_9R_{10} , và m là số nguyên bằng 1 hoặc 2.

Theo một phương án ưu tiên, R_4 có công thức sau:



với X_0 và m là như được xác định trên đây, và đặc biệt là với $X_0=NR_9R_{10}$ và $m=1$ hoặc 2.

Đặc biệt là R_4 có thể được chọn trong số các nhóm:



Có lợi, nếu hợp chất có công thức (I) được chọn trong số các hợp chất 11-15, 19-20, 23-24, 27-29, 49-51 và 61-64 được nêu trong phần ví dụ dưới đây.

Một đối tượng khác của sáng chế là hợp chất có công thức (I) như được xác định trên đây để sử dụng làm dược phẩm, đặc biệt là để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư hoặc các rối loạn tăng sinh lành tính.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư hoặc các rối loạn tăng sinh lành tính bao gồm việc cho người cần điều trị dùng hợp chất có công thức (I) như được xác định trên đây với lượng hữu hiệu.

Đặc biệt hơn nếu bệnh ung thư cần điều trị hoặc phòng ngừa là bệnh ung thư phổi, tuyến tụy, da, đầu, cổ, tử cung, buồng trứng, hậu môn, dạ dày, kết tràng, vú, thực quản, ruột non, tuyến giáp, hệ mạch bạch huyết, tuyến tiền liệt, thận, hoặc bàng quang, hoặc bệnh bạch cầu cấp tính hoặc mạn tính, hoặc kết hợp hai hoặc nhiều bệnh ung thư này.

Các rối loạn tăng sinh lành tính có nghĩa là các rối loạn đang tăng sinh không thể gây ra di căn hoặc không tiến triển thành bệnh ung thư (khối u tiền ung thư).

Đối tượng khác của sáng chế là dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định trên đây và ít nhất một tá dược được dụng.

Hoạt chất có thể được dùng ở các dạng dùng đơn vị, trong hỗn hợp với chất mang được dụng thông thường, cho động vật hoặc người. Các dạng dùng đơn vị thích hợp bao gồm các dạng dùng qua đường miệng, dạng dùng dưới lưỡi hoặc qua má, dạng dùng ngoài đường tiêu hóa (dưới da, trong da, trong cơ hoặc trong tĩnh mạch), dạng dùng tại chỗ (dùng trên da và niêm mạc, bao gồm dùng trong mũi và trong mắt) và dạng dùng qua đường trực tràng.

Các dược phẩm như vậy có thể ở dạng rắn, lỏng, nhũ tương, thuốc xức hoặc kem.

Để làm dược phẩm dạng rắn, để dùng qua đường miệng, có thể sử dụng viên nén, viên tròn, bột (viên nang gelatin cứng hoặc mềm) hoặc cốm. Trong các dược phẩm này, hoạt chất theo sáng chế được trộn với một hoặc nhiều chất pha loãng trợ như tinh bột, xenluloza, sucroza, lactoza hoặc silic oxit, dưới dòng khí argon. Các dược phẩm này cũng có thể chứa các chất không phải là chất pha loãng, ví dụ, một hoặc nhiều chất làm trơn chảy như magie stearat hoặc talc, chất tạo màu, chất bao (viên nén bao) hoặc chất làm bóng.

Để làm dược phẩm dạng lỏng để dùng qua đường miệng, có thể sử dụng dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương, xirô và cồn ngọt, là các chế phẩm được dụng và chứa các chất pha loãng trợ như nước, etanol, glyxerol, dầu thực vật hoặc dầu parafin. Các dược phẩm này có thể chứa các chất không phải là chất pha loãng; ví dụ, chất thẩm ướt, làm ngọt, làm đặc, tạo hương hoặc làm ổn định.

Các dược phẩm vô trùng để dùng ngoài đường tiêu hóa tốt hơn có thể là dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương dạng nước hoặc không phải dạng nước. Để làm dung môi hoặc chất dẫn, có thể sử dụng nước, propylen glycol, polyetylen glycol, dầu thực vật, đặc biệt là dầu oliu, các este hữu cơ để tiêm, ví dụ, etyl oleat hoặc các dung môi hữu cơ thích hợp khác. Các dược phẩm này cũng có thể chứa các chất bổ trợ, đặc biệt là các chất thấm ướt, đẳng trương, nhũ hóa, phân tán và làm ổn định. Việc tiệt trùng có thể được thực hiện theo một số cách, ví dụ, bằng cách lọc tiệt trùng, bằng cách đưa chất tiệt trùng vào trong dược phẩm này, bằng cách chiếu xạ hoặc bằng cách gia nhiệt. Các dược phẩm này cũng có thể được bào chế ở dạng chế phẩm rắn vô trùng mà có thể được hòa tan trong nước vô trùng hoặc môi trường vô trùng để tiêm khác bất kỳ tại thời điểm sử dụng.

Các dược phẩm dùng qua đường trực tràng là thuốc đặt hoặc viên nang trực tràng chứa, ngoài hoạt chất, các tá dược như bơ cacao, glyxerit bán tổng hợp hoặc polyetylen glycol.

Các dược phẩm dùng tại chỗ có thể là, ví dụ, kem, thuốc xức, thuốc nhỏ mắt, nước rửa miệng, thuốc nhỏ mũi hoặc thuốc phun xịt.

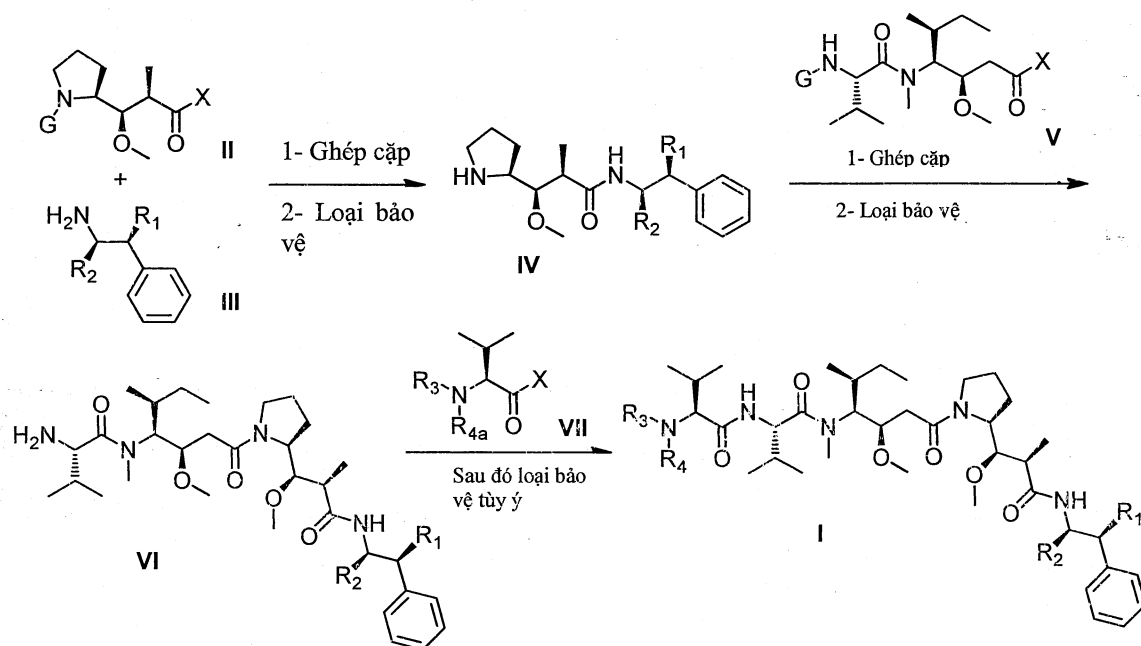
Liều phụ thuộc vào tác dụng mong muốn, vào thời gian điều trị và đường dùng. Nói chung, thầy thuốc sẽ xác định liều thích hợp tương ứng với tuổi, cân nặng và tất cả các yếu tố khác cụ thể đối với đối tượng cần điều trị.

Hoạt chất khác có thể được chứa trong dược phẩm theo sáng chế. Đặc biệt, hoạt chất này có thể là chất chống ung thư, và đặc biệt là chất chống ung thư gây độc tế bào như navelbine, vinflunine, taxol, taxotere, 5-flouraxil, methotrexate, doxorabycin, camptothecin, gemcitabin, etoposide, cis-platin hoặc carmustine (còn được gọi là BCNU); hoặc chất chống ung thư dạng hormon như tamoxifen hoặc medroxyprogesterone.

Việc điều trị bằng cách chiếu xạ (tia X hoặc tia gama) cũng có thể được kết hợp với việc dùng hợp chất theo sáng chế. Việc chiếu xạ như vậy có thể được kết hợp bằng cách sử dụng nguồn bên ngoài hoặc bằng cách cấy nguồn phóng xạ bên trong trong một thời gian ngắn.

Sáng chế còn đề xuất việc điều chế các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế bằng cách sử dụng các phương pháp chung được mô tả trong sơ đồ tổng hợp sau,

tùy ý được bổ sung thao tác chuẩn bất kỳ nếu cần mà đã được mô tả trong các tài liệu chuyên ngành hoặc đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, hoặc đã được mô tả trong các ví dụ trong phần thử nghiệm nó.



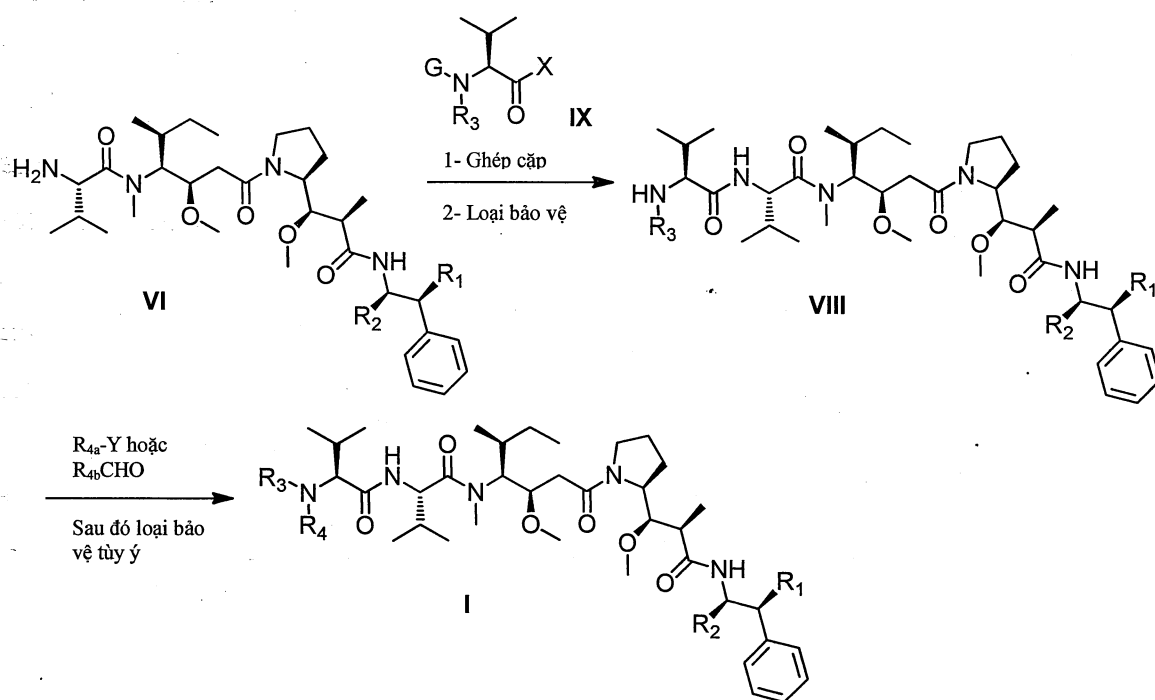
Sơ đồ 1

Sơ đồ 1 minh họa phương pháp chung thứ nhất có thể được sử dụng để điều chế các hợp chất có công thức (I). Trong các công thức chung nêu trên, R₁, R₂, và R₃ là như được xác định trên đây, R_{4a} là nhóm R₄ như được xác định trên đây tùy ý ở dạng được bảo vệ và G là nhóm bảo vệ.

Bước thứ nhất bao gồm việc ngưng tụ hợp chất (II), được bảo vệ trên chức amin của nó bằng nhóm bảo vệ G, với hợp chất (III). X có thể là nhóm rời chuyển như clo. Trong trường hợp này, bước thứ nhất bao gồm phản ứng giữa clorua axit và amin. Phản ứng này có thể được thực hiện bằng các phương pháp và kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên, hai chất này được cho phản ứng với sự có mặt của bazơ hữu cơ hoặc vô cơ, ví dụ, Et₃N, iPr₂NEt, pyridin, NaH, Cs₂CO₃, K₂CO₃ trong dung môi như THF, diclometan, DMF, DMSO, ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ -20°C đến 100°C. X cũng có thể là hydroxyl (OH). Trong trường hợp này, bước thứ nhất là phản ứng ngưng tụ giữa axit carboxylic (II) và amin (III). Phản ứng này có thể được thực hiện theo phương pháp và kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên, hai chất này được cho phản ứng với sự có mặt của chất ghép cặp như 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl-carbodiimide (EDC), 3-hydroxy-1,2,3-benzotriazin-

4(3H)-on, amin bậc ba như diisopropyletylamin, trong dung môi không proton phân cực như diclometan hoặc DMF, ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ -15°C đến 40°C . Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên khác, hai chất này được cho phản ứng với sự có mặt của diethyl phosphoroxyanidat (DEPC), amin bậc ba như trietylamin, trong dung môi không proton phân cực như diclometan hoặc DMF, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15°C đến 40°C . Một phương pháp được đặc biệt ưu tiên khác bao gồm việc cho hai chất này phản ứng với sự có mặt của O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyl-uronihexaflophosphat (HATU), amin bậc ba như diisopropyletylamin, trong dung môi không proton phân cực như diclometan hoặc DMF, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15°C đến 100°C .

Sau khi loại bỏ vệ hợp chất trung gian bằng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này ("Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene, John Wiley & Sons, 2006 và "Protecting Groups", P.J. Kocienski, Thieme Verlag, 1994), hợp chất (IV) có thể được ngưng tụ với hợp chất (V) theo phương pháp và kỹ thuật đã được mô tả trên đây để tạo ra hợp chất (VI) sau bước loại bỏ vệ. Sau đó, hợp chất này có thể, sau khi ngưng tụ với hợp chất trung gian (VII) và loại bỏ vệ tùy ý, tạo ra hợp chất có công thức (I). Hợp chất (VI) cũng có thể được ghép cặp với hợp chất (VII') trong đó R'_3 là tiền chất của R_3 , đặc biệt là nhóm R_3 được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ. Việc ghép cặp tiếp theo loại bỏ vệ nhóm R'_3 để tạo ra R_3 có thể được thực hiện theo các quy trình giống như được mô tả trên đây.



Sơ đồ 2

Sơ đồ 2 minh họa phương pháp chung thứ hai có thể được sử dụng để điều chế các hợp chất có công thức (I). Trong các công thức chung nêu trên, R_1 , R_2 , và R_3 là như được xác định trên đây, R_{4a} là nhóm R_4 như được xác định trên đây tùy ý ở dạng được bảo vệ, R_{4b} là tiền chất của nhóm R_4 và G là nhóm bảo vệ.

Ở bước thứ nhất, hợp chất (IX) được bảo vệ trên chức amin của nó bằng nhóm bảo vệ G được ngưng tụ với hợp chất (VI). X có thể là nhóm rời chuyển, ví dụ, clo. Trong trường hợp này, bước thứ nhất gồm phản ứng giữa clorua axit và amin. Phản ứng này có thể được thực hiện bằng các phương pháp và kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên, hai chất này được cho phản ứng với sự có mặt của bazơ hữu cơ hoặc vô cơ như Et_3N , iPr_2NEt , pyridin, NaH , Cs_2CO_3 , K_2CO_3 trong dung môi như THF, diclometan, DMF, DMSO, ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ $-20^\circ C$ đến $100^\circ C$. X cũng có thể là hydroxyl. Trong trường hợp này, bước thứ nhất là phản ứng ngưng tụ giữa axit carboxylic (IX) và amin (VI). Phản ứng này có thể được thực hiện theo phương pháp và kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên, hai chất này được cho phản ứng với sự có mặt của 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC), 3-hydroxy-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on, amin bậc ba như diisopropyletylamin, trong dung môi không proton phân cực như diclometan hoặc DMF, ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ $-15^\circ C$ đến $40^\circ C$. Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên khác, hai chất này được cho phản ứng với sự có mặt của diethyl phosphoroxyanidat (DEPC), amin bậc ba như trietylamin, trong dung môi không proton phân cực như diclometan hoặc DMF, ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ $-15^\circ C$ đến $40^\circ C$.

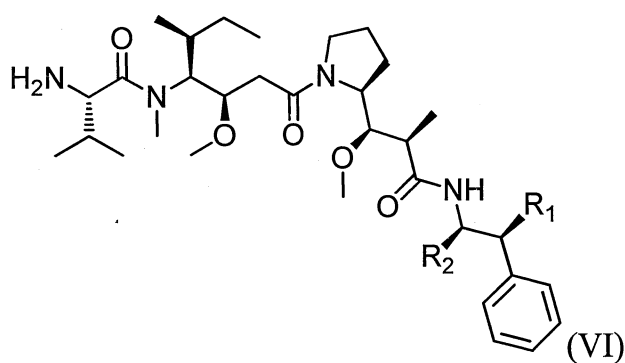
Sau khi loại bỏ bảo vệ hợp chất trung gian, bằng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, hợp chất (VIII) thu được có thể được chuyển hóa thành hợp chất có công thức (I) sau phản ứng với R_4Y . Trong trường hợp này, Y là nhóm rời chuyển như Cl, Br, I, OSO_2CH_3 , OSO_2CF_3 hoặc O-Tosyl. Phản ứng này được thực hiện với sự có mặt của bazơ hữu cơ hoặc vô cơ như Et_3N , iPr_2NEt , NaH , Cs_2CO_3 , K_2CO_3 , trong dung môi khan phân cực như diclometan, THF, DMF, DMSO ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ $-20^\circ C$

đến 100°C. Trong một phương pháp được đặc biệt ưu tiên khác, hợp chất (VIII) được cho phản ứng với aldehyt có công thức $R_{4b}-CHO$ trong đó R_{4b} là tiền chất của R_4 . Trong trường hợp này, phản ứng này là phản ứng amin hóa khử với sự có mặt của chất khử như $NaBH_4$, $NaBH_3CN$, $NaBH(OAc)_3$, trong dung môi phân cực như 1,2-dicloetan, diclometan, THF, DMF, MeOH, với sự có mặt tùy ý của titan isopropoxit (IV), ở độ pH có thể được điều chỉnh bằng cách bổ sung axit như axit axetic ở nhiệt độ đặc biệt là nằm trong khoảng từ -20°C đến 100°C.

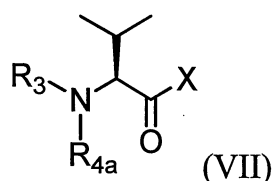
Trong sơ đồ tổng hợp nêu trên, hợp chất có công thức (I) có thể được chuyển hóa thành một hợp chất có công thức (I) khác sau bước phản ứng bổ sung như sự xà phòng hóa, ví dụ, bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, nhờ đó nhóm R_2 là este, tốt hơn là metyl este, được thay đổi thành nhóm R_2 là axit carboxylic.

Nếu mong muốn tách hợp chất có công thức (I) chứa ít nhất một chức bazơ ở trạng thái muối cộng axit, có thể thực hiện được bằng cách xử lý bazơ tự do của hợp chất có công thức (I) (chứa ít nhất một chức bazơ) bằng axit thích hợp, tốt hơn là với lượng tương đương. Đặc biệt nếu axit thích hợp có thể là axit trifloaxetic.

Do đó, đối tượng khác của sáng chế là phương pháp thứ nhất để điều chế hợp chất có công thức (I), bao gồm phản ứng ngưng tụ giữa hợp chất của công thức (VI) sau:



trong đó R_1 và R_2 là như được xác định trên đây, và hợp chất có công thức (VII) sau:



trong đó R_3 là như được xác định trên đây, R_{4a} tương ứng với nhóm R_4 như được xác định trên đây tùy ý ở dạng được bảo vệ, và X là OH hoặc Cl.

Khi $X = OH$, thì phản ứng ghép cặp có thể được thực hiện dưới điều kiện ghép cặp peptit đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Việc ghép cặp peptit này có thể được thực hiện với sự có mặt của chất ghép cặp như diisopropylcarbodiimide (DIC), dicyclohexylcarbodiimide (DCC), 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochlorua (EDC), carbonyldiimidazole (CDI), 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HBTU), 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium tetrafluoroborate (TBTU), O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HATU), diethyl phosphoroxyanidate (DEPC) hoặc (benzotriazol-1-yloxy) tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (PyBOP), tùy ý được kết hợp với chất trợ ghép cặp như N-hydroxy succinimide (NHS), N-hydroxy benzotriazole (HOBT), 3,4-dihydro-3-hydroxy-4-oxo-1,2,3-benzotriazole (HOObt), 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HAT), N-hydroxysulfosuccinimide (sulfo NHS) hoặc dimethyl aminopyridine (DMAP). Tốt hơn, nếu chất ghép cặp là HATU hoặc DEPC.

Phản ứng này cũng có thể được thực hiện với sự có mặt của bazơ như DIEA (diisopropylethylamine).

Đặc biệt là, việc ghép cặp peptit được thực hiện với sự có mặt của HATU hoặc DEPC và DIEA.

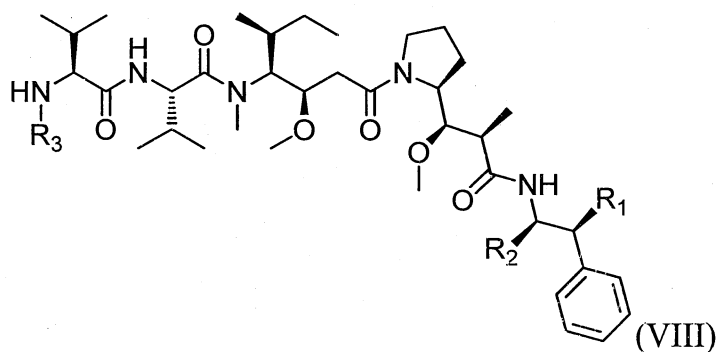
Phản ứng này có thể được thực hiện trong dung môi không proton phân cực như diclometan (DCM) hoặc dimethylformamide (DMF), đặc biệt là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15°C đến 40°C .

Khi $X = Cl$, thì phản ứng ngưng tụ sẽ được thực hiện với sự có mặt của bazơ, mà có thể là bazơ hữu cơ hoặc vô cơ, như Et_3N , $i\text{Pr}_2\text{NEt}$, pyridine, NaH , Cs_2CO_3 , hoặc K_2CO_3 .

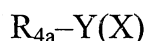
Phản ứng này có thể được thực hiện trong dung môi như tetrahydrofuran (THF), diclometan (DCM), dimethylformamide (DMF), hoặc dimethylsulfoxide (DMSO), đặc biệt là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến 100°C .

Các hợp chất có công thức (VI) và (VII) có thể được điều chế theo quy trình tổng hợp được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây hoặc theo các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Đối tượng khác của sáng chế là phương pháp thứ hai để điều chế hợp chất có công thức (I), bao gồm phản ứng thay thế giữa hợp chất của công thức (VIII) sau:



trong đó R_1 , R_2 và R_3 là như được xác định trên đây, và hợp chất có công thức (X) sau:



trong đó R_{4a} là nhóm R_4 như được xác định trên đây tùy ý ở dạng được bảo vệ, và Y là nhóm rời chuyển như Cl, Br, I, OSO_2CH_3 , OSO_2CF_3 hoặc O-Tosyl.

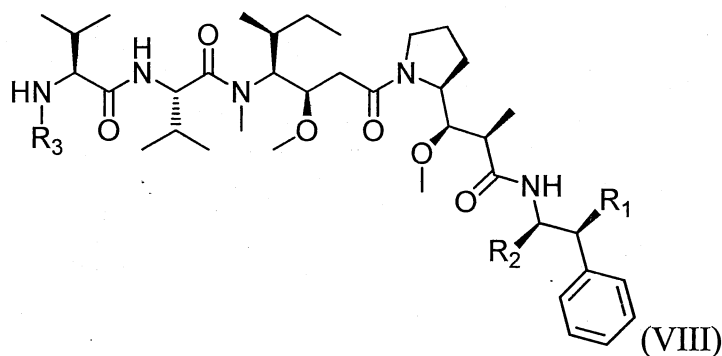
Đặc biệt, phản ứng thay thế sẽ được thực hiện với sự có mặt của bazơ, mà có thể là bazơ hữu cơ hoặc vô cơ như Et_3N , iPr_2NEt , NaH , Cs_2CO_3 , hoặc K_2CO_3 .

Phản ứng này có thể được thực hiện trong dung môi phân cực, tốt hơn là khan, như DCM, THF, DMF hoặc DMSO, đặc biệt là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ $-20^\circ C$ đến $100^\circ C$.

Các hợp chất có công thức (VIII) và (X) có thể được điều chế theo quy trình tổng hợp được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây hoặc bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Đối tượng khác của sáng chế là phương pháp thứ ba để điều chế hợp chất có công thức (I) trong đó R_0 là nhóm $-CH_2R_{4b}$ với R_{4b} là nhóm phenyl hoặc phenyl- $(C_1)alkyl$ được thế bởi một nhóm (tốt hơn là gốc phenyl) được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} ,

bao gồm phản ứng amin hóa khử giữa hợp chất có công thức (VIII) sau:



trong đó R₁, R₂ và R₃ là như được xác định trên đây, và hợp chất có công thức (XI) sau:



trong đó R_{4b} là như được xác định trên đây.

Phản ứng amin hóa khử có thể được thực hiện với sự có mặt của chất khử như NaBH₄, NaBH₃CN hoặc NaBH(OAc)₃ và tùy ý titan isopropoxit (IV).

Độ pH có thể được điều chỉnh bằng cách bổ sung axit như axit axetic, đặc biệt là đến độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 5.

Phản ứng này có thể được thực hiện trong dung môi phân cực như DCE (1,2-dicloetan), DCM, THF, DMF hoặc metanol, đặc biệt là ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến 100°C.

Các hợp chất có công thức (VIII) và (XI) có thể được điều chế theo quy trình tổng hợp được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây hoặc bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hợp chất thu được sau bước ngưng tụ/thay thế/amin hóa khử của một trong số ba phương pháp nêu trên có thể được đưa vào bước loại bỏ bổ sung, đặc biệt là đối với các phần tử thế R₂ và R₄ và tùy ý bước chức hóa bổ sung bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Khi R₂ là nhóm COOH, thì bước ngưng tụ/thay thế/amin hóa khử nêu trên có thể được thực hiện từ hợp chất có công thức (VI) với nhóm R₂ là chức este COO-((C₁-C₆)alkyl), sau đó, chức este này có thể được xà phòng hóa để thu được hợp chất có công thức (I) với R₂ = COOH.

