



(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)



1-0039537

(51)⁷ A61K 31/395; C07D 487/04

(13) B

(21) 1-2019-05677

(22) 20/03/2018

(86) PCT/US2018/023270 20/03/2018

(87) WO 2018/175385 27/09/2018

(30) 62/473,771 20/03/2017 US

(45) 25/04/2024 433

(43) 25/06/2020 387

(73) 1. THE BROAD INSTITUTE, INC. (US)

415 Main Street, Cambridge, Massachusetts 02142, United States of America

2. PRESIDENT AND FELLOWS OF HARVARD COLLEGE (US)

17 Quincy Street, Cambridge, Massachusetts 02138-3876, United States of America

(72) COMER, Eamon (US); KATO, Nobutaka (US); MORNINGSTAR, Marshall (US);
MELILLO, Bruno (AR).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH DO KÝ SINH TRÙNG VÀ DƯỢC PHẨM
CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất các hợp chất có tác dụng điều trị các bệnh ký sinh trùng khác nhau. Các hợp chất này, cũng như muối dược dụng của chúng có thể được điều chế trong các dược phẩm, các chế phẩm thú y và có thể được sử dụng trong việc điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh lây lan qua ký sinh trùng, bao gồm bệnh sốt rét và bệnh Cryptosporidiosis. Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa hợp chất nêu trên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế có liên quan đến hợp chất hữu dụng để điều trị các bệnh ký sinh trùng khác nhau – đặc biệt là bệnh sốt rét và bệnh Cryptosporidiosis.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh sốt rét là bệnh lây nhiễm qua vector gây ra bởi ký sinh trùng nguyên sinh và phổ biến trong các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, bao gồm các vùng ở châu Mỹ, châu Á và châu Phi. Trong năm loài ký sinh trùng *Plasmodium* có thể nhiễm cho người (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, và *P. knowlesi*), các dạng nghiêm trọng nhất của bệnh gây ra bởi *P. falciparum* và *P. vivax*. Ngoài ra, một số loài ký sinh trùng *Plasmodium* gây nhiễm lên các động vật có vú không phải là người. Ví dụ, *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei*, và *P. yoelii*, có thể gây ra bệnh sốt rét ở một số động vật gặm nhấm.

Khoảng 515 triệu người chịu ảnh hưởng bởi bệnh sốt rét mỗi năm, và khoảng từ 1 đến 3 triệu trong những người này chết vì bệnh sốt rét. Phần lớn các thuốc chống bệnh sốt rét hiện nay có mục tiêu là giai đoạn trong máu nhân lên vô tính, mà ở đó ký sinh trùng sống trong hồng cầu. Ngay cả trong giai đoạn lây truyền và trong gan, ký sinh trùng không gây ra các triệu chứng của bệnh sốt rét, do vậy việc phòng ngừa và các thuốc ngăn cản sự lây truyền là cần thiết để chủ động ngăn cản dịch bệnh và bảo vệ các quần thể dễ bị tổn thương. Sự bảo vệ hiện tại của các thuốc chống sốt rét được phê chuẩn, như cloroquin, atovaquon, pyrimetamin, và sulfadoxin, bị giới hạn vào chỉ một vài mục tiêu trong ký sinh trùng gây bệnh sốt rét ở người, và sự kháng rộng ngày gia tăng với các thuốc hiện nay đang thúc đẩy sự phát triển của các chất chống bệnh sốt rét mới có các mục tiêu sinh học mới.

Bệnh Cryptosporidiosis là bệnh ký sinh trùng khác và được gây ra bởi *Cryptosporidium*, là một chi của ký sinh trùng nguyên sinh thuộc ngành Apicomplexa. Bệnh Cryptosporidiosis thường được gây ra bởi các ký sinh trùng nội bào thuộc ngành Apicomplexa là *C. parvum* và *C. hominis*. Bệnh này còn được gây ra bởi *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis*, và *C. muris*. Bệnh Cryptosporidiosis tác động đến ruột hồi của

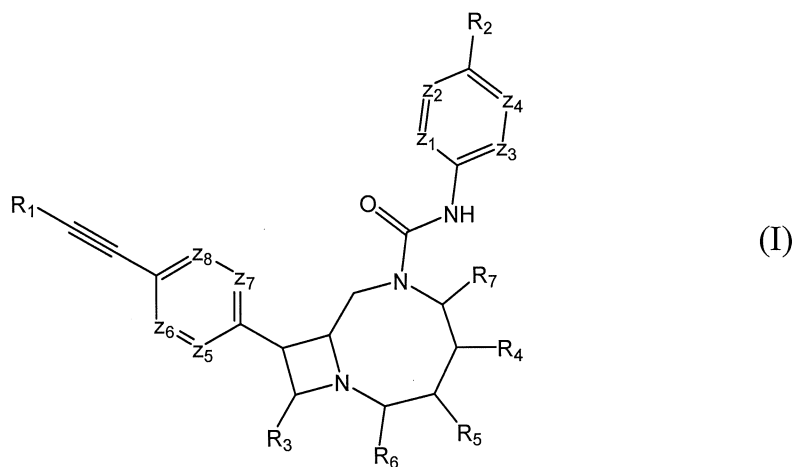
ruột non và có thể tác động đến đường hô hấp của cả cá thể có đủ khả năng miễn dịch lẫn cá thể bị suy giảm miễn dịch. Bệnh Cryptosporidiosis là một trong các bệnh lây truyền qua nước phổ biến và được tìm thấy trên toàn thế giới. Bệnh này còn có thể lây truyền cho các động vật khác, bao gồm gia súc, cừu, lợn, ngựa, dê, và tắc kè. Nitazoxanid là thuốc tiêu chuẩn hiện nay cho bệnh Cryptosporidiosis, nhưng thuốc này chỉ thể hiện hiệu quả một phần ở trẻ em và không có hiệu quả hơn so với giả dược ở bệnh nhân AIDS.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất, dược phẩm để điều trị và ngăn chặn các bệnh ký sinh trùng bao gồm bệnh sốt rét và bệnh do *Cryptosporidium* bằng cách bao gồm/sử dụng hợp chất như được mô tả trên đây hoặc ở nơi khác trong đây.

Theo một số phương án, các dược phẩm này được điều chế dưới dạng chế phẩm thú y để sử dụng cho các đối tượng không phải là người.

Các hợp chất này có thể có công thức (I):



R_1 tùy ý là aryl hoặc heteroaryl được thế;

R_2 tùy ý là alkoxy, xycloalkoxy hoặc heteroxyclyl được thế;

R_3 là hydro, hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$;

R_4 và R_5 độc lập là hydro, $-\text{X}$, hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$, R_4 và R_5 có thể cùng nhau tạo thành vòng dung hợp 5 hoặc 6 cạnh, và ít nhất một trong số R_4 và R_5 không phải là hydro;

R_6 và R_7 độc lập là hydro hoặc R; và

mỗi lần xuất hiện, z_1 đến z_8 độc lập được chọn từ CH hoặc N; trong đó

mỗi lần xuất hiện, $-X$ độc lập được chọn từ $-OH$, $-OR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-N(R)-S(O)_2R$, $-S(O)_2-N(R)(R)$, $-S(O)_2-NHR$, $-N(R)-C(O)-R$ hoặc $-N(R)(R)$; và

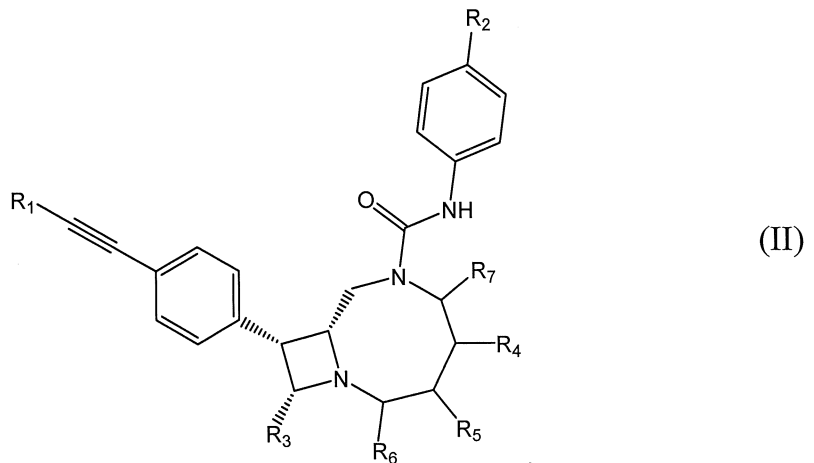
R độc lập là C_1 - C_{12} alkyl được thể tùy ý, tại mỗi lần xuất hiện;

hoặc muối được dụng của nó, mỗi lần xuất hiện, $-X$ có thể độc lập được chọn từ $-OH$ $-NH_2$ hoặc $-N(R)(R)$. Theo một số phương án, nhóm $-X$ trong R_4 và/hoặc R_5 (bao gồm nhóm $-X$ khi R_4 và/hoặc R_5 là $-CH_2-X$) có thể được chọn từ $-OH$, NH_2 , hoặc $-N(R)(R)$. Ngoài ra, mỗi lần xuất hiện, R có thể độc lập được chọn từ C_{1-4} hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

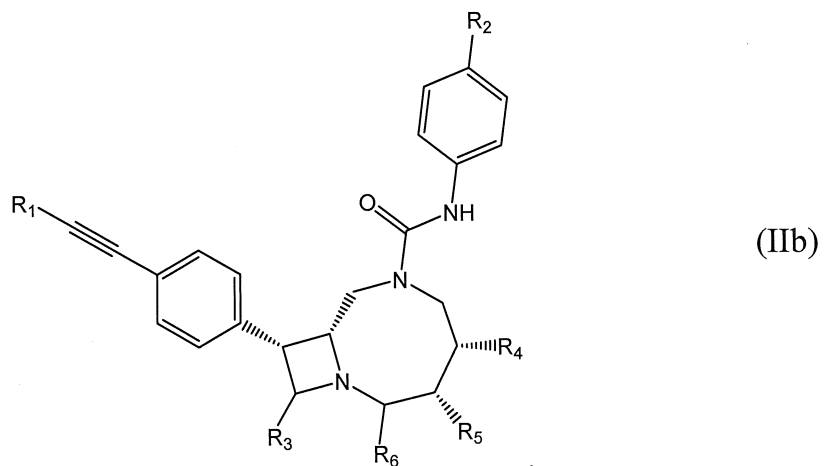
Theo một số phương án, mỗi R_6 và R_7 là hydro. Theo một số phương án, R_4 và R_5 có thể là cùng nhóm chức được chọn từ $-X$ hoặc $-CH_2-X$ (ví dụ, R_4 là $-OH$ và R_5 là $-OH$, R_4 là $-NH_2$ và R_5 là $-NH_2$, R_4 là $-OCH_3$ và R_5 là $-OCH_3$, v.v...). Theo các phương án khác, R_5 là hydro và R_4 là $-X$, hoặc $-(CH_2)-X$. Theo các phương án khác, R_4 là hydro và R_5 là $-X$, hoặc $-(CH_2)-X$. Theo một số phương án, R_4 và R_5 độc lập được chọn từ $-OH$ và $-OR$ và R_4 và R_5 cùng nhau tạo thành vòng dung hợp 6 cạnh. Theo một số phương án, R_6 là C_{1-4} hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Theo các phương án khác, R_6 là hydro. R_1 có thể là C_6 aryl hoặc heteroaryl được thể tùy ý (ví dụ, phenyl, flophenyl, diflophenyl, pyridyl, v.v...). Theo một số phương án, R_2 là C_{1-4} alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh (ví dụ, metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, v.v...). Theo một số phương án, R_2 là C_{1-4} alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh được thể bằng một hoặc nhiều F (ví dụ, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, hoặc $-OCH_2F$). Theo các phương án khác, R_2 là C_{3-6} heterocyclyl (ví dụ, aziridinyl, oxiranyl, thiiranyl, oxetanyl, azetidanyl, thietanyl, diazetidinyl, dioxetanyl, dithietanyl, pyrrolidinyl, tetrahydrofuranyl, imidazolyl, pyrazolyl, oxazolyl, v.v...). Theo các phương án được ưu tiên, R_2 là oxetanyl hoặc azetidanyl. Theo các phương án khác, R_2 là C_{3-6} xycloalkoxy (ví dụ, xyclopropoxy). Theo một số phương án, R_3 là $-CH_2-X$ và $-X$ là $N(R)(R)$.

Mỗi trong số từ z_1 đến z_8 có thể là CH. Theo một số phương án, một trong từ z_1 đến z_4 là N và còn lại là CH. Theo một số phương án, một trong từ z_5 đến z_8 là N và còn lại là CH. Theo một số phương án, mỗi z_1 và z_4 là N và mỗi z_3 và z_2 là CH. Theo một số phương án, mỗi z_5 và z_7 là N và mỗi z_6 và z_8 là CH.

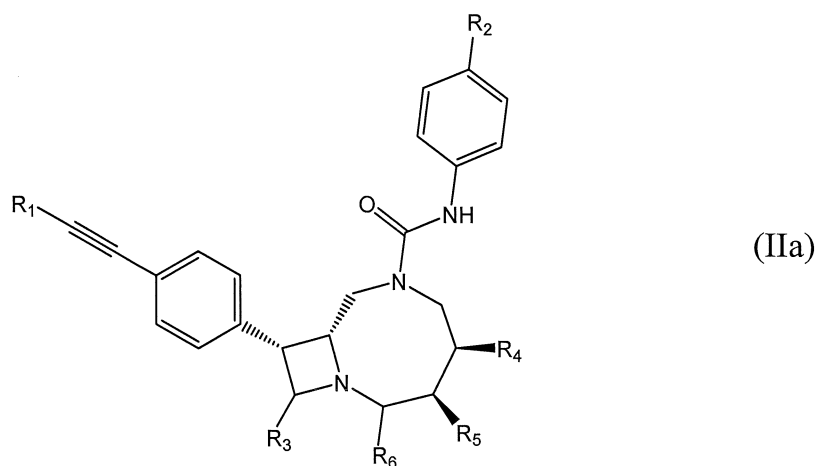
Các tâm lập thể bất kỳ trong cấu trúc của công thức (I) có thể có trong cấu hình, hoặc có mặt dưới dạng hỗn hợp racemat của mỗi tâm lập thể (ví dụ, các đồng phân lập thể, các đồng phân không đối quang, v.v...). Theo một số phương án, các hợp chất có công thức (II):



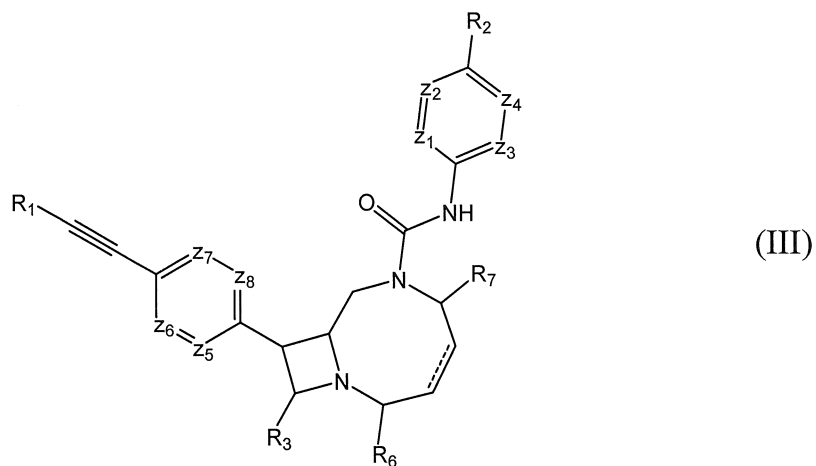
Theo một số phương án, các hợp chất có công thức (IIb):



Theo các phương án khác, các hợp chất có công thức (IIa):



Hợp chất có thể còn có công thức (III):



trong đó liên kết “nét đứt” có thể là liên kết đơn hoặc liên kết đôi;

R_1 tùy ý là aryl hoặc heteroaryl được thế;

R_2 tùy ý là alkoxy, xycloalkoxy hoặc heteroxyclyl được thế;

R_3 là hydro hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$;

R_6 và R_7 độc lập là hydro hoặc R; và

mỗi lần xuất hiện, z_1 đến z_8 độc lập được chọn từ CH hoặc N; trong đó

mỗi lần xuất hiện, $-X$ độc lập được chọn từ $-OH$, $-OR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-N(R)-S(O)_2R$, $-S(O)_2-N(R)(R)$, $-S(O)_2-NHR$, $-N(R)-C(O)-R$ hoặc $-N(R)(R)$; và

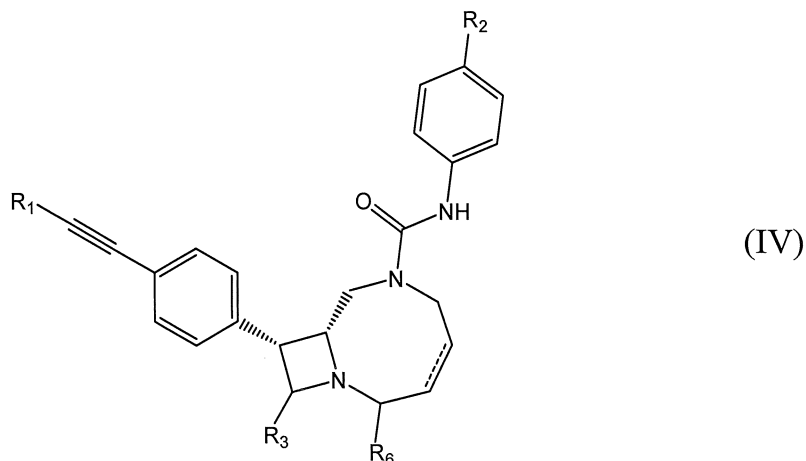
mỗi lần xuất hiện, R độc lập là C_1-C_{12} alkyl;

với điều kiện là trong trường hợp R_6 là hydro, R_3 là $-CH_2-N(R)(R)$ và liên kết “nét đứt” nêu trên là liên kết đôi. Theo một số phương án, liên kết “nét đứt” là liên kết đôi. Theo các phương án khác, liên kết “nét đứt” là liên kết đơn. Mỗi lần xuất hiện, $-X$ có thể độc lập được chọn từ $-OH$ $-NH_2$ hoặc $-N(R)(R)$. Ngoài ra, mỗi lần xuất hiện, R có thể độc lập được chọn từ C_{1-4} hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

Mỗi trong số từ z_1 đến z_8 có thể là CH . Theo một số phương án, một trong từ z_1 đến z_4 là N và còn lại là CH . Theo một số phương án, một trong từ z_5 đến z_8 là N và còn lại là CH . Theo một số phương án, mỗi z_1 và z_4 là N và mỗi z_3 và z_2 là CH . Theo một số phương án, mỗi z_5 và z_7 là N và mỗi z_6 và z_8 là CH .

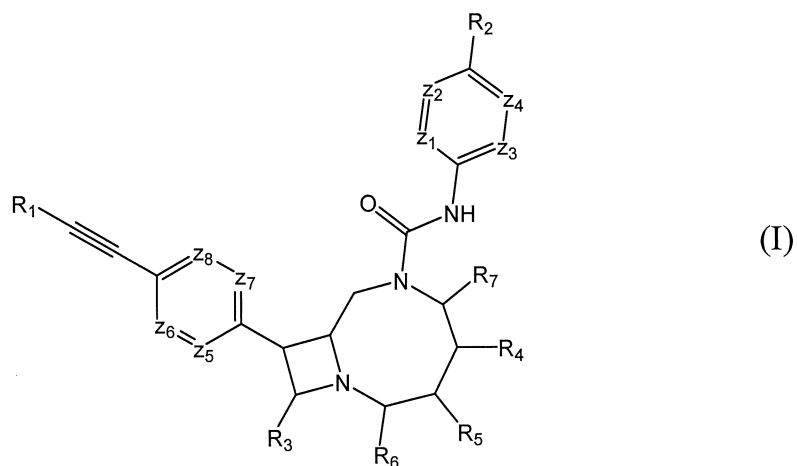
Theo một số phương án, mỗi R_6 và R_7 là hydro. Theo một số phương án, R_6 là alkyl thấp (ví dụ, metyl, etyl, v.v...). Theo một số phương án, R_6 là C_{1-4} hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Theo các phương án khác, R_6 là hydro. R_1 có thể là C_6 aryl hoặc heteroaryl được thế tùy ý (ví dụ, phenyl, flophenyl, diflophenyl, pyridyl, v.v...). Theo một số phương án, R_2 là C_{1-4} alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh (ví dụ, metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, v.v...). Theo một số phương án, R_2 là C_{1-4} alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh được thế bằng một hoặc nhiều F (ví dụ, $-OCF_3$, $-OCHF_2$, hoặc $-OCH_2F$). Theo các phương án khác, R_2 là C_{3-6} heteroxyclyl (ví dụ, aziridinyl, oxiranyl, thiiranyl, oxetanyl, azetidanyl, thietanyl, diazetidinyl, dioxetanyl, dithietanyl, pyrrolidinyl, tetrahydrofuranyl, imidazolyl, pyrazolyl, oxazolyl, v.v...). Theo các phương án được ưu tiên, R_2 là oxetanyl hoặc azetidanyl. Theo các phương án khác, R_2 là C_{3-6} xycloalkoxy (ví dụ, xyclopropoxy).

Theo một số phương án, hợp chất này có thể có công thức (IV):



Theo một số phương án, hợp chất này là hợp chất bất kỳ trong các hợp chất từ E1 đến E38 trong dạng muối được dụng của chúng.

Hợp chất bất kỳ trong các hợp chất được mô tả trên đây có thể được sử dụng trong các dược phẩm. Theo một số phương án, dược phẩm này có thể chứa tá dược được dụng và hợp chất có công thức (I):



R_1 tùy ý là aryl hoặc heteroaryl được thế;

R_2 tùy ý là alkoxy, xycloalkoxy hoặc heteroxyclyl được thế;

R_3 là hydro, hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$;

R_4 và R_5 độc lập là hydro, $-\text{X}$, hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$, R_4 và R_5 có thể cùng nhau tạo thành vòng dung hợp 5 hoặc 6 cạnh, và ít nhất một trong số R_4 và R_5 không phải là hydro;

R_6 và R_7 độc lập là hydro hoặc R; và

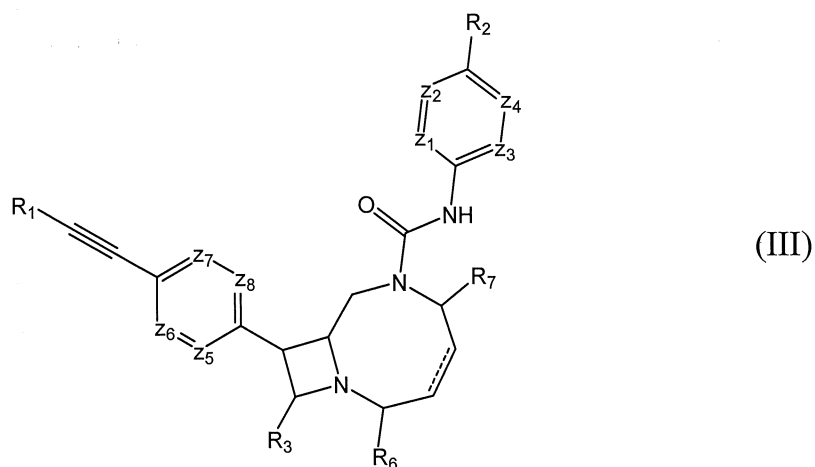
mỗi lần xuất hiện, z_1 đến z_8 độc lập được chọn từ CH hoặc N; trong đó

mỗi lần xuất hiện, $-X$ độc lập được chọn tại từ $-OH$, $-OR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-N(R)-S(O)_2R$, $-S(O)_2-N(R)(R)$, $-S(O)_2-NHR$, $-N(R)-C(O)-R$ hoặc $-N(R)(R)$; và

R độc lập là C_1 - C_{12} alkyl được thế tùy ý, tại mỗi lần xuất hiện;

hoặc muối được dụng của nó, mỗi lần xuất hiện, $-X$ có thể độc lập được chọn từ $-OH-NH_2$ hoặc $-N(R)(R)$. Theo một số phương án, nhóm $-X$ trong R_4 và/hoặc R_5 (bao gồm nhóm $-X$ khi R_4 và/hoặc R_5 là $-CH_2-X$) có thể được chọn từ $-OH$, NH_2 , hoặc $-N(R)(R)$. Ngoài ra, mỗi lần xuất hiện, R có thể độc lập được chọn từ C_{1-4} hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

Theo một số phương án, dược phẩm này có thể chứa tá dược được dụng và hợp chất có công thức (III):



trong đó liên kết “nét đứt” có thể là liên kết đơn hoặc liên kết đôi;

R_1 tùy ý là aryl hoặc heteroaryl được thế;

R_2 tùy ý là alkoxy, xycloalkoxy hoặc heteroxyclyl được thế;

R_3 là hydro hoặc $-CH_2-X$;

R_6 và R_7 độc lập là hydro hoặc R; và

mỗi lần xuất hiện, z_1 đến z_8 độc lập được chọn từ CH hoặc N; trong đó

mỗi lần xuất hiện, $-X$ độc lập được chọn từ $-OH$, $-OR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-N(R)-S(O)_2R$, $-S(O)_2-N(R)(R)$, $-S(O)_2-NHR$, $-N(R)-C(O)-R$ hoặc $-N(R)(R)$; và

R độc lập là C_1 - C_{12} alkyl, tại mỗi lần xuất hiện;

với điều kiện là trong trường hợp R_6 là hydro, R_3 là $-CH_2-N(R)(R)$ và liên kết “nét đứt” nêu trên là liên kết đôi. Theo một số phương án, liên kết “nét đứt” là liên kết đôi. Theo các phương án khác, liên kết “nét đứt” là liên kết đơn. Mỗi lần xuất hiện, $-X$ có thể độc lập được chọn từ $-OH$ $-NH_2$ hoặc $-N(R)(R)$. Ngoài ra, mỗi lần xuất hiện, R có thể độc lập được chọn từ C_{1-4} hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Theo một số phương án, hợp chất này có mặt trong dược phẩm với lượng có hiệu quả. Ví dụ, hợp chất này có thể có mặt với lượng có hiệu quả để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh sốt rét. Theo một số phương án, hợp chất này có thể có mặt với lượng có hiệu quả để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh gây ra do ký sinh trùng từ chi *Cryptosporidium* (ví dụ, bệnh Cryptosporidiosis). Theo một số phương án, dược phẩm này có thể được điều chế để điều trị bệnh sốt rét và bệnh Cryptosporidiosis.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh có liên quan cho đối tượng. Theo một số phương án, phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ký sinh trùng cho đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng có hiệu quả của hợp chất bất kỳ được đề cập ở đây. Theo một số phương án, lượng có hiệu quả của hợp chất được điều chế trong dược phẩm (ví dụ, chế phẩm thú y, v.v...).

Bệnh ký sinh trùng có thể là bệnh sốt rét. Theo một số phương án, bệnh sốt rét là bệnh sốt rét kháng thuốc (ví dụ, bệnh sốt rét kháng chloroquin, quinin, prymethamin, sulfadoxin, mefloquin, artemet, lumefantrin, artesunat, amodiaquin, dihydroartemisinin, piperaquin, proguanil, doxycyclin, clindamycin, artemisinin, atovaquon, hoặc sự kết hợp bất kỳ của các thuốc này, v.v...). Theo một số phương án, bệnh sốt rét là bệnh sốt rét giai đoạn trong máu. Theo một số phương án, bệnh sốt rét là bệnh sốt rét giai đoạn lây truyền. Theo một số phương án, bệnh sốt rét là bệnh sốt rét giai đoạn trong gan. Theo một số phương án, đối tượng bị nhiễm ký sinh trùng gây bệnh sốt rét và việc điều trị nêu trên ngăn cản sự lan rộng của việc nhiễm trùng nêu trên từ gan. Theo một số phương án, bệnh sốt rét được mang bởi loài muỗi được chọn từ *P.*

falciparum, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. vinckei*, hoặc *P. yoelii*. Theo các phương án được ưu tiên, loài muỗi này là *P. falciparum* (đặc biệt khi đối tượng là người).