Khi nhóm R_4 chứa chức NH, thì nhóm này có thể được bảo vệ trước khi thực hiện phản ứng ngưng tụ/thay thế/amin hóa khử bằng cách thay thế nguyên tử nitơ bằng nhóm bảo vệ ở vị trí N như nhóm Boc hoặc Fmoc.

"Nhóm bảo vệ" trong bản mô tả này có nghĩa là nhóm cản trở chọn lọc vị trí phản ứng trong hợp chất nhiều chức sao cho phản ứng hoá học có thể được thực hiện chọn lọc ở một vị trí phản ứng khác không được bảo vệ với nghĩa thông thường của nó trong tổng hợp hóa học.

"Nhóm bảo vệ ở vị trí N" trong bản mô tả này có nghĩa là phần tử thế bất kỳ bảo vệ nhóm NH khỏi các phản ứng không mong muốn như các nhóm bảo vệ ở vị trí N được mô tả trong Greene, "Protective Groups In Organic synthesis", (John Wiley & Sons, New York (1981)) and Harrison *et al.* "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vols. 1 to 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996). Các nhóm bảo vệ ở vị trí N bao gồm carbamat, amit, dẫn xuất được alkyl hóa ở vị trí N, dẫn xuất amino axetal, dẫn xuất N-benzyl, dẫn xuất imin, dẫn xuất enammin và dẫn xuất có nguyên tử khác loại ở vị trí N. Các nhóm bảo vệ ở vị trí N có thể là formyl; aryl, như phenyl, tùy ý được thế bởi một hoặc một số nhóm metoxy như *p*-metoxyphenyl (PMP); aryl-(C_1 - C_6)alkyl, như benzyl, gốc aryl tùy ý được thế bởi một hoặc một số nhóm metoxy, như benzyl (Bn), *p*-metoxybenzyl (PMB) hoặc 3,4-dimethoxybenzyl (DMPM); -CO- R_{GP1} như axetyl (Ac), pivaloyl (Piv hoặc Pv), benzoyl (Bz) hoặc *p*-metoxybenzylcarbonyl (Moz); -CO₂- R_{GP1} như *t*butyloxycarbonyl (Boc), tricloetoxycarbonyl (TROC), alyloxycarbonyl (Alloc), benzyloxycarbonyl (Cbz hoặc Z) hoặc 9-florenylmetyloxycarbonyl (Fmoc); -SO₂- R_{GP1} như phenylsulfonyl, tosyl (Ts hoặc Tos) hoặc 2-nitrobenzensulfonyl (còn được gọi là nosyl - Nos hoặc Ns); và các nhóm tương tự, với R_{GP1} là (C_1 - C_6)alkyl tùy ý được thế bởi một hoặc một số nguyên tử halogen như F hoặc Cl; (C_2 - C_6)alkenyl như alyl; aryl, như phenyl, tùy ý được thế bởi một hoặc một số nhóm được chọn trong số các nhóm OMe (metoxy) và NO₂ (nitro); aryl-(C_1 - C_6)alkyl, như benzyl, gốc aryl tùy ý được thế bởi một hoặc một số nhóm metoxy; hoặc nhóm 9-florenylmetyl.

Đặc biệt là, nhóm bảo vệ ở vị trí N bao gồm formyl, axetyl, benzoyl, pivaloyl, phenylsulfonyl, benzyl (Bn), *t*-butyloxycarbonyl (Boc), benzyloxycarbonyl (Cbz), *p*-metoxybenzyloxycarbonyl, *p*-nitrobenzyl-oxycarbonyl, tricloetoxycarbonyl (TROC), alyloxycarbonyl (Alloc), 9-florenylmetyloxycarbonyl (Fmoc),

triflo-axetyl, benzyl carbamat (được thể hoặc không) và các nhóm tương tự. Đặc biệt là nhóm bảo vệ ở vị trí N có thể là nhóm Boc hoặc Fmoc.

Việc bảo vệ chức amin NH bằng nhóm Boc hoặc Fmoc và việc loại bảo vệ sau đó của nó, sau phản ứng ngưng tụ/thay thế/amin hóa khử, là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả cụ thể trong phần thử nghiệm dưới đây.

Hợp chất có công thức (I) thu được theo một trong số ba phương pháp nêu trên cũng có thể được tạo muối bằng cách bổ sung bazơ hoặc axit được dụng, đặc biệt là axit được dụng như axit trifloaxetic. Bước này tùy ý có thể được thực hiện đồng thời với một bước phản ứng khác, đặc biệt là đồng thời với bước loại bảo vệ khi bước loại bảo vệ này cần phải được thực hiện trong môi trường axit chẳng hạn.

Hợp chất thu được theo một trong số ba phương pháp này, tùy ý sau (các) bước bổ sung để loại bảo vệ, chức hóa và/hoặc tạo muối, có thể được tách khỏi môi trường phản ứng bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như bằng cách chiết, làm bay hơi dung môi hoặc bằng cách kết tủa và lọc.

Hợp chất này cũng có thể được tinh chế nếu cần bằng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách tái kết tinh nếu hợp chất này là tinh thể, bằng cách cất, bằng cách sắc ký cột silicagel hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography - HPLC).

Các ví dụ sau minh họa sáng chế mà không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

I - Tổng hợp các hợp chất theo sáng chế

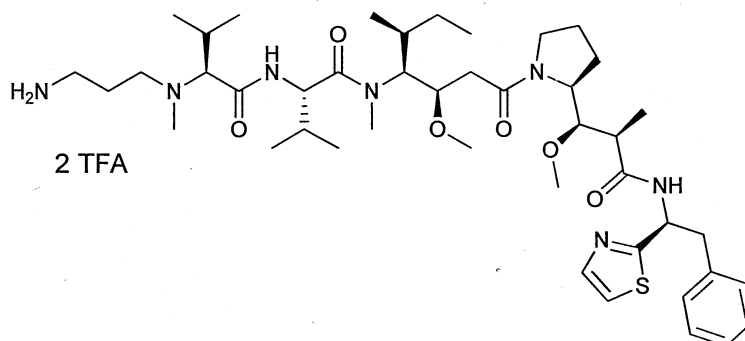
Các từ viết tắt sau được sử dụng trong các ví dụ dưới đây:

aq.	dạng nước
ee	lượng dư chất đồng phân đối ảnh
equiv	đương lượng
ESI	Ion hóa bằng phun điện tử
LC/MS	Sắc ký lỏng ghép khối phổ
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao

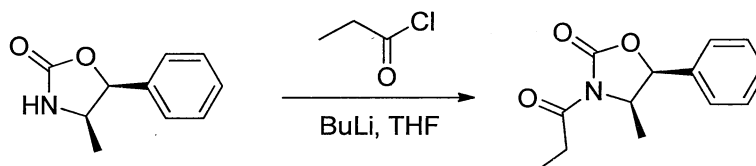
NMR Cộng hưởng từ hạt nhân
 sat. bão hòa
 UV cực tím

Ví dụ tham khảo 1

(S)-2-((S)-2-((3-aminopropyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)etyl)amino)propyl)pyrrolidin-1-yl)-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit, axit bis trifloaxetic

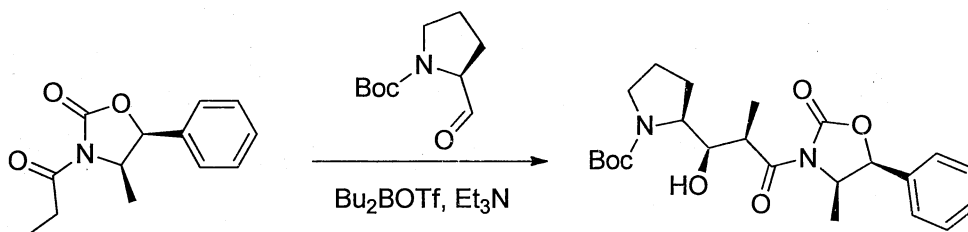


Ví dụ 1A: (4R, 5S)-4-metyl-5-phenyl-3-propanoyl-1,3-oxazolidin-2-on



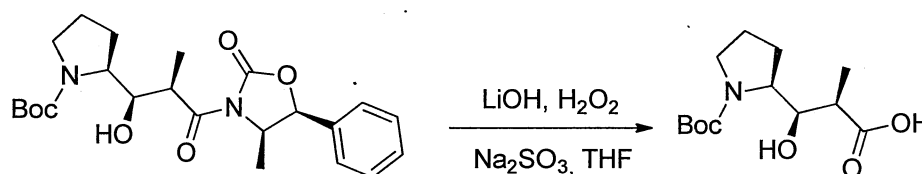
(4R, 5S)-4-metyl-5-phenyl-1,3-oxazolidin-2-on (5,8 g, 32,7 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong tetrahydrofuran (THF, 120 ml) trong môi trường khí trơ. Làm lạnh hỗn hợp này xuống nhiệt độ -78°C và bổ sung từng giọt *n*-butyllithi (14,4 ml) vào. Sau khi khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ -78°C , bổ sung propanoyl clorua (5,7 ml) vào. Tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ -78°C sau đó qua đêm ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được cô rồi hòa tan lại trong 200 ml nước. Độ pH của dung dịch được điều chỉnh đến 7 bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa. Pha nước này được chiết 3 lần bằng 100 ml etyl axetat (EtOAc). Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 6,8 g (89%) hợp chất 1A ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1B: *tert*-butyl (2S)-2-[(1R,2R)-1-hydroxy-2-metyl-3-[(4R,5S)-4-metyl-2-oxo-5-phenyl-1,3-oxazolidin-3-yl]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat



Hợp chất **1A** (17,6 g, 75,45 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong diclometan (DCM, 286 ml) trong môi trường khí trơ. Dung dịch này được làm lạnh bằng bể nước đá. Triethylamin (TEA, 12,1 ml, 1,15 đương lượng) và Bu₂BOTf (78,3 ml, 1,04 đương lượng) được bổ sung từng giọt vào trong khi giữ nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng dưới 2°C. Tiếp tục khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 45 phút, sau đó, làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ -78°C. Bổ sung từng giọt dung dịch chứa *tert*-butyl (2S)-2-formylpyrrolidin-1-carboxylat (8,5 g, 42,66 mmol, 0,57 đương lượng) trong DCM (42 ml) vào. Tiếp tục khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ -78°C, sau đó trong 1 giờ ở nhiệt độ 0°C và cuối cùng là trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng 72 ml dung dịch đệm phosphat (độ pH = 7,2 - 7,4) và 214 ml metanol, và được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C. Dung dịch chứa 30% hydro peroxit trong metanol (257 ml) được bổ sung từng giọt vào đồng thời duy trì nhiệt độ dưới 10°C. Tiếp tục khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng 142 ml nước, sau đó cô dưới áp suất giảm. Dung dịch nước thu được được chiết 3 lần bằng 200 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và ete dầu mỏ (EtOAc:PE = 1:8) để thu được 13,16 g (40%) hợp chất **1B** ở dạng dầu không màu.

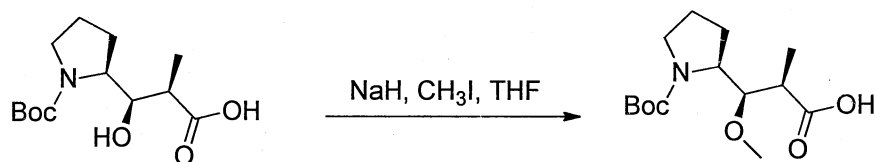
Ví dụ 1C: Axit (2R,3R)-3-[(2S)-1-[(*tert*-butoxy)carbonyl]pyrrolidin-2-yl]-3-hydroxy-2-metylpropanoic



Hợp chất **1B** (13,16 g, 30,43 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong THF (460 ml) với sự có mặt của hydro peroxit (30% trong nước, 15,7 ml), sau đó

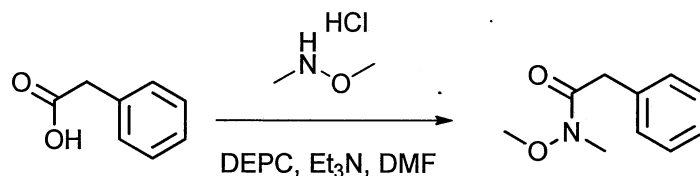
được làm lạnh bằng bể nước đá. Dung dịch nước lithi hydroxit (0,4 mol/l, 152,1 ml) được bổ sung từng giọt vào trong khi giữ nhiệt độ phản ứng dưới 4°C. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2,5 giờ ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch nước chứa Na₂SO₃ (1 mol/l, 167,3 ml) được bổ sung từng giọt vào trong khi giữ nhiệt độ ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 14 giờ ở nhiệt độ môi trường, sau đó trung hòa bằng 150 ml dung dịch bão hòa natri bicacbonat lạnh và rửa 3 lần bằng 50 ml DCM. Độ pH của dung dịch nước được điều chỉnh đến 2–3 bằng dung dịch nước KHSO₄ 1M. Dung dịch nước này được chiết 3 lần bằng 100 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng dung dịch NaCl bão hòa, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 7,31 g (88%) hợp chất **1C** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 1D: Axit (2R,3R)-3-[(2S)-1-[(*tert*-butoxy)carbonyl]pyrrolidin-2-yl]-3-metoxi-2-metylpropanoic



Hợp chất **1C** (7,31 g, 26,74 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong THF (135 ml) với sự có mặt của iodometan (25,3 ml). Môi trường phản ứng được làm lạnh bằng bể nước đá sau đó, NaH (60% trong dầu, 4,28 g) được bổ sung từng phần vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 3 ngày ở nhiệt độ 0°C và sau đó, trung hòa bằng 100 ml dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và rửa 3 lần bằng 50 ml ete. Độ pH của dung dịch nước được điều chỉnh đến 3 bằng dung dịch nước KHSO₄ 1M. Dung dịch nước này được chiết 3 lần bằng 100 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 100 ml Na₂S₂O₃ (5% trong nước), một lần bằng dung dịch NaCl bão hòa, sau đó làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 5,5 g (72%) hợp chất **1D** ở dạng dầu không màu.

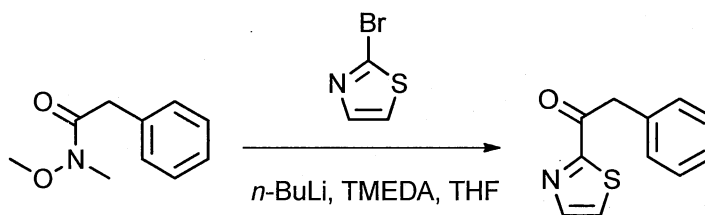
Ví dụ 1E: *N*-metoxy-*N*-metyl-2-phenylaxetamit



Axit 2-phenylaxetic (16,2 g, 118,99 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong dimetylformamit (DMF, 130 ml) sau đó, làm lạnh xuống nhiệt độ -10°C. Diethyl phosphoroxyanidat (DEPC, 19,2 ml), metoxy(metyl)amin hydroclorua (12,92

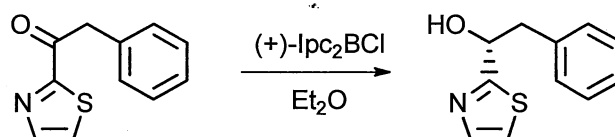
g, 133,20 mmol, 1,12 đương lượng) và triethylamin (33,6 ml) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ -10°C sau đó trong 2,5 giờ ở nhiệt độ môi trường. Sau đó, chiết hỗn hợp này hai lần bằng 1 lit EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng 500 ml NaHCO_3 (sat.), một lần bằng 400 ml nước, sau đó làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:100 đến 1:3) để thu được 20,2 g (95%) hợp chất **1E** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1F: 2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etan-1-on



Tetrametyletylendiamin (TMEDA, 27,2 ml) được hòa tan trong THF 300 ml) trong môi trường khí trơ, sau đó, làm lạnh xuống nhiệt độ -78°C trước khi bổ sung từng giọt $n\text{-BuLi}$ (67,6 ml, 2,5 M) vào. Bổ sung từng giọt 2-bromo-1,3-thiazol (15,2 ml) vào và tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ -78°C . Hợp chất **1E** (25 g, 139,50 mmol, 1,00 đương lượng) hòa tan trong THF (100 ml) được bổ sung từng giọt vào. Tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ -78°C sau đó trong 2 giờ ở nhiệt độ -10°C . Hỗn hợp phản ứng này được trung hòa bằng 500 ml KHSO_4 (sat.), sau đó chiết 3 lần bằng 1 lit EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng 400 ml nước và hai lần bằng 700 ml NaCl (sat.), sau đó làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:100 đến 1:10) để thu được 25 g (88%) hợp chất **1F** ở dạng dầu màu vàng.

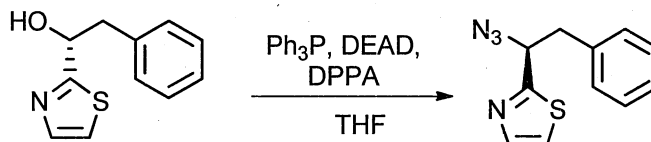
Ví dụ 1G: (1R)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etan-1-ol



Trong môi trường khí trơ, dung dịch chứa hợp chất **1F** (15 g, 73,8 mmol, 1,00 equiv.) trong ete (300 ml) được bổ sung từng giọt vào (+)-B-clo diisopinocampheylboran ((+)-Ipc₂BCl, 110,8 ml). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ 0°C , sau đó, trung hòa bằng 300 ml hỗn hợp gồm

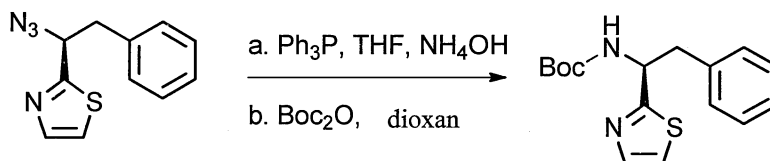
NaOH (10% trong nước) và H_2O_2 (30% trong nước) theo tỷ lệ (1:1), và cuối cùng chiết ba lần bằng 500 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng 300 ml K_2CO_3 (sat.) và một lần bằng 500 ml NaCl (sat.), sau đó làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:20 đến 1:2) để thu được 6,3 g (42%) hợp chất **1G** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 1H: 2-[(1S)-1-azido-2-phenylethyl]-1,3-thiazol



Hợp chất **1G** (6 g, 29,23 mmol, 1,00 equiv.) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong THF (150 ml) với sự có mặt của triphenylphosphin (13 g, 49,56 mmol, 1,70 equiv.), sau đó, làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C . Bỏ sung từng giọt diethylazodicarboxylat (DEAD, 7,6 ml), tiếp theo là diphenylphosphorylazide (DPPA, 11 ml) vào, sau đó, bỏ bể làm lạnh ra và dung dịch này được khuấy trong 48 giờ ở nhiệt độ môi trường. Môi trường này được cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:100 đến 1:30) để thu được 8 g hợp chất **1H** được tinh chế một phần ở dạng dầu màu vàng. Hợp chất **1H** được sử dụng như vậy trong bước tiếp theo.

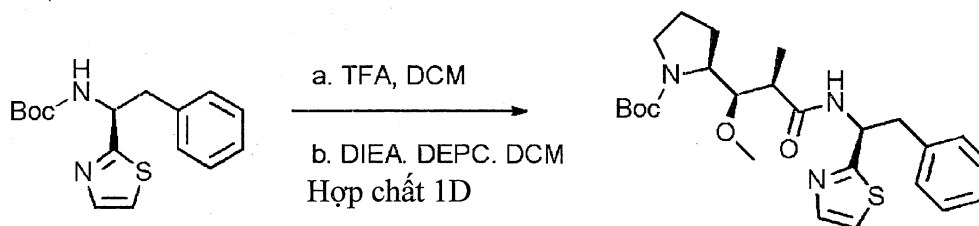
Ví dụ 1I: *tert*-butyl *N*-[(1S)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)ethyl] carbamat.



Hợp chất **1H** (6,5 g, 28,2 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong THF (100 ml) với sự có mặt của triphenylphosphin (6,5 g, 33,9 mmol, 1,20 equiv.), và được gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong 2 giờ. Sau đó, bổ sung amoniac (70 ml) vào và tiếp tục gia nhiệt trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được làm nguội, trung hòa bằng 500 ml nước, sau đó, chiết 3 lần bằng 500 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại và chiết hai lần bằng 500 ml HCl 1N. Pha nước được gộp lại, được đưa đến độ pH bằng 8–9 bằng cách bổ sung dung dịch natri hydroxit (10% trong nước) vào, sau đó, chiết 3 lần bằng 500 ml DCM. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 4,8 g (83%) (1S)-2-phenyl-1-

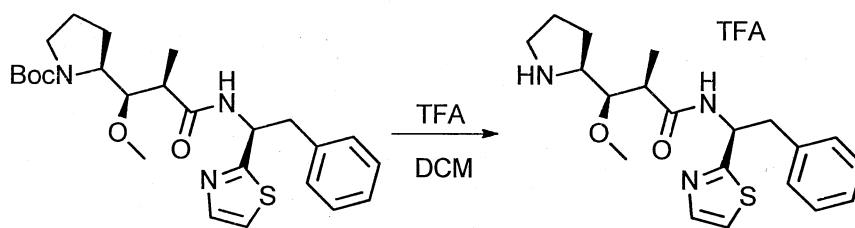
(1,3-thiazol-2-yl)etan-1-amin ở dạng dầu màu vàng. Sau đó, hợp chất này được bảo vệ bằng nhóm Boc ((*tert*-butoxy)carbonyl) nhờ đó nó có thể được tinh chế. Hợp chất này được hòa tan trong môi trường khí trơ trong 1,4-dioxan (40 ml), sau đó làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C. (Boc)₂O (10,26 g, 47,01 mmol, 2,00 đương lượng) đã pha loãng trong 20 ml 1,4-dioxan được bổ sung từng giọt vào. Bỏ bể làm lạnh ra và dung dịch được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường trước khi được trung hòa bằng 300 ml nước và được chiết hai lần bằng 500 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:100 đến 1:20, ee = 93%). Sau đó, nó được kết tinh lại trong hỗn hợp hexan/axeton (~ 5–10 / 1, 1 g / 10 ml) để thu được 6 g (84%) hợp chất **1I** ở dạng chất rắn màu trắng (ee > 99%).

Ví dụ 1J: *tert*-butyl (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-2-[[*(1S)*-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etyl]carbamoyl]etyl]pyrrolidin-1-carboxylat



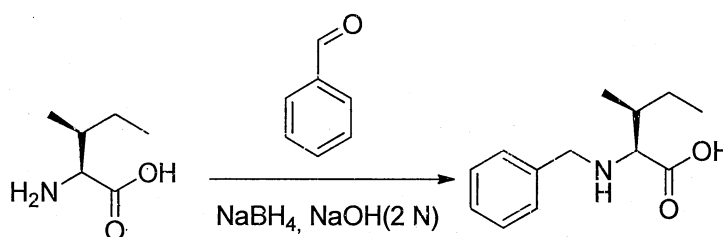
Hợp chất **1I** (3 g, 9,86 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong 10 ml DCM. Axit trifloaxetic (TFA, 10 ml) được bổ sung vào và dung dịch này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm để thu được 2,0 g (64%) axit (*1S*)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etan-1-amin; trifloaxetic ở dạng dầu màu vàng. Hợp chất trung gian này được hoà tan lại trong 20 ml DCM sau đó, hợp chất **1D** (1,8 g, 6,26 mmol, 1,05 đương lượng), DEPC (1,1 g, 6,75 mmol, 1,13 đương lượng) và diisopropyletylamin (DIEA, 1,64 g, 12,71 mmol, 2,13 đương lượng) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:100 đến 1:3) để thu được 2,3 g (81%) hợp chất **1J** ở dạng chất rắn màu vàng xám.

Ví dụ 1 K: (2R,3R)-3-metoxi-2-metyl-*N*-[(*1S*)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etyl]-3-[(2S)-pyrrolidin-2-yl]propanamit; axit trifloaxetic



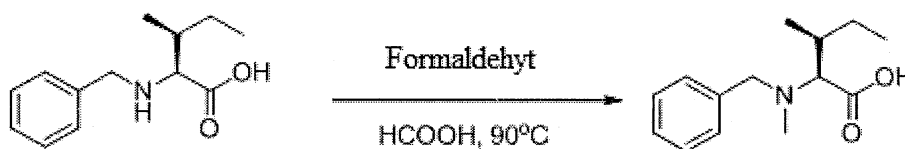
Hợp chất **1J** (2.25 g, 4,75 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong 10 ml DCM. TFA (10 ml) được bổ sung vào và dung dịch này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm để thu được 2,18 g (94%) hợp chất **1K** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1L: Axit (2S,3S)-2-(benzylamino)-3-metylpentanoic



Axit (2S,3S)-2-amino-3-metylpentanoic (98,4 g, 750 mmol, 1,00 đương lượng) được bổ sung ở nhiệt độ môi trường và theo từng phần vào dung dịch natri hydroxit 2N (375 ml). Benzaldehyt (79,7 g, 751,02 mmol, 1,00 đương lượng) được bổ sung nhanh vào và dung dịch thu được được khuấy trong 30 phút. Natri borohydrua (10,9 g, 288,17 mmol, 0,38 đương lượng) được bổ sung vào theo các phần nhỏ, đồng thời giữ nhiệt độ nằm trong khoảng từ 5 đến 15°C. Tiếp tục khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng 200 ml nước, sau đó, rửa hai lần bằng 200 ml EtOAc. Độ pH của dung dịch nước được điều chỉnh đến 7 bằng dung dịch axit clohydric 2N. Kết tủa tạo ra được gom lại bằng cách lọc và thu được 149,2 g (90%) hợp chất **1L** ở dạng chất rắn màu trắng.

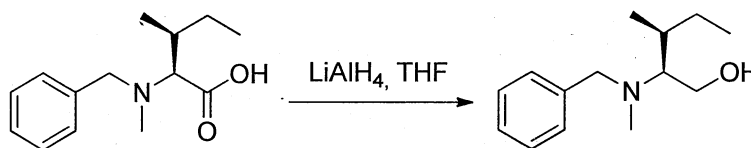
Ví dụ 1M: Axit (2S,3S)-2-[benzyl(metyl)amino]-3-metylpentanoic



Hợp chất **1L** (25 g, 112,97 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong axit formic (31,2 g) với sự có mặt của formaldehyt (36,5% trong nước, 22,3 g). Dung dịch này được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ 90°C sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được nghiền trong 250 ml axeton, sau đó, cô. Quá trình

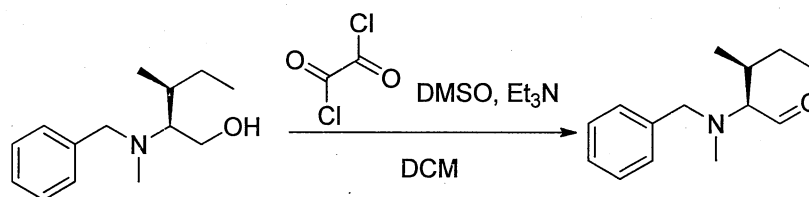
nghiên/làm bay hơi này được lặp lại hai lần bằng 500 ml axeton để thu được 21,6 g (81%) hợp chất **1M** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 1N: (2S,3S)-2-[benzyl(metyl)amino]-3-metylpentan-1-ol



LiAlH₄ (0,36 g) được tạo hỗn dịch trong 10 ml THF trong môi trường khí trơ ở nhiệt độ 0°C. Hợp chất **1M** (1,5 g, 6,37 mmol, 1,00 đương lượng) được bổ sung vào theo các phần nhỏ trong khi giữ nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 10°C. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 65°C, sau đó, làm lạnh lần nữa xuống nhiệt độ 0°C trước khi trung hòa bằng cách bổ sung liên tiếp 360 μ l nước, 1 ml dung dịch natri hydroxit 15% và 360 μ l nước. Muối nhôm kết tủa được loại bỏ bằng cách lọc. Phần dịch lọc được làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:50) để thu được 820 mg (58%) hợp chất **1N** ở dạng dầu màu vàng xám.