Bệnh ký sinh trùng có thể là bệnh Cryptosporidiosis. Theo một số phương án, bệnh Cryptosporidiosis được mang bởi *C. parvum*.

Theo một số phương án, đối tượng là người. Theo các phương án khác, đối tượng không phải là người (ví dụ, dược phẩm được điều chế dưới dạng chế phẩm thú y). Theo một số phương án, đối tượng là chuột nhắt, chuột cống, thỏ, linh trưởng không phải người, thằn lằn, tắc kè, bò, bò con, cừu, cừu con, ngựa, ngựa con, lợn, hoặc lợn con.

Các khía cạnh trên đây và các khía cạnh khác theo sáng chế sẽ trở lên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này từ phần mô tả chi tiết sau đây, mà đơn giản là có mục đích mô tả, các phương thức khác nhau để thực hiện sáng chế. Khi được thực hiện, sáng chế có thể có thêm các khía cạnh rõ ràng khác, tất cả các khía cạnh này thì không nằm ngoài phạm vi của yêu cầu bảo hộ. Theo đó, phần mô tả này thực chất là chỉ để mô tả mà không có mục đích làm giới hạn.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Nên hiểu là thuật ngữ được sử dụng ở đây có mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không có mục đích giới hạn phạm vi của yêu cầu bảo hộ. Ngoài ra, mặc dù các phương pháp và vật liệu tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả ở đây có thể được sử dụng trong khi thực hiện hoặc thử nghiệm sáng chế, nhưng bây giờ các phương pháp và các vật liệu được ưu tiên sẽ được mô tả ở phần này.

Thuật ngữ “axyl” được sử dụng ở đây, thể hiện cho hydro hoặc nhóm alkyl, như được xác định ở đây, được gắn vào nhóm nguyên tử gốc thông qua nhóm carbonyl, như được xác định ở đây, và được minh họa bởi formyl (như là, nhóm carboxyaldehyt), axetyl, trifloaxetyl, propionyl, và butanoyl. Các nhóm axyl không được thể diện hình chứa từ 1 đến 6, từ 1 đến 11, hoặc từ 1 đến 21 cacbon. Theo một số phương án, nhóm alkyl còn được thể bởi 1, 2, 3, hoặc 4 phần tử thể như được mô tả ở đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkyl” bản thân nó hoặc kết hợp với các nhóm khác, đề cập đến gốc hydrocacbon béo no hóa trị một mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon (ví dụ, từ 1 đến 16 nguyên tử cacbon, từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon, từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, v.v...).

Thuật ngữ “alkylen” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho nhóm hydrocacbon hóa trị hai no có nguồn gốc từ hydrocacbon no mạch thẳng hoặc mạch nhánh có sự loại bỏ hai nguyên tử hydro, và được minh họa bởi metylen, etylen, và isopropylen. Theo một số phương án, alkylen có thể còn được thể bởi 1, 2, 3, hoặc 4 nhóm thế giống như được xác định ở đây cho nhóm alkyl.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkenyl” bản thân nó hoặc kết hợp với các nhóm khác, đề cập đến gốc hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh có liên kết olefin.

Thuật ngữ “amino” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho $-N(R^{N1})_2$, trong đó mỗi R^{N1} độc lập là H, OH, NO_2 , $N(R^{N2})_2$, SO_2OR^{N2} , SO_2R^{N2} , SOR^{N2} , nhóm bảo vệ N , alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy, aryl, alkaryl, xycloalkyl, alkxycloalkyl, carboxyalkyl (ví dụ, tùy ý được thế bởi nhóm bảo vệ O , như các nhóm arylalkoxycarbonyl được thế tùy ý hoặc nhóm bất kỳ được mô tả ở đây), sulfoalkyl, axyl (ví dụ, axetyl, trifloaxetyl, hoặc các axyl khác được mô tả ở đây), alkoxycarbonylalkyl (ví dụ, tùy ý được thế bởi nhóm bảo vệ O , như các nhóm arylalkoxycarbonyl được thế tùy ý hoặc nhóm bất kỳ được mô tả ở đây), heteroxyclyl (ví dụ, heteroaryl), hoặc heteroxyclylalkyl (ví dụ, heteroarylalkyl), trong đó từng nhóm có R^{N1} trên đây có thể tùy ý được thế, như được xác định ở đây cho mỗi nhóm; hoặc hai R^{N1} kết hợp với nhau để tạo thành heteroxyclyl hoặc nhóm bảo vệ N , và trong đó mỗi R^{N2} độc lập là H, alkyl, hoặc aryl. Nhóm amino có thể là amino không được thế (như là, $-NH_2$) hoặc amino được thế (như là, $-N(R^{N1})_2$). Theo một phương án được ưu tiên, amino là $-NH_2$ hoặc $-NHR^{N1}$, trong đó R^{N1} độc lập là OH, NO_2 , NH_2 , NR^{N2}_2 , SO_2OR^{N2} , SO_2R^{N2} , SOR^{N2} , alkyl, carboxyalkyl, sulfoalkyl, axyl (ví dụ, axetyl, trifloaxetyl, hoặc các axyl khác được mô tả ở đây), alkoxycarbonylalkyl (ví dụ, t-butoxycarbonylalkyl) hoặc aryl, và mỗi R^{N2} có thể là H, C_{1-20} alkyl (ví dụ, C_{1-6} alkyl), hoặc C_{6-10} aryl.

Thuật ngữ “aryl” đề cập đến gốc vòng đơn hoặc vòng đa thơm có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon và có ít nhất một vòng thơm. Ví dụ của các nhóm này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phenyl, naphthyl, 1,2,3,4-tetrahydronaphthalyl, 1,2-dihydronaphthalyl, indanyl, và 1H-indenyl.

Nhóm “arylalkyl”, như được sử dụng ở đây, thể hiện cho nhóm aryl như được xác định ở đây, được gắn vào nhóm nguyên tử gốc thông qua nhóm alkylen như được xác định ở đây. Các nhóm arylalkyl không được thể diện hình có từ 7 đến 30 cacbon (ví dụ, từ 7 đến 16 hoặc từ 7 đến 20 cacbon, như C₆₋₁₀ aryl C₁₋₆ alkyl, C₆₋₁₀ aryl C₁₋₁₀ alkyl, hoặc C₆₋₁₀ aryl C₁₋₂₀ alkyl). Theo một số phương án, mỗi alkylen và aryl có thể còn được thể bởi 1, 2, 3, hoặc 4 nhóm thể như được xác định ở đây cho các nhóm tương ứng.

Các nhóm alkyl, carboxyclic, và aryl này có thể được thể hoặc không được thể. Khi được thể, thường sẽ có, ví dụ, từ 1 đến 4 phần tử thể. Các phần tử thể này có thể tùy ý tạo thành vòng với nhóm alkyl, carboxyclic, hoặc aryl tùy thuộc vào nhóm mà chúng được kết nối. Các phần tử thể này có thể bao gồm, ví dụ: các nhóm chứa cacbon như alkyl, aryl, arylalkyl (ví dụ, phenyl được thể và không được thể, benzyl được thể và không được thể); các nguyên tử halogen và các nhóm chứa halogen như haloalkyl (ví dụ, triflometyl); các nhóm chứa oxy như các rượu (ví dụ, hydroxyl, hydroxyalkyl, aryl(hydroxyl)alkyl), các ete (ví dụ, alkoxy, xycloalkoxy, aryloxy, alkoxyalkyl, aryloxyalkyl, tốt hơn nữa là, ví dụ, metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, xyclopropoxy, v.v...), các aldehyt (ví dụ, carboxaldehyt), các keton (ví dụ, alkylcarbonyl, alkylcarbonylalkyl, arylcarbonyl, arylalkylcarbonyl, arylcarbonylalkyl), các axit (ví dụ, carboxy, carboxyalkyl), các dẫn xuất của axit như các este (ví dụ, alkoxycarbonyl, alkoxycarbonylalkyl, alkylcarbonyloxy, alkylcarbonyloxyalkyl), các amit (ví dụ, aminocarbonyl, mono- hoặc di-alkylaminocarbonyl, aminocarbonylalkyl, mono- hoặc di-alkylaminocarbonylalkyl, arylaminocarbonyl), các carbamat (ví dụ, alkoxycarbonylamino, aryloxy carbonylamino, aminocarbonyloxy, mono- hoặc di-alkylaminocarbonyloxy, arylaminocarbonyloxy) và các ure (ví dụ, mono- hoặc di-alkylaminocarbonylamino hoặc arylaminocarbonylamino); các nhóm chứa nitơ như các amin (ví dụ, amino, mono- hoặc di-alkylamino, aminoalkyl, mono- hoặc di-alkylaminoalkyl), các azit, các nitril (ví dụ, xyano, xyanoalkyl), nitro; các nhóm chứa lưu huỳnh như thiol, thioete, sulfoxit và sulfon (ví dụ, alkylthio, alkylsulfinyl,

alkylsulfonyl, alkylthioalkyl, alkylsulfinylalkyl, alkylsulfonylalkyl, arylthio, arylsulfinyl, arylsulfonyl, arylthioalkyl, arylsulfinylalkyl, arylsulfonylalkyl); các nhóm heterocyclyl heteroalkyl, và các nhóm dị vòng chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, (ví dụ, thienyl, furanyl, pyrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, oxazolyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, aziridinyl, azetidinyl, pyrrolidinyl, pyrrolinyl, imidazolidinyl, imidazolinyl, pyrazolidinyl, tetrahydrofuranyl, pyranyl, pyronyl, pyridyl, pyrazinyl, pyridazinyl, piperidyl, hexahydroazepinyl, piperazinyl, morpholinyl, thianaphthyl, benzofuranyl, isobenzofuranyl, indolyl, oxyindolyl, isoindolyl, indazolyl, indolinyl, 7-azaindolyl, benzopyranyl, coumarinyl, isocoumarinyl, quinolinyl, isoquinolinyl, naphthridinyl, cinnolinyl, quinazolinyl, pyridopyridyl, benzoxazinyl, quinoxalinyl, chromenyl, chromanyl, isochromanyl, phthalazinyl và carbolinyl).

Thuật ngữ “azido” thể hiện cho nhóm $-N_3$, mà còn được thể hiện dưới dạng $-N=N=N$.

Các thuật ngữ “carboxycyclic” và “carboxycyclyl” như được sử dụng ở đây, đề cập đến cấu trúc C_{3-12} vòng đơn, vòng đôi hoặc vòng ba không thơm trong đó các vòng này được tạo thành bởi nguyên tử cacbon. Các cấu trúc carboxycyclic bao gồm các nhóm xycloalkyl, xycloalkenyl, và xycloalkynyl.

Thuật ngữ “xycloalkyl” đề cập đến gốc mono- hoặc polycarboxycyclic hóa trị một chứa từ 3 đến 10, tốt hơn là từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon. Thuật ngữ này còn được thể hiện bởi các gốc như xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, norbornyl, adamantyl, và indanyl. Theo một phương án được ưu tiên, các gốc “xycloalkyl” có thể tùy ý được thể bởi 1, 2, 3 hoặc 4 phần tử thế. Mỗi phần tử thế có thể độc lập là, alkyl, alkoxy, halogen, amino, hydroxyl hoặc oxy trừ phi được cụ thể chỉ ra khác. Ví dụ của các gốc xycloalkyl bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, xyclopropyl được thể tùy ý, xyclobutyl được thể tùy ý, xyclopentyl được thể tùy ý, xyclopentenyl được thể tùy ý, xyclohexyl được thể tùy ý, và xycloheptyl được thể tùy ý, hoặc các gốc được minh họa cụ thể ở đây.

Thuật ngữ “xyano” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho nhóm $-CN$.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “halo” hoặc “halogen” có nghĩa là gốc flo (fluoro), clo (cloro), brom (bromo) hoặc iot (iodo).

Thuật ngữ “heteroalkyl” như được sử dụng ở đây, đề cập đến nhóm alkyl, như được xác định ở đây, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của phân tử thể được thay thế bởi nitơ, oxy, hoặc lưu huỳnh. Theo một số phương án, nhóm heteroalkyl có thể còn được thế bởi 1, 2, 3, hoặc 4 nhóm thế như được mô tả ở đây cho nhóm alkyl. Ví dụ của các nhóm heteroalkyl là “alkoxy” như được sử dụng ở đây, đề cập đến alkyl-O-; và “alkoyl” như được sử dụng ở đây, đề cập đến alkyl-CO-. Nhóm thế alkoxy hoặc nhóm thế chứa alkoxy có thể được thế bởi, ví dụ, một hoặc nhiều nhóm alkyl.

Thuật ngữ “heteroaryl” đề cập đến gốc vòng đơn hoặc vòng đa thơm chứa từ 5 đến 12 nguyên tử có ít nhất một vòng thơm chứa 1, 2, hoặc 3 nguyên tử khác loại trên vòng được chọn từ N, O, và S, với các nguyên tử còn lại trên vòng là C. 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng của nhóm heteroaryl có thể được thay thế bởi nhóm carbonyl. Ví dụ của nhóm heteroaryl là pyridyl, benzooxazolyl, benzoimidazolyl, và benzothiazolyl.

Thuật ngữ “dị vòng” hoặc “heteroxyclyl” đề cập đến vòng alkyl vòng đơn hoặc vòng đa, trong đó 1, 2 hoặc 3 nguyên tử trên vòng cacbon được thay thế bởi nguyên tử khác loại như N, O hoặc S. Ví dụ của nhóm heteroxyclyl bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, oxetanyl, morpholiny, thiomorpholiny, piperaziny, piperidiny, pyrrolidiny, tetrahydropyrany, tetrahydrofurany, và 1,3-dioxany. Các nhóm heteroxyclyl có thể không được thế hoặc được thế, và sự gắn kết có thể được thông qua khung cacbon của chúng hoặc thông qua (các) nguyên tử khác loại tại vị trí thích hợp.

Thuật ngữ “heteroxyclyl heteroalkyl” đề cập đến nhóm dị vòng, như được xác định ở đây, được gắn vào nhóm nguyên tử gốc thông qua nhóm heteroalkyl (ví dụ, ete hoặc nhóm alkoxy). Ví dụ của nhóm heteroxyclyl heteroalkyl là nhóm –OCH₂CH₂(morpholino).

Các nhóm heteroxyclyl và heteroaryl được mô tả trên đây có thể độc lập được thế bởi 1, 2, 3, hoặc nhiều phân tử thế. Các phân tử thế có thể bao gồm, ví dụ: các nhóm chứa cacbon như alkyl, aryl, arylalkyl (ví dụ, phenyl được thế và không được thế, benzyl được thế và không được thế); các nguyên tử halogen và các nhóm chứa halogen như haloalkyl (ví dụ, triflometyl); các nhóm chứa oxy như các rượu (ví dụ, hydroxyl,

hydroxyalkyl, aryl(hydroxyl)alkyl), các ete (ví dụ, alkoxy, aryloxy, alkoxyalkyl, aryloxyalkyl), các aldehyt (ví dụ, carboxaldehyt), các keton (ví dụ, alkylcarbonyl, alkylcarbonylalkyl, arylcarbonyl, arylalkylcarbonyl, arylcarbonylalkyl), các axit (ví dụ, carboxy, carboxyalkyl), các dẫn xuất của axit như các este (ví dụ, alkoxycarbonyl, alkoxycarbonylalkyl, alkylcarbonyloxy, alkylcarbonyloxyalkyl), các amit (ví dụ, aminocarbonyl, mono- hoặc di-alkylaminocarbonyl, aminocarbonylalkyl, mono- hoặc di-alkylaminocarbonylalkyl, arylaminocarbonyl), các carbamat (ví dụ, alkoxycarbonylamino, aryloxy carbonylamino, aminocarbonyloxy, mono- hoặc di-alkylaminocarbonyloxy, arylaminocarbonyloxy) và các ure (ví dụ, mono- hoặc di-alkylaminocarbonylamino hoặc arylaminocarbonylamino); các nhóm chứa nitơ như amin (ví dụ, amino, mono- hoặc di-alkylamino, aminoalkyl, mono- hoặc di-alkylaminoalkyl), các azit, các nitril (ví dụ, xyano, xyanoalkyl), nitro; các nhóm chứa lưu huỳnh như thiol, thioete, sulfoxit và sulfon (ví dụ, alkylthio, alkylsulfinyl, alkylsulfonyl, alkylthioalkyl, alkylsulfinylalkyl, alkylsulfonylalkyl, arylthio, arylsulfinyl, arylsulfonyl, arylthioalkyl, arylsulfinylalkyl, arylsulfonylalkyl); và các nhóm dị vòng chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, (ví dụ, thienyl, furanyl, pyrrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, oxazolyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, aziridinyl, azetidiny, pyrrolidinyl, pyrrolinyl, imidazolidinyl, imidazolinyl, pyrazolidinyl, tetrahydrofuranyl, pyranyl, pyronyl, pyridyl, pyrazinyl, pyridazinyl, piperidyl, hexahydroazepinyl, piperazinyl, morpholinyl, thianaphthyl, benzofuranyl, isobenzofuranyl, indolyl, oxyindolyl, isoindolyl, indazolyl, indolinyl, 7-azaindolyl, benzopyranyl, coumarinyl, isocoumarinyl, quinolinyl, isoquinolinyl, naphthridinyl, cinnolinyl, quinazolinyl, pyridopyridyl, benzoxazinyl, quinoxalinyl, chromenyl, chromanyl, isochromanyl, phthalazinyl, benzothiazolyl và carbolinyl).

Thuật ngữ “hydroxyl” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho nhóm –OH. Theo một số phương án, nhóm hydroxyl có thể được thế bởi nhóm bảo vệ *O* như được xác định ở đây.

Thuật ngữ “nhóm bảo vệ *N*” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho các nhóm có mục đích bảo vệ nhóm amino khỏi các phản ứng không mong muốn trong quy trình tổng hợp. Các nhóm bảo vệ *N* được sử dụng phổ biến được đề cập trong Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis,” 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York,

1999), tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Thuật ngữ “nhóm bảo vệ O” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho các nhóm có mục đích bảo vệ nhóm chứa oxy (ví dụ, phenol, hydroxyl, hoặc carbonyl) khỏi các phản ứng không mong muốn trong quy trình tổng hợp. Các nhóm bảo vệ O được sử dụng phổ biến được đề cập trong Greene, “Protective Groups in Organic Synthesis,” 3rd Edition (John Wiley & Sons, New York, 1999), tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Thuật ngữ “perfloalkyl,” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho nhóm alkyl, như được xác định ở đây, trong đó mỗi gốc hydro gắn vào nhóm alkyl được thay thế bởi gốc flo. Ví dụ, các nhóm perfloalkyl được minh họa bởi triflometyl và pentafluoetyl.

Thuật ngữ “sulfonyl,” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho nhóm $-S(O)_2-$.

Hydrocacbon “đã được thế” có thể như phân tử thế một hoặc nhiều gốc hydrocacbon, các gốc hydrocacbon được thế, hoặc có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại. Ví dụ của các gốc hydrocacbon được thế bao gồm, mà không giới hạn, các dị vòng, như các heteroaryl. Trừ phi được quy định khác, hydrocacbon được thế bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại sẽ chứa từ 1 đến 20 nguyên tử khác loại. Theo các phương án khác, hydrocacbon được thế bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại sẽ chứa từ 1 đến 12 hoặc từ 1 đến 8 hoặc từ 1 đến 6 hoặc từ 1 đến 4 hoặc từ 1 đến 3 hoặc từ 1 đến 2 nguyên tử khác loại. Ví dụ của nguyên tử khác loại bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, oxy, nitơ, lưu huỳnh, phospho, halogen (F, Cl, Br, I, v.v...), boron, silicon, v.v.... Theo một số phương án, các nguyên tử khác loại sẽ được chọn từ nhóm bao gồm oxy, nitơ, lưu huỳnh, phospho, và halogen (F, Cl, Br, I, v.v...). Theo một số phương án, nguyên tử khác loại hoặc nhóm nguyên tử khác loại có thể thế cacbon. Theo một số phương án, nguyên tử khác loại hoặc nhóm nguyên tử khác loại có thể thế hydro. Theo một số phương án, hydrocacbon được thế có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại trong khung hoặc mạch của phân tử (ví dụ, xen giữa hai nguyên tử cacbon, như trong “oxa”). Theo một số phương án, hydrocacbon được thế có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại nằm kế bên khung hoặc mạch của phân tử (ví dụ, liên kết cộng hóa trị với nguyên tử cacbon trong mạch hoặc khung, như trong “oxo”, thay thế hydro trong khung hoặc mạch, v.v...).

Thuật ngữ “phần tử thế” đề cập đến một nhóm “thế” trên, ví dụ, nhóm alkyl, haloalkyl, xycloalkyl, heteroxyclyl, heteroxycloalkenyl, xycloalkenyl, aryl, hoặc

heteroaryl tại nguyên tử bất kỳ của nhóm đó, thay thế một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong đó. Theo một khía cạnh, (các) phần tử thế trên một nhóm độc lập là sự một sự kết hợp duy nhất, hoặc bất kỳ của hai hoặc nhiều nguyên tử hoặc nhóm chấp nhận của các nguyên tử biểu thị cho phần tử thế đó. Theo một khía cạnh khác, bản thân phần tử thế được thế bởi phần tử thế bất kỳ trong các phần tử thế trên đây. Ngoài ra, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “tùy ý được thế” có nghĩa là không được thế (ví dụ, được thế bởi H) hoặc được thế. Cần phải hiểu rằng việc thế ở nguyên tử đã cho bị giới hạn bởi hóa trị. Các phần tử thế phổ biến bao gồm halo, C₁₋₁₂ alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, C₂₋₁₂ alkenyl, C₂₋₁₂ alkynyl, C₃₋₁₂ xycloalkyl, C₆₋₁₂ aryl, C₃₋₁₂ heteroaryl, C₃₋₁₂ heteroxyclyl, C₁₋₁₂ alkylsulfonyl, nitro, xyano, -COOR, -C(O)NRR', -OR, -SR, -NRR', và oxo, như sự thế đơn phần tử, thế hai phần tử hoặc thế ba phần tử với các gốc như triflometoxy, clo, brom, flo, metyl, metoxy, pyridyl, furyl, triazyl, piperaziny, pyrazoyl, imidazoyl, và tương tự, mỗi trong số này tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại như halo, N, O, S, và P. R và R' độc lập là hydro, C₁₋₁₂ alkyl, C₁₋₁₂ haloalkyl, C₂₋₁₂ alkenyl, C₂₋₁₂ alkynyl, C₃₋₁₂ xycloalkyl, C₄₋₂₄ xycloalkylalkyl, C₆₋₁₂ aryl, C₇₋₂₄ aralkyl, C₃₋₁₂ heteroxyclyl, C₃₋₂₄ heteroxyclylalkyl, C₃₋₁₂ heteroaryl, hoặc C₄₋₂₄ heteroarylalkyl. Trừ khi có lưu ý khác, tất cả các nhóm được mô tả ở đây tùy ý chứa một hoặc nhiều phần tử thế phổ biến, trong phạm vi cho phép của hóa trị. Ngoài ra, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “tùy ý được thế” có nghĩa là không được thế (ví dụ, được thế bởi H) hoặc được thế. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “được thế” có nghĩa là nguyên tử hydro được loại bỏ và được thay thế bởi phần tử thế (ví dụ, phần tử thế phổ biến). Một người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng sự thay thế tại một nguyên tử đã cho bị giới hạn bởi hóa trị. Việc sử dụng các tên tiền tố (gốc) phần tử thế như alkyl mà không có từ bỏ nghĩa “tùy ý được thế” hoặc “được thế” được hiểu có nghĩa là phần tử thế cụ thể đó không được thế. Tuy nhiên, việc sử dụng “haloalkyl” mà không có từ bỏ nghĩa “tùy ý được thế” hoặc “được thế” vẫn được hiểu có nghĩa là nhóm alkyl, trong đó ít nhất một nguyên tử hydro được thay thế bởi halo.

Phần mô tả các hợp chất ở đây nên được hiểu rằng bị giới hạn bởi các nguyên lý liên kết hóa học được biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Theo đó, tại vị trí một nhóm có thể được thế bởi một hoặc nhiều số phần tử thế, thì các

thay thế này được chọn sao cho thỏa mãn với các nguyên lý liên kết hóa học liên quan đến hóa trị, v.v..., và để tạo ra các hợp chất không bất ổn định.

Các hợp chất được đề xuất ở đây có thể có một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đối xứng và có thể tồn tại ở dạng các chất đồng phân đối quang tinh khiết về mặt quang học, hỗn hợp của các chất đồng phân đối quang như raxemat, các chất đồng phân không đối quang tinh khiết về mặt quang học, hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang, raxemat của các đồng phân không đối quang hoặc hỗn hợp của raxemat của các đồng phân không đối quang. Các dạng hoạt quang có thể thu được ví dụ bằng cách phân giải các raxemat, bằng tổng hợp không đối xứng hoặc sắc ký không đối xứng (sắc ký với chất hấp thụ hoặc chất rửa giải không đối xứng). Tức là, một số hợp chất đã được đề cập có thể tồn tại ở nhiều dạng đồng phân lập thể khác nhau. Các chất đồng phân lập thể là các hợp chất chỉ khác nhau về sự bố trí không gian của chúng. Các chất đồng phân đối quang là các cặp chất đồng phân lập thể có hình ảnh qua gương không chồng khít lên nhau, chủ yếu là vì chúng chứa nguyên tử cacbon được thế không đối xứng đóng vai trò là tâm không đối xứng. “Chất đồng phân đối quang” có nghĩa là cặp phân tử là hình ảnh qua gương của nhau và không chồng khít lên nhau. Các chất đồng phân không đối quang là các chất đồng phân lập thể mà không có quan hệ như hình ảnh qua gương, chủ yếu là do chúng chứa hai hoặc nhiều nguyên tử cacbon được thế không đối xứng và thể hiện cấu hình của các phân tử thế xung quang một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đối xứng. Các chất đồng phân đối quang của hợp chất có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách tách một đồng phân đối quang từ raxemat bằng cách sử dụng một hoặc nhiều phương pháp hoặc kỹ thuật đã được biết rõ, như sắc ký không đối xứng và các phương pháp tách dựa trên đó. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng xác định phương pháp và/hoặc kỹ thuật thích hợp để tách đồng phân đối quang của hợp chất được mô tả ở đây từ hỗn hợp raxemat. “Raxemat” hoặc “hỗn hợp raxemat” có nghĩa là hỗn hợp chứa hai chất đồng phân đối quang, trong đó các hỗn hợp này không có hoạt tính quang học; nghĩa là, chúng không làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực. “Chất đồng phân hình học” có nghĩa là các chất đồng phân khác nhau về hướng của các nguyên tử thế (ví dụ, trong liên kết đôi cacbon-cacbon, trong vòng xycloalkyl, trong hệ vòng đôi nối cầu, v.v...). Các nguyên tử (khác H) trên mỗi phía của liên kết đôi cacbon-cacbon có thể trong cấu hình E (các phân tử thế nằm trên hai phía

đối diện nhau của liên kết đôi carbon- carbon) hoặc cấu hình Z (các phần tử thế nằm trên cùng một phía). "R," "S," "S*," "R*," "E," "Z," "cis," và "trans," thể hiện cho các cấu hình liên quan để phân tử lỗi. Một số các hợp chất được đề cập có thể tồn tại dưới dạng đồng phân cân quay. Các chất đồng phân cân quay là các đồng phân lập thể thu được do sự quay bị cản trở xung quanh các liên kết đơn mà tại đó rào cản trong không gian nhiều đến mức cho phép sự cô lập các chất đồng phân có cấu hình riêng. Các hợp chất đã mô tả ở đây có thể được điều chế dưới dạng các chất đồng phân đơn lẻ bằng quy trình tổng hợp đặc hiệu chất đồng phân hoặc được tách ra từ hỗn hợp chất đồng phân. Các kỹ thuật phân giải thông thường bao gồm việc tạo thành muối của bazơ tự do của mỗi chất đồng phân trong cặp chất đồng phân bằng cách sử dụng axit hoạt quang (sau đó là làm kết tinh phân đoạn và tái tạo bazơ tự do), việc tạo thành muối của dạng axit của mỗi chất đồng phân trong cặp chất đồng phân bằng cách sử dụng amin hoạt quang (sau đó là làm kết tinh phân đoạn và tái tạo axit tự do), việc tạo thành este hoặc amit của mỗi chất đồng phân trong cặp chất đồng phân bằng cách sử dụng axit tinh khiết về mặt quang học, amin hoặc rượu (sau đó là tách bằng sắc ký và loại bỏ nhóm phụ trợ không đối xứng), hoặc phân giải hỗn hợp chất đồng phân của vật liệu ban đầu hoặc sản phẩm cuối cùng bằng cách sử dụng các phương pháp sắc ký đã được biết rõ. Khi hóa học lập thể của hợp chất được đề cập được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, thì chất đồng phân lập thể được đặt tên hoặc được mô tả này chiếm khối lượng ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99% hoặc 99,9% so với các đồng phân lập thể khác. Khi một chất đồng phân đối quang duy nhất được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, thì chất đồng phân đối quang được đặt tên hoặc được mô tả này có độ tinh khiết quang học theo khối lượng ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, hoặc 99,9%. Khi một chất đồng phân không đối quang duy nhất được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, thì chất đồng phân không đối quang được đặt tên hoặc được mô tả này có độ tinh khiết theo khối lượng ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, hoặc 99,9%. Phần trăm độ tinh khiết quang học là tỷ lệ của khối lượng chất đồng phân đối quang hoặc trên khối lượng chất đồng phân đối quang này cộng với khối lượng của chất đồng phân quang học của nó. Độ tinh khiết của chất đồng phân không đối quang theo khối lượng là tỷ lệ của khối lượng của một chất đồng phân không đối quang hoặc trên khối lượng của tất cả các đồng phân không đối quang. Khi hóa học lập thể của một chất đồng phân đối quang duy nhất được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, thì chất đồng phân đối quang được đặt tên hoặc

được mô tả này có độ tinh khiết phân đoạn theo mol ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99% hoặc 99,9% so với các chất đồng phân lập thể khác. Khi một chất đồng phân đối quang duy nhất được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấp trúc, thì chất đồng phân đối quang được đặt tên hoặc được mô tả này có độ tinh khiết phân đoạn theo mol ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, hoặc 99,9%. Khi một chất đồng phân không đối quang duy nhất được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấp trúc, chất đồng phân không đối quang được đặt tên hoặc được mô tả này có độ tinh khiết phân đoạn theo mol ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, hoặc 99,9%. Phần trăm tinh khiết phân đoạn theo mol là tỷ lệ của các số mol của một chất đồng phân đối quang hoặc trên số mol của chất đồng phân đối quang này cộng với số mol của chất đồng phân quang học của nó. Tương tự, phần trăm tinh khiết phân đoạn theo mol là tỷ lệ của số mol của một chất đồng phân không đối quang hoặc trên số mol của chất đồng phân không đối quang này cộng với số mol của chất đồng phân của nó. Khi một hợp chất đã được đề cập được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấp trúc mà không có sự chỉ ra về hoá học lập thể, và hợp chất này có ít nhất một tâm không đối xứng, thì tên hoặc cấu trúc đó nên được hiểu rằng bao gồm đồng phân đối quang của hợp chất này mà không có chất đồng phân quang học tương ứng, hỗn hợp raxemat của hợp chất hoặc hỗn hợp được làm giàu trong một đồng phân đối quang so với chất đồng phân quang học tương ứng của nó. Khi hợp chất đã được đề cập được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấp trúc mà không có sự chỉ ra về hoá học lập thể và có hai hoặc nhiều tâm không đối xứng, tên hoặc cấu trúc đó nó nên được hiểu rằng bao gồm một chất đồng phân không đối quang mà không có các đồng phân không đối quang khác, số lượng các đồng phân không đối quang mà không có cặp chất đồng phân không đối quang khác, hỗn hợp các đồng phân không đối quang, hỗn hợp của cặp chất đồng phân không đối quang, hỗn hợp các đồng phân không đối quang trong đó một đồng phân không đối quang được làm giàu so với (các) chất đồng phân không đối quang khác hoặc hỗn hợp các đồng phân không đối quang trong đó một hoặc nhiều chất đồng phân không đối quang được làm giàu so với các đồng phân không đối quang khác. Sáng chế này bao gồm tất cả các dạng trên đây.

Thuật ngữ “lượng có hiệu quả” hoặc “lượng có hiệu quả trị liệu” của một chất như được sử dụng ở đây, là lượng đủ để tạo ra kết quả có lợi hoặc kết quả mong muốn, như các kết quả lâm sàng, và như vậy, “lượng có hiệu quả” phụ thuộc vào ngữ cảnh mà

thuật ngữ này được sử dụng. Ví dụ, trong việc sử dụng một chất làm chất chống bệnh sốt rét, lượng có hiệu quả của chất là, ví dụ, lượng đủ để đạt được sự làm giảm hoặc cải thiện hoặc ngăn chặn hoặc phòng ngừa một hoặc nhiều triệu chứng hoặc tình trạng; làm giảm mức độ của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; làm ổn định (như là, không làm xấu đi) tình trạng bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; ngăn chặn sự lan rộng của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng (ví dụ, ngăn chặn sự lan rộng của việc nhiễm trùng *Plasmodium* ra ngoài gan, ngăn chặn bệnh toàn thân, ngăn chặn giai đoạn triệu chứng của bệnh sốt rét, ngăn chặn sự thiết lập nhiễm trùng *Plasmodium* và/hoặc ngăn chặn sự lan rộng thêm của bệnh bằng cách ngăn chặn sự lây truyền trở lại muỗi, v.v...); làm trì hoãn hoặc làm chậm sự phát triển của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; cải thiện hoặc làm dịu bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; và làm thoát lui (một phần hoặc toàn bộ), kể cả phát hiện được hay không phát hiện được, khi so sánh với đáp ứng đạt được mà không có sử dụng chất này.

Thuật ngữ “dược phẩm” như được sử dụng ở đây, thể hiện cho chế phẩm chứa hợp chất đã được mô tả ở đây được điều chế với tá dược được dụng. Theo một số phương án, dược phẩm này được sản xuất hoặc bán với sự phê chuẩn của cơ quan quản lý nhà nước như là một phần của chế độ trị liệu để điều trị bệnh trên động vật có vú. Các dược phẩm có thể được điều chế, ví dụ, để sử dụng qua đường miệng trong dạng liều đơn vị (ví dụ, viên nén, viên nang, viên dài, mảnh, tròn hai đầu, viên hình thoi, hoặc xi rô); để sử dụng tại chỗ (ví dụ, dưới dạng kem, gel, nước xúc ngoài da, hoặc dạng mỡ); để sử dụng trong tĩnh mạch (ví dụ, dưới dạng dung dịch vô trùng không có các hạt làm tắc mạch và trong hệ dung môi thích hợp để sử dụng trong mạch); hoặc trong chế phẩm bất kỳ khác được mô tả ở đây (xem dưới đây).

Các chất mang dược phẩm hữu ích cho việc điều chế các chế phẩm ở đây có thể là các chất rắn, chất lỏng hoặc khí. Do đó, các chế phẩm này có thể có dạng viên nén, viên tròn, viên nang, thuốc đạn, bột, chế phẩm được phủ bên ngoài hoặc chế phẩm được bảo vệ khác (ví dụ, gắn trên trên nhựa trao đổi ion hoặc gói trong túi lipit-protein), chế phẩm giải phóng liên tục, dung dịch, huyền phù, cồn ngọt, và khí. Chất mang này có thể được chọn từ các dầu khác nhau bao gồm dầu có nguồn gốc từ dầu mỏ, động vật, thực vật hoặc tổng hợp, ví dụ, dầu lạc, dầu đậu tương, dầu khoáng, và dầu vừng. Các chất mang được ưu tiên là nước, nước muối, nước dextroza, và glycol, đặc biệt (khi đẳng trương với máu) cho dung dịch tiêm. Ví dụ, chế phẩm để sử dụng trong tĩnh mạch

chứa dung dịch nước vô trùng của (các) thành phần hoạt hoá được điều chỉnh bằng cách hoà tan (các) thành phần hoạt hoá dạng rắn trong nước để tạo ra dung dịch nước, và làm cho dung dịch được vô trùng. Các tá dược thích hợp bao gồm tinh bột, xenluloza, đá talc, glucoza, lactoza, đá talc, gelatin, mạch nha, bột gạo, bột mì, phấn, silica, magie stearat, natri stearat, glyxerol monostearat, natri clorua, sữa tách béo khô, glyxerol, propylen glycol, nước, và etanol. Các chế phẩm này có thể được đưa vào các phụ gia dược phẩm thông thường như chất bảo quản, chất ổn định, chất làm ướt hoặc làm nhũ tương hoá, các muối để điều chỉnh áp suất thẩm thấu, và các đệm. Các chất mang dược phẩm thích hợp và chế phẩm của chúng được mô tả trong Remington's Pharmaceutical Sciences by E. W. Martin. Các chế phẩm này sẽ, trong sự kiện bất kỳ, chứa lượng có hiệu quả của hoạt chất cùng với chất mang thích hợp cho điều chế dạng liều dùng thích hợp để sử dụng cho người nhận.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “muối dược dụng” đề cập đến muối của hợp chất bất kỳ được mô tả ở đây mà nằm trong phạm vi đánh giá y học, thích hợp để sử dụng để tiếp xúc với các mô của người và động vật mà không gây độc quá mức, kích ứng, phản ứng dị ứng và tương ứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý. Các muối dược dụng được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, muối dược dụng được mô tả trong: Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66:1-19, 1977 và trong Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Eds. P.H. Stahl and C.G. Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Các muối có thể được điều chế từ axit và bazơ dược dụng không độc bao gồm axit và bazơ vô cơ và hữu cơ. Các muối cộng axit điển hình bao gồm muối axetat, adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzensulfonat, benzoat, bisulfat, borat, butyrat, camphorat, camphorsulfonat, xitrat, xyclopentanpropionat, dicloaxetat, digluconat, dodecylsulfat, etansulfonat, format, fumarat, glucoheptonat, glutamat, glyxerophosphat, hemisulfat, heptonat, hexanoat, hipurat, hydrobromua, hydroclorua, hydroiodua, 2-hydroxy-etansulfonat, isethionat, lactobionat, lactat, laurat, lauryl sulfat, malat, maleat, malonat, mandelat, metansulfonat, mucat, 2-naphthalensulfonat, nicotinat, nitrat, oleat, oxalat, palmitat, pamoat, pantothenat, pectinat, persulfat, 3-phenylpropionat, phosphat, picrat, pivalat, propionat, stearat, suxinat, sulfat, tartrat, thioxyanat, toluensulfonat, undecanoat, và muối valerat. Các muối bazơ điển hình bao gồm muối của kim loại kiềm hoặc kiềm thổ bao gồm muối natri, lithi, kali, canxi, và magie, nhôm cũng như các

cation amoni không độc, amoni bậc bốn, và amin, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở amoni, tetrametylamoni, tetraetylamoni, metylamin, dimetylamin, trimetylamin, trietylamin, cafein, và etylamin.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” đề cập đến sinh vật bất kỳ có thể sử dụng chế phẩm theo sáng chế, ví dụ, cho mục đích thử nghiệm, chuẩn đoán, phòng ngừa, và/hoặc điều trị. Các đối tượng tiêu biểu bao gồm động vật bất kỳ (ví dụ, động vật có vú như chuột nhắt, chuột cống, thỏ, các loài linh trưởng không phải người, và người, thần lùn, tắc kè, v.v...). Đối tượng có thể là các động vật đã được thuần hóa (ví dụ, bò, bò con, cừu, cừu con, ngựa, ngựa con, lợn, lợn con, v.v...), hoặc các động vật trong họ *Muridae* (ví dụ, chuột cống, chuột nhắt, v.v...). Đối tượng có thể tìm kiếm hoặc cần sự điều trị, đòi hỏi cần điều trị, nhận điều trị, có thể nhận điều trị trong tương lai, hoặc người hoặc động vật đang được chăm sóc bởi người được đào tạo chuyên nghiệp cho một bệnh hoặc tình trạng cụ thể.

Như được sử dụng ở đây, và cũng như được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này, “để điều trị” tình trạng hoặc “điều trị” tình trạng (ví dụ, các tình trạng được mô tả ở đây như bệnh sốt rét) là cách để đạt được các kết quả có lợi hoặc mong muốn, như các kết quả lâm sàng. Các kết quả có lợi hoặc mong muốn, nhưng không bị giới hạn ở, làm giảm hoặc cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng hoặc tình trạng; làm giảm mức độ của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; làm ổn định (như là, không làm xấu đi) tình trạng bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; ngăn chặn sự lan rộng của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng (ví dụ, ngăn chặn sự lan rộng của việc nhiễm trùng *Plasmodium* ra ngoài gan hoặc ngăn chặn sự lây truyền lại vào muỗi, ngăn chặn bệnh toàn thân, ngăn chặn giai đoạn triệu chứng của bệnh sốt rét, và/hoặc ngăn chặn sự thiết lập nhiễm trùng *Plasmodium*); làm trì hoãn hoặc làm chậm sự phát triển của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; cải thiện hoặc làm dịu bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng; và làm thoát lui (một phần hoặc toàn bộ), kể cả phát hiện được hay không phát hiện được. “Làm dịu” bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng có nghĩa là làm giảm bớt mức độ và/hoặc các biểu hiện lâm sàng không mong muốn của bệnh, rối loạn, hoặc làm chậm hoặc làm giảm bớt tình trạng và/hoặc thời gian phát triển, khi so sánh với mức độ hoặc thời gian khi không điều trị.

Thuật ngữ "dạng liều đơn vị" đề cập đến đơn vị tách riêng thích hợp làm liều đơn vị cho các đối tượng là con người và các động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa lượng

định trước của vật liệu hoạt tính được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn, kết hợp với tá dược hoặc các tá dược được dụng thích hợp. Các dạng liều đơn vị không giới hạn điển hình bao gồm viên nén (ví dụ, viên nén nhai được), viên dài, mảnh, tròn hai đầu, viên nang (ví dụ, viên nang cứng hoặc viên nang mềm), viên hình thoi, màng, dải, viên nang gelatin, và xi rô (cũng xem bên dưới).

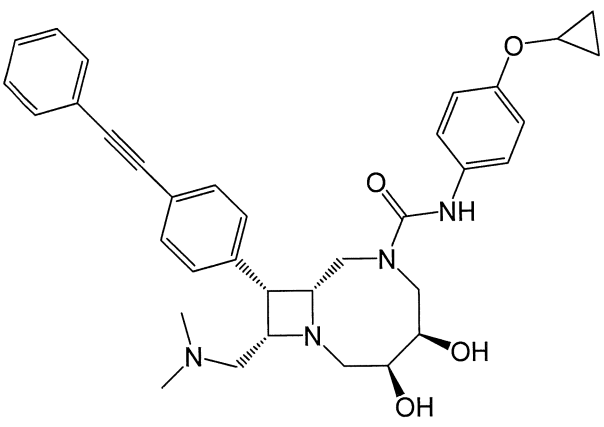
Các dấu hiệu và lợi ích khác của sáng chế được mô tả trong phần mô tả chi tiết và bộ yêu cầu bảo hộ sau đây.

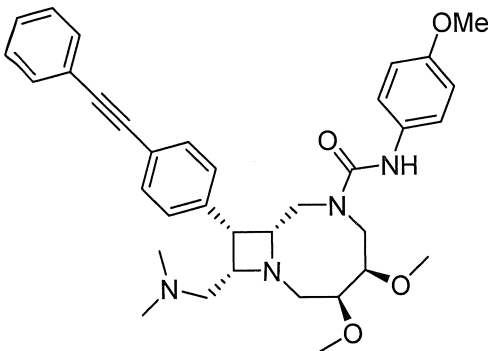
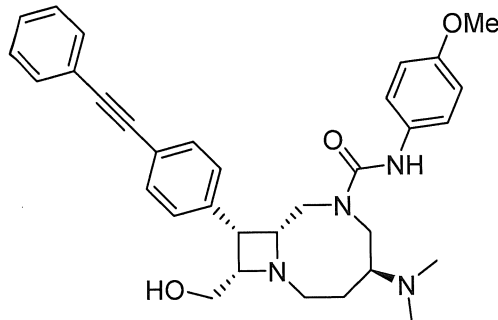
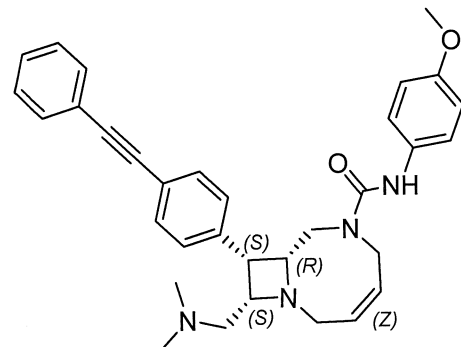
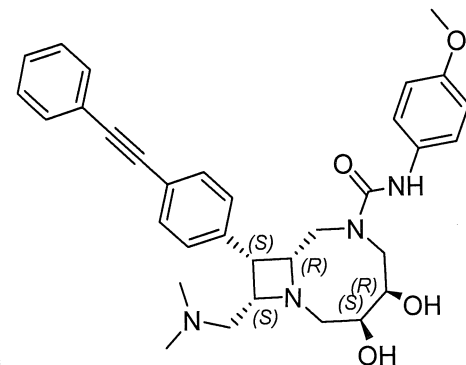
Các hợp chất

Sáng chế đề xuất các hợp chất và dược phẩm mới có lợi cho việc điều trị bệnh sốt rét. Sáng chế còn đề xuất phương pháp sử dụng các hợp chất và dược phẩm này.

Theo một số phương án, các hợp chất này có thể là hợp chất bất kỳ được liệt kê trong Bảng 1.

Bảng 1

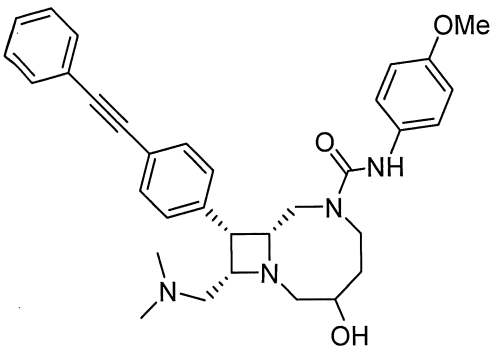
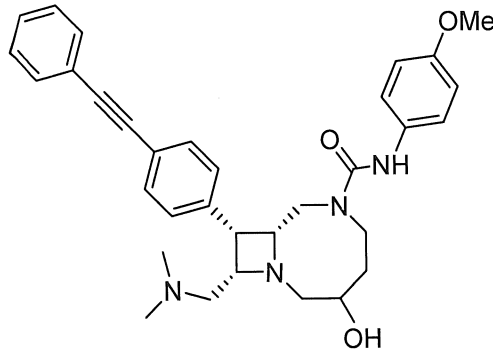
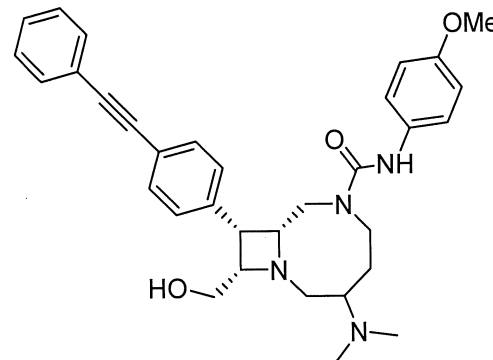
Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E1		(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)- <i>N</i> -(4-xylopropoxyphenyl)-10-((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-9-(4-(phenylethynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamide

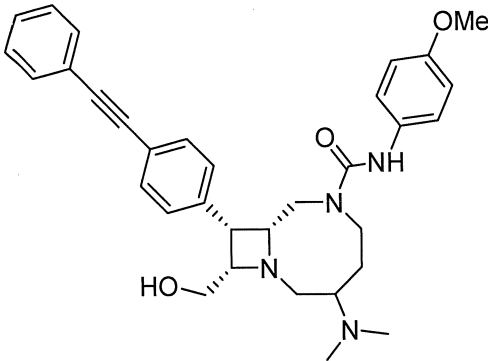
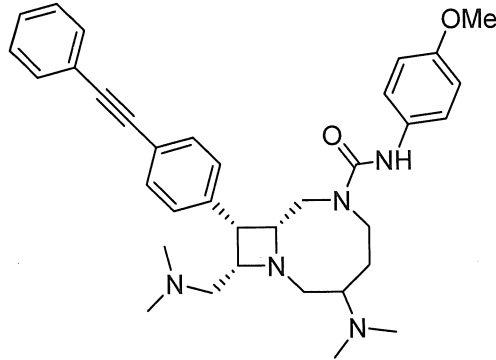
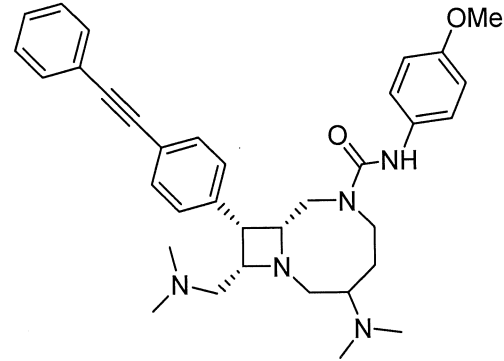
Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E2		(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-(((dimethylamino)methyl)-3,4-dimethoxy- <i>N</i> -(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E3		(4 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>R</i> ,10 <i>S</i>)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)- <i>N</i> -(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E4		(3 <i>Z</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-(((dimethylamino)methyl)- <i>N</i> -(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit
E5		(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-(((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy- <i>N</i> -(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E6		(3R,4S,8R,9S,10S)-10-(((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E7		(3S,4R,8R,9S,10S)-10-[[dimethylamino)methyl]-9-[4-[2-(2-florophenyl)etynyl]phenyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E8		(3R,4S,8R,9S,10S)-10-[[dimethylamino)methyl]-9-[4-[2-(2-florophenyl)etynyl]phenyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E9		(3S,4R,8R,9S,10S)-10-(diethylaminomethyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

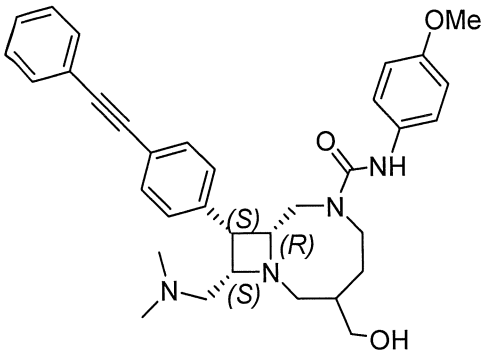
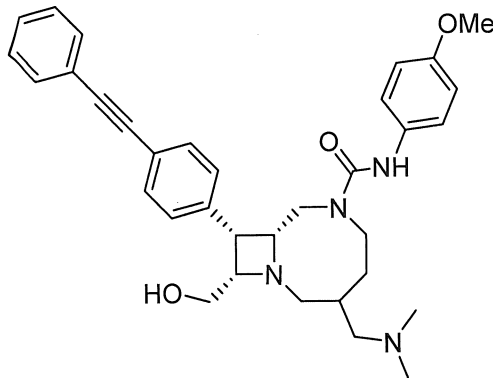
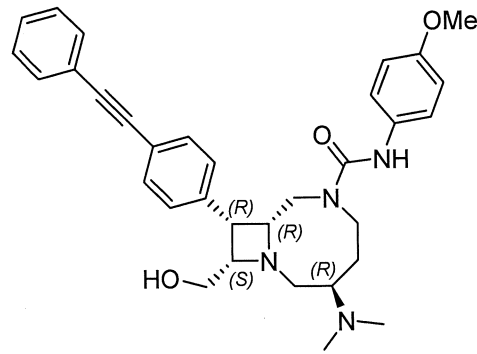
Hợp chất	Cấu trúc	Tên
		diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E10		(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]- <i>N</i> -(4-metoxypheñyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E11		(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]- <i>N</i> -(4-metoxypheñyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E12		(3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,8 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-9-(4-((2,3-diflophenyl)etynyl)phenyl)-10-((dimetylamino)metyl)-3,4-dihydroxy- <i>N</i> -(4-metoxypheñyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E13		(3R,4S,8R,9S,10S)-9-[4-[2-(2,3-difluorophenyl)ethynyl]phenyl]-10-[(dimethylamino)methyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid
E14		(4aR,7aR,8S,9S,11aS)-9-(((dimethylamino)methyl)-N-(4-methoxyphenyl)-8-(4-(phenylethynyl)phenyl)octahydro-2H-azeto[1,2-a][1,4]dioxino[2,3-f][1,4]diazocin-6(3H)-carboxamid
E15		(3S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E16		(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid, chất đồng phân 1*
E17		(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid, chất đồng phân 2*
E18		(8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid, chất đồng phân 1*

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E19		(8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid, chất đồng phân 2*
E20		(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-10-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-methoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid, chất đồng phân 1*
E21		(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-10-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-methoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid, chất đồng phân 2*

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E22		(3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E23		(3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E24		(4S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-4-hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E25		(8R,9S,10S)-3,10-bis[(dimethylamino)methyl]-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
		diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E26		(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E27		(8R,9R,10S)-3-[(dimethylamino)methyl]-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E28		(3R,8R,9R,10S)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E29		(3S,8R,9R,10S)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E30		(4R,8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E31		(8R,9R,10S)-4-((dimethylamino)methyl)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E32		(8R,9S,10S)-4,10-bis[(dimethylamino)methyl]-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E33		(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-4-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E34		(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-methoxyphenyl)-2-methyl-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E35		(8R,9R,10S)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-2-methyl-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E36		(3S,4R,8R,9S)-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

Hợp chất	Cấu trúc	Tên
E37		(3R,4S,8R,9S)-3,4-dihydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit
E38		(3R,4S,8R,9S,10S)-N-(4-cyclopropoxyphenyl)-10-((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-9-(4-(phenylethynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

*Mỗi đồng phân lập thể được phân lập như mô tả trong tổng hợp điển hình và được sử dụng trong các thử nghiệm sinh học bất kỳ như được mô tả dưới đây. Tuy nhiên, hóa học lập thể tại vị trí C3 hoặc C4 không thể xác định được - dù mỗi chất đồng phân không đối quang (như là, chất đồng phân 1 hoặc chất đồng phân 2) được phân lập như mô tả và không có mặt dưới dạng hỗn hợp.