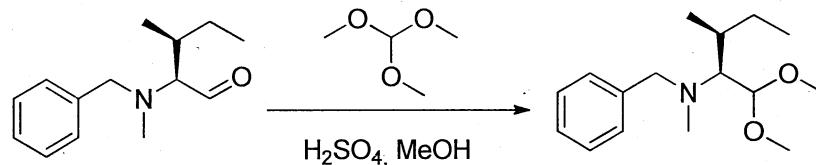
Ví dụ 1O: (2S,3S)-2-[benzyl(metyl)amino]-3-metylpentanal



Oxalyl clorua (0,4 ml) được hòa tan trong DCM (15 ml) trong môi trường khí trơ. Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ -70°C và dung dịch chứa dimetylsulfoxit (DMSO (0,5 ml) trong DCM (10 ml) được bổ sung từng giọt vào trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 30 phút sau đó, bổ sung từng giọt dung dịch chứa hợp chất **1N** (820 mg, 3,70 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (10 ml) vào trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 30 phút nữa nhiệt độ thấp, sau đó, bổ sung từ từ trietylamin (2,5 ml) vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ -50°C, sau đó, bỏ bể làm lạnh ra và trung hòa hỗn hợp phản ứng này bằng 25 ml nước trong khi để nhiệt độ trở về nhiệt độ bình thường. Dung dịch này được rửa một lần bằng 30 ml dung dịch nước NaCl bão hòa, sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit

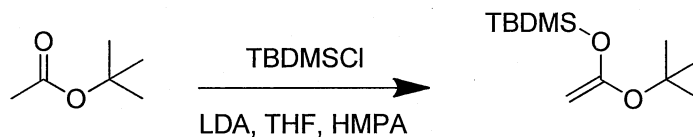
bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:200) để thu được 0,42 g (52%) hợp chất **1O** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1P: (2S,3S)-*N*-benzyl-1,1-dimethoxy-*N*,3-dimethylpentan-2-amin



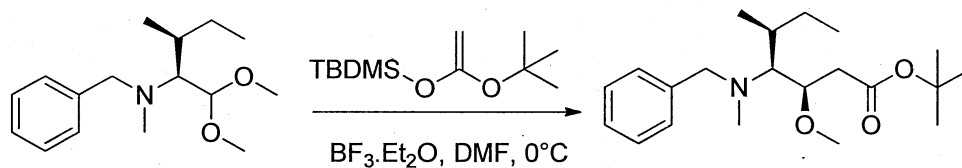
Hợp chất **1O** (4,7 g, 21,43 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 20 ml metanol ở nhiệt độ 0°C. Axit sulfuric đặc (4,3 ml) được bổ sung từng giọt vào và tiếp tục khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ 0°C. Trimethyl orthoformat (21,4 ml) được bổ sung vào, bể làm lạnh được bỏ ra và môi trường phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ môi trường. Môi trường phản ứng này được pha loãng bằng 200 ml EtOAc, rửa liên tiếp bằng 100 ml Na₂CO₃ 10% và 200 ml NaCl bão hòa, sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 3,4 g (60%) hợp chất **1P** ở dạng dầu màu vàng xám.

Ví dụ 1Q: [[1-(*tert*-butoxy)etenyl]oxy](*tert*-butyl)dimethylsilan



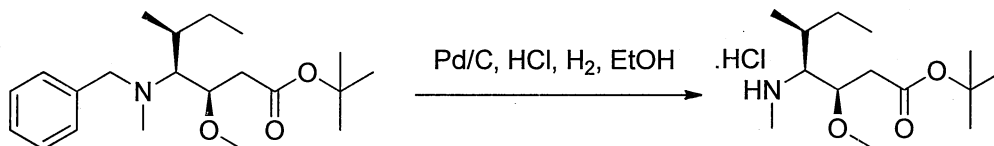
Diisopropylamin (20 g, 186,71 mmol, 1,08 đương lượng) được hòa tan trong 170 ml THF trong môi trường khí trơ và làm lạnh xuống nhiệt độ -78°C. *n*BuLi (2,4 M, 78,8 ml) được bổ sung từng giọt vào và dung dịch này được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ thấp (để thu được LDA-lithi diisopropylamit) trước khi bổ sung *tert*-butyl axetat (20 g, 172,18 mmol, 1,00 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 20 phút ở nhiệt độ -78°C trước khi bổ sung hexametylphosphoramit (HMPA, 25,8 ml) và dung dịch chứa *tert*butyldimethylsilylchloran (TBDMSCl, 28 g, 185,80 mmol, 1,08 đương lượng) trong 35 ml THF. Tiếp tục khuấy trong 20 phút nữa ở nhiệt độ thấp, và sau đó, bỏ bể làm lạnh ra. Dung dịch này được cô dưới áp suất giảm. Cặn được hòa tan lại trong 100 ml nước và chiết 3 lần bằng 100 ml PE. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 500 ml dung dịch nước NaCl bão hòa, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế bằng cách cất để thu được 16,6 g (83%) hợp chất **1Q** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 1R: *tert*-butyl (3R,4S,5S)-4-[benzyl(metyl)amino]-3-metoxi-5-metylheptanoat



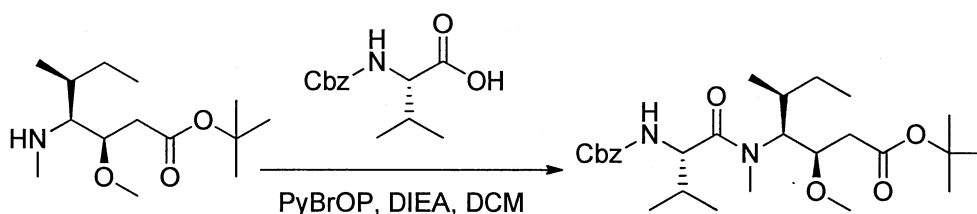
Hợp chất **1P** (2,0 g, 7,54 mmol, 1,00 đương lượng) và hợp chất **1Q** (2,6 g, 11,28 mmol, 1,50 đương lượng) được hòa tan trong 33 ml DCM trong môi trường khí trơ. Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C. DMF (1,2 g) được bổ sung từng giọt vào cùng với dung dịch chứa $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2,1 g) trong 7,5 ml DCM. Tiếp tục khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ 0°C. Môi trường phản ứng này được rửa một lần bằng 30 ml dung dịch natri cacbonat (10%) và hai lần bằng 50 ml dung dịch nước NaCl bão hòa, sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:100) để thu được 1,82 g (91%) hợp chất **1R** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1S: (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metyl-4-(metylamin)heptanoat hydroclorua



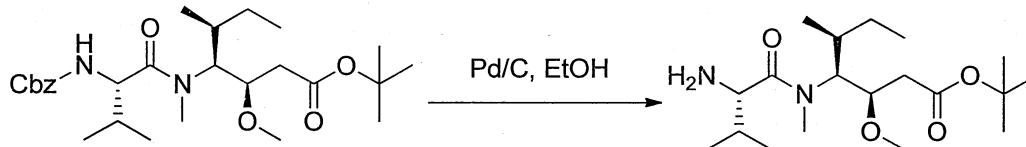
Hợp chất **1R** (2,4 g, 6,87 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong 35 ml etanol với sự có mặt của Pd/C (0,12 g) và axit clohydric đậm đặc (0,63 ml). Môi trường khí nitơ được thay thế bằng môi trường khí hydro và môi trường phản ứng được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ môi trường. Môi trường phản ứng này được lọc và cô dưới áp suất giảm. Cặn được nghiền trong 50 ml hexan và dịch nổi được loại bỏ, sau đó, làm khô dưới áp suất giảm, thu được 1,66 g (82%) hợp chất **1S** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 1T: *tert*-butyl (3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-[[benzyloxy]carbonyl]amino]-N,3-dimetylbutanamido]-3-metoxi-5-metylheptanoat



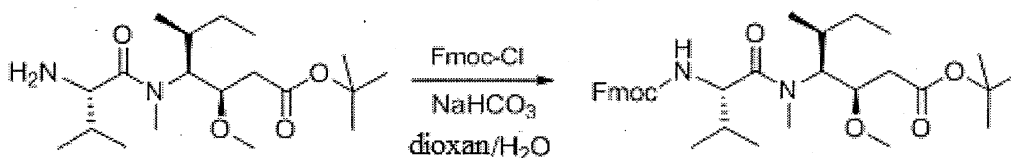
Axit (2S)-2-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-3-metylbutanoic (15 g, 0,40 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 300 ml DCM với sự có mặt của DIEA (38,3 ml) và bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBrOP, 32,3g). Dung dịch này được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ môi trường trước khi bổ sung hợp chất **1S** (15,99g, 0,42 mmol, 1,07 đương lượng). Môi trường phản ứng này được khuấy trong 2 giờ và sau đó, cô. Cặn được tinh chế trong cột pha đảo (C18) bằng hỗn hợp gồm axetonitril (ACN) và nước (tỷ lệ 30:70 đến 100:0 trong 40 phút) để thu được 17 g (58%) hợp chất **1T** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 1U: *tert*-butyl (3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-amino-*N*,3-dimetylbutanamido]-3-metoxi-5-metylheptanoat



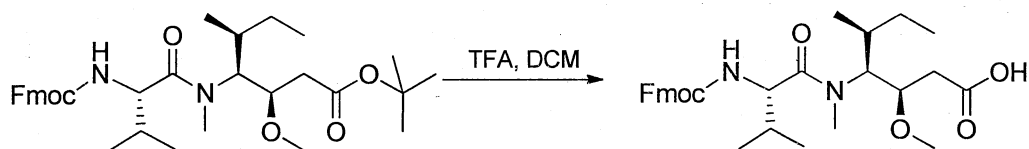
Hợp chất **1T** (76 mg, 0,15 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong 10 ml etanol với sự có mặt của Pd/C (0,05 g). Môi trường khí nitơ được thay thế bằng môi trường khí hydro và phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ môi trường. Môi trường phản ứng này được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 64 mg hợp chất **1U** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 1V: (3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-[[[(9H-floren-9-ylmetoxy)carbonyl]amino]-*N*,3-dimetylbutanamido]-3-metoxi-5-metylheptanoat



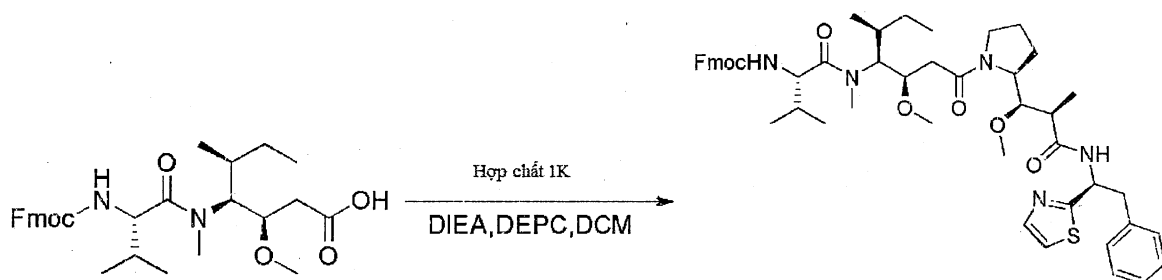
Hợp chất **1U** (18,19 g, 50,74 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 400 ml hỗn hợp 1,4-dioxan/nước (tỷ lệ 1:1) với sự có mặt của natri bicarbonat (12,78 g, 152 mmol, 3,00 đương lượng) và 9H-floren-9-ylmetyl clorofomat (Fmoc-Cl, 19,69 g, 76 mmol, 1,50 đương lượng), sau đó, khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ môi trường. Sau đó, môi trường phản ứng này được pha loãng bằng 500 ml nước và chiết 3 lần bằng 200 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 200 ml dung dịch nước NaCl bão hòa, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 40 g hợp chất **1V** được tinh chế một phần ở dạng dầu màu vàng xám.

Ví dụ 1W: Axit (3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-[(9H-floren-9-ylmethoxy)carbonyl]amino]-N,3-dimetylbutanamido]-3-metoxi-5-metylheptanoic



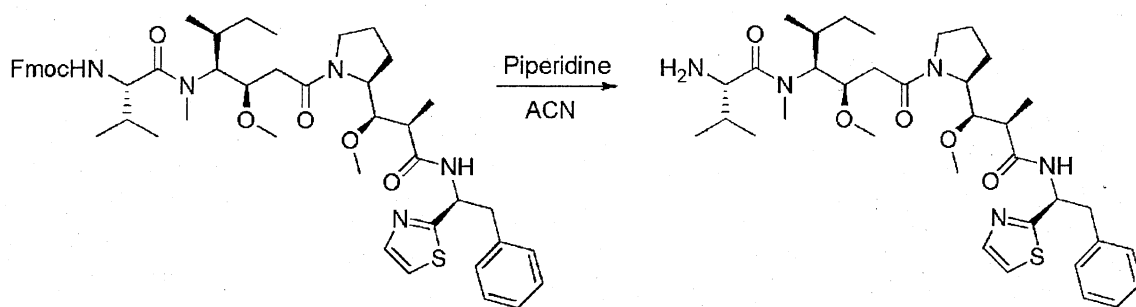
Hợp chất **1V** (40 g, 68,88 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường trung tính trong 600 ml DCM. TFA (300 ml) được bổ sung vào. Dung dịch này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm metanol và DCM (tỷ lệ 1:10) để thu được 23,6 g (65%) hợp chất **1W** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 1X: 9H-floren-9-ylmetyl N-[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-2-[(1S)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etyl]carbamoyl]etyl]pyrrolidin-1-yl]-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl](metyl) carbamoyl]-2-metylpropyl]carbamate



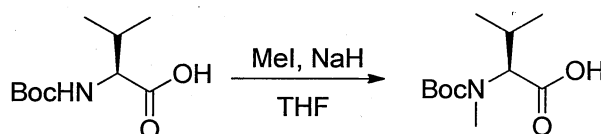
Hợp chất **1W** (2,53 g, 4,82 mmol, 1,08 đương lượng) được hòa tan trong 20 ml DCM với sự có mặt của hợp chất **1K** (2,18 g, 4,47 mmol, 1,00 đương lượng), DEPC (875 mg, 5,37 mmol, 1,20 đương lượng) và DIEA (1,25 g, 9,67 mmol, 2,16 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, rửa liên tiếp bằng 50 ml dung dịch KHSO₄ bão hòa và 100 ml nước, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm metanol và DCM (tỷ lệ 1:200 đến 1:40) để thu được 2,8 g (71%) hợp chất **1X** ở dạng chất rắn màu vàng xám.

Ví dụ 1Y: (2S)-2-amino-N-[(3R,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-2-[(1S)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etyl]carbamoyl]etyl] pyrrolidin-1-yl]-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl]-N,3-dimetylbutanamit



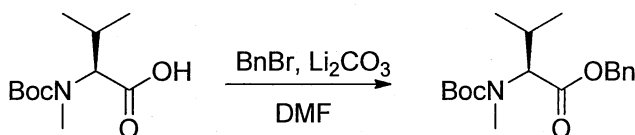
Hợp chất **1X** (2,8 g, 3,18 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong axetonitril (ACN, 12 ml) với sự có mặt của piperidin (3 ml) và được khuấy trong 18 giờ ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được trung hòa bằng 50 ml nước, sau đó, chiết hai lần bằng 100 ml DCM. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm metanol và DCM (tỷ lệ 1:100 đến 1:40) để thu được 1,2 g (57%) hợp chất **1Y** ở dạng chất rắn màu vàng.

Ví dụ 1ZA: Axit (2S)-2-[[*(tert*-butoxy)carbonyl](metyl)amino]-3-metylbutanoic



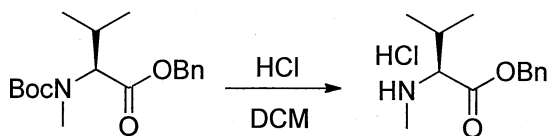
Axit (2S)-2-[[*(tert*-butoxy)carbonyl]amino]-3-metylbutanoic (63 g, 289,97 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong THF (1000 ml) với sự có mặt của iometan (181 ml). Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C trước khi bổ sung natri hydrua (116 g, 4,83 mol, 16,67 đương lượng) vào theo các phần nhỏ. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 1,5 giờ ở nhiệt độ 0°C, sau đó, bỏ bể làm lạnh ra và tiếp tục khuấy trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng 200 ml nước và sau đó, cô dưới áp suất giảm. Pha nước còn lại được pha loãng bằng 4 lit nước, rửa một lần bằng 200 ml EtOAc và độ pH của nó được điều chỉnh đến khoảng từ 3 đến 4 bằng dung dịch axit clohydric 1N. Hỗn hợp thu được được chiết 3 lần bằng 1,2 l EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 60 g (89%) hợp chất **1ZA** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1ZB: benzyl (2S)-2-[[*(tert*-butoxy)carbonyl](metyl)amino]-3-metylbutanoat



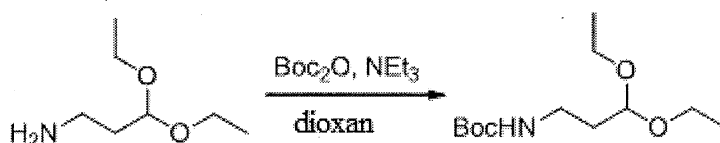
Hợp chất **1ZA** (47 g, 203,21 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong DMF (600 ml) với sự có mặt của Li_2CO_3 (15,8 g, 213,83 mmol, 1,05 đương lượng). Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, bổ sung từng giọt benzyl bromua (BnBr 57,9 g, 338,53 mmol, 1,67 đương lượng) vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm trước khi được trung hòa bằng 400 ml nước và lọc. Dung dịch thu được được chiết hai lần bằng 500 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:100 đến 1:20) để thu được 22,5 g (34%) hợp chất **1ZB** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 1ZC: benzyl (2S)-3-metyl-2-(metylamino)butanoat hydroclorua



Hợp chất **1ZB** (22,5 g, 70,00 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 150 ml DCM. Axit clohydric dạng khí được sục vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường và sau đó, cô dưới áp suất giảm để thu được 17 g (94%) hợp chất **1ZC** ở dạng chất rắn màu vàng.

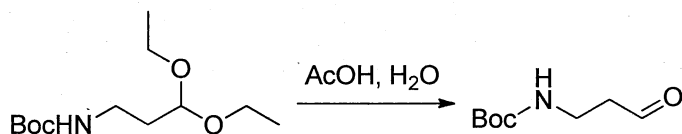
Ví dụ 1ZD: *tert*-butyl *N*-(3,3-diethoxypropyl)carbammat



3,3-diethoxypropan-1-amin (6 g, 40,76 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 1,4-dioxan (30 ml) với sự có mặt của TEA (4,45 g, 43,98 mmol, 1,08 đương lượng), sau đó, làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C . $(\text{Boc})_2\text{O}$ (9,6 g, 43,99 mmol, 1,08 đương lượng) pha loãng trong 20 ml 1,4-dioxan được bổ sung từng giọt vào. Dung dịch này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C sau đó, khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường trước khi được trung hòa bằng 10 ml nước. Độ pH được điều chỉnh đến 5 bằng dung dịch HCl (1%). Dung dịch này được chiết 3 lần bằng 50 ml EtOAc. Các

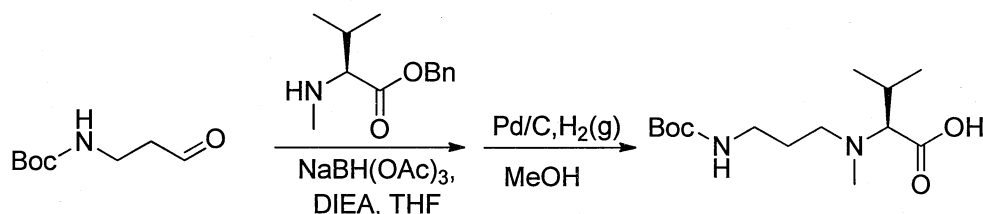
pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 8,21 g (81%) hợp chất **1ZD** ở dạng dầu màu vàng xám.

Ví dụ 1Z: *tert*-butyl *N*-(3-oxopropyl) carbamat



Hợp chất **1ZD** (8,20 g, 33,15 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 18,75 ml axit axetic và được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường. Sau đó, môi trường phản ứng này được chiết 3 lần bằng 30 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa 3 lần bằng 30 ml dung dịch NaCl bão hòa, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 5 g (87%) hợp chất **1ZE** ở dạng dầu màu đỏ đậm.

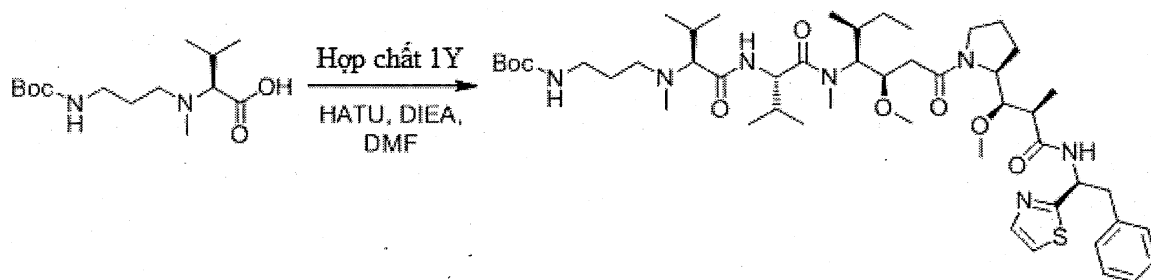
Ví dụ 1ZF: Axit (2S)-2-[(3-[(*tert*-butoxy)carbonyl]amino)propyl](metyl)amino]-3-metylbutanoic



Hợp chất **1ZE** (2,4 g, 13,86 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 50 ml THF với sự có mặt của hợp chất **1ZC** (3,56 g, 13,81 mmol, 1,00 đương lượng) và DIEA (9,16 ml, 4,00 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ môi trường trước khi bổ sung natri triaxetoxymborohydrit (5,87 g, 27,70 mmol, 2,00 đương lượng). Tiếp tục khuấy qua đêm, sau đó, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng 100 ml nước và chiết 3 lần bằng 50 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế một phần trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:4). Sản phẩm thô thu được được hòa tan lại trong 20 ml metanol với sự có mặt của Pd/C (1,2 g) và hydro hóa trong 20 phút ở nhiệt độ và áp suất bình thường. Môi trường phản ứng được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 200 mg (5%) hợp chất **1ZF** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 1ZG: *tert*-butyl *N*-(3-[(1S)-1-[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-2-[(1S)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)etyl]

carbamoyl]tyl]pyrrolidin-1-yl]-5-metyl-1-oxoheptan-4yl](metyl) carbamoyl]-2-metylpropyl]carbamoyl]-2-metylpropyl](metyl)amino]propyl) caramat



Hợp chất **1Y** (50 mg, 0,08 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 2 ml DMF với sự có mặt của hợp chất **1ZF** (26,2 mg, 0,09 mmol, 1,20 đương lượng), DIEA (37,7 ml) và O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU, 43,3 mg, 0,11 mmol, 1,50 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, pha loãng bằng 10 ml nước và chiết 3 lần bằng 5 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 100 mg hợp chất **1ZG** ở dạng dầu không màu được tinh chế một phần.

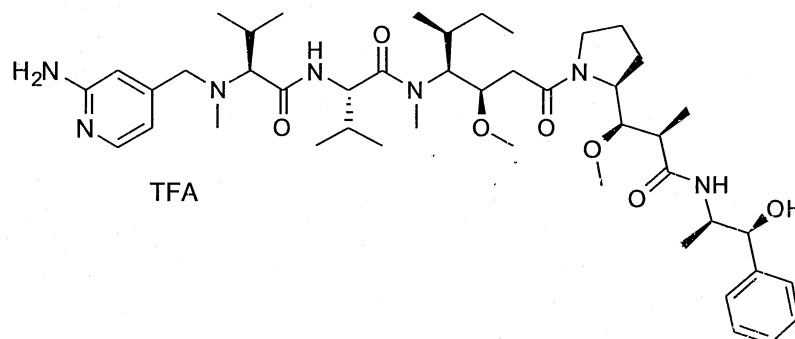
Ví dụ 1: Hợp chất **1ZG** (90 mg, 0,10 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường trung tính trong 2 ml DCM và dung dịch này được làm lạnh bằng bể nước đá. TFA (1 ml) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng 0,05% TFA; gradient gồm 18% đến 31% ACN trong 7 phút sau đó, 31% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **1** điều chế được với hiệu suất bằng 25% (23 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Atlantis T3, 3 μ m, 4,6 x 100 mm; 35°C; 1 ml / phút, 30% đến 60% ACN trong nước (amoni axetat 20 mM trong 6 phút); ESI ($C_{44}H_{73}N_7O_6S$, khối lượng chính xác bằng 827,53) m/z : 829 (MH^+), 5,84 phút (93,7%, 254 nm).

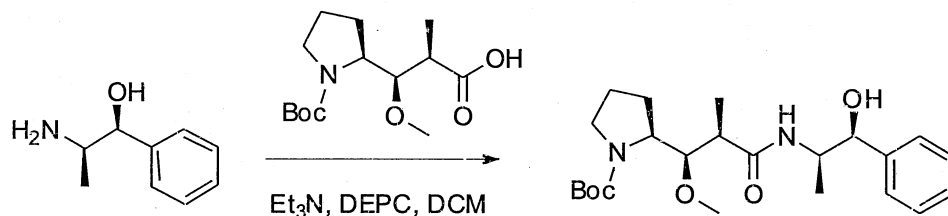
1H NMR (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,85 - 7,80 (m, 1H); 7,69 - 7,66 (m, 1H), 7,40 - 7,10 (m, 5H), 5,80 - 5,63 (m, 1H), 4,80 - 4,65 (m, 2H), 4,22 - 4,00 (m, 1H), 3,89 - 0,74 (m, 58H).