Nên được hiểu rằng trong trường hợp có sự không thống nhất bất kỳ giữa tên hóa học và công thức, các hợp chất với tên hóa học được chỉ thị và các hợp chất với cấu trúc hóa học được chỉ thị sẽ được coi là được bao gồm trong sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế bao gồm chính bản thân các hợp chất này, cũng như muối của chúng và tiền dược chất của chúng, nếu áp dụng được. Muối, ví dụ, có thể được tạo thành giữa anion và phần tử thể mang điện tích dương (ví dụ, amino) trên hợp chất được mô tả ở đây. Các anion thích hợp bao gồm clorua, bromua, iodua, sulfat, nitrat, phosphat, xitrat, metansulfonat, trifloaxetat, và axetat. Theo cách khác, muối còn có thể được tạo thành giữa cation và phần tử thể mang điện tích âm (ví dụ, carboxylat)

trên hợp chất được mô tả ở đây. Các cation thích hợp bao gồm ion natri, ion kali, ion magie, ion canxi, và cation amoni như ion tetrametylamoni. Ví dụ của các tiền dược chất bao gồm các este của C₁₋₆ alkyl của nhóm axit carboxylic, có khả năng tạo ra các hoạt chất ngay khi sử dụng cho đối tượng.

Muối dược dụng của các hợp chất theo sáng chế bao gồm muối dược dụng có nguồn gốc từ axit và bazơ vô cơ và hữu cơ dược dụng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “muối dược dụng” đề cập đến muối được tạo thành bằng cách thêm axit hoặc bazơ dược dụng vào hợp chất được đề cập ở đây. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “dược dụng” đề cập đến chất được chấp nhận để sử dụng trong các ứng dụng làm thuốc theo quan điểm độc dược học và không tương tác bất lợi với thành phần hoạt tính.

Ví dụ của các muối axit thích hợp bao gồm axetat, adipat, alginat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, butyrat, xitrat, camphorat, camphorsulfonat, digluconat, dodecylsulfat, etansulfonat, format, fumarat, glucoheptanoat, glycolat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, 2-hydroxyetansulfonat, lactat, maleat, malonat, metansulfonat, 2-naphthalensulfonat, nicotinat, nitrat, palmoat, pectinat, persulfat, 3-phenylpropionat, phosphat, picrat, pivalat, propionat, salixylat, suxinat, sulfat, tartrat, thioxyanat, tosylat và undecanoat. Các axit khác, như oxalic, tuy bản thân chúng không có tính dược dụng, nhưng có thể được sử dụng để điều chế các muối hữu ích như các chất trung gian để thu được các hợp chất theo sáng chế và muối cộng axit dược dụng của chúng. Muối có nguồn gốc từ bazơ thích hợp bao gồm muối của kim loại kiềm (ví dụ, natri), kim loại kiềm thổ (ví dụ, magie), amoni và N-(alkyl)₄⁺. Sáng chế còn dự đoán việc tạo thành bazơ bậc bốn của các nhóm chứa bazơ nitơ trong các hợp chất được đề cập ở đây. Sản phẩm phân tán hoặc hòa tan trong dầu hoặc hòa tan trong nước có thể thu được bằng sự tạo thành bazơ bậc bốn này. Dạng muối của các hợp chất có công thức bất kỳ ở đây có thể là muối axit amino của nhóm carboxyl (ví dụ, các muối của L-arginin, -lysin, -histidin).

Danh sách của các muối thích hợp được tìm thấy trong Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418; Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977); và "Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, và Use A Handbook; Wermuth, C. G. and Stahl, P. H. (eds.) Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002 [ISBN 3-906390-26-8], mỗi tài liệu này

được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng.

Các dạng trung tính của các hợp chất này có thể được tái tạo bằng cách cho muối này tiếp xúc với bazơ hoặc axit và phân lập hợp chất gốc theo cách thông thường. Dạng gốc của hợp chất này khác biệt với nhiều dạng muối khác nhau ở một số tính chất vật lý, như độ hòa tan trong dung môi phân cực, ngoài ra các muối này là tương đương với dạng gốc của hợp chất này cho mục đích của sáng chế.

Ngoài dạng muối, sáng chế đề xuất các hợp chất ở dạng tiền dược chất. Các tiền dược chất của các hợp chất này được mô tả ở đây là các hợp chất trải qua các sự thay đổi hóa học trong điều kiện sinh lý để tạo ra các hợp chất theo sáng chế. Ngoài ra, các tiền dược chất có thể được chuyển hóa thành các hợp chất theo sáng chế bằng các phương pháp hóa học hoặc hóa sinh trong môi trường *ex vivo*. Ví dụ, các tiền dược chất có thể được chuyển hóa chậm thành các hợp chất theo sáng chế khi được đưa vào bao gói miếng dán trên da cùng với enzym hoặc chất phản ứng hóa học thích hợp. Các tiền dược chất thường hữu ích bởi vì chúng có thể dễ dàng sử dụng hơn dược chất gốc trong một số trường hợp. Ví dụ, khi sử dụng qua đường miệng, chúng có thể có tính sinh khả dụng hơn dược chất gốc. Tiền dược chất có thể còn có độ hòa tan trong các dược phẩm được cải thiện hơn dược chất gốc. Nhiều dạng khác nhau của các dẫn xuất tiền dược chất được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này, như các dẫn xuất tiền dược chất phụ thuộc vào sự cắt thủy phân hoặc sự hoạt hóa oxy hóa của tiền dược chất. Ví dụ, mà không bị giới hạn ở, tiền dược chất sẽ là hợp chất theo sáng chế được sử dụng dưới dạng este ("tiền dược chất"), nhưng sau đó được thủy phân chuyển hóa thành axit carboxylic, mà là chất hoạt hóa. Các ví dụ thêm bao gồm các dẫn xuất peptidyl của hợp chất theo sáng chế.

Sáng chế còn bao gồm các dạng hydrat và solvat khác nhau của các hợp chất này.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể chứa các tỷ lệ không tự nhiên của các chất đồng vị nguyên tử ở một hoặc nhiều nguyên tử tạo thành các hợp chất này. Ví dụ, các hợp chất này có thể được đánh dấu phóng xạ bằng đồng vị phóng xạ, như ví dụ triti (^3H), iot-125 (^{125}I) hoặc cacbon-14 (^{14}C). Toàn bộ các thay đổi khác nhau về đồng vị của các hợp chất theo sáng chế, dù có tính phóng xạ hay không, thì đều được bao gồm

trong phạm vi của sáng chế.

Các phương pháp

Các hợp chất được mô tả ở đây là có lợi cho các phương pháp được đề xuất ở đây, mà không bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, được cho là phát huy các tác dụng mong muốn của chúng thông qua khả năng của chúng để ức chế sự phát triển hoặc giết chết động vật nguyên sinh ký sinh gây ra bệnh sốt rét (ví dụ, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, và/hoặc *P. knowlesi*) và/hoặc bệnh Cryptosporidiosis (ví dụ *C. parvum*, *C. hominis*, *C. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis*, và *C. muris*). Theo một số phương án, việc điều trị bao gồm phòng ngừa nguyên nhân, như ngăn chặn sự lan rộng của việc nhiễm trùng *Plasmodium* và/hoặc *Cryptosporidium* ra ngoài gan, ngăn chặn bệnh toàn thân, ngăn chặn giai đoạn triệu chứng của bệnh sốt rét, ngăn chặn sự thiết lập nhiễm trùng, và/hoặc ngăn chặn sự lây truyền thêm (ví dụ, vào muỗi). Theo một số phương án, việc điều trị bệnh sốt rét đề cập đến việc điều trị có mục đích là chữa trị (ví dụ, *P. vivax* hoặc *P. malariae*), ví dụ, chữa trị triệt để (như là, dọn sạch thể ngủ của ký sinh trùng ra khỏi gan). Trong các ví dụ khác nhau, các phương pháp này bao gồm việc ngăn chặn sự lan rộng của việc nhiễm trùng của ký sinh trùng gây bệnh sốt rét từ gan. Theo một số phương án, việc điều trị bệnh Cryptosporidiosis bao gồm phòng ngừa nguyên nhân, như việc ngăn chặn sự lan rộng *Cryptosporidium* ra ngoài vùng đã bị nhiễm của đối tượng (ví dụ, gan, ruột, đường hô hấp, v.v...).

Các hợp chất có thể là có ích trong việc điều trị bệnh sốt rét kháng thuốc, như bệnh sốt rét kháng chloroquin, quinin, pyrimethamin, sulfadoxin, mefloquin, artemet, lumefantrin, artesunat, amodiaquin, dihydroartemisinin, piperakin, proguanil, doxyxyclin, clindamycin, artemisinin, atovaquon, và sự kết hợp bất kỳ của các thuốc này.

Các dược phẩm

1. Các chế phẩm

Để sử dụng trong các phương pháp được mô tả ở đây, các hợp chất có thể được điều chế dưới dạng dược phẩm hoặc chế phẩm thú y. Chế phẩm này được chọn có thể thay đổi tùy theo đối tượng cần được điều trị, phương thức sử dụng, và kiểu điều trị

được mong muốn (ví dụ, ngăn chặn, phòng ngừa, hoặc trị liệu). Tóm tắt về các kỹ thuật điều chế được trình bày trong Remington: The Science và Practice of Pharmacy, 21st Edition, Lippincott Williams & Wilkins, (2005); và Enxyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick và J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, New York, mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các cách sử dụng và điều chế điển hình được mô tả dưới đây.

Trong thực hành các phương pháp được đề cập, các hợp chất (hoặc muối được dùng của chúng) hoặc các chế phẩm có thể được sử dụng trong bất kỳ phương pháp và cách thức chấp nhận được và thông thường nào đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Do đó, các hợp chất hoặc các chế phẩm này có thể được sử dụng, ví dụ, qua đường ruột hoặc đường dạ dày-ruột (ví dụ, qua đường miệng hoặc trực tràng), tại chỗ (ví dụ, lên da hoặc màng nhầy có thể tiếp cận (ví dụ, trong miệng (ví dụ, dưới lưỡi hoặc trong má), trong mũi, trong trực tràng, hoặc bề mặt của cơ quan sinh dục niệu)), ngoài ruột (ví dụ, bằng áp dụng hoặc tiêm vào trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da, trong khớp, trong bàng quang, trong võng mạc, ngoài màng cứng, trong mắt, hoặc trong tai), qua da, hoặc cách xông hít (ví dụ, bằng khí dung).

Các chế phẩm này có thể ở dạng rắn, lỏng, hoặc khí, như được xác định là phù hợp bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Do đó, như các ví dụ chung, các dược phẩm này có thể ở dạng viên nén, viên nang, xi rô, viên tròn, chế phẩm được phủ bên ngoài hoặc chế phẩm được bảo vệ khác, chế phẩm giải phóng liên tục, cồn ngọt, bột, hạt, huyền phù, nhũ tương, dung dịch, gel (ví dụ, hydrogel), bột nhão, mỡ, kem, băng dán, miếng dán trên da, dạng thấm ướt, thuốc đạn, dạng thụt, dạng tiêm, dạng cấy, dạng xịt, hoặc dạng khí.

Các chế phẩm này, thông thường, bao gồm lượng có hiệu quả của hợp chất được mô tả ở đây và một hoặc nhiều chất mang hoặc tá dược được dùng, mà được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Do đó, các chế phẩm này có thể bao gồm một hoặc nhiều chất pha loãng, đệm, chất bảo quản, muối, carbohydrat, axit amino, protein mang, axit béo, lipit, v.v... Các hợp chất được mô tả ở đây có thể có mặt trong các lượng tổng số, ví dụ, từ 1% đến 95% tổng khối lượng của chế phẩm.

Để tiêm, các chế phẩm có thể được điều chế dưới dạng thông thường như dung dịch hoặc huyền phù lỏng, hoặc như dạng rắn thích hợp cho dung dịch hoặc huyền phù trong dung dịch trước khi tiêm, hoặc như nhũ tương. Các tá dược thích hợp cho các chế phẩm này bao gồm, ví dụ, nước, nước muối, dextroza, và glyxerol. Các chế phẩm này còn có thể chứa các chất bổ trợ không độc, như chất làm ướt hoặc làm nhũ tương hoá, và chất đệm pH, như natri axetat, sorbitan monolaurat, v.v...

Chế phẩm để sử dụng qua đường miệng bao gồm viên nén chứa hợp chất trong hỗn hợp với một hoặc nhiều tá dược được dụng không độc. Các tá dược này có thể là, ví dụ, chất pha loãng hoặc chất độn trợ (ví dụ, sucroza, sorbitol, đường, manitol, xenluloza siêu kết tinh, tinh bột bao gồm tinh bột khoai tây, canxi carbonat, natri clorua, lactoza, canxi phosphat, canxi sulfat, hoặc natri phosphat); chất tạo hạt và chất phân rã (ví dụ, các dẫn xuất của xenluloza bao gồm xenluloza siêu kết tinh, tinh bột bao gồm tinh bột khoai tây, croscarmeloza natri, alginat, hoặc axit alginic); chất liên kết (ví dụ, sucroza, glucoza, sorbitol, cây keo, axit alginic, natri alginat, gelatin, tinh bột, tinh bột được gelatin hoá sơ bộ, xenluloza siêu kết tinh, magie aluminum silicat, carboxymetylxenluloza natri, metylxenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, etylxenluloza, polyvinylpyrrolidon, hoặc polyetylen glycol); và chất làm trơn, chất làm trượt, và chất chống dính (ví dụ, magie stearat, kẽm stearat, axit stearic, silic dioxit, dầu thực vật đã được hydro hoá, hoặc đá talc). Các tá dược được dụng khác có thể là chất tạo màu, chất tạo hương, chất làm dẻo, chất làm ẩm, và chất đệm.

Các chế phẩm để sử dụng qua đường miệng có thể được điều chế dưới dạng viên nén nhai được, hoặc dưới dạng viên nang gelatin cứng trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng dạng rắn trợ (ví dụ, tinh bột khoai tây, lactoza, xenluloza siêu kết tinh, canxi carbonat, canxi phosphat hoặc cao lanh), hoặc dưới dạng viên nang gelatin mềm trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc môi trường dầu, ví dụ, dầu lạc, parafin lỏng, hoặc dầu oliu. Bột, hạt, và viên kết có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các thành phần đã được đề cập trên đây dưới dạng viên nén và viên nang theo cách thông thường sử dụng, ví dụ, máy trộn, thiết bị tăng hoá lỏng hoặc thiết bị sấy phun.

Sự hoà tan hoặc sự giải phóng được kiểm soát khuếch tán có thể đạt được bằng cách phủ một cách thích hợp chế phẩm dạng viên nén, viên nang, viên kết, hoặc chế

phẩm hạt của các hợp chất, hoặc bằng cách kết hợp hợp chất thành một ma trận thích hợp. Một lớp phủ giải phóng được kiểm soát có thể bao gồm một hoặc nhiều chất phủ đã được đề cập trên đây và/hoặc, ví dụ, senlac, sáp ong, glycowax, sáp thầu dầu, sáp cây carnauba, rượu stearyl, glyxeryl monostearat, glyxeryl distearat, glyxerol palmitostearat, etylxenluloza, nhựa acrylic, axit dl-polylactic, xenluloza axetat butyrat, polyvinyl clorua, polyvinyl axetat, vinyl pyrolidon, polyetylen, polymethacrylat, metylmethacrylat, 2-hydroxymethacrylat, methacrylat hydrogel, 1,3 butylen glycol, etylen glycol methacrylat, và/hoặc polyetylen glycol. Trong chế phẩm ma trận giải phóng được kiểm soát, vật liệu ma trận có thể còn bao gồm, ví dụ, metylxenluloza đã được hydro hoá, sáp cây carnauba và rượu stearyl, carbopol 934, silicon, glyxeryl tristearat, metyl acrylat-metyl methacrylat, polyvinyl clorua, polyetylen, và/hoặc flocarbon đã được hydro hoá.

Các dạng lỏng trong đó các hợp chất và các chế phẩm theo sáng chế có thể được kết hợp để sử dụng qua đường miệng hoặc tiêm bao gồm dung dịch nước, xi rô có hương vị thích hợp, huyền phù trong dầu hoặc nước, và nhũ tương có hương vị với các dầu ăn được như dầu hạt bông, dầu vừng, dầu dừa, hoặc dầu lạc, cũng như cồn ngọt và các chất dẫn được dùng tương tự.

Dược phẩm này có thể còn được điều chế dưới dạng chế phẩm thú y, để sử dụng cho các đối tượng không phải là người. Các chế phẩm thú y này theo sáng chế có thể trong dạng thích hợp bất kỳ để phù hợp với cách sử dụng được yêu cầu, ví dụ qua đường mũi, miệng, trong da, da hoặc ngoài ruột. Theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm này ở dạng có mục đích để sử dụng qua đường miệng và, ví dụ được trộn vào khẩu phần thức ăn khi vật nuôi ăn, hoặc trực tiếp cho vào miệng sau khi ăn. Các chế phẩm thú y này theo sáng chế ở dạng huyền phù lỏng hoặc dung dịch dùng qua đường mũi, miệng hoặc tiêm, hoặc trong dạng rắn hoặc bán rắn, bột, viên kết, viên nang, hạt, viên tròn được bọc đường, viên nhộng, dạng xịt, túi, viên tròn, viên nén, bột nhão, dạng cây hoặc gel. Theo một phương án cụ thể, các chế phẩm này ở dạng rắn dùng qua đường miệng, tốt hơn là dạng viên nén. Theo một số phương án, các chế phẩm thú y này có thể có lượng có hiệu quả của hợp chất cho một loài vật cụ thể (ví dụ, bò, cừu con, dê, ngựa, v.v...).

Theo một phương án được ưu tiên, các chế phẩm theo sáng chế được điều chế trong dạng viên kết hoặc viên nén để sử dụng qua đường miệng. Theo dạng chế phẩm này, các chế phẩm này chứa lactoza monohydrat, siêu kết tinh xenluloza, crospovidon/povidon, chất thơm, đường nén và magie stearat dưới dạng tá dược. Khi các chế phẩm này trong dạng viên kết hoặc viên nén, chúng là ví dụ 1 mg, 2 mg, hoặc 4 mg viên kết hoặc viên nén torasemid. Các dạng viên kết hoặc viên nén này có thể chia được do đó chúng có thể được cắt ra để phù hợp với liều lượng theo sáng chế trong một hoặc hai lần sử dụng mỗi ngày. Trong một phương án được ưu tiên hơn, các chế phẩm theo sáng chế được điều chế trong dạng dung dịch hoặc huyền phù tiêm để sử dụng ngoài ruột. Các chế phẩm tiêm được điều chế bằng cách trộn lượng có hiệu quả điều trị của torasemid với chất điều hoà pH, chất đệm, chất huyền phù, chất hoà tan, chất ổn định, chất bảo và/hoặc chất bảo quản, và bằng cách biến đổi hỗn hợp này thành dạng tiêm hoặc truyền trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ theo phương pháp thông thường. Có khả năng, các chế phẩm tiêm có thể được làm đông khô theo phương pháp thông thường. Ví dụ của các chất huyền phù bao gồm methylxenluloza, polysorbat 80, hydroxyethylxenluloza, gồm xanthan, sodic carboxymethylxenluloza và sorbitan monolaurat đã được polyethoxyl hoá. Ví dụ của chất hoà tan bao gồm polyoxy etylen - dầu thầu dầu được hoá rắn, polysorbat 80, nicotinamit, sorbitan monolaurat đã được polyetoxyl hoá, macrogol và etyl este của axit béo từ dầu thầu dầu. Ngoài ra, chất ổn định bao gồm natri sulfít, natri metalsulfít và ete, trong khi đó chất bảo quản bao gồm methyl p-hydroxybenzoat, etyl p-hydroxybenzoat, axit sorbic, phenol, cresol và chlorocresol. Ví dụ của chất bảo là manitol. Khi điều chế huyền phù hoặc dung dịch tiêm, nên đảm bảo rằng chúng đẳng trương với máu.

2. Các kit

Các hợp chất và các chế phẩm có thể được đóng gói trong kit, tùy ý với một hoặc nhiều dược chất dưới đây (xem dưới đây). Ví dụ không giới hạn của các kit này bao gồm các kit chứa, ví dụ, hai hoặc nhiều viên tròn, viên tròn và bột, thuốc đạn và dung dịch trong lọ, hoặc hai loại kem bôi tại chỗ. Các kit này có thể bao gồm các thành phần tùy ý hỗ trợ việc sử dụng liều đơn vị cho đối tượng, như lọ để hoàn nguyên dạng bột, ống tiêm để tiêm, hệ thống phân phối IV tùy chỉnh, hoặc ống hít. Ngoài ra, các kit liều đơn vị có thể bao gồm hướng dẫn để chuẩn bị và sử dụng các chế phẩm. Các kit này có

thể được sản xuất dưới dạng liều đơn vị duy nhất cho một đối tượng, nhiều mục đích sử dụng cho một đối tượng đặc biệt (ở liều không đổi hoặc trong đó các hợp chất riêng lẻ có thể thay đổi hiệu lực theo tiến triển trị liệu); hoặc các kit này có thể bao gồm nhiều liều phù hợp trong việc sử dụng cho nhiều đối tượng (“gói lượng lớn”). Các thành phần kit có thể được lắp ráp trong hộp bìa cứng, gói vỉ, bình, và ống.

3. Liều lượng

Liều lượng của hợp chất phụ thuộc vào một số yếu tố, như cách sử dụng, tuổi và khối lượng cơ thể của đối tượng, và tình trạng của đối tượng được chữa trị, và cuối cùng sẽ được quyết định bởi bác sỹ điều trị hoặc bác sỹ thú y. Lượng này của hợp chất, khi được quyết định bởi bác sỹ điều trị hoặc bác sỹ thú y, được đề cập dưới dạng “lượng có hiệu quả trị liệu” ở đây và trong yêu cầu bảo hộ. Ví dụ, liều của hợp chất được đề cập ở đây thường trong dải từ khoảng 1 đến khoảng 1000 mg mỗi ngày. Tốt hơn là, lượng có hiệu quả trị liệu này là lượng trong khoảng 1 mg đến khoảng 500 mg mỗi ngày.

Việc sử dụng mỗi thuốc, như được mô tả ở đây, có thể độc lập là từ 1 đến 4 lần mỗi ngày trong từ 1 ngày đến 1 năm, và thậm chí có thể đến suốt đời của đối tượng. Việc sử dụng kinh niên, dài hạn có thể được chỉ định.

4. Các liệu pháp điều trị kết hợp

Các hợp chất và dược phẩm có thể được điều chế và sử dụng trong các liệu pháp điều trị kết hợp, đó là, các hợp chất và các dược phẩm có thể được điều chế hoặc sử dụng một cách đồng thời, trước hoặc sau, một hoặc nhiều thủ thuật y khoa hoặc điều trị mong muốn. Các liệu pháp điều trị kết hợp đặc biệt (các trị liệu hoặc các thủ thuật) để sử dụng trong chế độ kết hợp sẽ tính đến khả năng tương thích của các thủ thuật y khoa hoặc điều trị mong muốn và tác dụng trị liệu đạt được. Còn có sự đánh giá cao rằng các trị liệu được sử dụng có thể đạt được tác dụng mong muốn cho cùng một rối loạn, hoặc chúng có thể đạt được các tác dụng khác nhau (ví dụ, kiểm soát tác động bất lợi bất kỳ).

Ví dụ của các loại thuốc khác để kết hợp với các hợp chất được mô tả ở đây bao gồm các dược phẩm điều trị bệnh sốt rét (ví dụ, chloroquin, quinin, pyrimetamin, sulfadoxin, mefloquin, artemet, lumefantrin, artesunat, amodiaquin, dihydroartemisinin, piperaquin, proguanil, doxyxyclin, clindamycin, artemisinin,

atovaquon, các dược phẩm đã được phê chuẩn khác cho việc điều trị bệnh sốt rét, và sự kết hợp bất kỳ của các thuốc này) và/hoặc các dược phẩm điều trị bệnh Cryptosporidiosis (ví dụ, nitazoxanid). Các ví dụ khác của các thuốc để kết hợp với các hợp chất được mô tả ở đây bao gồm các dược phẩm điều trị các triệu chứng hoặc các dấu hiệu khác nhau, mà vẫn có sự liên hệ hoặc có sự liên quan với nhau. Khi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này xác định là thích hợp thì các phương pháp kết hợp có thể bao gồm việc sử dụng hai (hoặc nhiều) chất được điều chế cùng nhau hoặc riêng lẻ với nhau. Trong một ví dụ, hai hoặc nhiều loại thuốc được điều chế cùng nhau để sử dụng đồng thời hoặc gần như đồng thời các chất.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây mô tả việc tổng hợp một số hợp chất đại diện và việc sử dụng các hợp chất này để điều trị bệnh sốt rét. Theo đó, các ví dụ này có mục đích là để minh họa, nhưng không làm giới hạn sáng chế này. Các hợp chất bổ sung mà không có sự minh họa cụ thể có thể được tổng hợp bằng các phương pháp thông thường kết hợp với các phương pháp được mô tả ở đây.

Tổng hợp các hợp chất

Nguyên liệu và phương pháp

Tất cả các phản ứng được thực hiện trong khí quyển N₂ hoặc argon. Tất cả các chất phản ứng và dung môi được mua từ các nhà cung cấp thương mại và được sử dụng như được nhận, hoặc được tổng hợp theo các tài liệu tham khảo có chú thích. Phổ NMR được ghi lại trên quang phổ kế Bruker 300 (300 MHz ¹H, 75 MHz ¹³C) và Bruker 400 (400 MHz ¹H, 100 MHz ¹³C). Sự chuyển dịch hoá học proton được báo cáo trong đơn vị phần triệu (ppm) (6) được tham chiếu đến dung môi NMR. Dữ liệu được báo cáo như sau: các chuyển dịch hoá học, độ bội (br = vạch rộng, s = vạch đơn, d = vạch đôi, t = vạch ba, q = vạch bốn, p = vạch năm, m = nhiều vạch; (các) hằng số tạo cặp trong Hz; tích hợp). Trừ khi dữ liệu NMR chỉ định khác được thu thập ở 25°C. Sắc ký nhanh được thực hiện bằng cách sử dụng 40-60 pum Silica Gel (cỡ lưới 60 Å) trên Teledyne Isco Combiflash Rf. Để phân tích độ tinh khiết, độ tinh khiết được đo bởi độ hấp thụ UV ở 210 nm đối với tất cả các ví dụ, và độ đồng nhất được xác định trên khối phổ kế SQ bằng cách ion hoá phun điện tử dương. Phương pháp sau đây được sử dụng: Sắc ký

lỏng/Khối phổ nối tiếp (LCMS: Liquid Chromatography/Mass Spectrometry) được thực hiện trên mô-đun tách Waters 2795 và đầu dò khối lượng 3100. Pha động A chứa 0,01% axit formic trong nước, trong khi đó pha động B chứa 0,01% axit formic trong axetonitril. Gradient chạy từ 5% đến 95% pha động B trên 2,5, 5 hoặc 7,5 phút ở 1,75 mL/phút. Cột Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2,7 μ m, 3,0 x 30 mm được sử dụng với nhiệt độ của cột được duy trì ở 40°C. 2,1 mL dung dịch mẫu được truyền vào. TLC phân tích được thực hiện trên tấm EM Reagent 0,25 mm silica gel 60-F. Việc quan sát được thực hiện với đèn UV và nhuộm với dung dịch nước kali permanganat (KMnO_4) sau đó gia nhiệt. Việc đo khối lượng chính xác đạt được trên khối phổ kế Agilent 6230 Time-of-Flight dưới dạng $(\text{M}+\text{H})^+$. Sự tinh khiết và đồng nhất của hợp chất còn được xác định bởi UPLC-MS. Sự tinh khiết được đo bằng độ hấp thụ UV ở 210 nm. Sự đồng nhất được xác định trên khối phổ kế SQ bằng ion hóa phun điện từ âm và dương. Pha động A chứa 0,1% amoni hydroxit hoặc 0,05% axit trifloaxetic trong nước, trong khi đó pha động B chứa 0,1% amoni hydroxit hoặc 0,06% axit trifloaxetic trong axetonitril. Gradient chạy từ 5% đến 95% pha động B trên 2,65 phút ở 0,9 mL/phút. Cột Acquity BEH C18, 1,7 μ m, 2,1 x 50 mm được sử dụng với nhiệt độ của cột được duy trì ở 65°C. Các hợp chất được hoà tan trong DMSO ở nồng độ danh định bằng 1 mg/mL, và 1,0 μ L dung dịch dung dịch này được truyền vào. Việc tách không đối xứng được thực hiện bằng SFC-MS. Sắc ký dịch siêu tới hạn A Berger G600 được đi kèm với khối phổ kế bốn cực đơn Waters ZQ hoạt động trong chế độ APCI dương. Việc sử dụng CO_2 lỏng được biến đổi với 20% isopropanol, việc tách bằng sắc ký có pha động có thành phần được giữ cố định và đồng nhất được thực hiện trong 5,0 phút ở 4,0 mL/phút trên cột 4,6 x 100 mm Chiralpak AD-H được duy trì ở 40°C. Các hợp chất được hoà tan trong metanol ở nồng độ danh định bằng 1 mg/mL, và 10 μ L dung dịch này được truyền vào. Các ví dụ tổng hợp dưới đây không làm giới hạn cụ thể, và các phương pháp khác để tổng hợp các hợp chất theo sáng chế được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này.