Ví dụ tham khảo 2

(S)-2-((S)-2-(((2-aminopyridin-4-yl)methyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimethylbutanamit, axit trifloaxetic

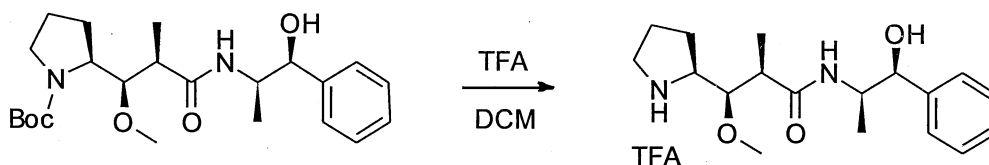


Ví dụ 2A: *tert*-butyl (S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-carboxylat



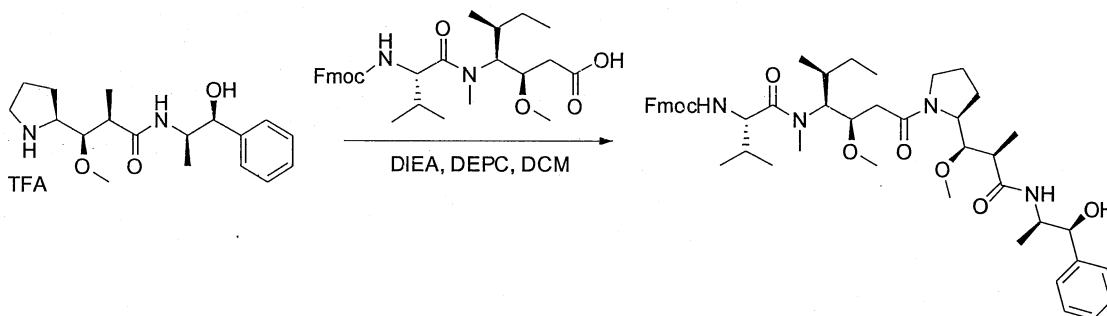
Hợp chất **1D** (2,5 g, 8,70 mmol, 1,00 đương lượng) và (1S,2R)-2-amino-1-phenylpropan-1-ol (1,315 g, 8,70 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong DMF (35 ml). Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, bổ sung từng giọt DEPC (1,39 ml) và TEA (1,82 ml) vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C sau đó, trong 4 giờ ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng 200 ml nước và chiết ba lần bằng 50 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 50 ml KHSO_4 (1 mol/l), một lần bằng 50 ml NaHCO_3 (sat.), một lần bằng 50 ml NaCl (sat.), sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 3,6 g (98%) hợp chất **2A** ở dạng chất rắn màu vàng.

Ví dụ 2B: (2R,3R)-N-((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)-3-methoxy-2-methyl-3-((S)-pyrrolidin-2-yl)propanamit 2,2,2-trifloaxetat



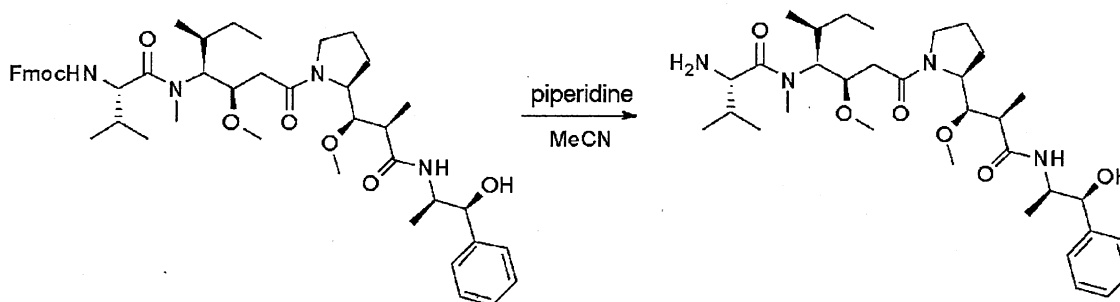
Hợp chất **2A** (2,7 g, 6,42 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong DCM (40 ml) sau đó, làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C. TFA (25 ml) được bổ sung vào và dung dịch này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng này được cô dưới áp suất giảm để thu được 4,4 g hợp chất **2B** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 2C: (9H-floren-9-yl)metyl ((S)-1-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-metoxi-2-metyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-metoxi-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl) (metyl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)carbamate



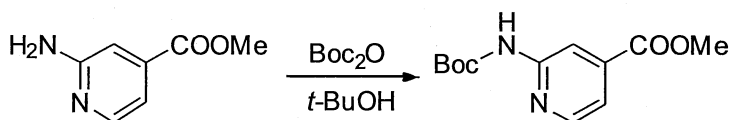
Các hợp chất **2B** (4,4 g, 10,13 mmol, 1,00 đương lượng) và **1W** (5,31 g, 10,12 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong DCM (45 ml). Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, bổ sung từng giọt DEPC (1,62 ml) và DIEA (8,4 ml) vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C sau đó, ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng 100 ml nước và chiết ba lần bằng 50 ml DCM. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 50 ml KHSO₄ (1 mol/l), một lần bằng 50 ml NaHCO₃ (sat.), một lần bằng 50 ml NaCl (sat.), sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất để thu được 3,3 g (39%) hợp chất **2C** ở dạng chất rắn màu vàng.

Ví dụ 2D: (S)-2-amino-N-(((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-metoxi-2-metyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-metoxi-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit



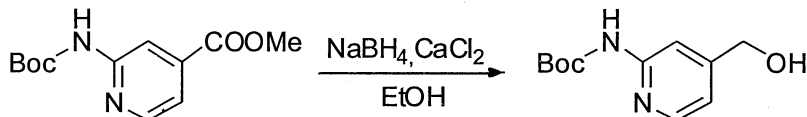
Hợp chất **2C** (300 mg, 0,36 mmol, 1,00 eq.) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong ACN (2 ml) và piperidin (0,5 ml). Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ môi trường qua đêm, sau đó, làm bay hơi đến khô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm DCM và MeOH (tỷ lệ 1:100) để thu được 150 mg (68%) hợp chất **2D** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 2E: methyl 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)isonicotinat



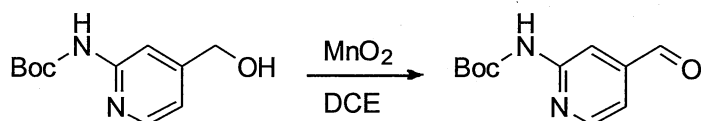
Methyl 2-aminopyridin-4-carboxylat (2 g, 13,14 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong *tert*-butanol (20 ml) sau đó, bổ sung di-*tert*-butyl dicacbonat (4,02 g, 18,42 mmol, 1,40 đương lượng) vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 60°C qua đêm sau đó, phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung dung dịch nước NaHCO₃ 1M (50 ml). Chất rắn này được gom lại bằng cách lọc, rửa bằng 50 ml EtOH sau đó, làm khô trong chân không để thu được 2,5 g (75%) hợp chất **2E** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 2F: *tert*-butyl (4-(hydroxymethyl)pyridin-2-yl)carbammat



Hợp chất **2E** (2,5 g, 9,91 mmol, 1,00 đương lượng) và CaCl₂ (1,65 g) được hòa tan trong EtOH (30 ml). Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, bổ sung từ từ NaBH₄ (1,13 g, 29,87 mmol, 3,01 đương lượng) vào. Dung dịch này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường sau đó, phản ứng được làm ngừng bằng cách bổ sung nước (50 ml). Hỗn hợp này được chiết ba lần bằng 20 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng 20 ml NaCl (sat.) sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 2,0 g (90%) hợp chất **2F** ở dạng chất rắn không màu.

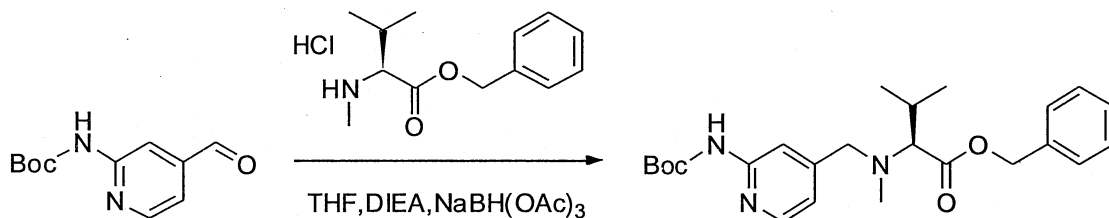
Ví dụ 2G: *tert*-butyl (4-formylpyridin-2-yl)carbammat



Hợp chất **2F** (2,5 g, 11,15 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong DCE (25 ml) sau đó, 19,4 g (223,14 mmol, 20,02 đương lượng) MnO₂ được bổ sung vào.

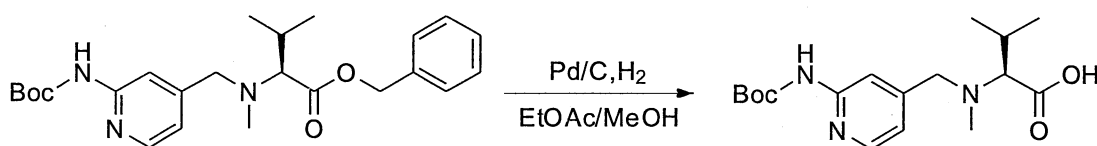
Hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ 70°C sau đó, chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc. Phần dịch lọc được làm bay hơi đến khô để thu được 1,4 g (57%) hợp chất **2G** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 2H: benzyl (S)-2-(((2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)pyridin-4-yl)methyl)(methyl)amino)-3-methylbutanoat



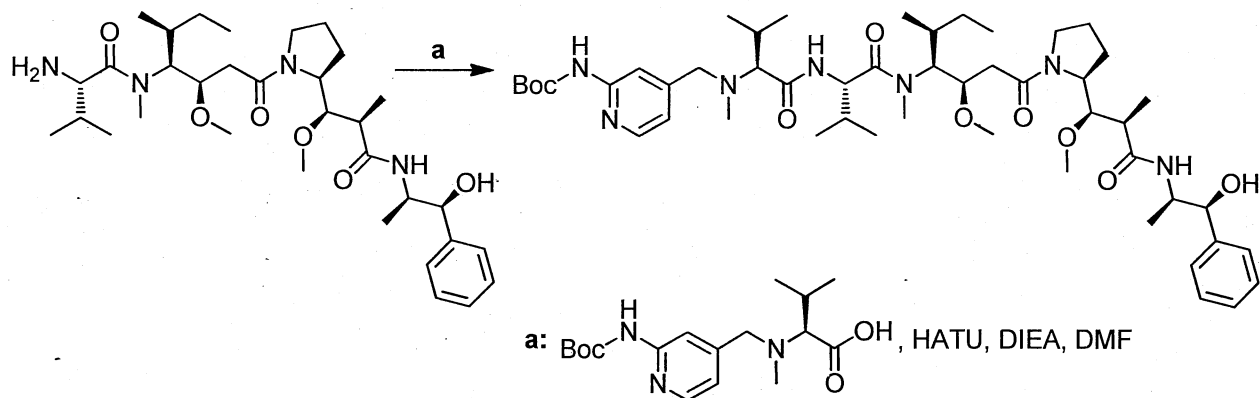
Hợp chất **2G** (2,3 g, 10,35 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 25 ml THF với sự có mặt của hợp chất **1ZC** (2,93 g, 11,37 mmol, 1,10 đương lượng), DIEA (5,39 g, 41,71 mmol, 4,03 đương lượng) và NaBH(OAc)₃ (4,39 g, 20,71 mmol, 2,00 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 6 giờ ở nhiệt độ môi trường sau đó, trung hòa bằng 60 ml NaHCO₃ (sat.) và chiết 3 lần bằng 20 ml AcOEt. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng 20 ml NaCl (sat.), làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (tỷ lệ 1:15) để thu được 2,7 g (61%) hợp chất **2H** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 2I: Axit (S)-2-(((2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)pyridin-4-yl)methyl)(methyl)amino)-3-methylbutanoic



Hợp chất **2H** (500 mg, 1,17 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 10 ml AcOEt và 2 ml metanol với sự có mặt của Pd/C (250 mg), và được hydro hóa trong 3 giờ ở nhiệt độ môi trường và áp suất khí quyển. Môi trường phản ứng được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 254 mg (64%) hợp chất **2I** ở dạng chất rắn không màu.

Ví dụ 2J: *tert*-butyl (4-(((3S,6S,9S,10R)-9-(((S)-*sec*-butyl)-10-(2-(((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-2-oxoethyl)-3,6-diisopropyl-2,8-dimethyl-4,7-dioxo-11-oxa-2,5,8-triazadodexyl)pyridin-2-yl) carbamat



Hợp chất **2J** được điều chế theo cách tương tự như hợp chất **1ZG** từ amin **2D** (85,2 mg, 0,14 mmol, 1,50 đương lượng), axit **2I** (31,7 mg, 0,09 mmol, 1,00 đương lượng), HATU (42,9 mg, 0,11 mmol, 1,20 đương lượng) và DIEA (36,7 mg, 0,28 mmol, 3,02 đương lượng) trong DMF (3 ml). Sau khi làm bay hơi đến khô, 100 mg sản phẩm thô điều chế được ở dạng chất rắn màu trắng.

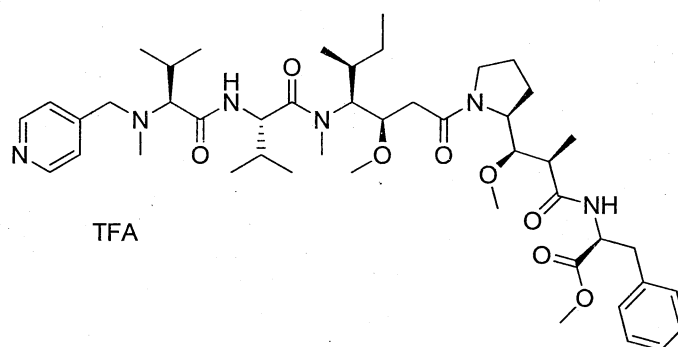
Ví dụ 2: Hợp chất **2J** (100 mg, 0,11 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 2 ml DCM và 1 ml TFA. Phản ứng này được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn (80 mg) được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **2** điều chế được với hiệu suất bằng 6% (6,3 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,8 ml/phút, từ 10% đến 95% ACN trong nước (TFA 0,05%) trong 6 phút); ESI ($C_{45}H_{73}N_7O_7$, khối lượng chính xác bằng 823,56) m/z : 824,5 (MH^+) và 412,9 ($M.2H^+/2$, 100%), 3,21 phút (99,2%, 210 nm).

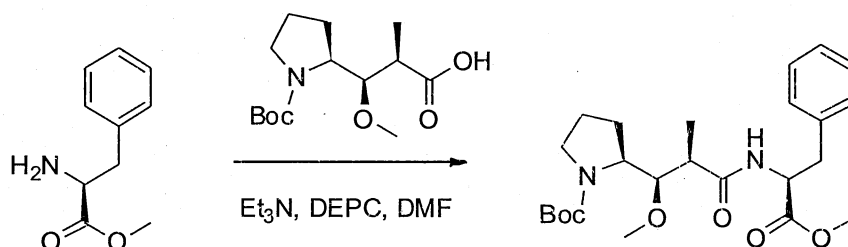
1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,81 - 7,79 (m, 1H); 7,39 - 7,29 (m, 5H); 6,61 - 6,59 (m, 2H); 4,84 - 4,52 (m, 1H); 4,32 - 4,02 (m, 1H); 3,90 - 2,98 (m, 10H); 2,90 - 2,78 (m, 1H); 2,55 - 0,81 (m, 39H).

Ví dụ tham khảo 3

metyl ((S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimetyl-2-((S)-3-metyl-2-(metyl(pyridin-4-ylmetyl)amino)butanamido)butanamido)-3-metoxyl-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxyl-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoat, axit trifloaxetic

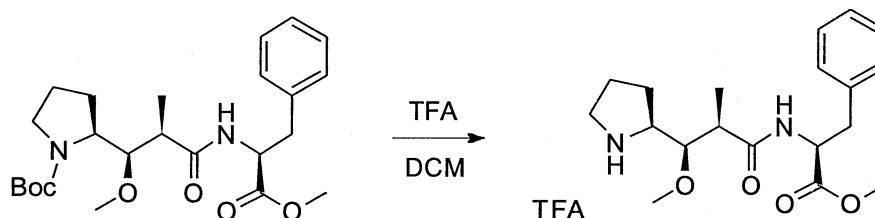


Ví dụ 3A: *tert*-butyl (S)-2-(((1R,2R)-1-metoxi-3-(((S)-1-metoxi-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-2-metyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-carboxylat



Hợp chất **1D** (3 g, 10,44 mmol, 1,00 đương lượng) và methyl (S)-2-amino-3-phenylpropanoat (2,25 g, 12,55 mmol, 1,20 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong DMF (40 ml). Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, DEPC (1,67 ml, 1,05 đương lượng) và TEA (3,64 ml, 2,50 đương lượng) được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C sau đó, ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng 100 ml nước và chiết ba lần bằng 50 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 100 ml KHSO₄ (1 mol/l), một lần bằng 100 ml NaHCO₃ (sat.), một lần bằng 100 ml NaCl (sat.), sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất để thu được 4 g (85%) hợp chất **3A** ở dạng dầu không màu.

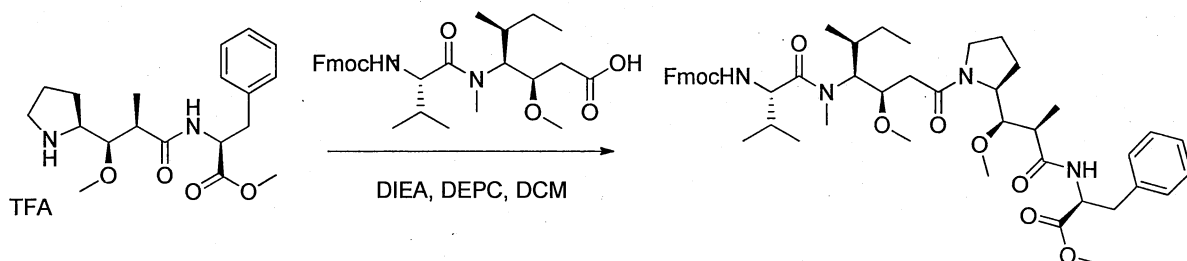
Ví dụ 3B: 2,2,2-trifloaxetat của methyl (S)-2-(((2R,3R)-3-metoxi-2-metyl-3-((S)-pyrrolidin-2-yl)propanamido)-3-phenylpropanoat



Hợp chất **3A** (5 g, 11,15 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong DCM (40 ml). TFA (25 ml) được bổ sung vào và dung dịch này

được khuấy trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được cô dưới áp suất giảm để thu được 8 g hợp chất **3B** ở dạng dầu màu vàng.

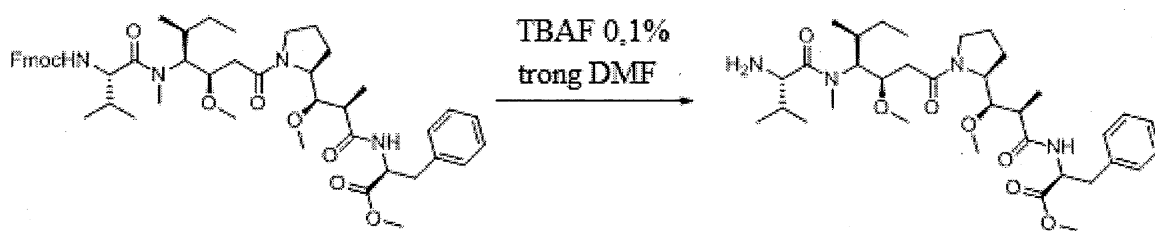
Ví dụ 3C: methyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-N,3-dimethylbutanamido)-3-methoxy-5-methylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-methoxy-2-methylpropanamido)-3-phenylpropanoat



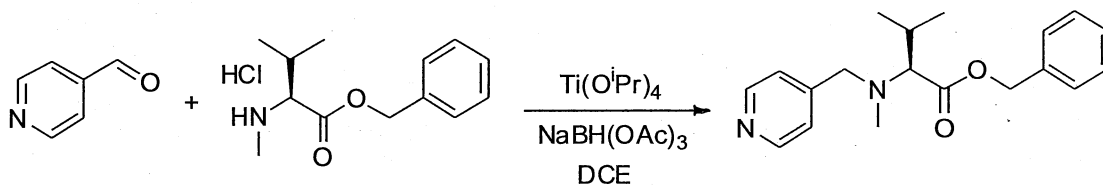
Các hợp chất **3B** (8,03 g, 17,36 mmol, 1,00 đương lượng) và **1W** (9,1 g, 17,34 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong DCM (80 ml).

Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, DEPC (2,8 ml) và DIEA (12 ml) được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C sau đó, ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng 200 ml nước và chiết ba lần bằng 50 ml DCM. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa một lần bằng 50 ml KHSO₄ (1 mol/l), một lần bằng 50 ml NaHCO₃ (sat.), một lần bằng 50 ml NaCl (sat.), sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 5 g (34%) hợp chất **3C** ở dạng chất rắn màu vàng.

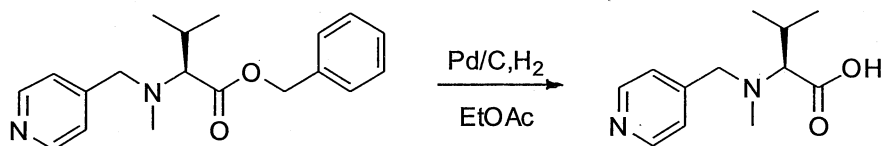
Ví dụ 3D: methyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-amino-N,3-dimethylbutanamido)-3-methoxy-5-methylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-methoxy-2-methylpropanamido)-3-phenylpropanoat



Hợp chất **3C** (5,5 g, 6,43 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong dung dịch chứa tetrabutylamoni florua (TBAF, 2,61 g, 9,98 mmol, 1,55 quiv) trong DMF (100 ml). Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ sau đó, pha loãng bằng 100 ml nước và chiết ba lần bằng 50 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại sau đó, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 3,3 g (81%) hợp chất **3D** ở dạng chất rắn màu vàng.

Ví dụ 3E: benzyl (S)-3-metyl-2-(metyl(pyridin-4-ylmetyl)amino) butanoat

Pyridin-4-carbaldehyt (1 g, 9,34 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 10 ml 1,2-dicloetan (DCE) với sự có mặt của hợp chất **1ZC** (2,9 g, 11,25 mmol, 1,21 đương lượng) và titan isopropoxit (IV) (4,19 ml, 1,40 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 phút sau đó, 2,77 g NaBH(OAc)₃ (13,07 mmol, 1,40 đương lượng) được bổ sung vào. Môi trường phản ứng này được khuấy qua đêm sau đó, trung hòa bằng 100 ml nước và hỗn hợp này được chiết 3 lần bằng 50 ml AcOEt. Các pha hữu cơ được gộp lại và làm bay hơi đến khô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (1:20) để thu được 1,3 g (45%) hợp chất **3E** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 3F: Axit (S)-3-metyl-2-(metyl(pyridin-4-ylmetyl)amino)butanoic

Hợp chất **3E** (800 mg, 2,56 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 30 ml AcOEt với sự có mặt của Pd/C (300 mg) và được hydro hóa trong 3 giờ ở nhiệt độ môi trường và áp suất khí quyển. Môi trường phản ứng này được lọc và cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm DCM và MeOH (tỷ lệ 100:1 đến 5:1) để thu được 100 mg (18%) hợp chất **3F** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 3: Các hợp chất **3D** (50 mg, 0,08 mmol, 1,00 đương lượng) và **3F** (26,34 mg, 0,12 mmol, 1,50 đương lượng) được hòa tan trong 3 ml DCM. Dung dịch này được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C sau đó, 0,018 ml DEPC và 0,0392 ml DIEA được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ sau đó, ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Môi trường phản ứng được cô dưới áp suất giảm và cặn (70 mg) được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μm, 19 x 150 mm; Pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến

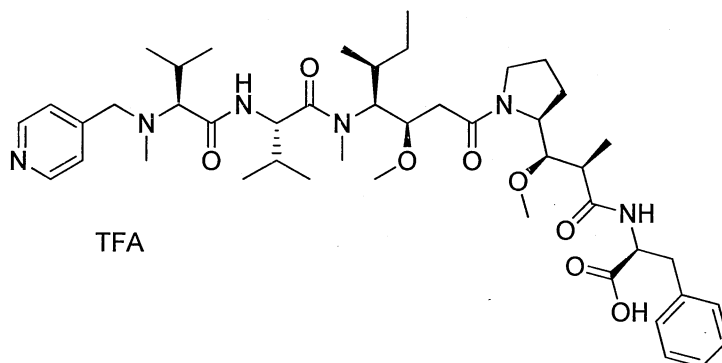
100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất 3 điều chế được với hiệu suất bằng 27% (20 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μm , 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% ACN trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI ($\text{C}_{46}\text{H}_{72}\text{N}_6\text{O}_8$, khối lượng chính xác bằng 836,5) m/z : 837,5 (MH^+) và 419,4 ($\text{M.2H}^+/2$ (100%)), 7,04 phút (90,0%, 210 nm).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,76 - 8,74 (m, 2H); 8,53 - 8,48 (m, 0,4H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 8,29 - 8,15 (m, 0,8H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 8,01 (s, 2H), 7,31 - 7,22 (m, 5H), 4,88 - 4,68 (m, 3H); 4,31 - 4,07 (m, 2H); 3,94 - 2,90 (m, 18H); 2,55 - 0,86 (m, 38H).

Ví dụ tham khảo 4

Axit (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimethyl-2-((S)-3-methyl-2-(methyl(pyridin-4-ylmethyl)amino)butanamido)butanamido)-3-methoxy-5-methylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-methoxy-2-methylpropanamido)-3-phenylpropanoic, axit trifloaxetic



Ví dụ 4: Hợp chất 3 (100 mg, 0,11 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong hỗn hợp gồm nước (5 ml), ACN (5 ml) và piperidin (2,5 ml). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μm , 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được 20 mg (20%) hợp chất 4 ở dạng chất rắn màu trắng.

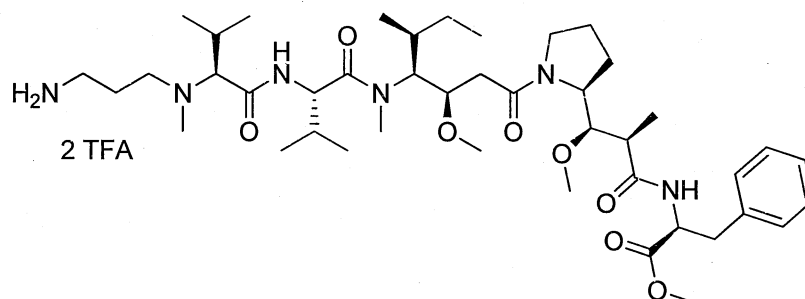
LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μm , 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% ACN trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút);

ESI ($C_{45}H_{70}N_6O_8$, khối lượng chính xác bằng 822,5) m/z : 823,5 (MH^+) và 412,4 ($M.2H^+/2$, 100%), 6,84 phút (89,1%, 210 nm).