Từ viết tắt

Xuyên suốt các ví dụ tổng hợp dưới đây, các từ viết tắt khác nhau được sử dụng và được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Bảng 2 mô

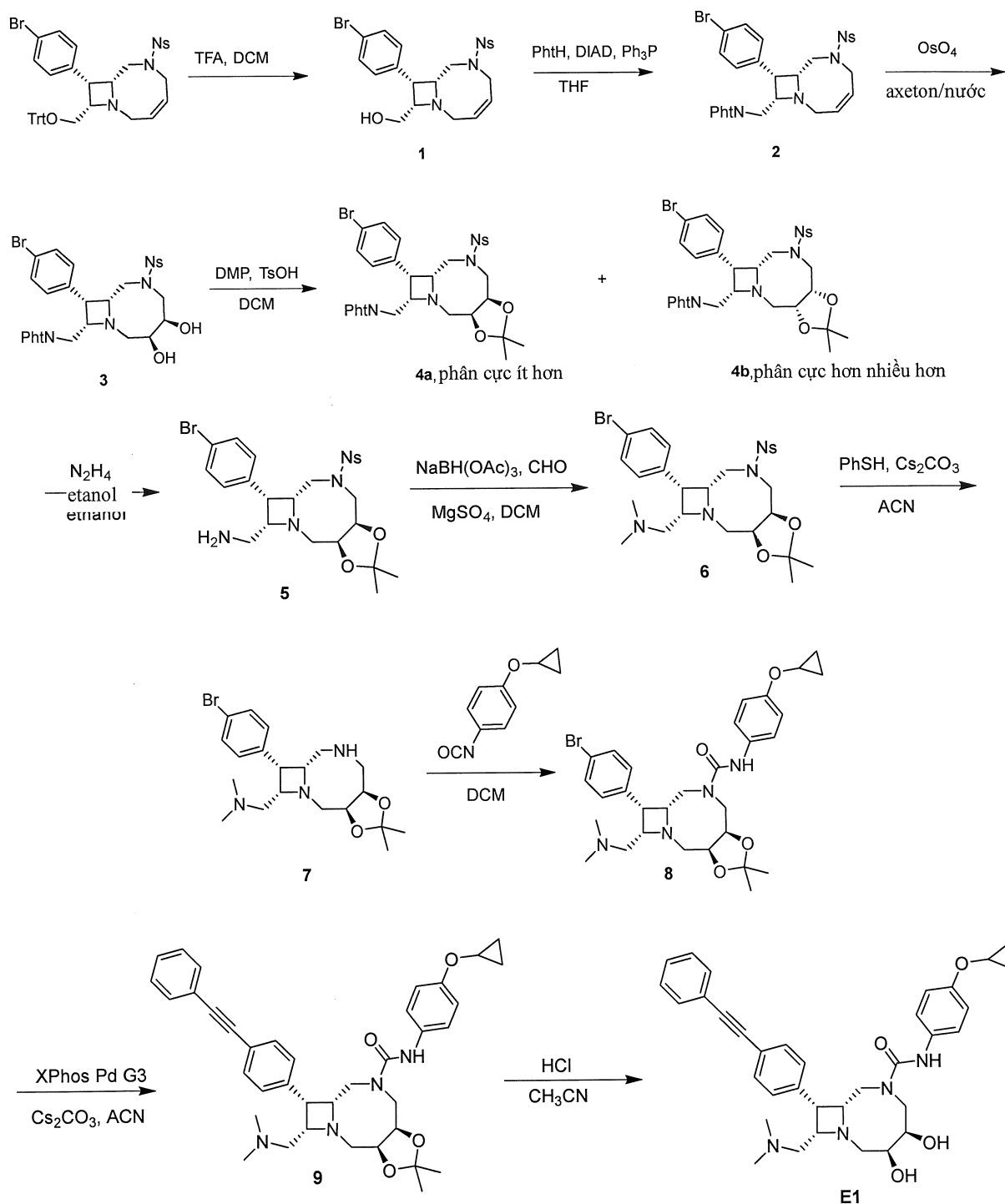
tả các ví dụ khác nhau của các từ viết tắt được sử dụng xuyên suốt các ví dụ và tham chiếu tương ứng.

Bảng 2

Từ viết tắt	Tham chiếu
ACN	axetonitril
DCM	dichlormetan
DMF	dimetylformamit
EtOAc	etyl axetat
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
MeOH	Metanol
PBS	Nước muối đệm phosphat
THF	Tetrahydrofuran
TFA	Axit trifloroaxetic
TLD	Sắc ký lớp mỏng
UPLC	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
XPhos Pd G3	Tiền chất xúc tác XPhos (như là, 2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) metansulfonat, CAS Number 1445085-55-1)
TMSOTf	trimetylsilyl triflometansulfonat
DIAD	diisopropyl azodicarboxylat
NMO	N-metylmorpholin N-oxit
TsOH	axit p-toluensulfonic

TBAB/F	tetra-N-butylamoni bromua/lorua
DCE	dicloetylen
TFAA	trifloaxetic anhydrit
DMP	2,2-dimetoxypropan
Dess-Martin	Dess–Martin periodinan (như là, 1,1,1-Tris(axetyloxy)-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3-(1H)-one, CAS Number 87413-09-0)
Chất xúc tác Hoyveda- Grubbs thế hệ thứ hai	Chất xúc tác dựa trên ruteni Hoyveyda-Grubbs thế hệ thứ hai (như là, (1,3-bis-(2,4,6-trimetylphenyl)-2-imidazolidinyliden)diclo(o-isopropoxyphenylmetylen)ruteni, Diclo[1,3-bis(2,4,6-trimetylphenyl)-2-imidazolidinyliden](2-isopropoxyphenylmetylen)ruteni(II), CAS Number 301224-40-8).
Chất xúc tác Hoyveda- Grubbs thế hệ thứ nhất	Chất xúc tác dựa trên ruteni Hoyveyda-Grubbs thế hệ thứ nhất (như là, diclo(2-isopropoxyphenylmetylen)(trixyclohexylphosphin)ruteni(II), Diclo(o-isopropoxyphenylmetylen)(trixyclohexylphosphin)ruteni(II), CAS Number 203714-71-0).
NBSH	2-nitrobenzensulfonohydrazit
PhSH	Benzenthioi
DIBAL-H	Diisobutylaluminium hydrua

Ví dụ 1: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-*N*-(4-xyclopropoxyphenyl)-10-(((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E1”)



Chất trung gian 1: ((8*R*,9*R*,10*S*,*Z*)-9-(4-bromophenyl)-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-10-yl)metanol.

Dung dịch chứa (8*R*,9*R*,10*S*,*Z*)-10-((bis(4-metoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-9-(4-bromophenyl)-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en (2,00 g, 2,66 mmol) (Journal of Organic Chemistry (2012), 77(17), 7187-7211; WO 2015070204) trong DCM (27,00 mL) được thêm TFA (3,03 g, 26,60 mmol, 1,97 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 20 giờ. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch NaHCO₃ (100 mL), và sau đó được chiết bằng DCM 180 mL (60 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng [Na₂SO₄], được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ: DCM=1:1 đến DCM:MeOH=10:1 tạo ra chất trung gian 1 (1,47g, thô) dưới dạng chất rắn màu đen. Sự hiện diện của sản phẩm phản ứng được xác nhận bằng NMR và LCMS.

Chất trung gian 2: 2-(((8*R*,9*S*,10*S*,*Z*)-9-(4-bromophenyl)-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-10-yl)methyl)isoindolin-1,3-dion.

Hỗn hợp chứa triphenylphosphin (1,52 g, 5,78 mmol) trong THF (5 mL) đã được khử khí và sục với N₂ được thêm diisopropyl azodicarboxylat (1,17 g, 5,78 mmol, 1,12 mL). Hỗn hợp này sau khi được khuấy ở 0°C trong khí quyển N₂ được thêm hỗn hợp chứa chất trung gian 1 (1,47 g, 2,89 mmol, 1,00 đương lượng) và isoindolin-1,3-dion (637,81 mg, 4,34 mmol, 1,50 đương lượng) trong THF (5 mL) đã được khử khí và sục với N₂. Hỗn hợp này được khuấy ở 16°C trong 18 giờ trong khí quyển N₂. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H₂O (20 mL), và sau đó được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng [Na₂SO₄], được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ: etylaxetat =5:1 đến 2:1) tạo ra chất trung gian 2 (1,26 g, 1,98 mmol, hiệu suất 68,39%) dưới dạng chất rắn màu nâu được xác nhận bằng NMR và LCMS.

Chất trung gian 3: 2-(((8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-yl)methyl)isoindolin-1,3-dion

Dung dịch chứa chất trung gian 2 (1,26 g, 1,98 mmol) trong axeton/nước (15,00 mL) được thêm N-metylmorpholin N-oxit (463,09 mg, 3,95 mmol, 417,20 µL) và sau đó là OsO₄ (5,02 mg, 19,76 µmol, 1,03 µL). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 1,5

giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm khô bằng $[\text{Na}_2\text{SO}_4]$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=3/1 đến 0:1) để tạo ra chất trung gian 3 (1,11 g, 1,65 mmol, hiệu suất 83,48%) dưới dạng chất rắn màu trắng được xác nhận bằng LCMS và NMR.

Chất trung gian 4a và 4b: 2-(((3a*R*,6a*R*,7*S*,8*R*,10a*S*)-7-(4-bromophenyl)-2,2-dimetyl-5-((2-nitrophenyl)sulfonyl)octahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-yl)metyl)isoindolin-1,3-dion (chất trung gian 4a) và 2-(((3a*S*,6a*S*,7*S*,8*R*,10a*S*)-7-(4-bromophenyl)-2,2-dimetyl-5-((2-nitrophenyl)sulfonyl)octahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-yl)metyl)isoindolin-1,3-dion (chất trung gian 4b).

Dung dịch chứa chất trung gian 3 (880,00 mg, 1,31 mmol) và 2,2-dimethoxypropan (272,97 mg, 2,62 mmol, 321,14 μL) trong DCM (10,00 mL) được thêm TsOH (225,66 mg, 1,31 mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C. Sau 20 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat= 1:1) lần lượt tạo ra cis-diol, chất trung gian 4a (phần cực ít hơn, 53,00 mg, 74,48 μmol , hiệu suất 5,68%) dưới dạng chất rắn màu trắng và chất trung gian 4b (phần cực nhiều hơn, 260,00 mg, 365,38 μmol , hiệu suất 27,88%) dưới dạng chất rắn màu trắng được xác nhận bằng NMR và LCMS.

Chất trung gian 5: ((3a*R*,6a*R*,7*S*,8*S*,10a*S*)-7-(4-bromophenyl)-2,2-dimetyl-5-((2-nitrophenyl)sulfonyl)octahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-yl)metanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian 4b (360,00 mg, 505,92 μmol) trong etanol (5,00 mL) được thêm hydrazin hydrat (37,99 mg, 758,88 μmol , 36,88 μL). Sau khi khuấy ở 70°C trong 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất trung gian 5 (239,00 mg, 411,02 μmol , hiệu suất 81,24%) dưới dạng chất rắn màu vàng được xác nhận bằng NMR và LCMS.

Chất trung gian 6: 1-(((3a*R*,6a*R*,7*S*,8*S*,10a*S*)-7-(4-bromophenyl)-2,2-dimetyl-5-((2-nitrophenyl)sulfonyl)octahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-yl)-*N,N*-dimetylmetanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian **5** (239,00 mg, 411,02 μmol) và formaldehyt (200,47 mg, 2,47 mmol, 183,92 μL) trong DCM (500 μL) được thêm MgSO_4 (494,74 mg, 4,11 mmol) và axit axetic (49,36 mg, 822,04 μmol , 47,01 μL). Sau 20 phút, natri triaxetoxymorhydrit (60,32 mg, 1,23 mmol) được thêm và hỗn hợp được khuấy ở 15°C trong 23 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc bằng xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) tạo ra chất trung gian **6** (210,00 mg, 344,53 μmol , 83,82% hiệu suất) dưới dạng dầu màu vàng được xác nhận bằng LCMS.

Chất trung gian 7: 1-((3a*R*,6a*R*,7*R*,8*S*,10a*S*)-7-(4-bromophenyl)-2,2-dimetyloctahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-8-yl)-*N,N*-dimetylmethanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian **6** (210,00 mg, 344,53 μmol) trong CH_3CN (2,00 mL) được thêm benzenethiol (17,08 mg, 155,04 μmol , 15,82 μL) và sau đó được thêm Cs_2CO_3 (224,51 mg, 689,06 μmol). Hỗn hợp này được khuấy ở 40°C trong 1,5 giờ trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H_2O (5 mL), và được chiết bằng DCM 15 mL (5 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng $[\text{Na}_2\text{SO}_4]$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) tạo ra chất trung gian **7** (72,00 mg, 169,66 μmol , hiệu suất 49,24%) dưới dạng dầu màu vàng được xác nhận bằng NMR và LCMS.

Chất trung gian 8: (3a*R*,6a*R*,7*S*,8*S*,10a*S*)-7-(4-bromophenyl)-*N*-(4-xyclopropoxyphenyl)-8-((dimethylamino)methyl)-2,2-dimetylhexahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-5(4*H*)-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian **7** (48,00 mg, 113,11 μmol) trong DCM (2,00 mL) được thêm TEA (5,72 mg, 56,55 μmol , 7,84 μL) và 1-(xyclopropoxy)-4-isoxyanato-benzen (23,78 mg, 135,73 μmol) trong khí quyển N_2 . Sau khi khuấy ở 15°C trong 22 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H_2O (5 mL), và sau đó được chiết bằng DCM 15 mL (5 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) tạo ra chất trung gian **8** (29,40 mg, 49,04 μmol , hiệu suất

43,35%) dưới dạng dầu nhớt được xác nhận bằng LCMS.

Chất trung gian 9: (3a*R*,6a*R*,7*S*,8*S*,10a*S*)-*N*-(4-xyclopropoxyphenyl)-8-(((dimethylamino)methyl)-2,2-dimethyl-7-(4-(phenyletynyl)phenyl)hexahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-5(4*H*)-carboxamit.

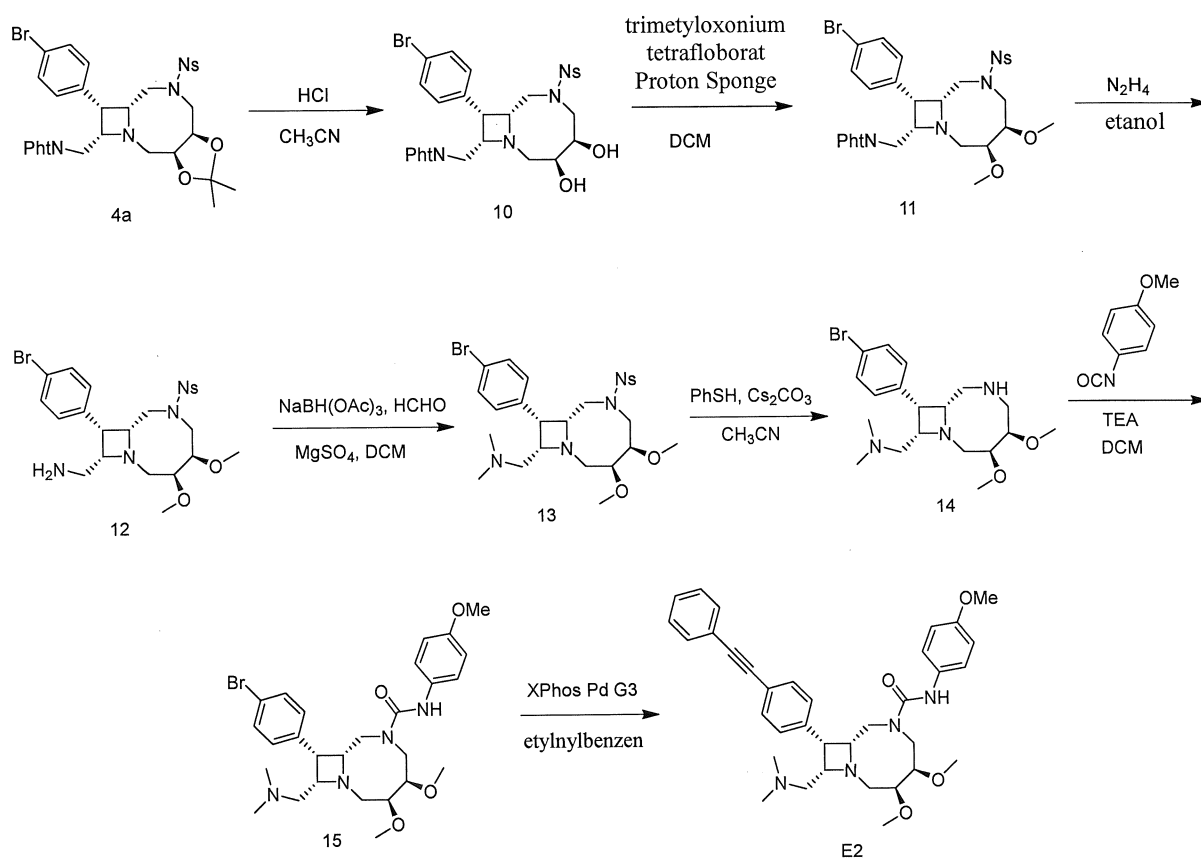
Dung dịch chứa chất trung gian 8 (29,00 mg, 48,37 μ mol) trong CH₃CN (1,00 mL) trong khí quyển N₂ được thêm TEA (97,89 mg, 967,38 μ mol, 134,09 μ L) và etynylbenzen (24,70 mg, 241,84 μ mol, 26,56 μ L) và XPhos Pd G3 (6,14 mg, 7,26 μ mol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H₂O (4 mL), và sau đó được chiết bằng DCM 15 mL (5 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất trung gian 9 (30,00 mg) dưới dạng dầu nhớt được xác nhận bằng LCMS.

Tổng hợp E1 (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-*N*-(4-xyclopropoxyphenyl)-10-(((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 9 (20,00 mg, 32,22 μ mol) trong CH₃CN (500,00 μ L) được thêm 1 M HCl (500,00 μ L). Sau khi khuấy ở 15°C trong 18 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) tạo ra hợp chất E1 (8,20 mg, 14,12 μ mol, hiệu suất 43,83%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 0,73 (d, *J*=4,52 Hz, 4 H) 1,26 (s, 1 H) 2,32 (s, 6 H) 2,60 - 2,70 (m, 2 H) 2,86 - 2,92 (m, 1 H) 2,96 - 3,05 (m, 2 H) 3,22 (br d, *J*=15,56 Hz, 1 H) 3,52 - 3,65 (m, 3 H) 3,65 - 3,75 (m, 2 H) 3,86 (br s, 2 H) 3,97 - 4,05 (m, 1 H) 4,13 (br s, 1 H) 4,31 (br d, *J*=9,54 Hz, 1 H) 6,95 (d, *J*=9,03 Hz, 2 H) 7,24 (d, *J*=9,03 Hz, 2 H) 7,32 - 7,46 (m, 6 H) 7,49 - 7,57 (m, 4 H) 8,37 (br s, 1 H) 8,56 (br s, 1 H).

Ví dụ 2: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-(((dimethylamino)metyl)-3,4-dimetoxy-*N*-(4-metoxiphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E2”)



Chất trung gian 10: 2-(((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-10-yl)metyl)isoindolin-1,3-dion.

Dung dịch chứa chất trung gian 4a (170,00 mg, 238,90 μ mol) trong CH₃CN (2,00 mL) và 1 M HCl (2,00 mL) được khuấy ở 20°C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1) tạo ra chất trung gian 10 (140,00 mg, 208,49 μ mol, hiệu suất 87,27%) dưới dạng chất rắn màu trắng được xác nhận bằng NMR.

Chất trung gian 11: 2-(((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dimetoxy-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-10-yl)metyl)isoindolin-1,3-dion.

Dung dịch chứa chất trung gian 10 (125,00 mg, 186,15 μ mol) trong DCM (4,00 mL) được thêm trimetyloxonium tetraflorat (137,67 mg, 930,75 μ mol) và N1,N1,N8,N8-tetrametylnaphthalen-1,8-diamin (239,36 mg, 1,12 mmol) ở 0°C trong

khí quyển N₂. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng (15°C) trong 18h, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, etyl axetat) tạo ra chất trung gian 11 (100,00 mg, 142,94 μmol, hiệu suất 76,79%) dưới dạng chất rắn màu trắng được xác nhận bằng NMR.

Chất trung gian 12: ((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dimetoxy-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-10-yl)metanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian 11 (100,00 mg, 142,94 μmol) trong etanol (3,00 mL) được thêm N₂H₄.H₂O (10,73 mg, 214,42 μmol, 10,42 μL). Sau khi khuấy ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất trung gian 12 thô (87,00 mg) dưới dạng chất rắn màu vàng được xác nhận bằng NMR.

Chất trung gian 13: 1-((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dimetoxy-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-10-yl)-*N,N*-dimetylmethanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian 12 (87,00 mg, 152,77 μmol) trong DCM (2,00 mL) được thêm HCHO (27,53 mg, 916,64 μmol, 25,25 μL), MgSO₄ (183,89 mg, 1,53 mmol), NaBH(OAc)₃ (97,14 mg, 458,32 μmol) và AcOH (18,35 mg, 305,55 μmol, 17,47 μL). Sau khi khuấy ở 15°C trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 13 (46,00 mg, 76,98 μmol, hiệu suất 50,39%) dưới dạng dầu màu trắng.

Chất trung gian 14: ((3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dimetoxy-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-10-yl)metanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian 13 (46,00 mg, 76,98 μmol) trong CH₃CN (2,00 mL) được thêm benzenethiol (12,72 mg, 115,48 μmol, 11,78 μL) và Cs₂CO₃ (50,17 mg, 153,97 μmol). Sau khi khuấy ở 40°C trong 1,5 giờ trong khí quyển N₂, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H₂O (2 mL), và được chiết bằng DCM 15 mL (5 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng [Na₂SO₄], được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1) tạo ra chất trung gian 14 (17,00 mg, 41,23 μmol, hiệu suất

53,55%) dưới dạng dầu màu trắng được xác nhận bằng LCMS.

Chất trung gian 15: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dimetoxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

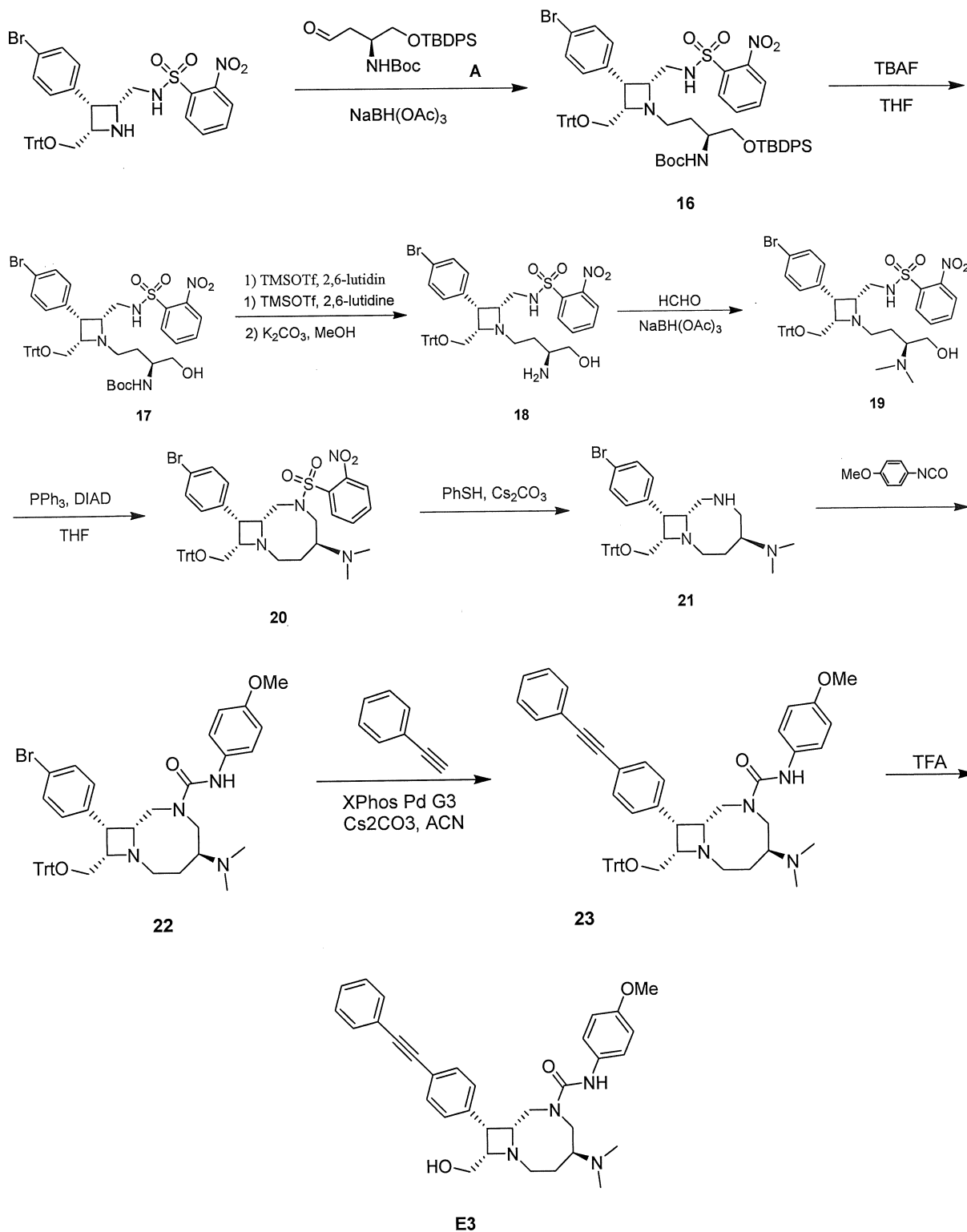
Dung dịch chứa chất trung gian 14 (17,00 mg, 41,23 μ mol) trong DCM (2,00 mL) được thêm TEA (2,09 mg, 20,61 μ mol, 2,86 μ L) và 1-isoxyanato-4-metoxy-benzen (6,15 mg, 41,23 μ mol, 5,30 μ L). Sau khi khuấy trong khí quyển N_2 ở 15°C trong 2,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H_2O (5 mL), và sau đó được chiết bằng DCM 15 mL (5 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM:MeOH=10:1) để tạo ra chất trung gian 15 (33,00 mg, thô) dưới dạng dầu trong được xác nhận bằng LCMS.