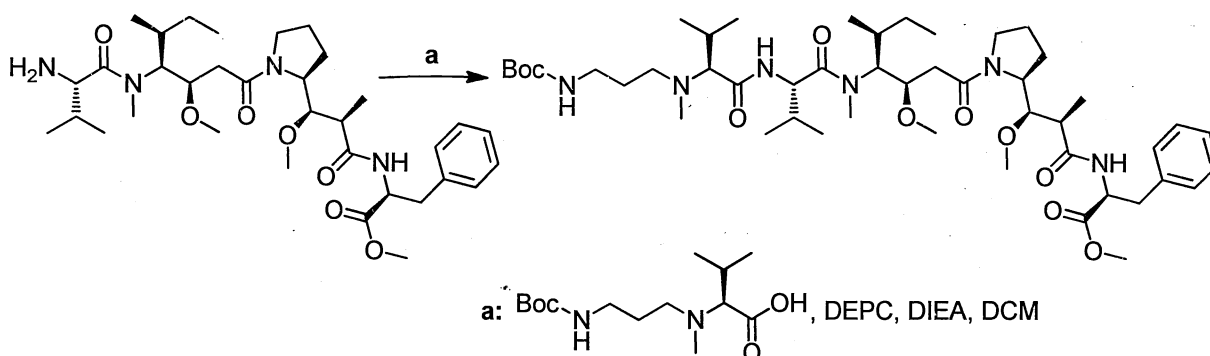
1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,79 - 8,78 (m, 2H); 8,09 (m, 2H); 7,30 - 7,21 (m, 5H); 4,80 - 4,80 (m, 1H), 4,36 - 0,87 (m, 58H).

Ví dụ tham khảo 6

metyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminopropyl) (metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoat, axit bis trifloaxetic



Ví dụ 6A: metyl (2S)-2-[(2R)-2-[(R)-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(3-[[[(*tert*-butoxy)carbonyl]amino]propyl)(metyl)amino]-3-metyl butanamido]-N,3-dimetylbutanamido]-3-metoxi-5-metylheptanoyl]pyrrolidin-2-yl)](metoxi)metyl]propanamido]-3-phenylpropanoat



Hợp chất **3D** (157,5 mg, 0,25 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan ở nhiệt độ $0^\circ C$ trong môi trường khí trơ trong 3 ml DCM với sự có mặt của axit carboxylic **1ZF** (78,7 mg, 0,27 mmol, 1,10 đương lượng), DEPC (46 μl) và DIEA (124 μl). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy 2 giờ ở nhiệt độ thấp và sau đó, bỏ bể làm lạnh ra và tiếp tục khuấy trong 4 giờ. Sau đó, cô dưới áp suất giảm để thu được 200 mg hợp chất **6A** ở dạng dầu thô màu vàng. Hợp chất này được sử dụng như vậy trong bước tiếp theo.

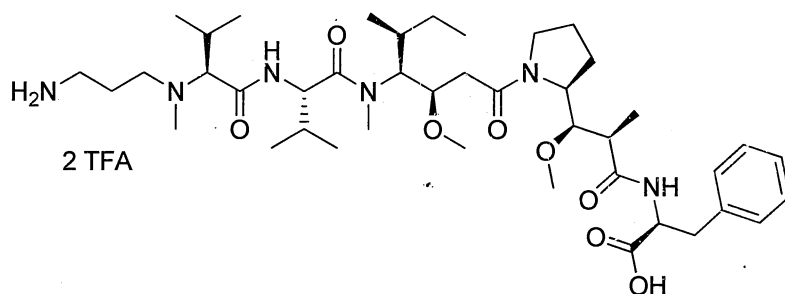
Ví dụ 6: Hợp chất **6A** (200 mg, 0,22 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ ở nhiệt độ 0°C trong 2 ml DCM. TFA (1 ml) được bổ sung từng giọt vào và bể làm lạnh được loại bỏ. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được 60 mg (26%, hiệu suất theo 2 bước) hợp chất **6** ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (Zorbax Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 1 ml/phút, 40°C, 30 đến 80% metanol trong nước (H₃PO₄ 0,1%) trong 18 phút); ESI (C₄₃H₇₄N₆O₈, khối lượng chính xác bằng 802,56) m/z : 804 (MH⁺); 11,50 phút (91,5%, 210 nm).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,52 (d, 0,3H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 8,25 (d, 0,5H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 7,30–7,22 (m, 5H); 4,9–4,6 (m, 3H); 4,2–4,0 (m, 1H); 4,0–0,86 (m, 61H).

Ví dụ tham khảo 7

Axit (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminopropyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-N,3-dimethylbutanamido)-3-methoxy-5-methylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-methoxy-2-methylpropanamido)-3-phenylpropanoic, axit bis trifloaxetic



Ví dụ 7: Hợp chất **6** (70 mg, 0,08 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong hỗn hợp gồm nước (5 ml), ACN (2,5 ml) và piperidin (5 ml). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA

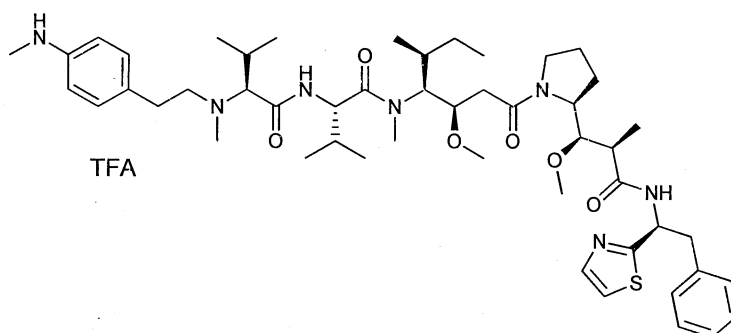
0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector UV Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được 14,6 mg (21%) hợp chất 7 ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (Ascentis Express C18, 2,7 μm , 4,6 x 100 mm; 1,5 ml/phút, 40°C, 0 đến 80% metanol trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI ($\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{N}_6\text{O}_8$, khối lượng chính xác bằng 788,54) m/z : 790 (MH^+), 5,71 phút (96,83%, 210 nm).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,42 (d, 0.3H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 8,15 (d, 0,2H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 7,31–7,21 (m, 5H); 4,9–4,6 (m, 3H); 4,25–4,0 (m, 1H); 4,0–0,86 (m, 59H).

Ví dụ 11

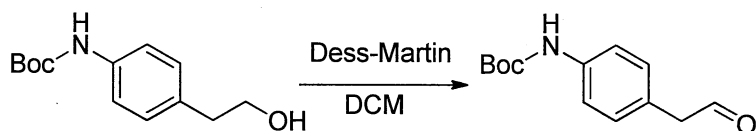
(S)-N-((3R,4S,5S)-3-methoxy-1-((S)-2-((1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)ethyl)amino)propyl)pyrrolidin-1-yl)-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimethyl-2-((S)-3-methyl-2-(methyl(4-(methylamino)phenetyl)amino) butanamido)butanamit, axit trifloaxetic



Ví dụ 11A: *tert*-butyl N-[4-(2-hydroxyethyl)phenyl]carbamate

Hợp chất 11A điều chế được với hiệu suất bằng 75% sau phản ứng ở nhiệt độ môi trường giữa 2-(4-aminophenyl)ethanol và BOC_2O trong THF.

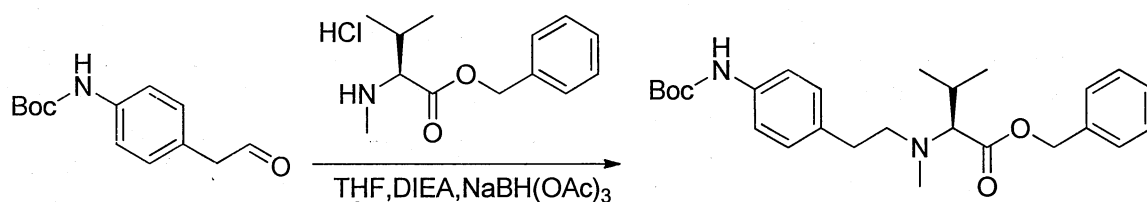
Ví dụ 11B: *tert*-butyl N-[4-(2-oxoethyl)phenyl]carbamate



Hợp chất 11A (2,5 g, 10,5 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 25 ml DCM sau đó, làm lạnh xuống nhiệt độ -78°C . Dung dịch Dess-Martin Periodinane (DMP, 6,71 g, 15,8 mmol, 1,5 đương lượng) trong DCM (10 ml) được bổ sung từng

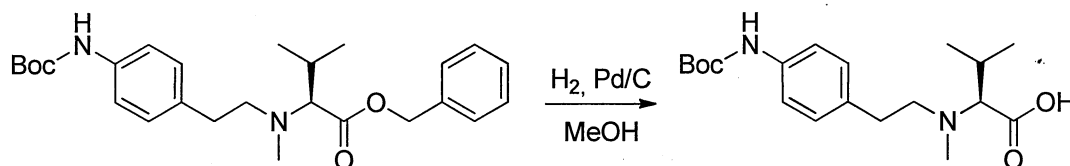
giọt vào. Bỏ bể làm lạnh ra và tiếp tục khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được trung hòa bằng 60 ml hỗn hợp gồm dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và dung dịch nước $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bão hòa theo tỷ lệ 50/50. Dung dịch thu được được chiết 3 lần bằng 30 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng dung dịch nước NaCl bão hòa, làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên silicagel (EtOAc/PE 1/15) để thu được 1,0 g (40%) hợp chất **11B** ở dạng chất rắn màu vàng xám.

Ví dụ 11C: benzyl (2S)-2-[[2-(4-[[*tert*-butoxy)carbonyl]amino]phenyl)ethyl](metyl)amino]-3-metylbutanoat



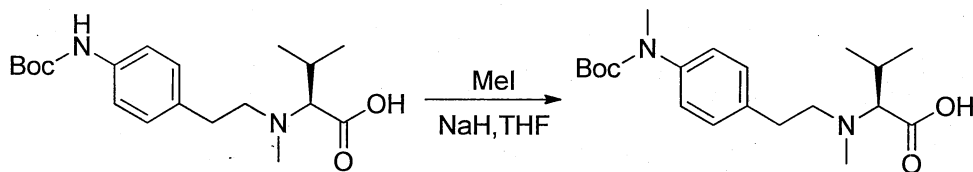
Hợp chất **11C** (3,5 g, 13,6 mmol, 1,1 đương lượng) được hòa tan trong THF (30 ml) với sự có mặt của DIEA (6,4 g, 49,7 mmol, 4,0 đương lượng), aldehyt **11B** (2,9 g, 12,3 mmol, 1,0 đương lượng) và natri triaxetoxyborohydrit (5,23 g, 49,7 mmol, 2,0 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, trung hòa bằng 60 ml dung dịch natri bicacbonat bão hòa. Dung dịch thu được được chiết 3 lần bằng 30 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa hai lần bằng dung dịch nước NaCl bão hòa, làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên silicagel (EtOAc/PE 1:20) để thu được 3,7 g (68%) hợp chất **11C** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 11D: Axit (2S)-2-[[2-(4-[[*tert*-butoxy)carbonyl]amino]phenyl)ethyl](metyl)amino]-3-metylbutanoic



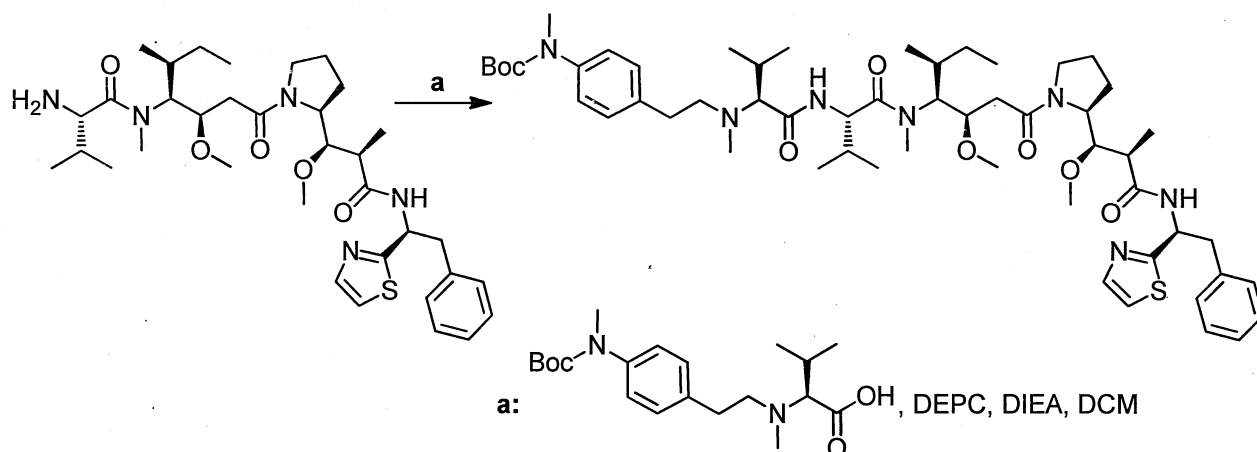
Hợp chất **11C** (2 g, 4,5 mmol, 1 đương lượng) được hòa tan trong 10 ml metanol với sự có mặt của Pd/C (2 g) và được hydro hóa trong 2 giờ ở nhiệt độ và áp suất bình thường. Môi trường phản ứng này được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 1,2 g (75%) hợp chất **11D** ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 11E: Axit (2S)-2-[[2-(4-[[*(tert*-butoxy)carbonyl](metyl)amino]phenyl)ethyl](metyl) amino]-3-metylbutanoic



Hợp chất **11D** (1,2 g, 3,4 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong THF (20 ml). Môi trường phản ứng này được làm lạnh bằng bể nước đá sau đó, NaH (60% trong dầu, 549 mg, 13,7 mmol, 4,0 đương lượng) được bổ sung vào theo từng phần, tiếp theo bổ sung iodometan (4,9 g, 34 mmol, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường, sau đó, trung hòa bằng nước và rửa bằng 100 ml EtOAc. Độ pH của dung dịch nước được điều chỉnh đến 6–7 bằng HCl 1N. Dung dịch nước này được chiết 3 lần bằng 100 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô để thu được 800 mg. (64%) hợp chất **11E** ở dạng chất rắn màu vàng.

Ví dụ 11F: *tert*-butyl *N*-[4-(2-[[[(1S)-1-[[[(1S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-2-[[[(1S)-2-phenyl-1-(1,3-thiazol-2-yl)ethyl]carbamoyl]etyl]pyrrolidin-1-yl]-5-metyl-1-oxoheptan-4yl] (metyl)carbamoyl]-2-metylpropyl]carbamoyl]-2-metylpropyl](metyl)amino]etyl]phenyl]-*N*-metyl carbamat



Hợp chất **11F** được điều chế theo cách tương tự như đối với hợp chất **6A** từ amin **1Y** (150 mg, 0,22 mmol, 1,2 đương lượng) và axit **11E** (70 mg, 0,19 mmol, 1,0 đương lượng). Sau khi tinh chế trên silicagel (EtOAc/PE 1:1), thu được 100 mg (52%) sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu vàng xám.

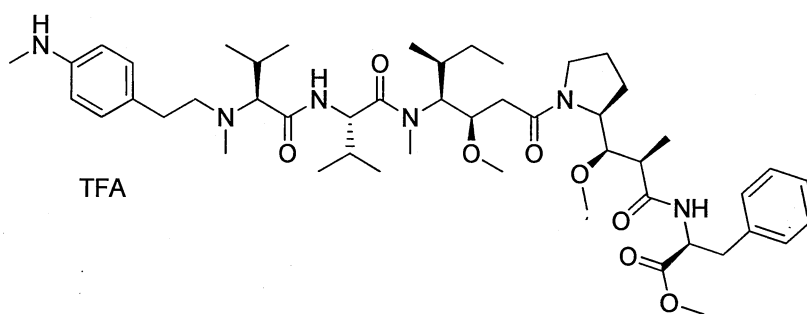
Ví dụ 11: Hợp chất **11** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **1** từ hợp chất trung gian **11F** (100 mg, 0,1 mmol). Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **11** điều chế được với hiệu suất bằng 39% (39,7 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 1 ml/phút, 40°C, 50 đến 95% metanol trong nước (TFA 0,05%) trong 18 phút); ESI ($C_{50}H_{77}N_7O_6S$, khối lượng chính xác bằng 903,57) m/z : 904,5 (MH^+), 7,53 phút (93,68%, 254 nm).

1H NMR (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,84 (d, 0.5H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 8,7–8,5 (m, 0,9H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 7,76–7,73 (m, 1H); 7,55 - 7,4 (m, 1H); 7,28–7,22 (m, 7H); 7,08–7,05 (m, 2H); 5,51–5,72 (m, 1H); 4,9–4,80 (m, 2H); 4,3–0,7 (m, 60H).

Ví dụ 12

Metyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimetyl-2-((S)-3-metyl-2-(metyl(4-(metylamino)phenetyl)amino)butanamido)butanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoat, axit trifloaxetic



Ví dụ 12: Theo cách giống như giai đoạn cuối trong quá trình tổng hợp hợp chất **1**, hợp chất **12** được điều chế theo hai bước từ amin **3D** (118 mg, 0,19 mmol) và axit **11E** (82 mg, 0,22 mmol). Cặn cuối cùng được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở

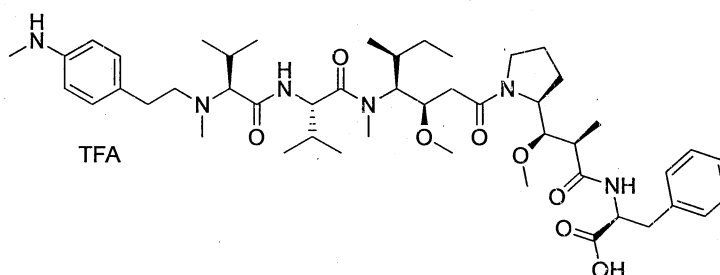
254 nm và 220 nm). Hợp chất **12** điều chế được với hiệu suất bằng 7% (13,7 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 1 ml/phút, 40°C, 40 đến 95% metanol trong nước (TFA 0,05%) trong 18 phút); ESI ($C_{49}H_{78}N_6O_8$, khối lượng chính xác bằng 878,59) m/z : 879,7 (MH^+), 10,07 phút (90,6%, 254 nm).

1H :NMR (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,40 (se, 2H); 7,38–7,22 (m, 7H); 4,95–4,7 (m, 3H); 4,2–4,0 (m, 1H); 3,9–0,86 (m, 62H).

Ví dụ 13

Axit (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-dimetyl-2-((S)-3-metyl-2-(metyl(4-(metyl(amino)phenetyl)amino)butanamido)butanamido)-3-metoxymetyl heptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxymetylpropanamido)-3-phenylpropanoic, axit trifloaxetic



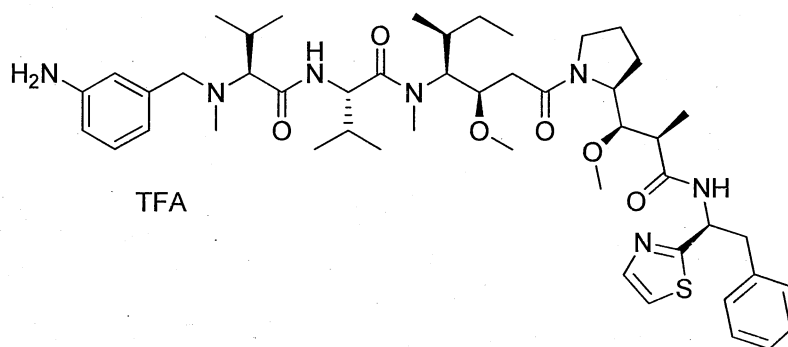
Ví dụ 13: Hợp chất **13** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **7** từ hợp chất **12** (100 mg, 0,10 mmol). Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **13** điều chế được với hiệu suất bằng 20% (20 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 1,5 ml/phút, 40°C, 10 đến 95% metanol trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI ($C_{48}H_{76}N_6O_8$, khối lượng chính xác bằng 864,57) m/z : 865,6 (MH^+), 6,05 phút (90,9%, 210 nm).

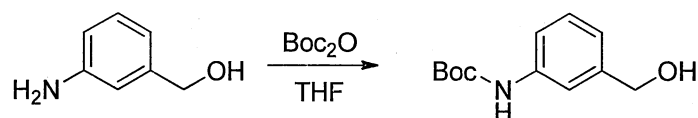
1H NMR: (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,32–7,19 (m, 9H); 4,9–4,65 (m, 3H); 4,2–4,0 (m, 1H); 3,9–0,86 (m, 59H).

Ví dụ 14

(S)-2-((S)-2-((3-aminobenzyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)etyl)amino)propyl)pyrrolidin-1-yl)-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit, axit trifloaxetic

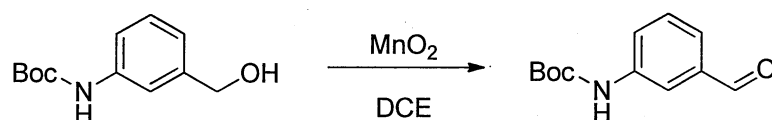


Ví dụ 14A: *tert*-butyl (3-(hydroxymetyl)phenyl) carbamat



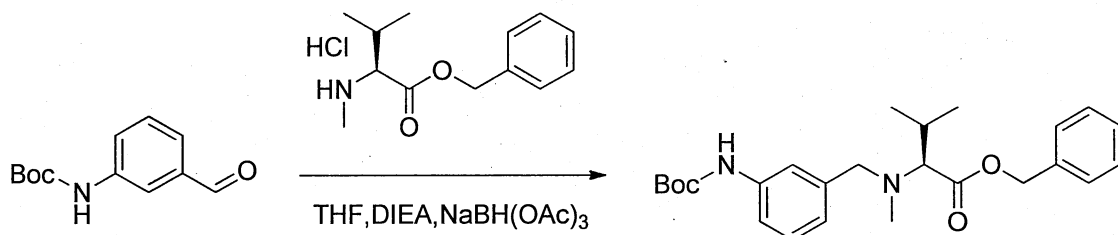
(3-aminophenyl)metanol (3 g, 24,36 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong THF (60 ml) sau đó, di-*tert*-butyl dicacbonat (6,38 g, 29,23 mmol, 1,20 đương lượng) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường và sau đó, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng cách bổ sung 200 ml nước. Sản phẩm này được chiết 3 lần bằng 100 ml AcOEt và sau đó, pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô (13,85 g hợp chất **14A**) ở dạng dầu màu vàng.

Ví dụ 14B: *tert*-butyl (3-formylphenyl)carbamate



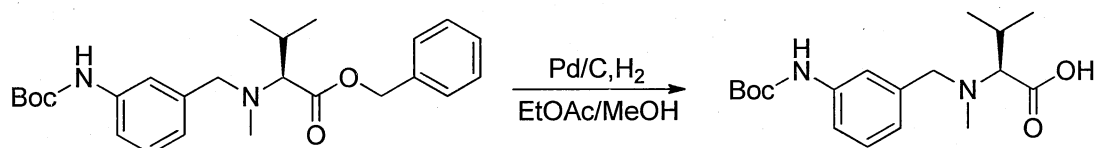
Hợp chất **14A** (13,8 g, 61,81 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong DCE (400 ml) và sau đó, MnO₂ (54 g, 621,14 mmol, 10,05 đương lượng) được bổ sung vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 3 ngày sau đó, chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc. Phần dịch lọc được làm bay hơi đến khô và cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (1:30) để thu được 3 g (22%) hợp chất **14B** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 14C: benzyl (S)-2-((3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)benzyl) (metyl amino)-3-metylbutanoat



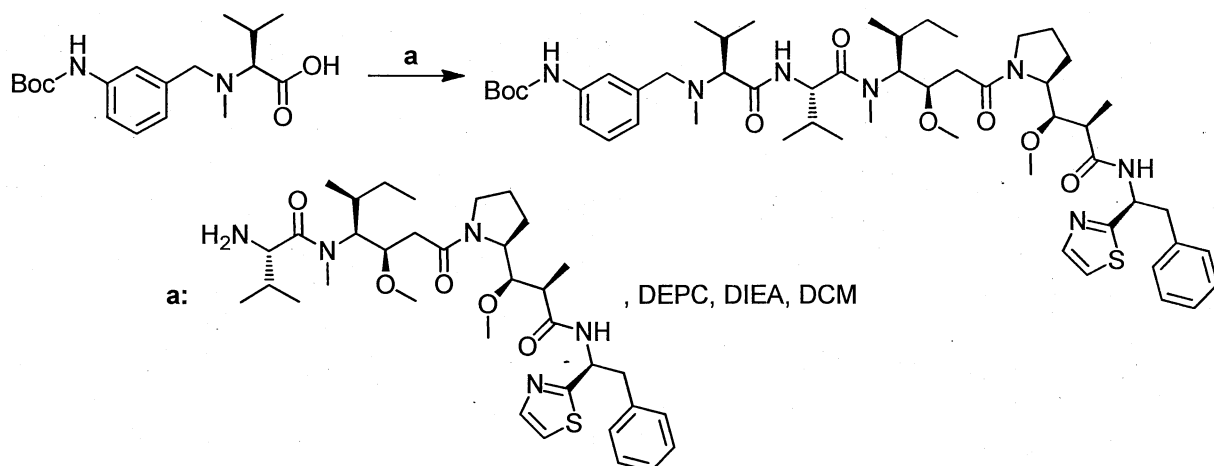
Hợp chất **14B** (1 g, 4,52 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 20 ml THF với sự có mặt của hợp chất **1ZC** (1,16 g, 4,50 mmol, 1,00 đương lượng), DIEA (3 ml) và NaBH(OAc)₃ (1,92 g, 9,06 mmol, 2,01 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường và sau đó, trung hòa bằng 100 ml nước và chiết 3 lần bằng 50 ml AcOEt. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (1:50) để thu được 1,9 g (99%) hợp chất **14C** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 14D: Axit (S)-2-((3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)benzyl)(metyl amino)-3-metylbutanoic



Hợp chất **14C** (1 g, 2,34 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 30 ml AcOEt và 4 ml metanol với sự có mặt của Pd/C (400 mg) và được hydro hóa trong 1 giờ ở nhiệt độ môi trường và áp suất khí quyển. Môi trường phản ứng này được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 680 mg (86%) hợp chất **14D** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 14E: *tert*-butyl (3-((3S,6S,9S,10R)-9-((S)-*sec*-butyl)-3,6-diisopropyl-10-(2-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxo-2-metyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)etyl)amino)propyl)pyrrolidin-1-yl)-2-oxoetyl)-2,8-dimetyl-4,7-dioxo-11-oxa-2,5,8-triazadodexyl)phenyl) carbamat



Hợp chất **14E** được tổng hợp theo cách giống như đối với hợp chất **3** từ amin **1Y** (100 mg, 0,15 mmol, 1,00 đương lượng), axit **14D** (102,27 mg, 0,30 mmol, 2,00 đương lượng), DEPC (0,053 ml) và DIEA (0,046 ml) trong DCM (3 ml). Sản phẩm thô (80 mg) được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (1:1) để thu được 100 mg (67%) hợp chất **14E** ở dạng chất rắn màu vàng xám.