Tổng hợp E2 (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dimetoxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

Dung dịch chứa chất trung gian 15 (33,00 mg, 58,77 μ mol) trong axetonitril (2,00 mL) được thêm TEA (118,94 mg, 1,18 mmol, 162,93 μ L) và XPhos Pd G3 (7,46 mg, 8,82 μ mol) trong khí quyển N_2 . Sau khi khuấy ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H_2O (2 mL), và sau đó được chiết bằng DCM 15 mL (5 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng $[Na_2SO_4]$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) sau đó bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra 4,4 mg, 7,55 μ mol, hiệu suất 12,85% dưới dạng chất rắn màu trắng. Cấu trúc được xác nhận bằng LCMS và NMR.

1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 2,06 (s, 6 H) 2,39 (br s, 2 H) 2,58 (br s, 2 H) 3,03 - 3,14 (m, 1 H) 3,30 (br s, 1 H) 3,48 (s, 4 H) 3,51 - 3,58 (m, 2 H) 3,61 - 3,67 (m, 4 H) 3,78 (s, 3 H) 3,89 - 4,12 (m, 3 H) 6,83 (d, $J=8,91$ Hz, 2 H) 7,18 (d, $J=8,78$ Hz, 2 H) 7,36 (br d, $J=5,40$ Hz, 3 H) 7,43 - 7,47 (m, 2 H) 7,48 - 7,51 (m, 2 H) 7,52 - 7,56 (m, 2 H) 7,99 (br s, 1 H).

Ví dụ 3: (4*S*,8*R*,9*R*,10*S*)-4-(dimetylamino)-10-(hydroxymetyl)-*N*-(4-metoxiphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E3”)



Chất trung gian 16: tert-butyl N-[(1*S*)-3-[(2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromophenyl)-2-[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]-1-[[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxymetyl]propyl]carbamit.

Dung dịch chứa *N*-(((2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromophenyl)-4-((trityloxy)methyl)azetidin-2-yl)methyl)-2-nitrobenzensulfonamid (WO2015070204) (1,20 g, 1,72 mmol) và (*S*)-*tert*-butyl (1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4-oxobutan-2-yl)carbamate (US 20150266867) (911,52 mg, 2,06 mmol) trong DCM (40,00 mL) được thêm MgSO₄ (2,07 g, 17,20 mmol) và NaBH(OAc)₃ (729,07 mg, 3,44 mmol). Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước NaHCO₃ bão hòa (15 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=20:1 đến 3:1) để tạo ra chất trung gian 16 (2,00 g) dưới dạng chất rắn màu trắng: ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7,81 - 7,69 (m, 3H), 7,66 - 7,58 (m, 6H), 7,45 - 7,34 (m, 8H), 7,15 - 7,04 (m, 18H), 4,87 - 4,76 (m, 2H), 3,68 - 3,59 (m, 3H), 3,50 - 3,42 (m, 3H), 3,14 (br. s., 1H), 3,03 - 2,97 (m, 1H), 2,95 - 2,82 (m, 2H), 2,46 (br. s., 2H), 1,40 (s, 9H), 1,05 (s, 9H).

Chất trung gian 17: *tert*-butyl ((*S*)-4-((2*R*,3*R*,4*S*)-3-(4-bromophenyl)-2-((2-nitrophenylsulfonamido)methyl)-4-((trityloxy)methyl)azetidin-1-yl)-1-hydroxybutan-2-yl)carbamate

Dung dịch chứa chất trung gian 16 (500,00 mg, 444,74 μmol) trong THF (6 mL) được thêm TBAF (174,42 mg, 667,11 μmol) ở 15°C. Sau khi khuấy ở 15°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM: MeOH =100:1 đến 20:1) để tạo ra chất trung gian 17 (300,00 mg, 338,65 μmol, hiệu suất 76,15%) dưới dạng chất rắn màu trắng: ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7,83 (dd, *J*=7,8, 17,3 Hz, 2H), 7,76 - 7,63 (m, 2H), 7,22 - 7,12 (m, 15H), 7,01 (d, *J*=8,0 Hz, 2H), 5,05 (br. s., 1H), 4,45 (br. s., 1H), 3,78 - 3,70 (m, 1H), 3,59 (br. s., 3H), 3,43 (d, *J*=9,5 Hz, 1H), 3,33 - 3,16 (m, 2H), 3,05 (d, *J*=6,0 Hz, 2H), 2,96 - 2,87 (m, 1H), 2,83 - 2,72 (m, 1H), 2,58 - 2,48 (m, 1H), 1,74 (dd, *J*=4,8, 14,8 Hz, 1H), 1,43 (s, 9H).

Chất trung gian 18: *N*-[[(2*R*,3*R*,4*S*)-1-[(3*S*)-3-amino-4-hydroxy-butyl]-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-2-nitro-benzensulfonamid.

Dung dịch chứa chất trung gian 17 (800,00 mg, 903,08 μ mol) trong DCM (16,00 mL) được thêm TMSOTf (602,15 mg, 2,71 mmol, 489,55 μ L) và 2,6-lutidin (387,06 mg, 3,61 mmol, 420,72 μ L, 4 đương lượng). Sau khi khuấy ở 15°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , DCM: MeOH = 1:0 đến 20:1) để tạo ra chất trung gian 18 (700 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng (chứa TEA): ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,85 (td, $J=2,3, 4,7$ Hz, 1H), 7,76 - 7,72 (m, 1H), 7,70 - 7,63 (m, 2H), 7,25 - 7,16 (m, 15H), 6,98 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 3,72 - 3,60 (m, 3H), 3,52 - 3,42 (m, 3H), 3,27 (dd, $J=6,6, 14,1$ Hz, 1H), 3,14 - 3,00 (m, 3H), 2,83 - 2,68 (m, 2H), 1,85 - 1,62 (m, 2H)

Chất trung gian 19: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-1-[(3S)-3-(dimethylamino)-4-hydroxy-butyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 18 (700,00 mg, 890,88 μ mol) trong DCM (15,00 mL) được thêm HCHO (86,77 mg, 1,07 mmol, 79,61 μ L, 37% tinh khiết), MgSO_4 (1,07 g, 8,91 mmol) và sau đó $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (377,63 mg, 1,78 mmol) được thêm từng phần. Sau khi khuấy ở 15°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước NaHCO_3 bão hoà (100 mL) và được chiết bằng DCM (30 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , DCM: MeOH = 1:0 đến 15:1) để tạo ra chất trung gian 19 (500 mg, 614,40 μ mol, hiệu suất 68,97%) dưới dạng chất rắn màu trắng: ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,87 (dd, $J=1,5, 7,5$ Hz, 1H), 7,78 - 7,73 (m, 1H), 7,72 - 7,61 (m, 2H), 7,23 - 7,12 (m, 18H), 7,05 (d, $J=8,0$ Hz, 2H), 3,64 - 3,54 (m, 3H), 3,22 - 3,06 (m, 4H), 3,03 - 2,98 (m, 1H), 2,87 - 2,70 (m, 2H), 2,56 (td, $J=6,0, 12,0$ Hz, 1H), 2,45 (br. s., 1H), 2,22 (s, 6H), 1,57 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 1,41 (d, $J=6,0$ Hz, 1H)

Chất trung gian 20: (4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-N,N-dimetyl-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-amin.

Dung dịch chứa triphenylphosphin (1 g, 3,76 mmol) trong THF (19 mL) ở 0°C được thêm chậm diisopropyl azodicarboxylat (0,72 mL, 3,76 mmol). Sau đó hỗn hợp này được thêm vào dung dịch chứa chất trung gian 19 (500 mg, 614,40 μ mol) trong THF

(75 mL) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 15°C trong 4 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM: MeOH = 20:1) để tạo ra chất trung gian 20 (200,00 mg, 251,33 µmol, hiệu suất 40,91%) dưới dạng chất rắn màu trắng: ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,14 (d, J=7,5 Hz, 1H), 7,65 - 7,55 (m, 3H), 7,25 - 7,19 (m, 19H), 3,62 - 3,50 (m, 4H), 3,42 (br. s., 1H), 3,17 - 2,98 (m, 4H), 2,85 (dd, J=7,1, 9,3 Hz, 1H), 2,69 - 2,60 (m, 1H), 2,44 - 2,31 (m, 2H), 2,04 (br. s., 6H), 1,89 (br. s., 1H)

Chất trung gian 21: (4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-N,N-dimetyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-amin.

Dung dịch chứa chất trung gian 20 (150,00 mg, 188,49 µmol) trong axetonitril (3,00 mL) được thêm Cs₂CO₃ (368,49 mg, 1,13 mmol) và benzenethiol (83,07 mg, 753,96 µmol, 76,92 µL). Sau khi khuấy ở 40°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (15 mL) và được chiết bằng ethyl axetat (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (5 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 21 (90,00 mg, 147,39 µmol, hiệu suất 78,20%) dưới dạng chất rắn màu trắng được trực tiếp sử dụng.

Chất trung gian 22: (4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-N-(4-metoxypheyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 21 (90,00 mg, 147,39 µmol) trong DCM (3,00 mL) được thêm 1-isoxyanato-4-metoxi-benzen (26,38 mg, 176,87 µmol). Sau khi khuấy ở 15°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (15 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (10 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 20:1) để tạo ra chất trung gian 22 (90,00 mg, 118,46 µmol, hiệu suất 80,37%) dưới dạng chất rắn màu trắng: ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,28 - 7,18 (m, 21H), 6,82 (d, J=8,8 Hz, 2H), 4,15 - 4,06 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,64 - 3,47 (m, 4H), 3,18 - 2,98 (m, 3H), 2,92 - 2,82 (m, 2H), 2,70 (d, J=13,2 Hz, 1H), 2,43 -

2,33 (m, 7H), 2,10 (br. s., 1H), 1,95 (br. s., 1H)

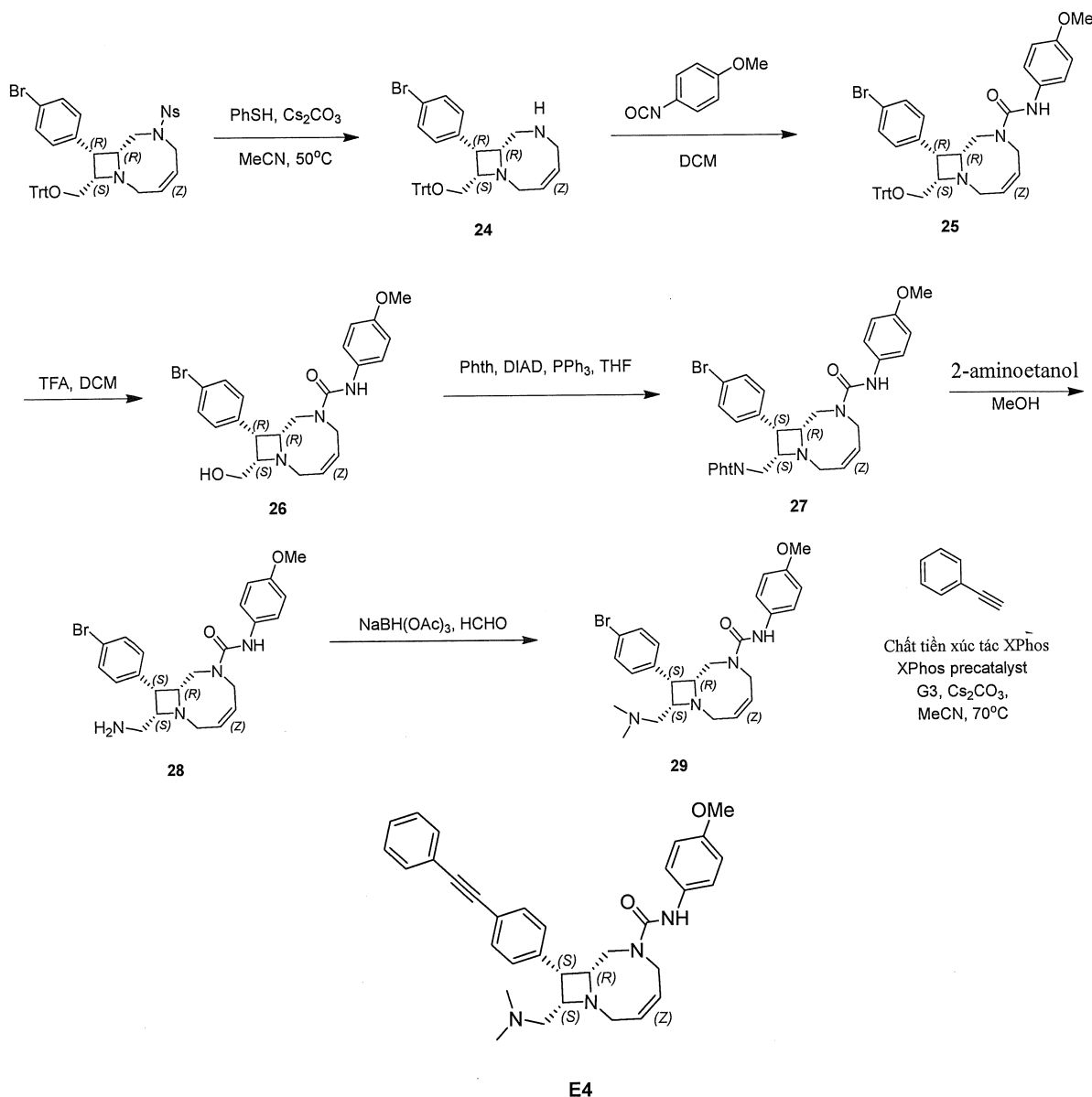
Chất trung gian 23: (4S,8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 22 (64,00 mg, 84,24 μmol) và etynylbenzen (25,81 mg, 252,71 μmol) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (7,13 mg, 8,42 μmol) và Cs_2CO_3 (54,89 mg, 168,47 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (etyl axetat: metanol = 10 :1) để tạo ra chất trung gian 23 (47,00 mg, 60,18 μmol , hiệu suất 71,44%) dưới dạng chất rắn màu nâu. ^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,54 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H), 7,38-7,35(m, 7H), 7,33-7,21 (m, 18H), 6,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,13 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,61-3,52 (m, 4H), 3,19-3,17 (m, 2H), 2,94-2,90 (m, 2H), 2,73-2,44 (m, 1H), 2,17-1,97 (m, 1H).

Tổng hợp E3 (4S,8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 23 (40,00 mg, 51,22 μmol) trong DCM (1 mL) được thêm TFA (58,40 mg, 512,17 μmol , 37,92 μL). Sau khi khuấy ở 25°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 bão hoà và được chiết bằng DCM (5 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E3 (21,70 mg, 40,28 μmol , hiệu suất 78,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539,29, tìm được là 539,30. ^1H NMR: (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,60(d, $J = 4,8$ Hz, 2H), 7,49-7,46 (m, 4H), 7,38-7,36 (m, 2H), 7,23-7,24 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,87 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,55-3,52 (m, 2H), 3,48-3,3,42 (m, 6H), 3,34-3,31 (m, 1H), 3,19 (s, 1H), 2,89 (s, 6H), 2,62 (s, 1H), 2,04 (m, 2H).

Ví dụ 4: (3Z,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit (“E4”)



Chất trung gian 24: (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en.

Dung dịch chứa (8R,9R,10S,Z)-10-((bis(4-metoxyphenyl)(phenyl)methoxy)metyl)-9-(4-bromophenyl)-6-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en và benzenethiol (132,09 mg, 1,20 mmol, 122,31 μ L) trong axetonitril (6 mL) được thêm Cs₂CO₃ (260,41 mg, 799,25 μ mol) ở 25°C. Sau khi khuấy ở 50°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL) để tạo ra pha hữu cơ. Pha hữu cơ được cô đặc và được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ:

ethyl axetat=1:1) tạo ra chất trung gian 24 (450 mg, 795,70 μ mol, hiệu suất 99,56%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,26-7,16 (m, 19H), 5,90-5,84 (m, 1H), 5,67-5,60 (m, 1H), 3,61-3,53 (m, 4H), 3,61-3,52 (m, 4H), 3,11-3,09 (m, 2H), 2,86-2,84 (m, 2H), 2,48 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H).

Chất trung gian 25: (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 24 (400 mg, 707,29 μ mol) và Et_3N (196,08 μL , 1,41 mmol) trong DCM (2 mL) được thêm từng giọt 1-isoxyanato-4-metoxy-benzen (116,04 mg, 778,02 μ mol) ở 0°C . Sau khi khuấy ở 25°C trong 5 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế TLC điều chế (ete dầu mỏ: ethyl axetat=1:1) để tạo ra chất trung gian 25 (400 mg, 559,68 μ mol, hiệu suất 79,13%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,31-7,19 (m, 19H), 6,85-6,81 (m, 2H), 6,04 (s, 1H), 5,81-5,80 (m, 1H), 5,73-5,68 (m, 1H), 4,15 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 5,72 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 4,15-4,00 (m, 1H), 3,99-3,70 (m, 1H), 3,66-3,56 (m, 5H), 3,21-3,19 (m, 2H), 3,19-3,00 (m, 1H), 2,81-2,77 (m, 1H).

Chất trung gian 26: (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 25 (360,00 mg, 503,71 μ mol) trong DCM (1 mL) được thêm từng giọt TFA (3 mL, 5037 μ mol) ở 0°C . Sau khi khuấy ở 25°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 bão hoà (3 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL) để tạo ra pha hữu cơ. Lốp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, được cô đặc và được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: ethyl axetat =1:2) để tạo ra chất trung gian 26 (210 mg, 444,57 μ mol, hiệu suất 88,26%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,48 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,38 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,21 (d, $J = 9,6$ Hz, 2H), 6,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,06 (s, 2H), 5,85 (s, 1H), 5,74-5,71 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 4,03-3,95 (m, 1H), 3,77-3,59 (m, 6H), 3,28 (m, 1H), 2,90 (s, 1H).

Chất trung gian 27: (3Z,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 26 (210,00 mg, 444,57 μ mol), isoindolin-1,3-

dion (71,95 mg, 489,03 μmol) và PPh_3 (233,21 mg, 889,13 μmol) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (179,79 mg, 889,13 μmol) ở 25°C. Sau khi khuấy ở 25°C trong 5 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat=1:1) để tạo ra chất trung gian 27 (200 mg, 332,51 μmol , hiệu suất 74,79%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,80-7,67 (m, 17H), 7,54-7,67 (m, 22H), 7,25-7,20 (m, 2H), 6,80 (s, 2H), 6,06 (s, 2H), 5,85 (s, 1H), 5,74 (s, 1H), 4,22 (s, 1H) 4,02 (m, 1H), 3,77-3,75 (m, 4H), 3,70-3,66 (m, 3H), 3,50 (s, 3H), 3,12 (m, 1H), 2,88 (s, 1H).

Chất trung gian 28: (3Z,8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 27 (60,00 mg, 99,75 μmol) trong MeOH (1mL) được thêm từng giọt 2-aminoetanol (60,33 μL , 997,52 μmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=12:1) để tạo ra chất trung gian 28 (33,00 mg, 70,01 μmol , hiệu suất 70,18%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,50 (d, J = 13,6 Hz, 2H), 7,46 (m, 2H), 7,21 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 6,08 (s, 1H), 5,83 (s, 1H), 5,73(s, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,02-4,00 (m, 1H), 3,77(s, 3H), 3,71-3,63 (m, 2H), 3,55-3,50 (m, 1H), 3,36-3,17 (m, 1H), 2,81-2,76 (m, 3H).

Chất trung gian 29: (3Z,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

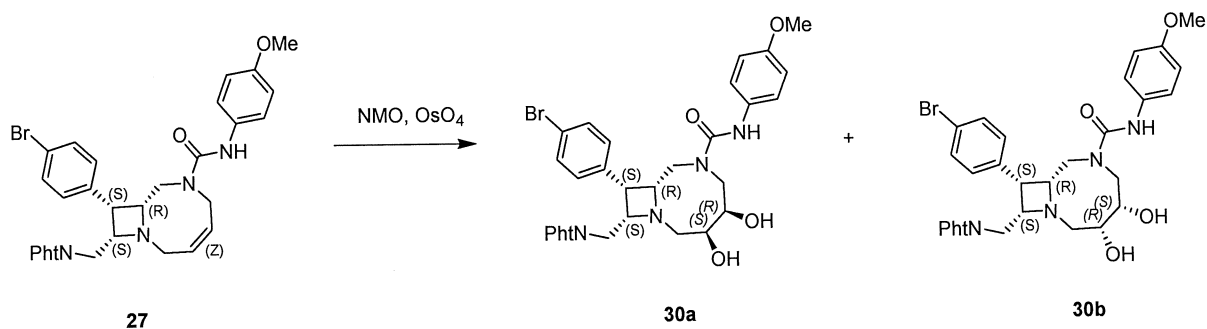
Dung dịch chứa chất trung gian 28 (23,00 mg, 48,79 μmol) trong DCM (2 mL) đã được khuấy được thêm $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (51,70 mg, 243,96 μmol) ở 25°C. Sau khi khuấy ở 25°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=12:1) để tạo ra chất trung gian 29 (20 mg, 40,04 μmol , hiệu suất 82%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,53 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,31-7,26 (m, 2H), 7,19 (d, J = 8,8 Hz, 3H), 6,82 (d, J = 8,8 Hz, 3H), 6,14 (s, 1H), 5,83-5,86 (m, 2H), 4,12-4,02 (m, 3H), 3,90-3,59 (m, 9H), 3,19 (m, 1H), 3,01-2,80 (m, 2H), 2,38 (s, 6H).

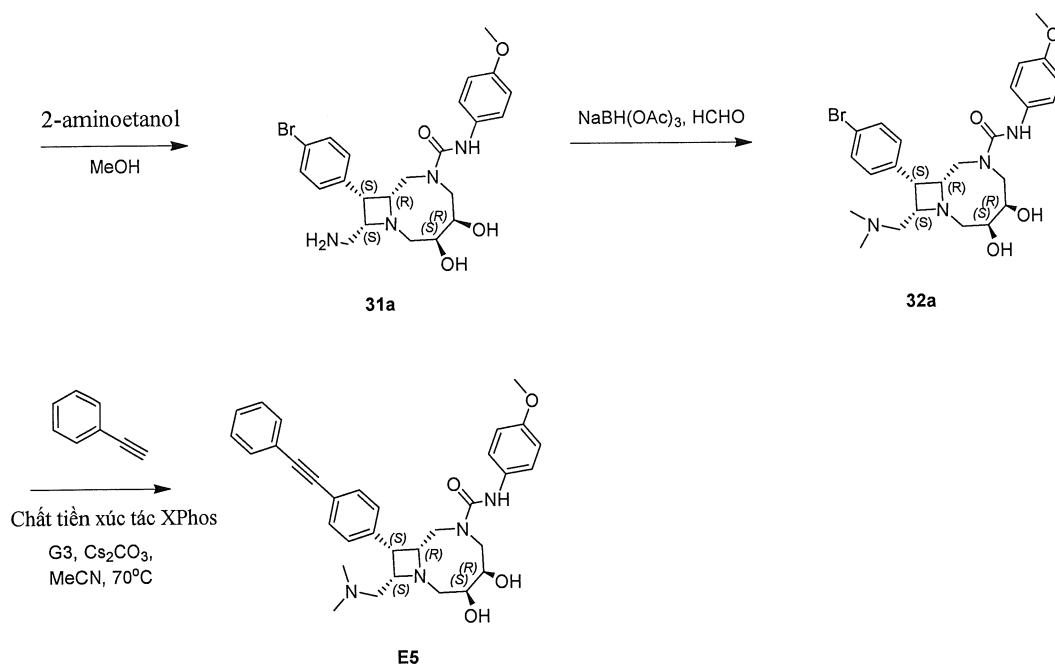
Tổng hợp E4 (3Z,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-

(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 29 (20,00 mg, 40,04 μmol) và etynylbenzen (12,27 mg, 120,13 μmol , 13,19 μL) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (3,39 mg, 4,00 μmol) và Cs_2CO_3 (26,09 mg, 80,09 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (hệ HCl/axetonitril/ H_2O 0,04%) để tạo ra (3Z,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxiphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit (2,00 mg, 3,84 μmol , hiệu suất 9,59%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI) calcd đối với $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 489,27, tìm được là 520,10 ^1H NMR (400MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 7,74 (d, $J = 5,5$ Hz, 2H), 7,67 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,53 (d, $J = 3,6$ Hz, 2H), 7,20 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,18 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,13 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,78 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,33 (s, 2H), 4,30-4,21 (m, 9H), 3,90-3,75 (m, 5H), 3,50-3,31 (m, 3H), 2,77 (s, 6H).

Ví dụ 5: (3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxiphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E5”)





Chất trung gian 30a và 30b: (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-10-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl)-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (30a) và (3*R*,4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-10-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl)-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (30b).

Dung dịch chứa chất trung gian 27 (60 mg, 99,75 μ mol) trong axeton/H₂O=10:1 (1 mL) đã được khuấy được thêm NMO (17,53 mg, 149,62 μ mol) và OsO₄ (2,54 mg, 9,98 μ mol) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy ở 25°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất rắn. Chất rắn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat=1:5) để tạo ra chất trung gian 30a (phân cực ít hơn) (25 mg, 39,34 μ mol, hiệu suất 39,44%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt và chất trung gian 30b (phân cực nhiều hơn) (25 mg, 39,34 μ mol, hiệu suất 39,44%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. Chất trung gian 30a ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,82 (d, *J* = 2,8 Hz, 2H), 7,81 (d, *J* = 2,0 Hz, 2H), 7,71-7,02 (m, 4H), 7,26 (m, 2H), 6,80 (d, *J* = 1,2 Hz, 2H), 4,24-4,07 (m, 2H), 3,93-3,81 (m, 2H), 3,74(s, 3H), 3,62-3,54 (m, 3H), 3,28-2,88 (m, 1H), 2,65-2,49 (m, 2H).

Chất trung gian 30b: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,83 (d, *J* = 2,8 Hz, 2H), 7,81 (d, *J* = 2,0 Hz, 2H), 7,73-7,47 (m, 4H), 7,24 (m, 2H), 6,80 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,58 (s, 1H), 3,96-3,90 (m, 2H), 3,70-3,68 (m, 4H), 3,56-3,50 (m, 3H), 3,00 (s, 1H), 2,87-2,76

(m, 2H).

Chất trung gian 31a: (3S,4R,8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 30a (120 mg, 188,83 μ mol) trong MeOH (2 mL) đã được khuấy được thêm 2-aminoethanol (115,34 mg, 1,89 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=8:1) để tạo ra chất trung gian 31a (70 mg, 138,50 μ mol, hiệu suất 73,35%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3 -d1) δ 7,47-7,43 (m, 3H), 7,42-7,40 (m, 1H), 7,35-7,20 (m, 3H), 7,18-6,79 (m, 2H), 4,31-4,27 (m, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,89-3,79 (m, 5H), 3,76-3,23 (m, 2H), 2,91-2,86 (m, 2H), 2,72-2,61 (m, 2H).