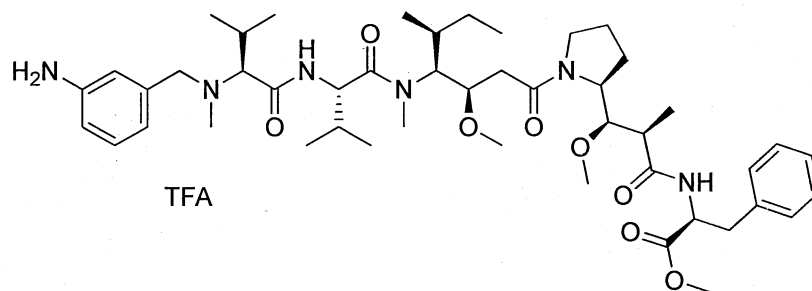
Ví dụ 14: Hợp chất **14** được tổng hợp theo cách tương tự như đối với hợp chất **2** từ hợp chất trung gian **14E** (100 mg, 0,10 mmol, 1,00 đương lượng). Sản phẩm thô (80 mg) được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **14** điều chế được với hiệu suất bằng 10% (10 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Eclipse plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 40°C; 1,0 ml / phút, 40% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 18 phút); ESI ($C_{48}H_{73}N_7O_6S$, khối lượng chính xác bằng 875,5) m/z : 876,5 (MH^+) và 438,9 ($M.2H^+/2$, 100%), 11,35 phút (95,6%, 210 nm).

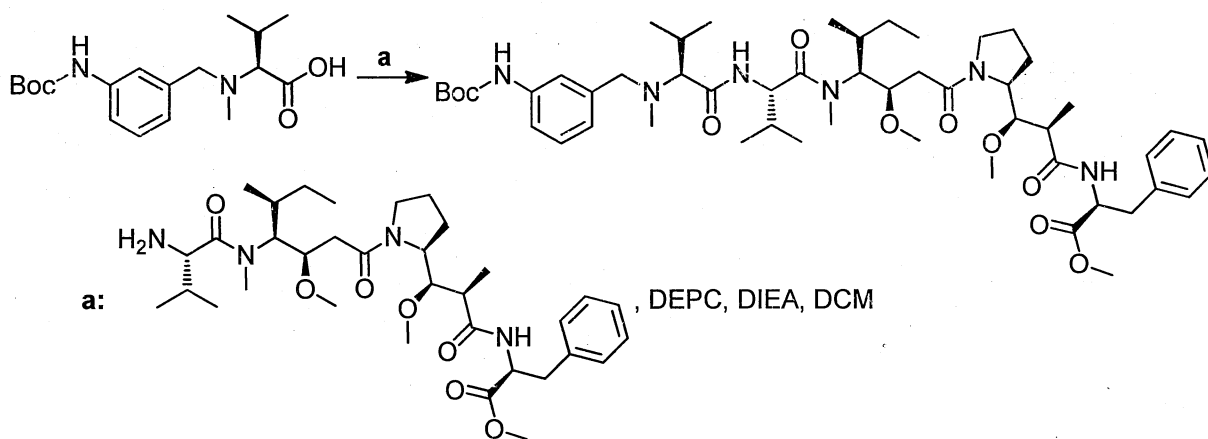
1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,92 - 8,86 (m, 0,4H, NH trao đổi không hoàn toàn); 8,70 - 8,54 (m, 0,6H, NH trao đổi không hoàn toàn); 7,88 - 7,78 (m, 1H); 7,60 - 7,50 (m, 1H); 7,45 - 6,97 (m, 9H); 5,80 - 5,65 (m, 1H); 4,85 - 4,70 (m, 1H); 4,40 - 0,80 (m, 56H).

Ví dụ 15

metyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminobenzyl) (metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoat, axit trifloaxetic



Ví dụ 15A: methyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)benzyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-*N*,3-dimethylbutanamido)-3-methoxy-5-methylheptanoyl)pyrolidin-2-yl)-3-methoxy-2-methylpropanamido)-3-phenylpropanoat



Hợp chất **15A** được tổng hợp theo cách giống như đối với hợp chất **3** từ amin **3D** (200 mg, 0,32 mmol, 1,00 đương lượng), axit **14D** (212,6 mg, 0,63 mmol, 2,00 đương lượng), DEPC (0,1103 ml) và DIEA (0,157 ml, 3,00 đương lượng) trong DCM (5 ml). Sản phẩm thô được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (1:1) để thu được 200 mg (67%) hợp chất **15A** ở dạng chất rắn màu vàng.

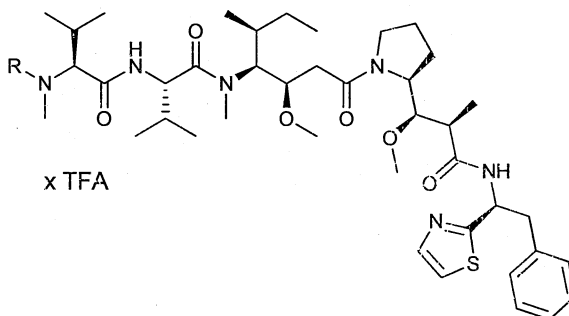
Ví dụ 15: Hợp chất **15** được tổng hợp theo cách giống như đối với hợp chất **2** từ hợp chất trung gian **15A** (200 mg, 0,21 mmol, 1,00 đương lượng). Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters UV 2545 ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **15** điều chế được với hiệu suất bằng 19% (38,6 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút);

ESI ($C_{47}H_{74}N_6O_8$, khối lượng chính xác bằng 850,5) m/z : 851,5 (MH^+) và 426,4 ($M.2H^+/2$, 100%), 6,61 phút (91,1%, 210 nm).

1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,53 - 7,42 (m, 1H); 7,35 - 7,18 (m, 8H); 4,88 - 4,79 (m, 2H); 4,42 - 4,00 (m, 3H); 3,93 - 2,71 (m, 22H); 2,61 - 0,81 (m, 33H).

Các ví dụ 19 và 20



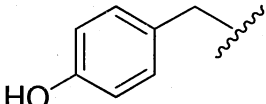
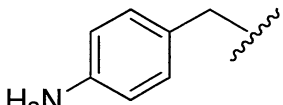
Các hợp chất **19** và **20** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **1**, từ các amin **1Y** và **1ZC** và các aldehyt tương ứng.

Tert-butyl 4-formylphenyl cacbonat tham gia trong quá trình điều chế hợp chất **19** được điều chế theo một bước như sau: 4-hydroxybenzaldehyt (2,5 g, 20,5 mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong môi trường khí trơ trong THF (20 ml) với sự có mặt của 18-vòng hoa-6 (0,25 g) và kali cacbonat (5 g). Hỗn hợp phản ứng này được làm lạnh xuống nhiệt độ $0^\circ C$, và sau đó, di-*tert*-butyl dicacbonat (5,8 g, 26,58 mmol, 1,30 đương lượng) được bổ sung vào. Tiếp tục khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ thấp sau đó, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng 30 ml nước. Dung dịch thu được được chiết ba lần bằng 200 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên silicagel (EtOAc/PE 1:10) và thu được 4,2 g (92%) *tert*-butyl 4-formylphenyl cacbonat ở dạng chất rắn màu vàng xám.

4-nitrobenzaldehyt tham gia trong quá trình điều chế hợp chất **20** là có bán trên thị trường.

Sự tổng hợp hợp chất **20** được hoàn thành bằng cách khử nhóm nitro. Quá trình này được thực hiện như sau: (2S)-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-[[[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]carbamoyl]-1-metoxi-2-metyletylpyrrolidin-1-yl]-3-metoxi-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*,3-dimetyl-2-[(2S)-

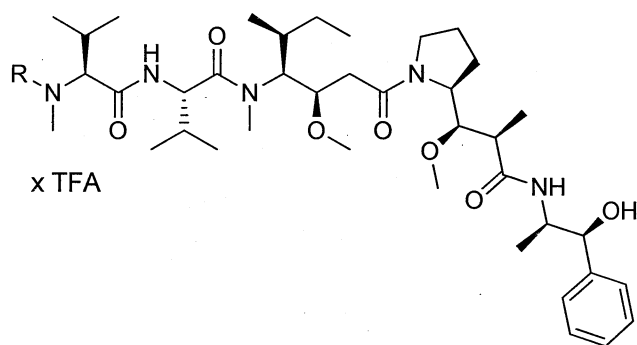
3-metyl-2-[metyl[(4-nitrophenyl)metyl]amino]butanamido]butanamit (40 mg, 0,05 mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 15 ml etanol. Thiếc clorua được dihydrat hóa (II) (317 mg, 1,4 mmol, 30 đương lượng) được bổ sung vào và dung dịch này được khuấy trong 3 ngày ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được trung hòa bằng 50 ml nước, sau đó, chiết ba lần bằng 50 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất **20** ở trạng thái thô.

Số	Tên	x	R	Độ tinh khiết*	Lượng
19	(S)-2-((S)-2-((4-hydroxybenzyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxo-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxo-2-metyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)etyl)amino)propyl)pyrolidin-1-yl)-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit, axit trifloaxetic	1		93,2%	21,6 mg
20	(S)-2-((S)-2-((4-aminobenzyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxo-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxo-2-metyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)etyl)amino)propyl)pyrolidin-1-yl)-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit, axit trifloaxetic	1		96,7%	21,1 mg

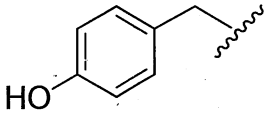
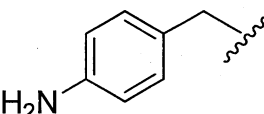
*Các hợp chất được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được muối TFA tương ứng ở dạng chất rắn màu trắng.

Mô tả đặc điểm của các sản phẩm cuối: Hợp chất **19** LC/MS/UV ESI: ($C_{48}H_{72}N_6O_7S$, khối lượng chính xác bằng 876,52) m/z 877 (MH^+), 439 [100%, ($M.2H^+$)/2]; UV: RT = 1,76 phút (93,2%, 220 nm). Hợp chất **20** 1H NMR: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,85–7,80 (m, 1H); 7,6–7,5 (m, 1H); 7,4–7,15 (m, 5H); 7,1–7,05 (m, 2H); 6,73–6,70 (m, 2H); 5,8–5,55 (m, 1H); 5,0–4,7 (m, 2H); 4,25–4,05 (m, 1H); 4,0–0,8 (m, 54H). LC/MS/UV ESI: ($C_{48}H_{73}N_7O_7S$, khối lượng chính xác bằng 875,53) m/z 876 (MH^+), 439 [75%, ($M.2H^+$)/2]; UV: RT = 4,83 phút (96,8%, 254 nm). 1H NMR (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,85–7,80 (m, 1H); 7,6–7,5 (m, 1H); 7,4–7,1 (m, 7H); 6,76–6,72 (m, 2H); 5,8–5,55 (m, 1H); 4,9–4,65 (m, 2H); 4,25–4,05 (m, 1H); 4,0–0,8 (m, 54H).

Các ví dụ 23 và 24



Các hợp chất **23** và **24** được điều chế theo cách giống như đối với các hợp chất **19** và **20**, thay thế amin **1Y** bằng amin **2D**.

Số	Tên	x	R	Độ tinh khiết*	Lượng
23	(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)-2-((S)-2-((4-hydroxybenzyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-N,3-dimethylbutanamit, axit trifloaxetic	1		98,5%	5,8 mg
24	(S)-2-((S)-2-((4-aminobenzyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimethylbutanamit, axit trifloaxetic	1		99,1%	6,9 mg

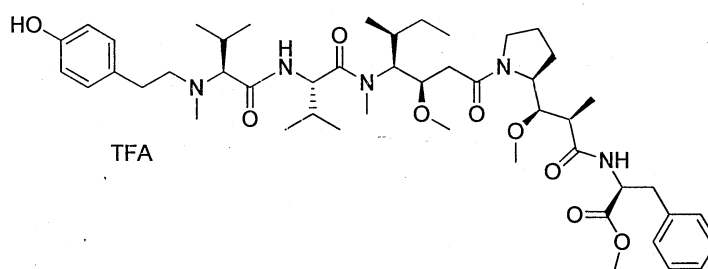
*Các hợp chất được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được muối TFA tương ứng ở dạng chất rắn màu trắng.

Mô tả đặc điểm của các sản phẩm cuối: Hợp chất **23** LC/MS/UV (ESI) ($C_{46}H_{73}N_5O_8$, khối lượng chính xác bằng 823,55) m/z 824 (MH^+), 846 (MNa^+), 413 (100%, ($M.2H^+$)/2); UV: 4,76 phút (98,5%, 215 nm). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,5–7,2 (m, 5H); 7,9–7,75 (m, 2H); 5,5–5,3 (m, 1H); 4,9–4,6 (m, 2H); 4,55–4,15 (m, 4H); 4,0–0,8 (m, 55H). Hợp chất **24** LC/MS/UV (ESI) ($C_{46}H_{74}N_6O_7$, khối lượng chính xác bằng 822,56) m/z 823 (MH^+), 845 (MNa^+), 861 (MK^+); UV: 3,68 phút (99,15%, 254 nm). 1H NMR (400

MHz, CD₃OD, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,0–7,7 (m, 0,5H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 7,5–7,0 (m, 7H); 6,75–6,65 (m, 2H); 4,85–4,5 (m, 2H); 4,4–4,05 (m, 2H); 4,0–0,8 (m, 56H).

Ví dụ 27

metyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-hydroxyphenethyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoat, axit trifloaxetic



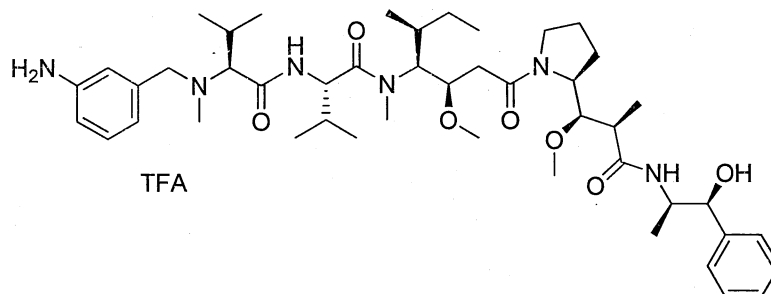
Ví dụ 27: Hợp chất **27** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **3** từ amin **3D** (70 mg, 0,11 mmol, 1,00 đương lượng), axit **49C** (55,5 mg, 0,22 mmol, 2,00 đương lượng), DEPC (0,034 ml, 2,00 đương lượng) và DIEA (0,055 ml, 3,00 đương lượng) trong DCM (3 ml). Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 45% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **27** điều chế được với hiệu suất bằng 3% (2,9 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Eclipse Plus C8, 3,5 μ m, 4,6 x 150 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI (C₄₈H₇₅N₅O₉, khối lượng chính xác bằng 866,56) m/z : 866,5 (MH⁺) và 433,9 (M.2H⁺/2, 100%), 6,61 phút (89,1%, 210 nm).

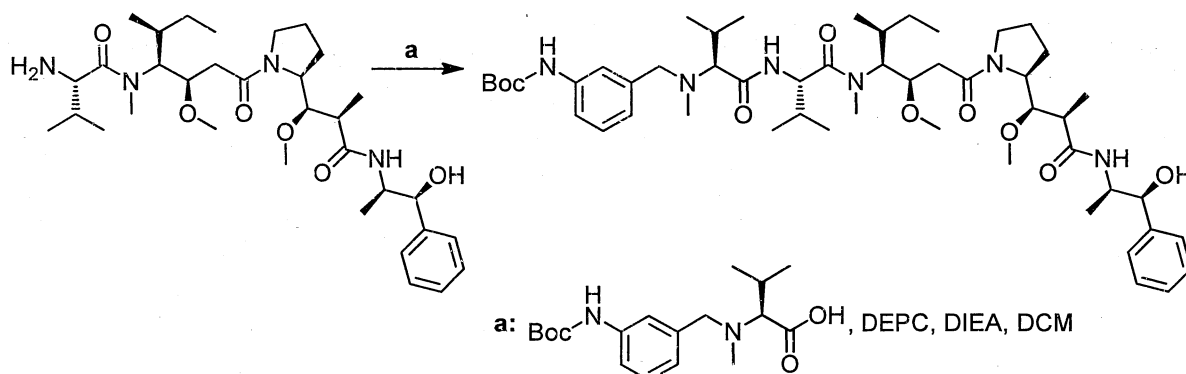
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,70 - 8,49 (m, 0,9 H, NH/OH trao đổi không hoàn toàn); 8,30 - 8,22 (m, 0,3H, NH trao đổi không hoàn toàn); 7,36 - 7,02 (m, 7H); 6,86 - 6,62 (m, 2H); 4,82 - 4,69 (m, 2H); 4,20 - 4,03 (m, 1H); 3,91 - 3,33 (m, 12H); 3,30 - 2,90 (m, 17H); 2,55 - 0,80 (m, 35H).

Ví dụ 28

(S)-2-((S)-2-((3-aminobenzyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-metoxi-2-metyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-metoxi-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit, axit trifloaxetic



Ví dụ 28A: *tert*-butyl (3-((3S,6S,9S,10R)-9-((S)-*sec*-butyl)-10-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-metoxi-2-metyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-2-oxoetyl)-3,6-diisopropyl-2,8-dimetyl-4,7-dioxo-11-oxa-2,5,8-triazadodexyl)phenyl)carbamit



Hợp chất **28A** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **3** từ amin **2D** (100 mg, 0,17 mmol, 1,00 đương lượng), axit **14D** (111,25 mg, 0,33 mmol, 2,00 đương lượng), DEPC (0,058 ml) và DIEA (0,05 ml) trong DCM (3 ml). Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và hexan (1:1) để thu được 100 mg (66%) hợp chất **28A** ở dạng chất rắn màu trắng.

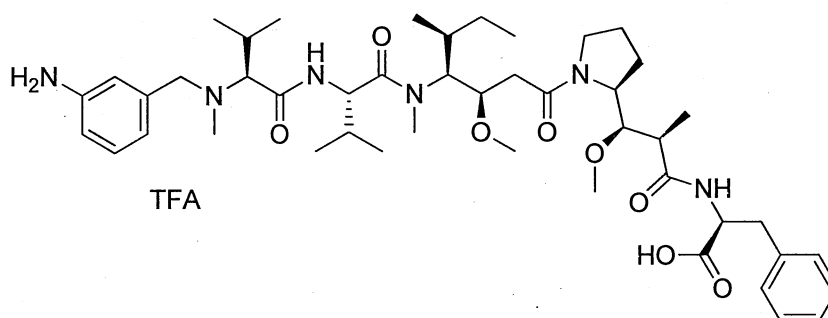
Ví dụ 28: Hợp chất **28** được tổng hợp theo cách giống như đối với hợp chất **2** từ hợp chất trung gian **28A** (100 mg, 0,11 mmol, 1,00 đương lượng). Sản phẩm thô (80 mg) được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **28** điều chế được với hiệu suất bằng 20% (20 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μm , 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI ($\text{C}_{46}\text{H}_{74}\text{N}_6\text{O}_7$, khối lượng chính xác bằng 822,56) m/z : 823,5 (MH^+) và 412,4 ($\text{M.2H}^+/2$, 100%), 12,45 phút (87,2%, 210 nm).

^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,47 - 7,20 (m, 5H); 7,10 - 7,01 (m, 1H); 6,80 - 6,56 (m, 3H); 4,82 - 4,52 (m, 3H); 4,33 - 4,03 (m, 2H); 3,91 - 3,82 (m, 0.5H); 3,75 - 3,35 (m, 9.5H); 3,28 - 3,10 (m, 2H); 2,79 - 2,90 (m, 1H); 2,60 - 2,40 (m, 2H); 2,30 - 0,80 (m, 40H).

Ví dụ 29

Axit (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((3-aminobenzyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxymetylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxymetylpropanamido)-3-phenylpropanoic, axit trifloaxetic



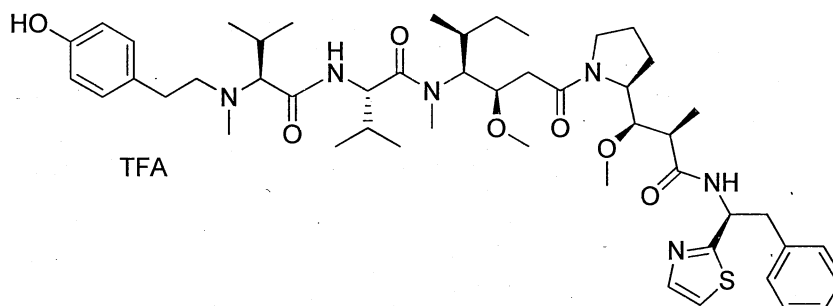
Ví dụ 29: Hợp chất **15** (100 mg, 0,10 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong hỗn hợp gồm nước (5 ml), ACN (5 ml) và piperidin (2,5 ml). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường và sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μm , 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được 20 mg (20%) hợp chất **29** ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Eclipse Plus C8, 3,5 μm , 4,6 x 150 mm; 40°C; 1,0 ml/phút, 40% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 18 phút); ESI ($\text{C}_{46}\text{H}_{72}\text{N}_6\text{O}_8$, khối lượng chính xác bằng 836,54) m/z : 837,5 (MH^+) và 419,4 ($\text{M.2H}^+/2$, 100%), 10,61 phút (92,5%, 210 nm).

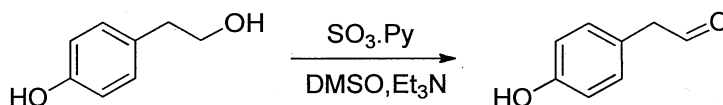
^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,38 - 7,15 (m, 6H); 7,00 - 6,99 (m, 3H); 4,85 - 4,68 (m, 2H); 4,37 - 3,38 (m, 11H); 3,31 - 2,70 (m, 8H); 2,60 - 0,82 (m, 35H).

Ví dụ 49

(S)-2-((S)-2-((4-hydroxyphenetyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)etyl)amino)propyl)pyrrolidin-1-yl)-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit, axit trifloaxetic

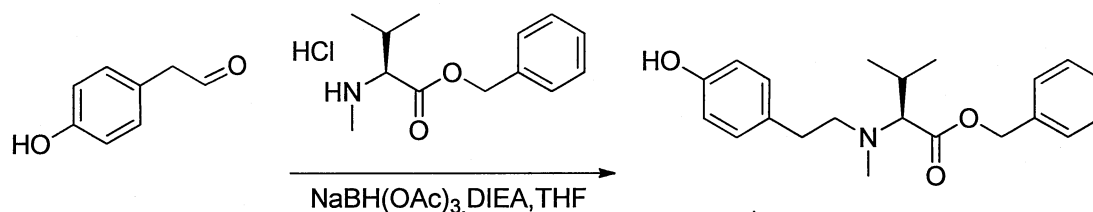


Ví dụ 49A: 2-(4-hydroxyphenyl)axetaldehyt



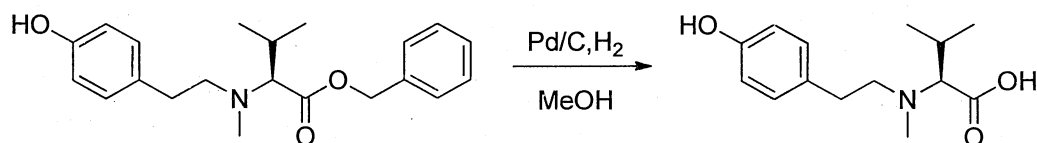
4-(2-hydroxyetyl)phenol (4 g, 28,95 mmol, 1,00quiv) được hòa tan trong DMSO (32 ml) và sau đó, TEA (8,8 ml, 2,20 đương lượng) được bổ sung từng giọt vào. Dung dịch chứa $\text{SO}_3\cdot\text{Py}$ (10 g, 2,20 đương lượng) trong DMSO (36 ml) được bổ sung vào và hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng này được trung hòa bằng 250 ml nước và được chiết 3 lần bằng 100 ml AcOEt. Các pha hữu cơ được gộp lại, rửa 5 lần bằng nước (100 ml) sau đó, hai lần bằng 150 ml NaCl (sat.), làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên silicagel (EtOAc/PE (1:10)) để thu được 1 g (25%) hợp chất **49A** ở dạng dầu không màu.

Ví dụ 49B: benzyl (S)-2-((4-hydroxyphenetyl)(metyl)amino)-3-metylbutanoat



Hợp chất **49B** được tổng hợp theo cách giống như đối với hợp chất **14C** từ amin **1ZC** (1,5 g, 5,82 mmol, 0,99 đương lượng), aldehyt **49A** (800 mg, 5,88 mmol, 1,00 đương lượng), $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (2,7 g, 12,74 mmol, 2,17 đương lượng) và DIEA (4,23 ml) trong THF (25 ml). Hỗn hợp phản ứng này được trung hòa bằng 50 ml nước và được chiết 3 lần bằng 50 ml AcOEt. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Cặn được tinh chế trên silicagel (EtOAc/PE (1:10)) để thu được 600 mg (37%) hợp chất **49B** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 49C: Axit (S)-2-((4-hydroxyphenetyl)(metyl)amino)-3-metylbutanoic



Hợp chất **49B** (0,5 g, 1,46 mmol, 1,00 đương lượng) được hòa tan trong 40 ml MeOH với sự có mặt của Pd/C (250 mg) và được hydro hóa trong 3 giờ ở nhiệt độ môi trường và áp suất khí quyển. Môi trường phản ứng được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 0,4 g hợp chất **49C** ở dạng chất rắn màu trắng.

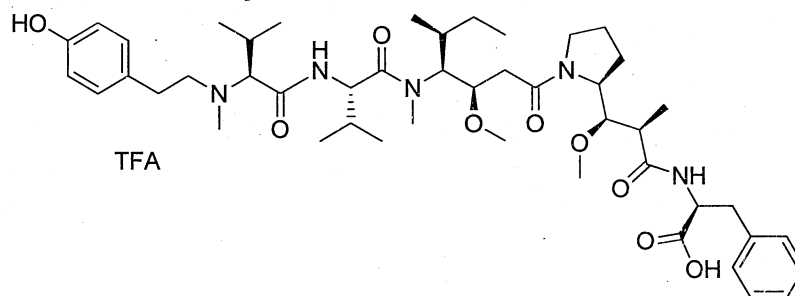
Ví dụ 49: Hợp chất **49** được tổng hợp theo cách giống như đối với hợp chất **3** từ amin **1Y** (53,4 mg, 0,08 mmol, 2,00 đương lượng), axit **49C** (70 mg, 0,28 mmol, 1,00 đương lượng), DEPC (0,032 ml, 2,00 đương lượng) và DIEA (0,053 ml, 3,00 đương lượng) trong DCM (3 ml). Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột Atlantis Prep OBD T3, 5 μm , 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 45% ACN trong 10 phút sau đó, 45% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được 3 mg (1%) hợp chất **49** ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μm , 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI ($\text{C}_{49}\text{H}_{74}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}$, khối lượng chính xác bằng 890,5) m/z : 891,5 (MH^+) và 446,4 ($\text{M.2H}^+/2$, 100%), 6,69 phút (100%, 210 nm).

^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,92 - 8,87 (m, 0,5 H, NHCO, trao đổi không hoàn toàn), 8,70 - 8,63 (m, 0,4 H, NHCO, trao đổi không hoàn toàn), 8,85 - 8,77 (m, 1H), 7,59 - 7,51 (m, 1H), 7,35 - 7,03 (m, 7H), 6,82 - 6,71 (m, 2H), 5,77 - 5,58 (m, 1H), 5,81 - 5,70 (m, 1H), 4,21 - 0,80 (m, 58H).