Chất trung gian 32a: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

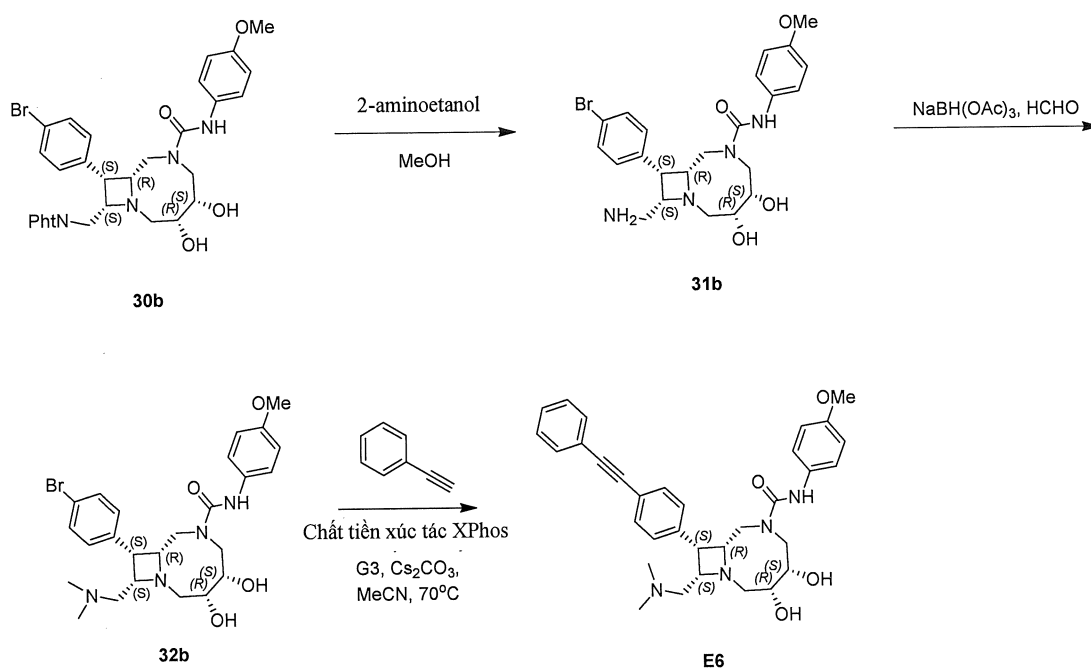
Dung dịch chứa chất trung gian 31a (70,00 mg, 138,50 μ mol) trong DCM (2 mL) đã được khuấy được thêm HCHO (112,41 mg, 1,39 mmol, 103,13 μ L, dung dịch 37%) và MgSO_4 (166,72 mg, 1,39 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (146,77 mg, 692,52 μ mol) được bổ sung thêm. Sau thêm 1,5 giờ nữa, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=5:1) để tạo ra chất trung gian 32a (60 mg, 112,47 μ mol, hiệu suất 81%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3 -d1) δ 7,48-7,43 (m, 4H), 7,42-7,40 (m, 1H), 7,27-7,20 (m, 2H), 6,81-6,78 (m, 2H), 4,26-4,03 (m, 3H), 3,64-3,54 (m, 5H), 3,27-3,24 (m, 1H).

Tổng hợp E5 (3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 32a (20,00 mg, 40,04 μ mol) và etynylbenzen (12,27 mg, 120,13 μ mol, 13,19 μ L) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (3,39 mg, 4,00 μ mol, 0,10 đương lượng) và Cs_2CO_3 (26,09 mg, 80,09 μ mol). Sau khi

khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (3S,4R,8R,9S,10S)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (2,00 mg, 3,84 μ mol, hiệu suất 9,59%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI) calcd đối với $C_{33}H_{38}N_4O_4$ $[M + H]^+$ 554,29, tìm được là 554,20 1H NMR (400MHz, MeOD- d_4) δ 7,59 (s, 4H), 7,51 (d, $J = 3,6$ Hz, 2H), 7,38 (s, 3H), 7,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,20-4,11 (s, 3H), 3,85-3,82 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 3,57-3,44 (m, 3H), 3,12-2,97 (m, 4H), 2,97-2,56 (m, 6H).

Ví dụ 6: (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E6”)



Chất trung gian 31b: (3R,4S,8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 30b (30 mg, 47,21 μ mol) trong MeOH (2 mL) đã được khuấy được thêm 2-aminoethanol (28,84 mg, 472,10 μ mol) ở 25°C. Sau khi khuấy ở 25°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=8:1) để tạo ra chất trung

gian 31b (20 mg, 39,57 μmol , hiệu suất 83,82%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,51-7,48 (m, 3H), 7,46-7,43 (m, 4H), 6,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,77-3,73 (m, 3H), 3,65-3,51 (m, 2H), 3,23-3,15 (m, 1H), 2,80-2,73 (m, 3H).

Chất trung gian 32b: (3R,4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 31a (10 mg, 19,79 μmol) trong DCM (2 mL) đã được khuấy được thêm HCHO (16,06 mg, 197,90 μmol , 14,73 μL , dung dịch 37%) và MgSO_4 (23,82 mg, 197,90 μmol) ở 25°C . Sau khi khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ, $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (20,97 mg, 98,95 μmol) được bổ sung thêm. Sau khi khuấy thêm ở 25°C trong 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=5:1) để tạo ra chất trung gian 32b (10 mg, 18,75 μmol , hiệu suất 47,36%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,54-7,46 (m, 4H), 7,30-7,25 (m, 7H), 6,83-6,80 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,89-3,78 (m, 2H), 3,67-3,63 (m, 6H), 3,56-3,48 (m, 3H), 2,74-2,64 (m, 3H), 2,28 (s, 6H).

Tổng hợp E6 (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 32b (10 mg, 18,75 μmol) và etynylbenzen (5,74 mg, 56,24 μmol , 6,18 μL) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (1,59 mg, 1,87 μmol) và Cs_2CO_3 (12,22 mg, 37,49 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (hệ $\text{HCl}/\text{ACN}/\text{H}_2\text{O}$ 0,04%) để tạo ra (3R,4S,8R,9S,10S)-10-((dimethylamino)methyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (2 mg, 3,61 μmol , hiệu suất 19,23%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

HRMS (ESI) calcd đối với $\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 554,29, tìm được là 554,2,1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,62 (s, 4H), 7,53-7,51 (m, 2H), 7,40 (d, $J = 4,8$ Hz, 3H), 7,24 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H), 6,87 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,18 (s, 3H), 4,08 (s, 1H), 3,94-3,93 (m, 3H), 3,76 (s, 4H), 3,56-3,52 (m, 2H), 3,42-3,40 (m, 2H), 3,23-3,21 (m, 2H), 2,99-

2,95 (m, 1H), 3,70 (s, 6H).

Các ví dụ từ 7 đến 9

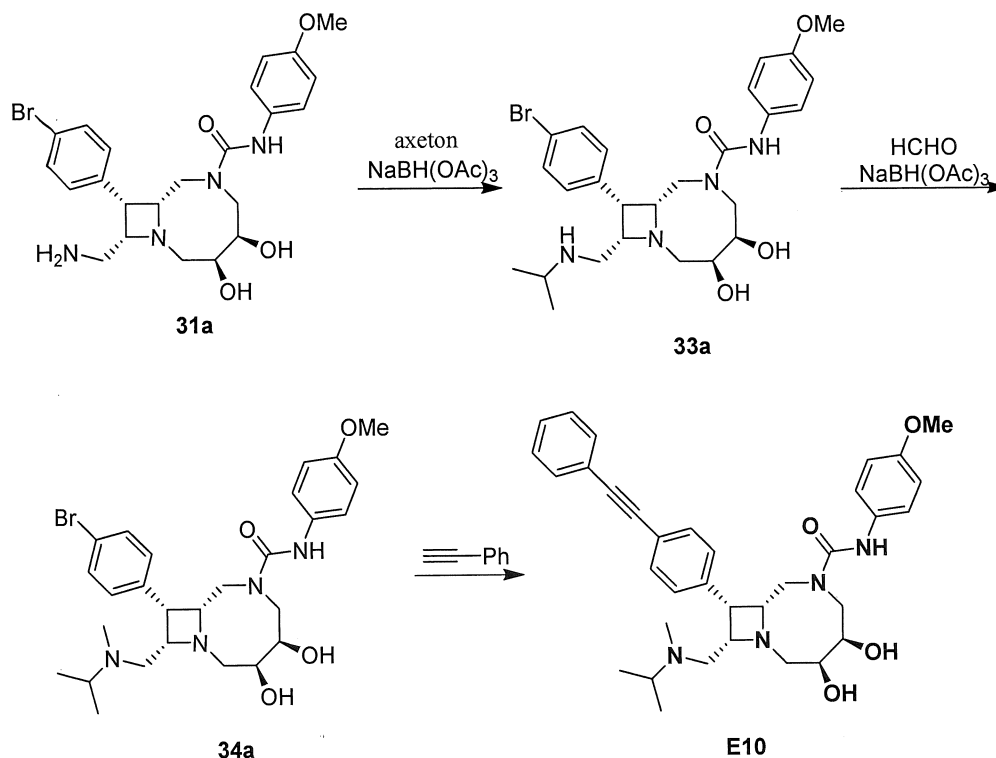
Các hợp chất làm ví dụ sau đây (từ E7 đến E9) được điều chế theo ví dụ 6 với các alkyn được liệt kê và aldehyt cụ thể (nơi được thể hiện) trong Bảng 3 bắt đầu với chất trung gian (“Int.”) 32a hoặc 32b.

Bảng 3

	Alkyn	Aldehyt	Int.	NMR
Ví dụ 7 (3S,4R,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-9-[4-[2-(2-flophenyl)etynyl]phenyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E7”)	1-etynyl-2-flobenzen	formaldehyt	32a	¹ H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,65 - 8,29 (m, 1H), 7,58 - 7,49 (m, 3H), 7,43 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,38 - 7,32 (m, 1H), 7,27 (d, J=9,0 Hz, 2H), 7,21 - 7,08 (m, 2H), 6,83 (d, J=9,0 Hz, 2H), 4,31 (d, J=11,0 Hz, 2H), 4,14 (br. s., 1H), 4,02 (d, J=13,1 Hz, 1H), 3,85 - 3,69 (m, 5H), 3,61 (br. s., 1H), 3,54 (d, J=8,0 Hz, 1H), 3,23 (d, J=16,1 Hz, 1H), 2,99 (br. s., 1H), 2,82 - 2,48 (m, 4H), 2,11 (br. s., 6H)
Ví dụ 8 (3R,4S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-9-[4-[2-(2-flophenyl)etynyl]phe	1-etynyl-2-flobenzen	formaldehyt	32b	¹ H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,52 (br. s., 1H), 7,61 - 7,52 (m, 3H), 7,40 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,37 - 7,30 (m, 2H), 7,21 - 7,10 (m, 2H), 6,84 (d, J=9,0 Hz,

nyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit ("E8")				2H), 3,89 (d, $J=5,0$ Hz, 2H), 3,79 (s, 6H), 3,73 - 3,64 (m, 3H), 3,63 - 3,50 (m, 2H), 3,24 (dd, $J=6,0$, 14,1 Hz, 1H), 2,90 (br. s., 1H), 2,78 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 2,67 (d, $J=10,0$ Hz, 1H), 2,49 (dd, $J=7,0$, 13,1 Hz, 1H), 2,16 (s, 6H)
Ví dụ 9 (3S,4R,8R,9S,10S)-10-(diethylaminometyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit ("E9") BIMH2W60	etynylbenzen	axetaldehyt	32a	¹ H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,61 (br s, 1H), 8,46 (br s, 1H), 7,55 (br d, $J=3,5$ Hz, 2H), 7,52 - 7,47 (m, 1H), 7,50 (br d, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,44 - 7,33 (m, 5H), 7,24 (br d, $J=8,8$ Hz, 2H), 6,81 (br d, $J=8,8$ Hz, 2H), 5,14 (br s, 2H), 4,34 - 4,21 (m, 1H), 4,12 (br s, 1H), 3,96 (br d, $J=14,1$ Hz, 1H), 3,81 (br d, $J=7,9$ Hz, 1H), 3,75 (s, 4H), 3,55 (br t, $J=7,1$ Hz, 1H), 3,48 (br d, $J=9,0$ Hz, 1H), 3,21 (br d, $J=15,7$ Hz, 1H), 2,93 - 2,71 (m, 4H), 2,60 (br dd, $J=7,7$, 12,6 Hz, 3H), 2,52 - 2,38 (m, 2H), 0,85 (br t, $J=6,7$ Hz, 6H)

Ví dụ 10: (3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E10”)



Chất trung gian 33a: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropylamino]metyl]-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 31a (100,00 mg, 197,86 μmol), axeton (68,95 mg, 1,19 mmol, 87,28 μL), AcOH (11,88 mg, 197,86 μmol , 11,31 μL) và MgSO_4 (238,16 mg, 1,98 mmol) trong DCM (1,00 mL) được thêm NaBH(OAc)_3 (125,80 mg, 593,58 μmol). Sau khi khuấy ở 20°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất trung gian 33a thô (116,00 mg) dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt.

Chất trung gian 34a: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 33a (116,00 mg, 211,88 μmol), formaldehyt (103,08 mg, 1,27 mmol, 94,57 μL), MgSO_4 (255,04 mg, 2,12 mmol) và AcOH (12,72

mg, 211,88 μmol , 12,11 μL) trong DCM (1,00 mL) được thêm $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (134,72 mg, 635,64 μmol). Sau khi khuấy ở 20°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất trung gian 34b thô (138,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng đậm.

Tổng hợp E10 (3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]-N-(4-metoxyphephenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

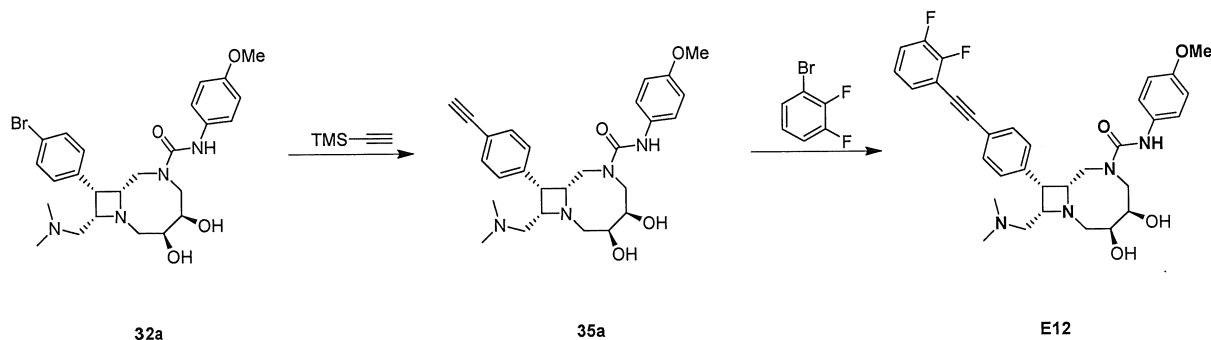
Dung dịch chứa chất trung gian 34a (30,00 mg, 53,43 μmol) và etynylbenzen (10,91 mg, 106,86 μmol , 11,73 μL) trong CH_3CN (1,00 mL) được thêm Et_3N (16,22 mg, 160,29 μmol , 22,22 μL) và XPhos Pd G3 (4,52 mg, 5,34 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (3S,4R,8R,9S,10S)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]-N-(4-metoxyphephenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (11,20 mg, 17,81 μmol , hiệu suất 33,34%, muối axit formic) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,65 - 8,37 (m, 1H), 7,57 - 7,52 (m, 2H), 7,49 (d, $J=8,0$ Hz, 2H), 7,42 - 7,34 (m, 5H), 7,25 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 6,81 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 4,36 - 4,21 (m, 1H), 4,13 (br. s., 1H), 3,96 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 3,84 - 3,73 (m, 5H), 3,62 - 3,46 (m, 2H), 3,21 (d, $J=15,6$ Hz, 1H), 2,83 (d, $J=14,1$ Hz, 4H), 2,75 - 2,54 (m, 2H), 2,11 (br. s., 3H), 0,99 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 0,71 (d, $J=5,0$ Hz, 3H)

Ví dụ 11: (3R,4S,8R,9S,10S)-3,4-dihydroxy-10-[[isopropyl(metyl)amino]metyl]-N-(4-metoxyphephenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E11”)

Hợp chất trong ví dụ E11 được điều chế bằng cách sử dụng việc tổng hợp được mô tả trong Ví dụ 10 bắt đầu với chất trung gian 31b. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,73 - 8,47 (m, 1H), 7,56 - 7,51 (m, 4H), 7,41 - 7,34 (m, 5H), 7,28 (d, $J=8,9$ Hz, 2H), 6,81 (d, $J=8,9$ Hz, 2H), 3,88 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 3,80 - 3,74 (m, 5H), 3,72 - 3,48 (m, 5H), 3,24 (dd, $J=6,8, 14,1$ Hz, 1H), 2,88 (t, $J=11,9$ Hz, 1H), 2,82 -

2,75 (m, 1H), 2,72 (d, $J=14,2$ Hz, 2H), 2,65 - 2,56 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 0,95 (d, $J=6,5$ Hz, 3H), 0,71 (d, $J=6,4$ Hz, 3H).

Ví dụ 12: (3S,4R,8R,9S,10S)-9-[4-[2-(2,3-diflophenyl)etynyl]phenyl]-10-[(dimetylamino)metyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E12”)



Chất trung gian 35a: (3S,4R,8R,9S,10S)-10-[(dimetylamino)metyl]-9-(4-etylnylphenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

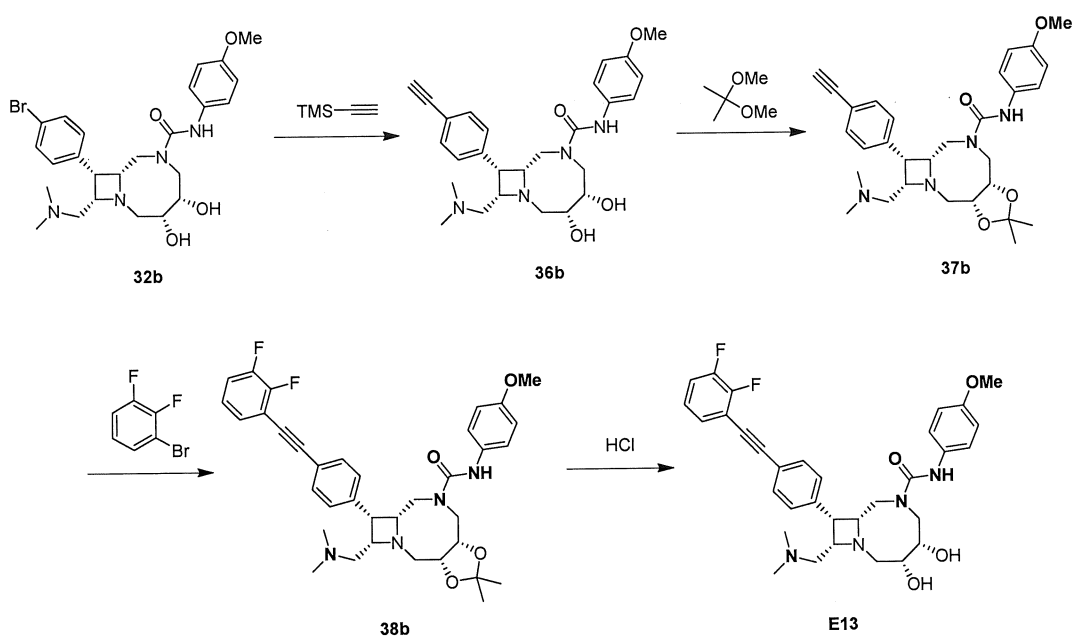
Dung dịch chứa chất trung gian 32a (54,00 mg, 101,23 μmol) và etynyltrimetylsilan (29,83 mg, 303,69 μmol , 42,01 μL) trong CH_3CN (1,00 mL) được thêm Cs_2CO_3 (131,93 mg, 404,92 μmol) và XPhos Pd G3 (8,57 mg, 10,12 μmol). Sau khi khuấy trong khí quyển N_2 ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô 2 (78,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng đậm.

Tổng hợp E12 (3S,4R,8R,9S,10S)-9-[4-[2-(2,3-diflophenyl)etynyl]phenyl]-10-[(dimetylamino)metyl]-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa (3R,4S,8R,9S,10S)-10-[(dimetylamino)metyl]-9-(4-etylnylphenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (chất trung gian 35a) (21,60 mg, 45,13 μmol) và 1-bromo-2,3-diflobenzen (8,71 mg, 45,13 μmol , 5,06 μL) trong CH_3CN (500 μL) được thêm Cs_2CO_3 (29,41 mg, 90,26 μmol) và XPhos Pd G3 (3,82 mg, 4,51 μmol). Sau khi khuấy trong khí quyển N_2 ở 40°C trong 1 giờ, chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH =

8:1) để loại bỏ chất xúc tác và sau đó được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-[4-[2-(2,3-diflophenyl)etynyl]phenyl]-10-[(dimethylamino)metyl]-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (2,00 mg, 3,14 μ mol, hiệu suất 6,96%, muối axit formic)) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 8,48 - 8,27 (m, 1H), 7,58 (d, J =7,9 Hz, 2H), 7,40 (d, J =7,9 Hz, 2H), 7,29 (d, J =8,4 Hz, 3H), 7,22 - 7,13 (m, 1H), 7,11 - 7,03 (m, 1H), 6,83 (d, J =8,8 Hz, 2H), 6,73 (br. s., 1H), 3,89 (br. s., 2H), 3,77 (s, 4H), 3,75 - 3,62 (m, 3H), 3,61 - 3,48 (m, 2H), 3,28 (dd, J =6,6, 14,1 Hz, 1H), 2,89 (d, J =12,8 Hz, 3H), 2,80 (d, J =14,6 Hz, 2H), 2,68 (d, J =7,5 Hz, 1H), 2,27 (s, 6H)

Ví dụ 13: (3*R*,4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-((2,3-diflophenyl)etynyl)phenyl)-10-(((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E13”)



Chất trung gian 36b: (3*R*,4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-10-(((dimethylamino)metyl)-9-(4-etylnylphenyl)-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa (3*R*,4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimethylamino)metyl]-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (chất trung gian 32b) (40,00 mg, 74,98 μ mol) và etynyl(trimetyl)silan

(22,09 mg, 224,95 μmol , 31,12 μL) trong CH_3CN (1,00 mL) được thêm Cs_2CO_3 (97,72 mg, 299,93 μmol) và XPhos Pd G3 (6,35 mg, 7,50 μmol). Sau khi khuấy trong khí quyển N_2 ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM: MeOH = 10:1, $R_f=0,2$) để tạo ra chất trung gian 36b (30,00 mg, 62,69 μmol , hiệu suất 83,60%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Chất trung gian 37b: (3a*S*,6a*R*,7*S*,8*S*,10a*R*)-8-((dimethylamino)metyl)-7-(4-etylnylphenyl)-*N*-(4-metoxyphenyl)-2,2-dimethylhexahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-5(4*H*)-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 36b (30,00 mg, 62,69 μmol) trong 2,2-dimetoxipropan (500 μL) và DCM (500 μL) được thêm TsOH (1,08 mg, 6,27 μmol). Sau khi khuấy ở 20°C trong 1 giờ, phản ứng được cô đặc và được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM: MeOH = 10 :1) để tạo ra chất trung gian 37b (20,00 mg, 38,56 μmol , hiệu suất 61,51%) dưới dạng dầu màu vàng.

Chất trung gian 38b: (3a*S*,6a*R*,7*S*,8*S*,10a*R*)-7-(4-((2,3-diflophenyl)etylnyl)phenyl)-8-((dimethylamino)metyl)-*N*-(4-metoxyphenyl)-2,2-dimethylhexahydro-3a*H*-azeto[1,2-*a*][1,3]dioxolo[4,5-*f*][1,4]diazocin-5(4*H*)-carboxamit.

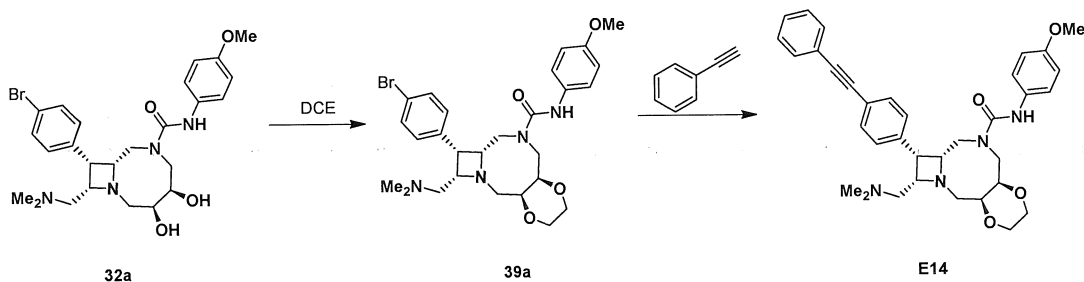
Dung dịch chứa chất trung gian 37b (20,00 mg, 38,56 μmol) và 1-bromo-2,3-diflo-benzen (22,33 mg, 115,68 μmol , 12,98 μL) trong CH_3CN (500 μL) được thêm Cs_2CO_3 (50,25 mg, 154,24 μmol) và XPhos Pd G3 (3,26 mg, 3,86 μmol). Sau khi khuấy trong khí quyển N_2 ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 38b (15,00 mg, 23,78 μmol , 61,68% hiệu suất) dưới dạng dầu màu vàng.

Tổng hợp E13 (3*R*,4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-((2,3-diflophenyl)etylnyl)phenyl)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Hỗn hợp chứa chất trung gian 38b (15,00 mg, 23,78 μmol , 1,00 đương lượng) trong CH_3CN (500,00 μL) được thêm 1 M HCl (500,00 μL). Sau khi khuấy ở 15°C trong 12 h, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn

được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (3*S*,4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-((2,3-diflophenyl)etynyl)phenyl)-10-((dimetylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-*N*-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (11,00 mg, 17,28 μ mol, hiệu suất 72,65%, muối axit formic)) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, METANOL- d_4) δ = 8,69 - 8,45 (m, 1H), 7,61 (s, 4H), 7,40 - 7,29 (m, 2H), 7,25 - 7,13 (m, 3H), 6,85 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 4,22 (dd, $J=6,0, 15,6$ Hz, 1H), 4,12 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 3,87 - 3,80 (m, 2H), 3,80 - 3,72 (m, 5H), 3,53 - 3,46 (m, 1H), 3,36 (br. s., 1H), 3,00 - 2,88 (m, 3H), 2,84 - 2,73 (m, 2H), 2,41 (s, 6H)

Ví dụ 14: (4*aR*,7*aR*,8*S*,9*S*,11*aS*)-9-((dimetylamino)metyl)-*N*-(4-metoxypheyl)-8-(4-(phenyletynyl)phenyl)octahydro-2*H*-azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamit (“E14”)



Chất trung gian 39a: (4*aR*,7*aR*,8*S*,9*S*,11*aS*)-8-(4-bromophenyl)-9-((dimetylamino)metyl)-*N*-(4-metoxypheyl)octahydro-2*H*-azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamit.