Ví dụ 50

Axit (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-hydroxyphenethyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoic, axit trifloaxetic



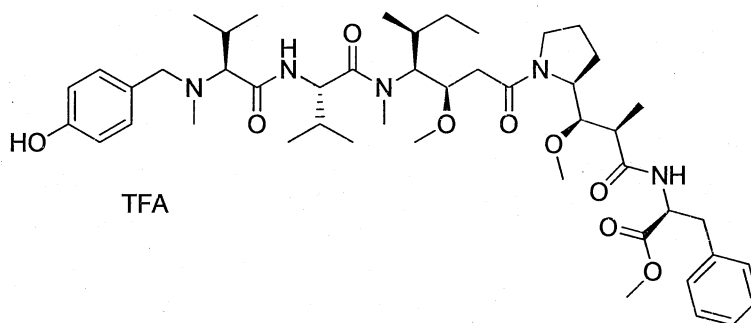
Ví dụ 50: Hợp chất **50** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **4**, từ hợp chất **27** (100 mg, 0,10 mmol, 1,00 đương lượng). Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-001 SHIMADZU, cột Atlantis Prep OBD T3, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đậm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 20% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 100% ACN trong 2 phút; detector Waters 2545 UV ở 254 nm và 220 nm), để thu được 10,7 mg (11%) hợp chất **50** ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (cột Ascentis Express C18, 2,7 μ m, 4,6 x 100 mm; 40°C; 1,5 ml/phút, 10% đến 95% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 8 phút); ESI ($C_{47}H_{73}N_5O_9$, khối lượng chính xác bằng 851,5) m/z : 852,5 (MH^+) và 426,8 ($M.2H^+/2$, 100%), 6,46 phút (91,7%, 210 nm).

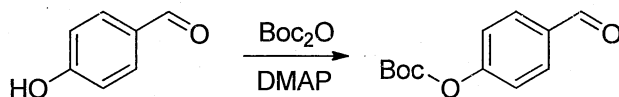
1H NMR: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 7,34 - 7,15 (m, 5H); 7,15 - 7,04 (se, 2H), 6,82 - 6,83 (m, 2H), 4,83 - 4,70 (m, 1H), 4,21 - 4,00 (m, 1H), 3,90 - 3,80 (m, 1H), 3,74 - 3,62 (m, 1H), 3,57 - 2,86 (m, 20H), 2,56 - 0,80 (m, 36H).

Ví dụ 51

metyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-hydroxybenzyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanamido)-3-phenylpropanoat, axit trifloaxetic

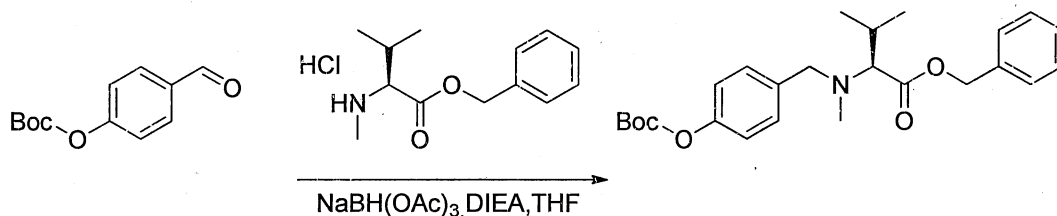


Ví dụ 51A: *tert*-butyl (4-formylphenyl)carbonat



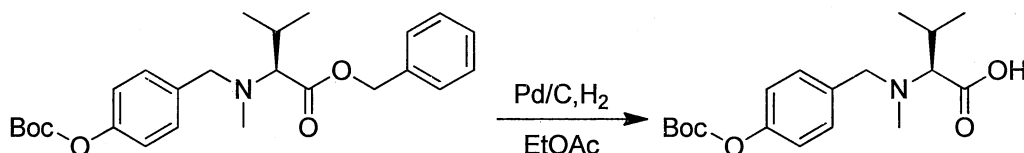
4-hydroxybenzaldehyt (3,0 g, 24 mmol) được hòa tan trong 30 ml DCM với sự có mặt của 4-DMAP (300 mg, 2,46 mmol, 0,1 equiv.) và di-*tert*-butyl dicacbonat (5,35 g, 24 mmol, 1,0 equiv.) và được khuấy 1 giờ ở nhiệt độ môi trường. Sau đó, dung dịch này được pha loãng bằng 200 ml nước và chiết 3 lần bằng 100 ml DCM. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được 5 g (92%) hợp chất **51A** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 51B: benzyl (S)-2-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)benzyl)(metyl) amino)-3-metylbutanoat



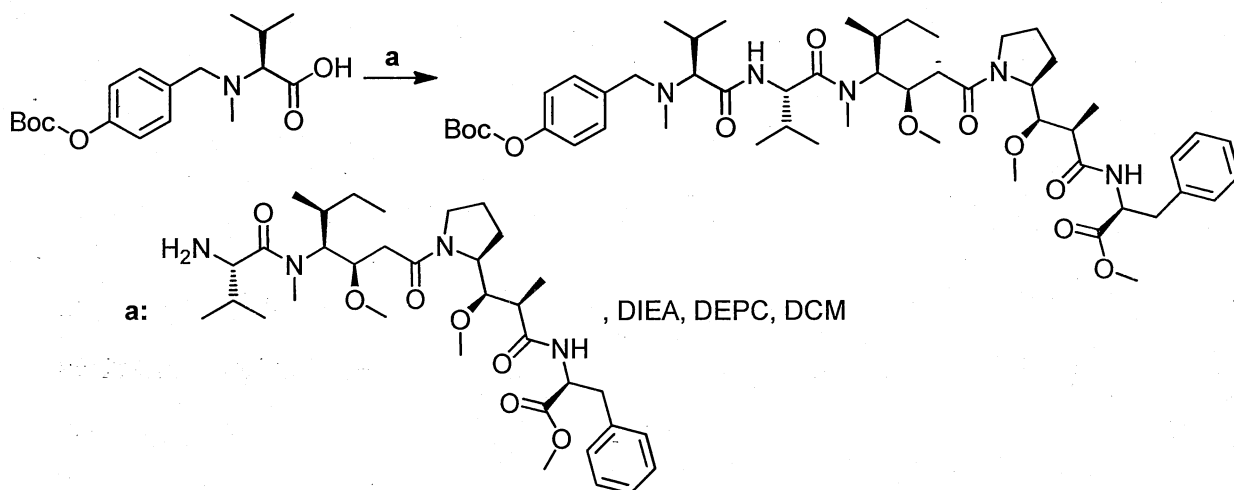
Hợp chất **51A** (220 mg, 0,99 mmol) được hòa tan trong 5 ml THF với sự có mặt của hợp chất **1ZC** (255 mg, 0,99 mmol, 1,0 equiv.), NaBH(OAc)₃ (420 mg, 2 mmol, 2,0 equiv.) và DIEA (654 μ l) và được khuấy qua đêm ở nhiệt độ môi trường. Sau đó, dung dịch này được pha loãng bằng 100 ml nước và chiết 3 lần bằng 50 ml EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế trên cột silic oxit bằng hỗn hợp gồm EtOAc và PE (1:100) để thu được 200 mg (47%) hợp chất **51B** ở dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 51C: Axit (S)-2-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)benzyl)(metyl)amino)-3-metyl butanoic



Hợp chất **51C** được điều chế bằng cách hydro hóa hợp chất **51B** (200 mg), theo quy trình được sử dụng để điều chế hợp chất **3F**.

Ví dụ 51D: methyl (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)oxy)benzyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-*N*,3-dimethylbutanamido)-3-methoxy-5-methylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-methoxy-2-methylpropanamido)-3-phenylpropanoat



Hợp chất **51D** được điều chế bằng cách ghép cặp hợp chất **51C** với amin **3D**, theo quy trình được sử dụng để điều chế hợp chất **3** để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng dầu màu vàng với hiệu suất bằng 60%.

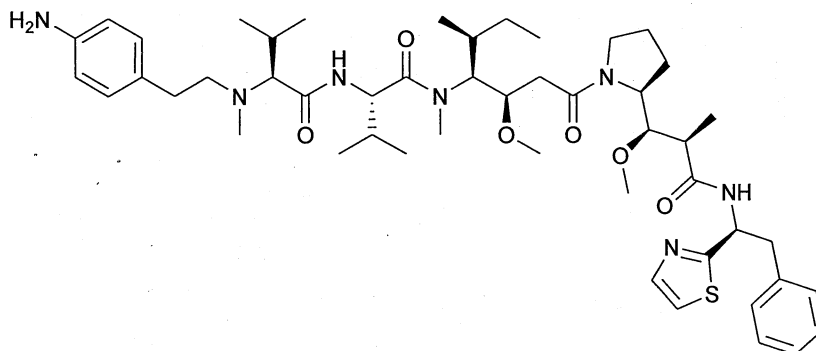
Ví dụ 51: Hợp chất **51D** (80 mg, 0,08 mmol) được hòa tan trong 1 ml DCM với sự có mặt của 0,5 ml TFA, được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ môi trường và sau đó, cô dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pre-HPLC-010, cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha rửa giải: nước/ACN được đệm bằng TFA 0,05%; gradient gồm 23% đến 40% ACN trong 10 phút sau đó, 40% đến 95% ACN trong 2 phút; detector Waters 2489 UV ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **51** điều chế được với hiệu suất bằng 24% (20 mg) ở dạng chất rắn màu trắng.

LC/MS/UV (Zorbax SB-Aq, 1,8 μ m, 4,6 x 100 mm; 2% MeOH trong nước (TFA 0,05%) trong 1 phút sau đó, 2% đến 95% MeOH trong 13 phút); ESI ($C_{47}H_{73}N_5O_9$, khối lượng chính xác bằng 851,54) m/z : 874,5 (MNa^+), 426,9 ($M.2H^+/2$); 12,48 phút (96%, 210 nm).

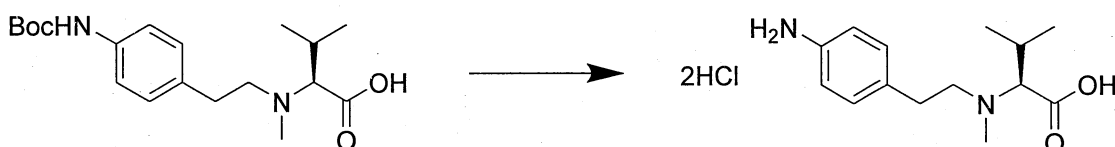
1H NMR: (300 MHz, CD_3OD , ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học) 8,1 - 8,6 (m, 0,9H, NHCO trao đổi không hoàn toàn); 7,29 - 7,27 (m, 2H), 7,25 - 6,86 (m, 5H), 6,84 - 6,83 (m, 2H), 4,83 - 4,72 (m, 3H), 4,26 - 0,82 (m, 58H).

Ví dụ 61

(S)-2-((S)-2-((4-aminophenethyl)(methyl)amino)-3-methylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-methoxy-1-((S)-2-((1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-(((S)-2-phenyl-1-(thiazol-2-yl)ethyl)amino)propyl)pyrrolidin-1-yl)-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimethylbutanamit



Ví dụ 61A: *N*-(4-aminophenethyl)-*N*-methyl-*L*-valin dihydroclorua



Hợp chất **11D** (962 mg, 2,75 mmol) được hòa tan trong 10 ml dung dịch HCl trong propan-2-ol (5 - 6 M) có bán trên thị trường, và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Phân tích TLC cho thấy nguyên liệu ban đầu được tiêu thụ hoàn toàn. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và chất rắn màu vàng thu được được nghiền với Et₂O (2 x 10 ml). Sản phẩm này được làm khô trong chân không để tạo ra hợp chất **61A** dưới dạng chất rắn màu vàng (322 mg, 47%).

Ví dụ 61: Axit carboxylic **61A** (73 mg, 0,23 mmol, 1 eq.) và amin **1Y** (150 mg, 0,23 mmol, 1 eq.) được hòa tan trong DMF khô (2 ml). DIEA (158 μ l, 0,90 mmol, 4 eq.) và DECP (51 μ l, 0,34 mmol, 1,5 eq.) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Phân tích bằng LC-MS cho thấy nguyên liệu ban đầu được tiêu thụ hoàn toàn. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (DCM/MeOH) để tạo ra hợp chất **61** dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (83 mg, 40%).

¹H NMR: (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học), 8,86 (d, 0,5H, NHCO); 8,65 (d, 0,5H, NHCO), 8,11-8,05 (m, 1H, NHCO), 7,80 (d, 0,5H, thiazol), 7,78 (d, 0,5H, thiazol), 7,65 (d, 0,5H, thiazol), 7,63 (d, 0,5H,

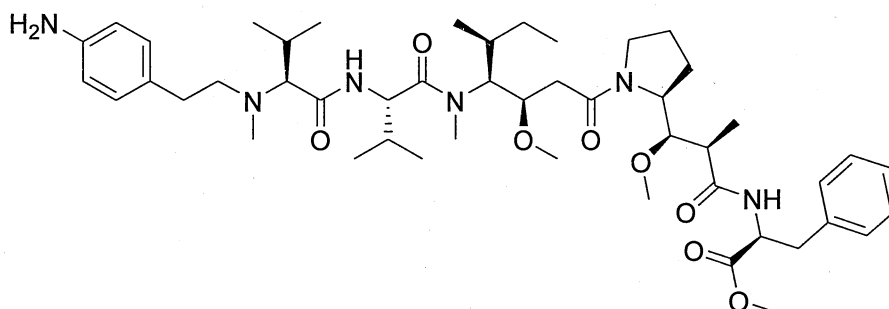
thiazol), 7,32 – 7,12(m, 5H), 6,83 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 6,45 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 5,56 – 5,49 (m, 0,5 H), 5,42 – 5,35 (m, 0,5H), 4,78 (s, 2H, NH_2), 4,74 – 4,46 (m, 2H), 4,01 – 0,66 (m, 57H).

HPLC (Xbridge Shield C18, 3,5 μm , 4,6 x 50 mm ; 3,5 ml/phút, 40°C, 0 đến 95% MeCN trong nước (TFA 0,1%) trong 2,25 phút sau đó, 95% MeCN trong 0,5 phút, Tr = 1,31 phút (96,5%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI⁺) .890,5558 (2%, MH^+ , $\text{C}_{49}\text{H}_{76}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}$ yêu cầu 890,5572), 445,7834 (100%, $(\text{MH}_2)^{2+}$, $\text{C}_{49}\text{H}_{77}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}$ yêu cầu 445,7823).

Ví dụ 62

Metyl ((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-aminophenetyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-*N*,3-dimetylbutanamido)-3-metoxo-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxo-2-metylpropanoyl)-*L*-phenylalaninat



Ví dụ 62: Hợp chất **62** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **61**, bằng cách sử dụng axit carboxylic **61A** (69 mg, 0,21 mmol, 1 eq.), amin **3D** (135 mg, 0,21 mmol, 1 eq.), DIEA (75 μl , 0,43 mmol, 2 eq.) và DECP (49 μl , 0,32 mmol, 1,5 eq.). Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (DCM/MeOH) để tạo ra hợp chất **62** dưới dạng chất rắn màu hơi vàng (82 mg, 45%).

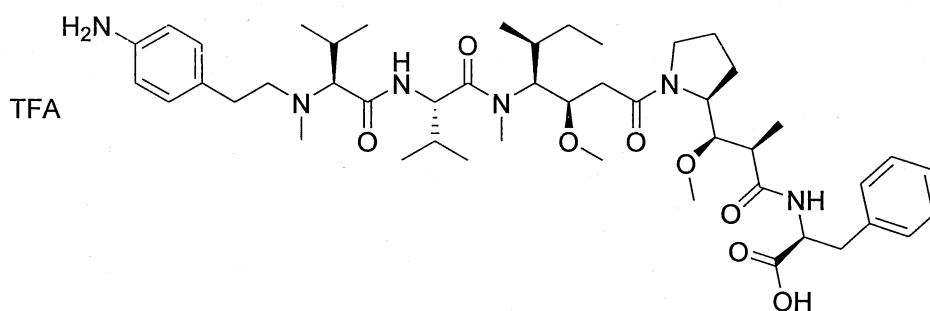
^1H NMR: (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học), 8,50 (d, $J=8,3$, 0,5H, NHCO); 8,27 (d, $J=8,0$, 0,5H, NHCO), 8,15-8,04 (m, 1H, NHCO), 7,27 – 7,13 (m, 5H), 6,86 – 6,79 (m, 2H), 6,48 – 6,42 (m, 2H), 4,78 (s, 2H, NH_2), 4,74 – 4,44 (m, 3H), 4,01 – 3,72 (m, 1,5H), 3,66 (s, 1,5H, CO_2Me), 3,63 (s, 1,5H, CO_2Me), 3,57 - 0,65 (m, 55,5H).

HPLC (Xbridge Shield C18, 3,5 μ m, 4,6 x 50 mm ; 3,5 ml/phút, 40°C, 0 đến 95% MeCN trong nước (TFA 0,1%) trong 2,25 phút sau đó, 95% MeCN trong 0,5 phút, Tr = 1,29 phút (95,3%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI⁺) 865,5800 (2%, MH⁺, C₄₈H₇₇N₆O₈ yêu cầu 865,5797), 433,2937 (100%, (MH₂)²⁺, C₄₈H₇₈N₆O₈ yêu cầu 433,2935).

Ví dụ 63

((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-((4-aminophenetyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N,3-dimetylbutanamido)-3-metoxi-5-metylheptanoyl)pyrrolidin-2-yl)-3-metoxi-2-metylpropanoyl)-L-phenylalanin 2,2,2-trifloaxetat



Ví dụ 63: Hợp chất **62** (23 mg, 0,03 mmol) được hòa tan trong hỗn hợp gồm nước (1 ml) và axetonitril (1 ml). Piperidin (0,75 ml) được bổ sung vào và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Phân tích TLC cho thấy nguyên liệu ban đầu được tiêu thụ hoàn toàn. Dung môi này được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột SunFire Prep C18 OBD, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha động: nước/MeCN được đệm bằng TFA 0,1%; gradient gồm 20% đến 40% MeCN trong 10 phút, sau đó, từ 40% đến 100% MeCN trong 2 phút; detector UV Waters 2545 ở 254 nm và 220 nm). Hợp chất **63** điều chế được dưới dạng chất rắn màu trắng (14 mg, 66%).

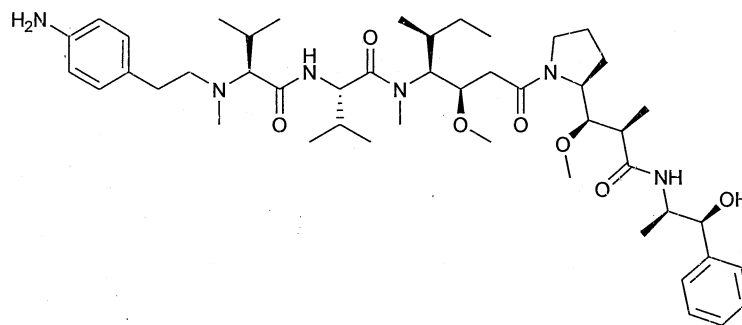
¹H NMR: (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học), 12,7 (s(br), 1H, CO₂H), 9,58 (m(br), 1H); 9,04 – 8,89 (m, 1H), 8,41 (d, 0,6H, NHCO), 8,15 (d, 0,4H, NHCO), 7,27 – 7,13(m, 5H), 7,13 – 6,99 (m(br), 2H), 6,90 – 6,64 (s(br), 2H), 4,77 – 3,40 (m, 10H), 3,34 – 2,75 (m, 20H), 2,34 – 1,94 (m, 4H), 1,90 – 0,7 (m, 25H).

HPLC (Xbridge Shield C18, 3,5 μ m, 4,6 x 50 mm ; 3,5 ml/phút, 40°C, 0 đến 95% MeCN trong nước (TFA 0,1%) trong 2,25 phút sau đó, 95% MeCN trong 0,5 phút, Tr = 1,24 phút (100%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI⁺) 851,5641 (6%, MH⁺, C₄₇H₇₅N₆O₈ yêu cầu 851,5641), 426,2854 (100%, (MH₂)²⁺, C₄₇H₇₆N₆O₈ yêu cầu 426,2857).

Ví dụ 64

(S)-2-((S)-2-((4-aminophenetyl)(metyl)amino)-3-metylbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl)amino)-1-metoxi-2-metyl-3-oxopropyl)pyrrolidin-1-yl)-3-metoxi-5-metyl-1-oxoheptan-4-yl)-N,3-dimetylbutanamit



Hợp chất **64** được điều chế theo cách giống như đối với hợp chất **61**, bằng cách sử dụng axit carboxylic **61A** (93 mg, 0,29 mmol, 1 eq.), amin **2D** (174 mg, 0,29 mmol, 1 eq.), DIEA (100 μ l, 0,58 mmol, 2 eq.) và DECP (66 μ l, 0,43 mmol, 1,5 eq.). Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (DCM/MeOH) để tạo ra hợp chất **64** dưới dạng chất rắn màu trắng nhò (51 mg, 21%).

¹H NMR: (500 MHz, DMSO-*d*₆, ppm): δ (có mặt các chất đồng phân hình học), 9,61 (m(br), 1H); 9,05 – 8,89 (m, 1H), 7,93 (d, 0,6H, NHCO), 7,64 (d, 0,4H, NHCO), 7,36 – 6,98 (m, 7H), 6,92 – 6,70 (m(br), 2H), 5,45 (s(br), 1H), 4,80 – 4,41 (m, 3H), 4,06 – 3,44 (m, 4H), 3,37 – 2,79 (m, 18H), 2,45 – 2,21 (m, 3H), 2,17 – 0,70 (m, 35H).

HPLC (Xbridge Shield C18, 3,5 μ m, 4,6 x 50 mm; 3,5 ml/phút, 40°C, 0 đến 95% MeCN trong nước (TFA 0,1%) trong 2,25 phút sau đó, 95% MeCN trong 0,5 phút, Tr = 1,20 phút (100%, 220 nm).

m/z (Q-TOF ESI⁺) 837,5826 (33%, MH⁺, C₄₇H₇₇N₆O₇ yêu cầu 837,5848), 419,2956 (100%, (MH₂)²⁺, C₄₇H₇₆N₆O₈ yêu cầu 419,2961).

II - Hoạt tính sinh học của các hợp chất theo sáng chế

Phương pháp:

Nuôi cấy tế bào. Các tế bào A549 (ung thư phổi không phải tế bào nhỏ - ATCC CCL-185) và MDA-MB-231 (caxinom tuyến vú - ATCC HTB-26) lần lượt được nuôi cấy trong môi trường cần thiết tối thiểu Eagle (Minimum Essential Medium - MEM) chứa 5% huyết thanh thai bê (fetal calf serum - FCS) và môi trường Eagle cải tiến của Dulbecco (Dulbecco's modified Eagle Medium - DMEM) chứa 10% FCS. Các tế bào MCF7 (caxinom tuyến vú - ATCC HTB-22) và SN-12C (caxinom thận - ATCC) được duy trì trong môi trường RPMI1640 (không chứa đỏ phenol đối với tế bào MCF7) chứa 10% FCS. Tất cả các môi trường được bổ sung fungizone (1,25 µg/ml) và penixilin-streptomycin (100 U / 100 µg/ml). Các tế bào được nuôi cấy dưới các điều kiện chuẩn trong tủ ủ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ và độ ẩm không khí là 95%.

Hoạt tính chống tăng sinh trên 4 dòng tế bào khối u. Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm hoạt tính chống tăng sinh của chúng bằng cách sử dụng thử nghiệm tăng sinh ATPlite (Perkin Elmer, Villebon sur Yvette, France) trên bảng tổng hợp gồm 4 dòng tế bào. Các tế bào được gieo cấy trong đĩa 96 lỗ (10³ tế bào/lỗ đối với A549, 2,10³ đối với MCF7, MDA-MB-231 và SN12C) ở ngày 0 và ở nồng độ để bảo đảm các tế bào duy trì theo pha sinh trưởng tế bào logarit trong suốt giai đoạn xử lý bằng được chất trong 72 giờ. Sau khoảng thời gian ủ là 24 giờ, tất cả các tế bào được xử lý bằng các hợp chất thử nghiệm được pha loãng liên tiếp (11 µL dung dịch 10X trong 1% DMSO - 6 lỗ/ điều kiện). Để tránh dính các hợp chất trên đầu nút, các đầu nút được thay đổi giữa hai lần pha loãng liên nhau. Sau đó, các tế bào được đặt trong tủ ủ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂. Vào ngày 4, khả năng sống của tế bào được đánh giá bằng cách đo liều ATP được giải phóng bởi các tế bào có thể sống được. Số tế bào có thể sống được được phân tích so với số tế bào được xử lý bằng dung môi. Các trị số EC₅₀ được xác định bằng phân tích khớp đường cong (mô hình hồi quy không tuyến tính với đáp ứng liều dạng chữ S, hệ số góc của đường cong biến đổi),

được thực hiện bằng thuật toán do phần mềm GraphPad tạo ra (GraphPad Software Inc., CA, USA).

Kết quả:

Các hợp chất khác nhau:

Các hợp chất khác nhau theo sáng chế được thử nghiệm để xác định hoạt tính chống tăng sinh của chúng trên dòng tế bào MDA-MB-231 theo phương pháp được mô tả trên đây. Các hoạt tính đo được có trị số $EC_{50} < 0,1\mu M$.

Vài ví dụ sau được chọn trong số các hợp chất theo sáng chế có đặc tính chống tăng sinh hoàn toàn đặc biệt:

Ví dụ 12: $EC_{50} = 5,80 \times 10^{-10}$ M; Ví dụ 13: $EC_{50} = 7,95 \times 10^{-8}$ M; Ví dụ 15: $EC_{50} = 1,70 \times 10^{-10}$ M; Ví dụ 27: $EC_{50} = 1,20 \times 10^{-10}$ M.

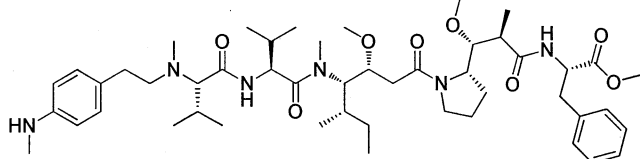
Các dòng tế bào khác nhau:

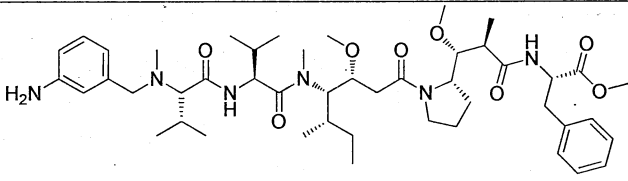
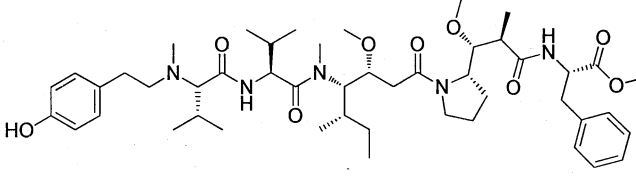
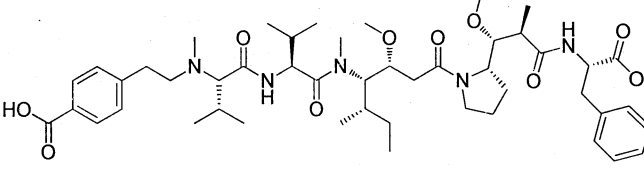
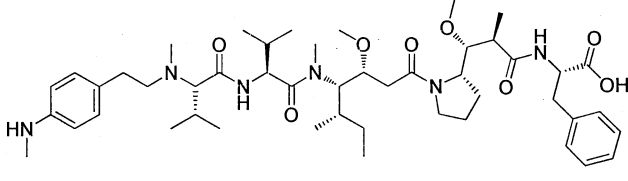
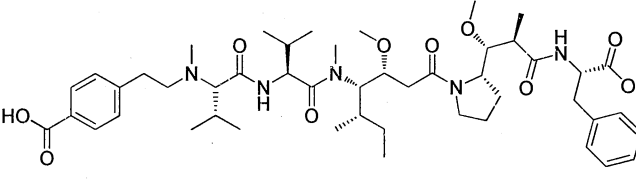
Hợp chất 15 được thử nghiệm trên các dòng tế bào khác nhau (A549, MDA-MB-231, MCF-7, SN12C) theo phương pháp được mô tả trên đây. Các hoạt tính đo được có trị số $EC_{50} < 0,1\mu M$.

EC_{50} (M)	A549	MDA-MB-231	MCF-7	SN12C
Hợp chất 15	$1,45 \times 10^{-10}$	$1,70 \times 10^{-10}$	$7,15 \times 10^{-10}$	$2,18 \times 10^{-10}$

Các ví dụ so sánh:

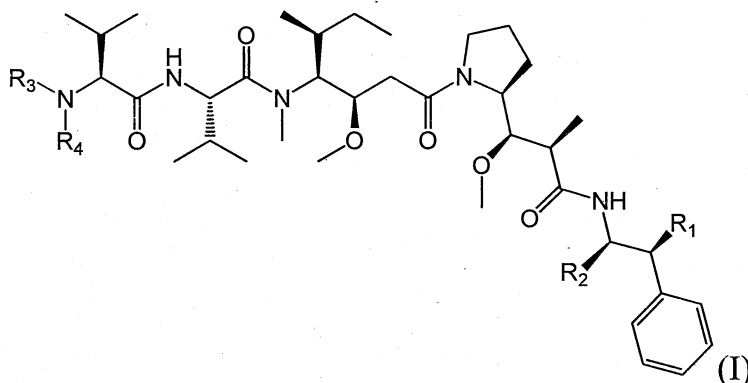
Sự thay thế trên vòng phenyl (amino/hydroxyl cho carboxyl) được nghiên cứu trong các ví dụ so sánh dưới đây thể hiện hoạt tính chống tăng sinh được cải thiện của được chất theo sáng chế chứa phần tử thể amino hoặc hydroxyl.

Số	Cấu trúc	EC_{50} (M)	
		A549	MDA-MB-231
12		$1,48 \times 10^{-10}$	$5,80 \times 10^{-10}$

Số	Cấu trúc	EC ₅₀ (M)	
		A549	MDA-MB-231
15		1,45x10 ⁻¹⁰	1,70x10 ⁻¹⁰
27		8,60x10 ⁻¹¹	1,20x10 ⁻¹⁰
Ví dụ so sánh		3,76x10 ⁻⁹	2,29x10 ⁻⁹
13		2,71x10 ⁻⁸	7,95x10 ⁻⁸
Ví dụ so sánh		4,03x10 ⁻⁷	9,75x10 ⁻⁷

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) sau:



trong đó:

- $R_1 = \text{OH}$ và $R_2 = \text{metyl}$, hoặc
 $R_1 = \text{H}$ và $R_2 = \text{COOH}$, COOMe hoặc thiazol-2-yl,
- R_3 là nhóm $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)\text{alkyl}$, và
- R_4 là nhóm phenyl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ được thế bởi một nhóm được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} với R_9 và R_{10} độc lập với nhau là H hoặc nhóm $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)\text{alkyl}$, trong đó nhóm phenyl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ được nối với phần còn lại của phân tử qua gốc $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ của nó, hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của chúng.

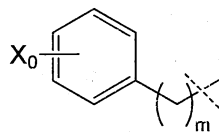
2. Hợp chất theo điểm 1, khác biệt ở chỗ, R_1 là H và R_2 là COOH hoặc COOMe .

3. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2, khác biệt ở chỗ, R_3 là nhóm metyl.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, khác biệt ở chỗ, R_4 là nhóm phenyl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ được thế bởi một nhóm trên gốc phenyl được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} .

5. Hợp chất theo điểm 4, khác biệt ở chỗ, R_4 là nhóm phenyl- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)\text{alkyl}$ được thế bởi một nhóm NR_9R_{10} trên gốc phenyl.

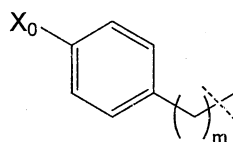
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, khác biệt ở chỗ, R_4 có công thức sau:



trong đó X_0 là OH hoặc NR_9R_{10} và m bằng 1 hoặc 2.

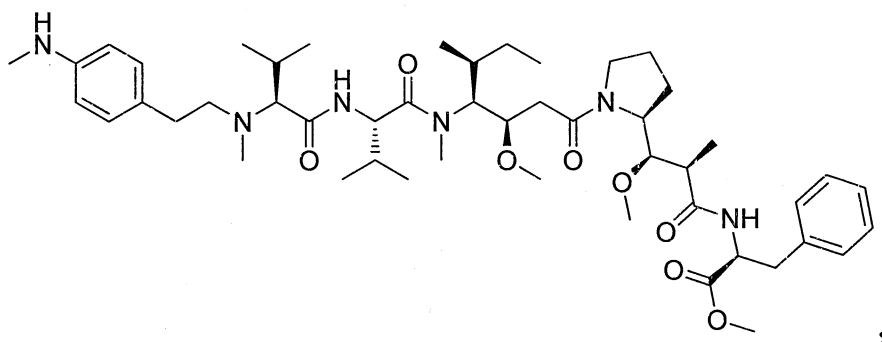
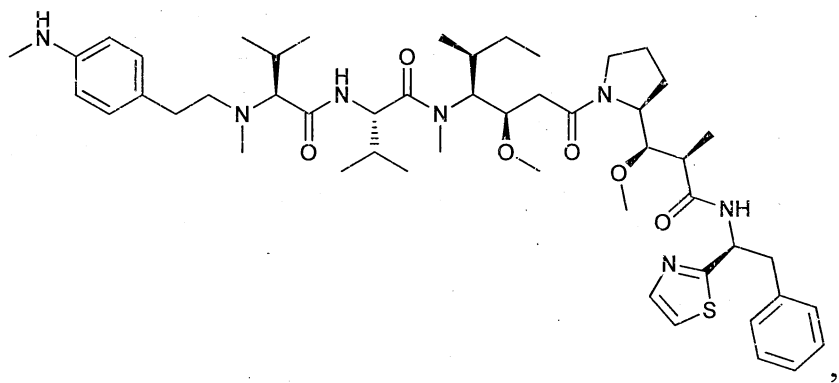
7. Hợp chất theo điểm 6, khác biệt ở chỗ, X_0 là NR_9R_{10} .

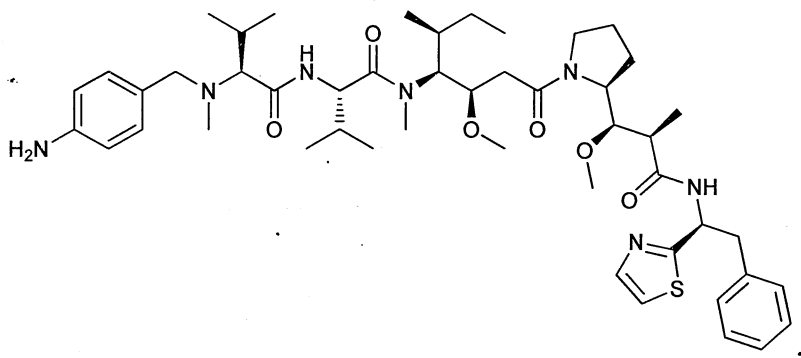
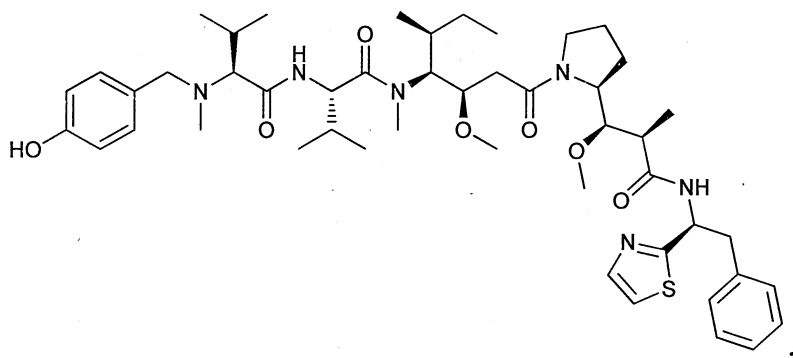
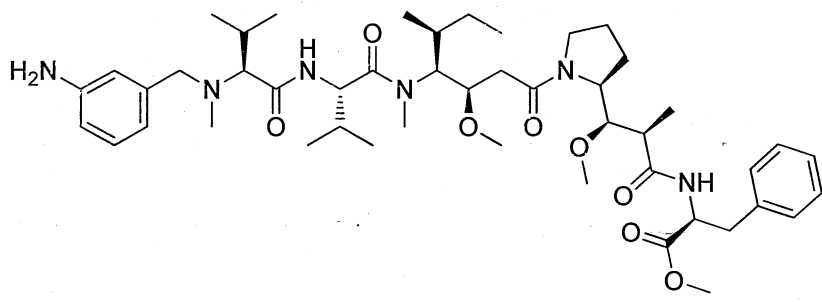
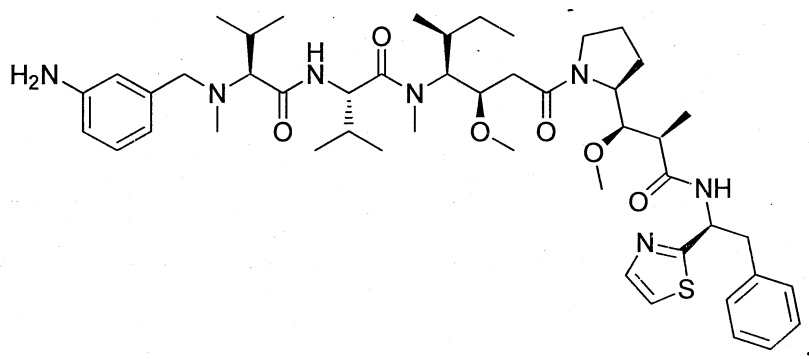
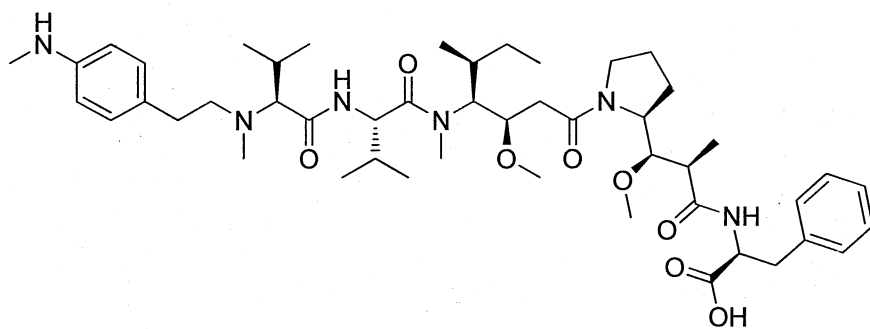
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, khác biệt ở chỗ, R_4 có công thức sau:

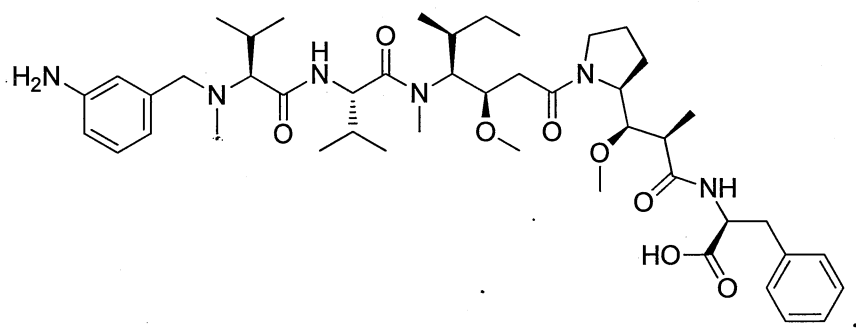
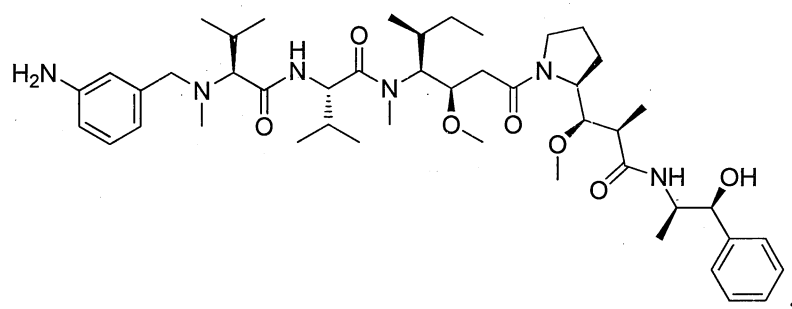
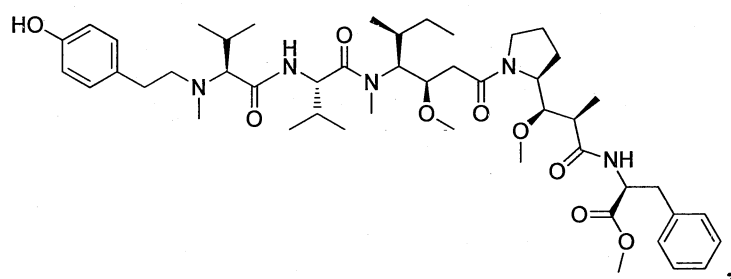
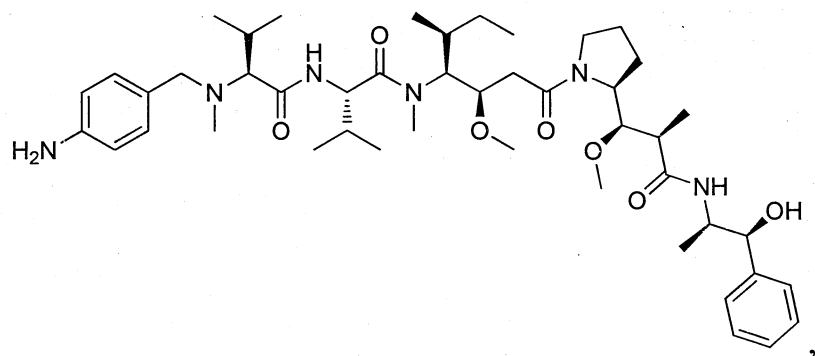
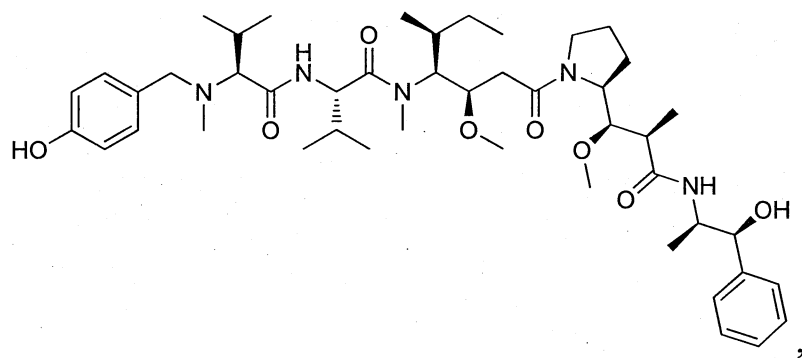


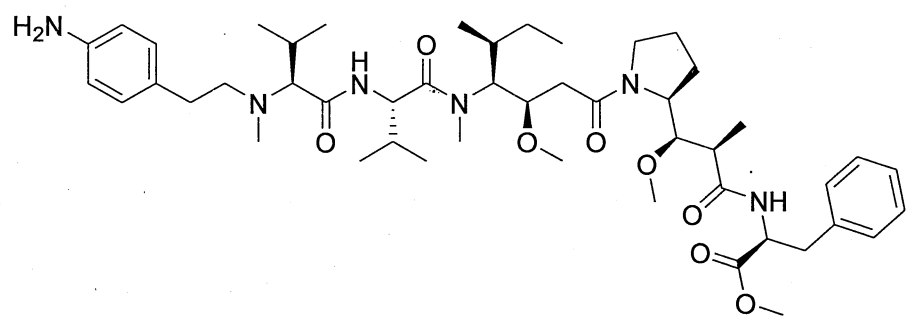
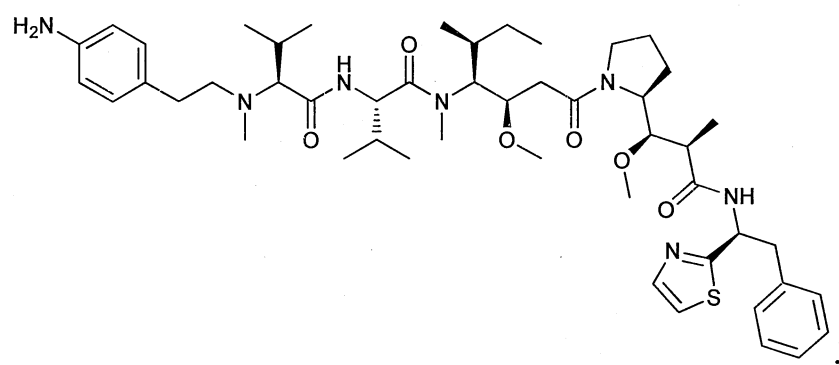
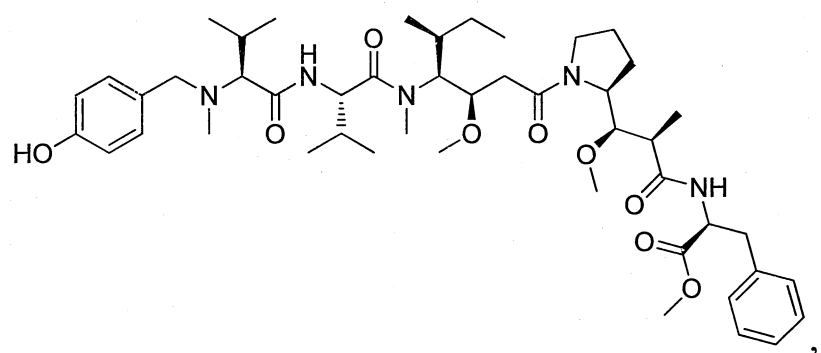
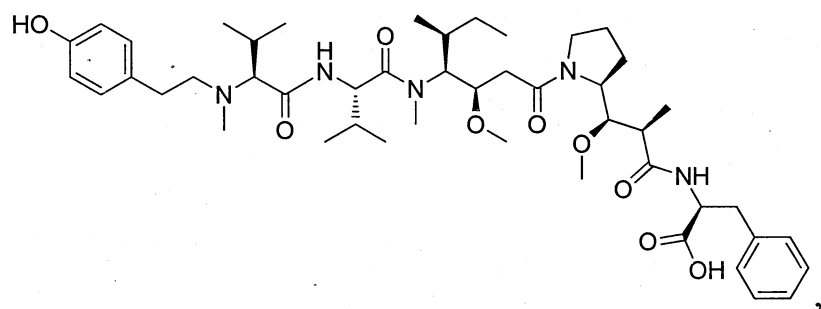
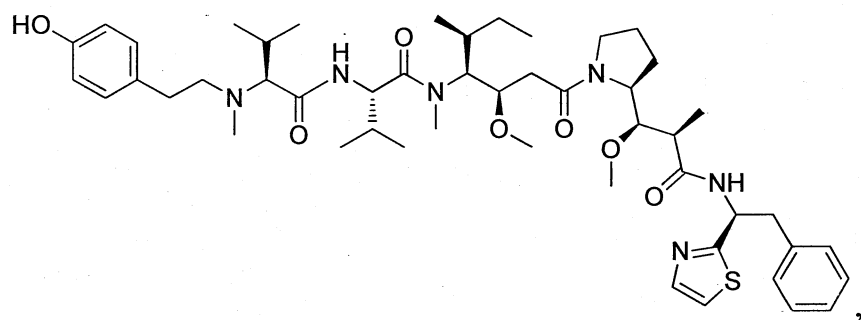
trong đó X_0 là NR_9R_{10} và m bằng 1 hoặc 2.

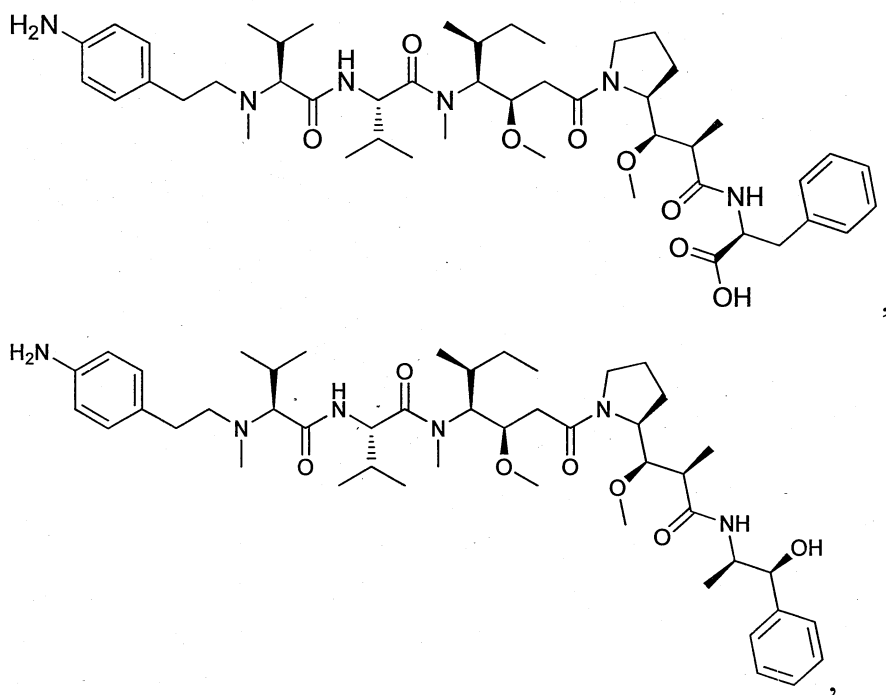
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn trong số:









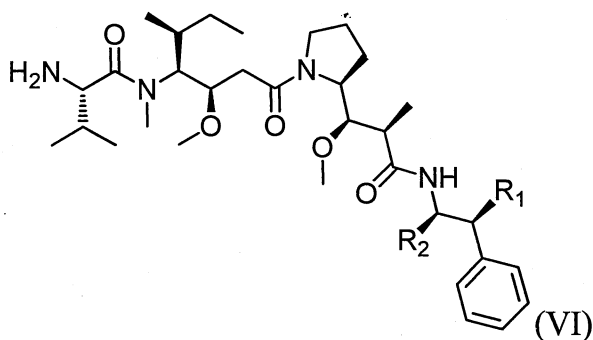


và các muối được dụng của chúng như các muối được tạo ra bằng axit trifloaxetic.

10. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 và ít nhất một tá dược được dụng.

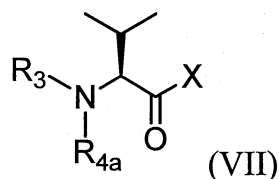
11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó dược phẩm này còn chứa một hoạt chất khác, được chọn có lợi trong số các chống ung thư, đặc biệt là chứa chất chống ung thư gây độc tế bào như navelbine, vinflunine, taxol, taxoter, 5-flouraxil, methotrexate, doxorubicin, camptothecin, gemcitabin, etoposide, cis-platin hoặc carmustin; và chất chống ung thư dạng hormon như tamoxifen hoặc medroxyprogesterone.

12. Phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 bao gồm phản ứng ngưng tụ giữa hợp chất có công thức (VI) sau:



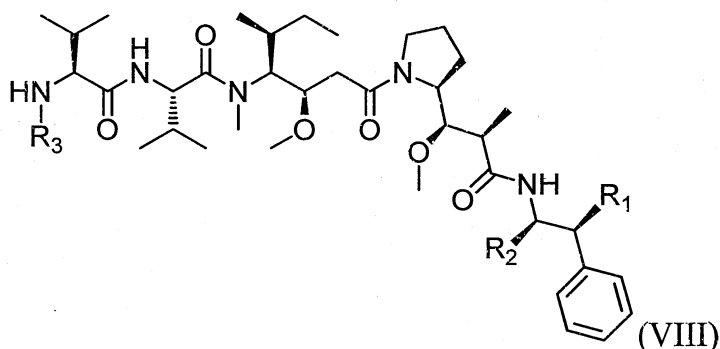
trong đó R_1 và R_2 là như được xác định ở điểm 1, và

hợp chất có công thức (VII) sau:

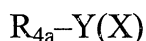


trong đó R_3 là như được xác định ở điểm 1, R_{4a} là nhóm R_4 như được xác định ở điểm 1, tùy ý ở dạng được bảo vệ, và X là OH hoặc Cl.

13. Phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 bao gồm phản ứng thay thế giữa hợp chất có công thức (VIII) sau:

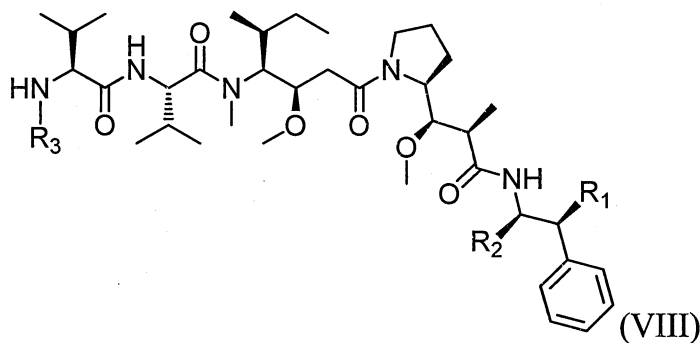


trong đó R_1 , R_2 và R_3 là như được xác định ở điểm 1, và hợp chất có công thức (X) sau:



trong đó R_{4a} là nhóm R_4 như được xác định ở điểm 1 tùy ý ở dạng được bảo vệ, và Y là nhóm rời chuyển như Cl, Br, I, OSO_2CH_3 , OSO_2CF_3 hoặc O-Tosyl.

14. Phương pháp điều chế hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó R_4 là nhóm $-CH_2R_{4b}$ với R_{4b} là nhóm phenyl hoặc phenylmethyl được thế bởi một nhóm được chọn trong số các nhóm OH và NR_9R_{10} , bao gồm phản ứng amin hóa khử giữa hợp chất có công thức (VIII) sau:



trong đó R_1 , R_2 và R_3 là như được xác định ở điểm 1, và

hợp chất có công thức (XI) sau:



trong đó R_{4b} là như được xác định trên đây.