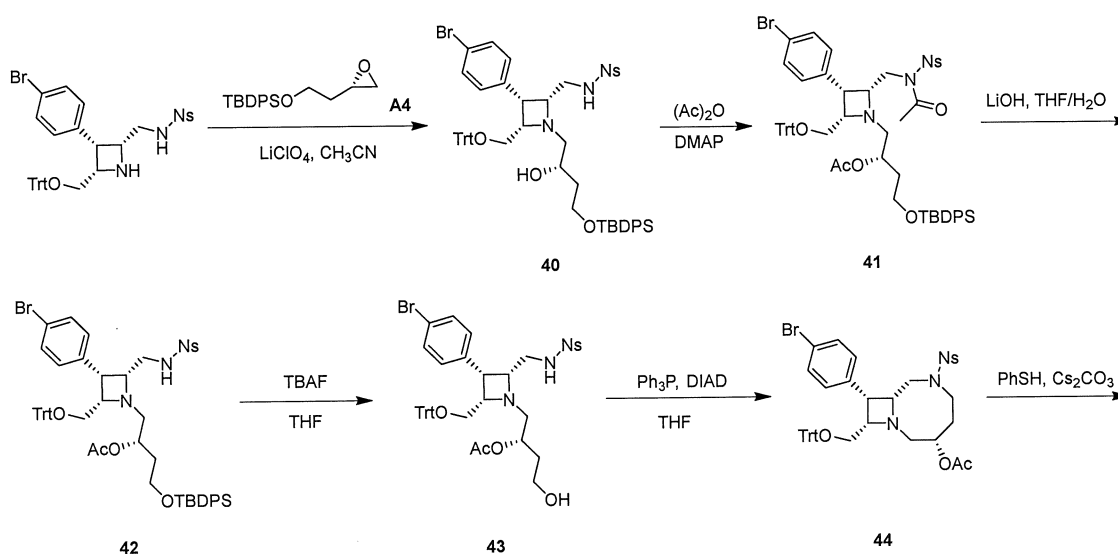
Hỗn hợp chứa chất trung gian 32a (30,00 mg, 56,24 μ mol), NaOH (15,00 mg, 112,48 μ mol, 180,30 μ L, 30% m/v) và TBAB (3,63 mg, 11,25 μ mol) trong DCE (1,00 mL) được khuấy ở 55°C trong 12 giờ. LC-MS cho thấy ~40% chất phản ứng 1 còn lại. Một đỉnh mới với khối phổ của chất trung gian mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM 10 mL và được rửa bằng H₂O (15 mL x 5 lần). Sau đó được rửa bằng nước muối (3 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10: 1) để tạo ra chất trung gian 39 (10,00 mg, 17,87 μ mol, hiệu suất 31,78%) dưới dạng dầu không màu.

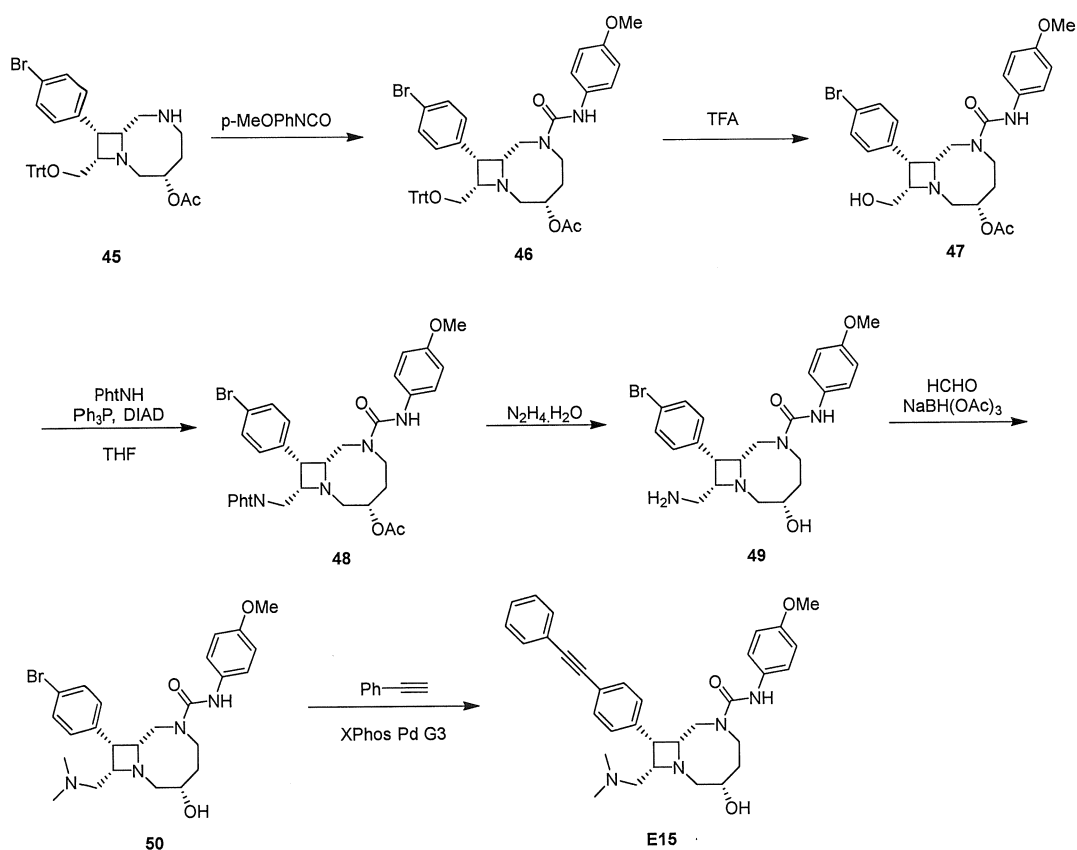
Tổng hợp E14 (4*aR*,7*aR*,8*S*,9*S*,11*aS*)-9-((dimetylamino)metyl)-*N*-(4-metoxypheyl)-

8-(4-(phenyletynyl)phenyl)octahydro-2*H*-azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 39a (20,00 mg, 35,75 μmol) và etynylbenzen (10,95 mg, 107,25 μmol , 11,77 μL) trong CH_3CN (500 μL) được thêm Cs_2CO_3 (46,59 mg, 143,00 μmol) và XPhos Pd G3 (3,03 mg, 3,58 μmol). Sau khi khuấy trong khí quyển N_2 ở 70°C trong 1 giờ, trong khí quyển N_2 , hỗn hợp phản ứng được cô đặc, được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , $\text{DCM}:\text{MeOH} = 10:1$) để loại bỏ chất xúc tác và sau đó được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (4*aR*,7*aR*,8*S*,9*S*,11*aS*)-9-((dimetylamino)metyl)-*N*-(4-metoxypheyl)-8-(4-(phenyletynyl)phenyl)octahydro-2*H*-azeto[1,2-*a*][1,4]dioxino[2,3-*f*][1,4]diazocin-6(3*H*)-carboxamit (muối axit formic), 6,00 mg, 10,33 μmol , 28,90% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) $\delta = 8,26$ (br s, 1H), 7,55 (dd, $J=2,0, 7,0$ Hz, 2H), 7,51 - 7,42 (m, 4H), 7,40 - 7,33 (m, 3H), 7,20 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 6,83 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 4,21 (br d, $J=15,6$ Hz, 1H), 4,10 (br d, $J=14,1$ Hz, 1H), 4,06 - 3,94 (m, 3H), 3,86 - 3,76 (m, 5H), 3,66 (br s, 1H), 3,59 - 3,52 (m, 2H), 3,48 - 3,29 (m, 3H), 2,89 (br d, $J=13,1$ Hz, 1H), 2,60 - 2,33 (m, 3H), 2,03 (s, 6H), 1,83 (br s, 1H).

Ví dụ 15: (3*S*,8*R*, 9*S*,10*S*)-10-[(dimetylamino)metyl]-3-hydroxy-*N*-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E15”)





Chất trung gian 40: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-1-[(2S)-4-[tert-butyl (diphenyl)silyl]oxy-2-hydroxy-butyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metyl]-2-nitro-benzensulfonamit (400,00 mg, 572,56 μ mol) và LiClO₄ (121,83 mg, 1,15 mmol, 50,34 μ L) trong CH₃CN (4,00 mL) được thêm tert-butyl-[2-[(2R)-oxiran-2-yl]etoxy]-diphenyl-silan (Organic Letters (2016), 18(3), 468-471) (373,88 mg, 1,15 mmol). Sau khi khuấy ở 80°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi. Chất cặn này được pha loãng bằng H₂O (20 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (10 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=2/1) để tạo ra chất trung gian 40 (250,00 mg, 243,87 μ mol, hiệu suất 42,59%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Chất trung gian 41: [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-2-[[axetyl-(2-nitrophenyl)sulfonyl-amino]metyl]-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-[tert-

butyl(diphenyl)silyl]oxy-propyl] axetat.

Dung dịch chứa N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-1-[(2S)-4-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-2-hydroxy-butyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-2-yl]metyl]-2-nitro-benzensulfonamit (chất trung gian 40) (250,00 mg, 243,87 μmol), Et_3N (24,68 mg, 243,87 μmol , 33,81 μL) và DMAP (2,98 mg, 24,39 μmol) trong DCM (3,00 mL) được thêm Ac_2O (62,24 mg, 609,68 μmol , 57,10 μL). Sau khi khuấy ở 15°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H_2O (20 mL), và sau đó được chiết bằng DCM (15 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (10 mL), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỏ/etyl axetat=3/1, tấm 2) để tạo ra chất trung gian 41 (270,00 mg, 243,42 μmol , 99,81% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 42: [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-propyl] axetat.

Dung dịch chứa [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-2-[[axetyl-(2-nitrophenyl)sulfonylamino]metyl]-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-propyl] axetat (chất trung gian 41) (270,00 mg, 243,42 μmol) trong THF (2 mL) và H_2O (2 mL) được thêm $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (20,43 mg, 486,84 μmol). Sau khi khuấy ở 15°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H_2O (30 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 4 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (20 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỏ/etyl axetat=3/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 42 (200,00 mg, 187,41 μmol , hiệu suất 76,99%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 43: [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-hydroxy-propyl] axetat.

Dung dịch chứa [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2-nitrophenyl)

sulfonylamino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-propyl] axetat (chất trung gian 42) (200,00 mg, 187,41 μmol) trong THF (3 mL) được thêm TBAF (98,00 mg, 374,82 μmol). Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi. Chất cặn này được pha loãng bằng DCM (30 mL) và được rửa bằng H₂O (15 mL x 5 lần), sau đó bằng nước muối (10 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=1/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 43 (150,00 mg, 180,99 μmol , hiệu suất 96,57%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 44: [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Hỗn hợp chứa PPh₃ (94,94 mg, 361,98 μmol , 2,00 đương lượng) và DIAD (73,20 mg, 361,98 μmol , 70,38 μL , 2,00 đương lượng) trong THF (2 mL) được khuấy ở 0°C trong khí quyển N₂ để tạo ra hỗn hợp dạng sữa. Hỗn hợp này được thêm dung dịch chứa [(1S)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-hydroxy-propyl] axetat (chất trung gian 43) (150,00 mg, 180,99 μmol) trong THF (1 mL). Sau khi khuấy ở 15°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi. Chất cặn này được pha loãng bằng DCM (30 mL) được rửa bằng H₂O (10 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=1/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 44 (150,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 45: [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Dung dịch chứa [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat (chất trung gian 44) (150 mg, 185,01 μmol) trong CH₃CN (3 mL) được thêm Cs₂CO₃ (120,56 mg, 370,02 μmol) và benzenethiol (30,58 mg, 277,52 μmol , 28,31 μL). Sau khi khuấy ở 40°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ dung

môi. Chất cặn này được pha loãng bằng H₂O (30 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 5 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (20 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=1/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 45 (180,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng.

Chất trung gian 46: [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Dung dịch chứa [(3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat (chất trung gian 45) (180 mg, 287,73 μ mol) trong DCM (3 mL) được thêm 1-isoxyanato-4-metoxybenzen (42,91 mg, 287,73 μ mol, 36,99 μ L). Sau khi khuấy ở 15°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm H₂O (15 mL), và sau đó được chiết bằng DCM (20 mL x 4 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng NaHCO₃ dung dịch (15 mL), nước muối (15 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=1/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 46 (200 mg, 258,15 μ mol, hiệu suất 89,72%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 47: [(3S, 8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Dung dịch chứa [(3S, 8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat (chất trung gian 46) (200 mg, 258,15 μ mol, 1,00 đương lượng) trong DCM (3 mL) được thêm TFA (294,34 mg, 2,58 mmol, 191,13 μ L). Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ., hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm NaHCO₃ dung dịch (20 mL), và được chiết bằng DCM (20 mL x 5 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (10 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=1/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 47 (130,00 mg, 244,16 μ mol, hiệu suất 94,58%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 48: [(3S, 8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl]-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Hỗn hợp chứa PPh₃ (128,08 mg, 488,32 μ mol, 2,00 đương lượng) và DIAD (98,74 mg, 488,32 μ mol, 94,94 μ L, 2,00 đương lượng) trong THF (1 mL) được khuấy ở 0°C trong khí quyển N₂ để tạo ra hỗn hợp dạng sữa. Hỗn hợp dạng sữa này được thêm vào dung dịch chứa (3S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymethyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat (chất trung gian 47) (130 mg, 244,16 μ mol) và isoindolin-1,3-dion (53,88 mg, 366,24 μ mol) trong THF (1 mL) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 15°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi và sau đó được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=1/1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 48 (200 mg, thô) dưới dạng dầu màu vàng.

Chất trung gian 49: (3S, 8R,9S,10S)-10-(aminomethyl)-9-(4-bromophenyl)-3-hydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa [(3S, 8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl]-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0] decan-3-yl]axetat (chất trung gian 48) (200 mg, 302,32 μ mol) trong EtOH (2 mL) được thêm N₂H₄.H₂O (29,39 μ L, 604,64 μ mol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi. Chất cặn này được pha loãng bằng H₂O (10 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 5 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (10 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1, tấm 1) để tạo ra chất trung gian 49 (60 mg, 122,60 μ mol, hiệu suất 40,55%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 50: (3S,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

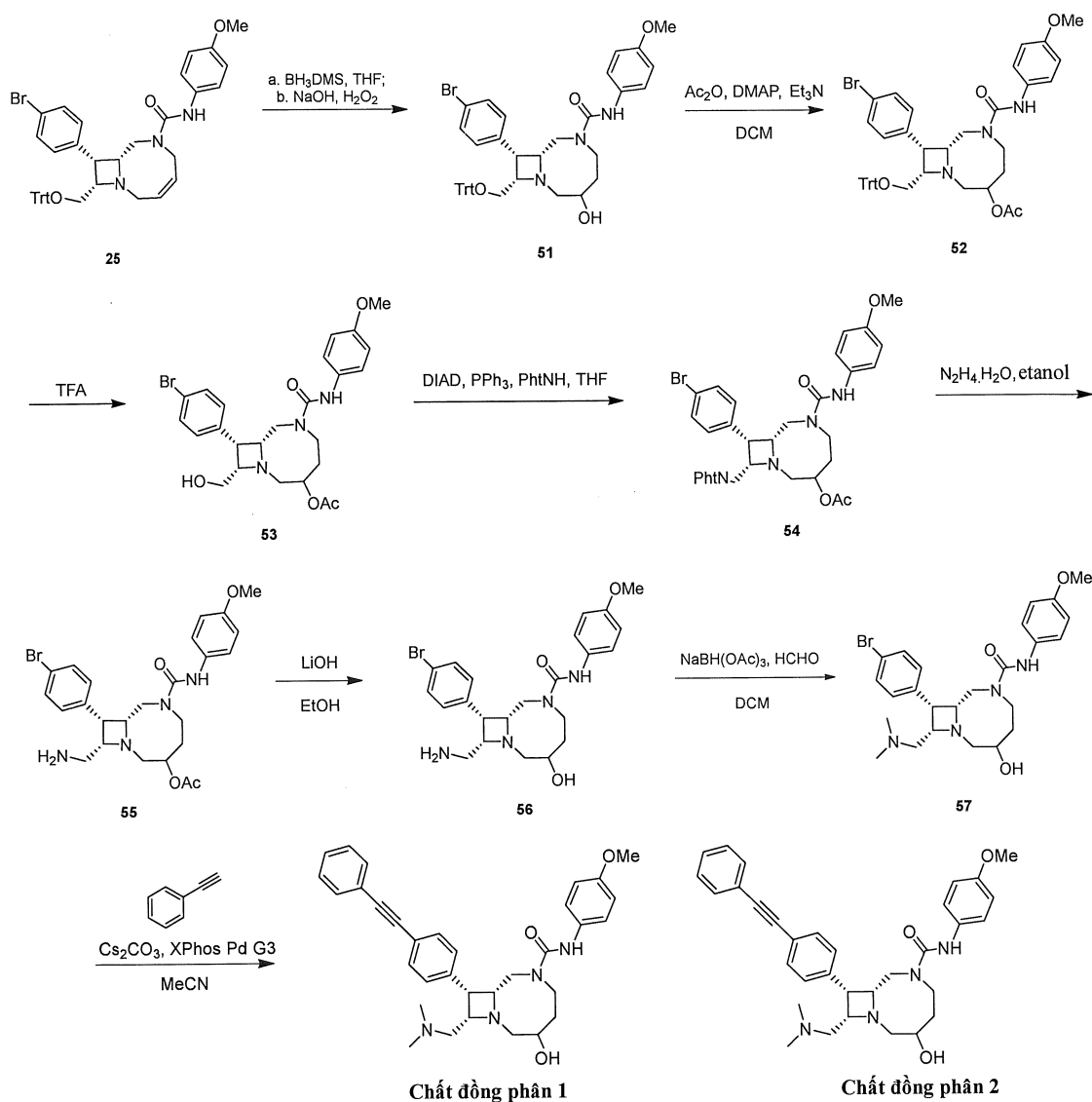
Dung dịch chứa (3S, 8R,9S,10S)-10-(aminomethyl)-9-(4-bromophenyl)-3-hydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (chất trung gian 49) (60 mg, 122,60 μ mol), formaldehyt (54,77 μ L, 735,60 μ mol), MgSO₄ (147,57 mg, 1,23 mmol) và AcOH (0,70 μ L, 12,26 μ mol) trong DCM (3 mL) được thêm

NaBH(OAc)₃ (77,95 mg, 367,80 μmol). Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được rửa bằng dung dịch NaHCO₃ (10 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất trung gian 50 (50 mg, 96,63 μmol, hiệu suất 78,81%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Tổng hợp E15 (3S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa (3S, 8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-metoxyphe-nyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (chất trung gian 50) (50 mg, 96,63 μmol) và etynylbenzen (29,61 mg, 289,89 μmol, 31,84 μL) trong CH₃CN (1 mL) được thêm Cs₂CO₃ (125,94 mg, 386,52 μmol) và XPhos chất xúc tác Pd G3 (8,18 mg, 9,66 μmol). Sau khi khuấy trong khí quyển N₂ ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1, tấm 1) để loại bỏ chất xúc tác tạo ra sản phẩm thô được tinh chế thêm bằng HPLC điều chế (HPLC điều chế (cột: Luna C18 150*25 5u; pha động: A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra sản phẩm phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (10 mg, 17,10 μmol, hiệu suất 17,7%, muối axit formic)) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,44 (br s, 1H), 7,54 (br d, J=7,0 Hz, 4H), 7,44 - 7,34 (m, 5H), 7,29 - 7,24 (m, 2H), 6,83 (br d, J=8,8 Hz, 2H), 6,29 (s, 1H), 5,71 (br s, 1H), 3,87 (br s, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,75 - 3,62 (m, 4H), 3,52 - 3,38 (m, 1H), 3,18 (br dd, J=6,1, 13,6 Hz, 1H), 2,93 - 2,79 (m, 1H), 2,77 - 2,66 (m, 2H), 2,66 - 2,58 (m, 1H), 2,19 (s, 6H), 2,08 - 1,97 (m, 1H), 1,96 - 1,85 (m, 1H)

Ví dụ 16 và Ví dụ 17: Các chất đồng phân của (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)methyl]-3-hydroxy-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit



Chất trung gian 51: (8R,9S,10S)-10-trityloxymethyl-3-hydroxy-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-bromophenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa (3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-methoxyphenyl)-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit (chất trung gian 25, 980,00 mg, 1,37 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (1,00 mL) được thêm $\text{BH}_3\text{-Me}_2\text{S}$ (10 M, 686 μL , 5,00 đương lượng) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. H_2O (1,24 g, 68,56 mmol, 1,24 mL, 50,00 đương lượng) được thêm chậm và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 30 phút. Sau đó dung dịch phản ứng được thêm $\text{NaOH/H}_2\text{O}$ (18,27 g, 68,50 mmol, 15% tinh khiết, 50,00 đương lượng) và H_2O_2 (6,66 g, 68,56 mmol, 5,65 mL, 35% tinh khiết, 50,00 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu

được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. Phản ứng được dừng bằng H₂O (10 mL) và được chiết bằng DCM (50 mL). Các lớp hữu cơ gom được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất rắn màu trắng (hỗn hợp), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Chất trung gian 52: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 51 (1,2 g, 1,64 mmol), Et₃N (497,85 mg, 4,92 mmol) và DMAP (20,04 mg, 164 µmol) trong DCM (2 mL) ở 0°C được thêm Ac₂O (334,86 mg, 3,28 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 3 giờ, phản ứng được dừng bằng H₂O (10 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra hai chất đồng phân của [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat. Mỗi đồng phân được tách bằng TLC điều chế để tạo ra chất đồng phân 1 (126 mg, hiệu suất 9,92%, R_f = 0,5) dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân 2 (197 mg, hiệu suất 15,50%, R_f = 0,4) dưới dạng chất rắn màu trắng và các phân đoạn trộn lẫn [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat (624 mg, hiệu suất 49,11%, R_f = 0,3) dưới dạng chất rắn màu trắng. Dù mỗi chất đồng phân lập thể được tách một cách riêng rẽ, nhưng không thể xác định được hoá học lập thể của vị trí 4 cho từng hợp chất.

Chất đồng phân 1: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 8,25 (s, 1H), 7,47 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,19-7,11 (m, 23H), 6,77 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,62 (s, 1H), 3,92-3,88 (m, 1H), 3,74-3,70 (m, 1H), 3,56-3,55 (m, 4H), 3,45-3,41 (m, 1H), 3,30-3,29 (m, 1H), 3,08-3,07 (m, 3H), 2,89-2,87 (m, 1H), 2,73-2,70 (m, 1H), 2,55-2,52 (m, 1H), 2,43 (s, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,92-1,88 (m, 2H), 1,12-1,10 (m, 3H), 0,9-0,87 (m, 3H).

Chất đồng phân 2: ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,34-7,22 (m, 23H), 7,09 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 6,83 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 5,07-5,04 (m, 1H), 3,92-3,88 (m, 1H), 3,77 (m, 5H), 3,65-3,58 (m, 3H), 3,25-3,27 (m, 2H), 3,03-3,00 (m, 1H), 3,02-2,99 (m, 1H), 2,61-2,57 (m, 1H), 2,45-2,44 (m, 1H), 2,16 (s, 3H), 2,08-2,05 (m, 1H), 1,74-1,71 (m, 2H),

1,00-0,95 (m, 1H).

Các phân đoạn trộn lần ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,52-7,17 (m, 21H), 6,84-6,82 (m, 3H), 4,81 (s, 1H), 4,29-4,16 (m, 1H), 3,99-3,77 (m, 1H), 3,67-3,66 (m, 1H), 3,65-3,63 (m, 6H), 3,63-3,56 (m, 5H), 3,40-3,39 (m, 3H), 3,16-3,12 (m, 2H), 2,96-2,94 (m, 1H), 2,63-2,59 (m, 1H), 2,28-2,25 (m, 1H), 1,97 (s, 3H), 1,89-1,86 (m, 1H), 1,28-1,25 (m, 2H), 0,88-0,84 (m, 1).

Chất trung gian 53: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-6-((4-metoxyphenyl)carbamoyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl axetat.

Dung dịch chứa [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxy phenyl) carbamoyl]-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat (624 mg, 805,43 μmol) trong DCM (2 mL) được thêm TFA (918,35 mg, 8,05 mmol, 596,33 μL). Sau khi khuấy ở 25°C trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 (10 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn và được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 53 (265 mg, hiệu suất 61,80%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,46 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,26 (d, J = 8 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 8 Hz, 2H), 6,47 (s, 1H), 4,80 (s, 1H), 3,81-3,77 (m, 4H), 3,64-3,57 (m, 5H), 3,52-3,47 (m, 3H), 3,25-3,22 (m, 1H), 3,21 (s, 1H), 2,97-2,84 (m, 1H), 2,33-2,23 (m, 2H), 2,24 (s, 2H), 2,15-1,96 (m, 2H).

Chất trung gian 54: [(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 53 (275 mg, 516,5 μmol), isoindolin-1,3-dion (83,59 mg, 568,15 μmol) và PPh_3 (203,21 mg, 774,75 μmol) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (156,66 mg, 774,75 μmol) ở 25°C. Sau khi khuấy ở 25°C trong 5 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 54 (460 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^1H NMR (4400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,79 (s, 2H), 7,70-7,65 (m, 20H), 7,55-7,53 (m, 20H), 7,48-7,45 (m, 30H), 6,86 (m, 3H), 6,62 (s, 1H), 4,76 (s, 2H), 3,86-3,83 (m, 6H), 3,79-7,77 (m, 3H), 3,65-3,64 (m, 3H), 3,54-3,49 (m, 1H),

3,09-3,04 (m, 1H), 2,85-2,81 (m, 1H), 2,56-2,53 (m, 1H), 3,37-3,14 (m, 1H), 2,21-2,14 (m, 1H).

Chất trung gian 55: [(8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl] axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 54 (460 mg, 695,35 μ mol) trong EtOH (1 mL) được thêm từng giọt hydrazin hydrat (53,28 mg, 1,04 mmol, 51,73 μ L). Sau khi khuấy ở 80°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc và được cô đặc để tạo ra chất trung gian 55 (500 mg, thô) dưới dạng chất lỏng màu nâu mà sẽ được trực tiếp sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần phải tinh chế thêm. HRMS (ESI): calcd đối với $C_{24}H_{28}BrN_4O_3$ $[M + H]^+$ 531,15, tìm được là 531,1

Chất trung gian 56: (8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-3-hydroxy-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 55 (300 mg, 564,50 μ mol) trong EtOH : H₂O = 2:1 (1 mL) được thêm LiOH.H₂O (47,37 mg, 1,13 mmol). Sau khi khuấy ở 40°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H₂O (3 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được cô đặc và được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=10:1) để tạo ra chất trung gian 56 (90 mg, hiệu suất 32,58%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (4400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,52-7,47 (m, 2H), 7,34-7,32 (m, 18H), 7,27-7,22 (m, 3H), 6,84 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 6,17 (s, 1H), 3,87-3,84 (m, 1H), 3,78-3,74 (m, 3H), 3,70-3,66 (m, 3H), 3,57-3,55 (m, 2H), 3,13-3,10 (m, 1H), 2,77-2,71 (m, 1H), 2,04-1,88 (m, 5H).

Chất trung gian 57: (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimetylaminometyl)-3-hydroxy-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 56 (90 mg, 183,9 μ mol) trong DCM (2 mL) được thêm HCHO (149,26 mg, 1,84 mmol, 136,93 μ L, dung dịch 37%) và MgSO₄ (442,72 mg, 3,68 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ, NaBH(OAc)₃ (194,88 mg, 919,49 μ mol) được thêm. Sau khi khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol= 10: 1) để tạo ra chất trung gian 57 (58 mg, hiệu suất 60,95%)

dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,51-7,44 (m, 2H), 7,30-7,23 (m, 5H), 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,15 (s, 1H), 3,89-3,87 (m, 2H), 3,83-3,78 (m, 3H), 3,73-3,67 (m, 4H), 3,20-3,15 (m, 1H), 2,72-2,69 (m, 2H), 2,60-2,51 (m, 2H), 2,14 (s, 5H), 2,05-2,026 (m, 4H), 2,00-1,91 (m, 1H).

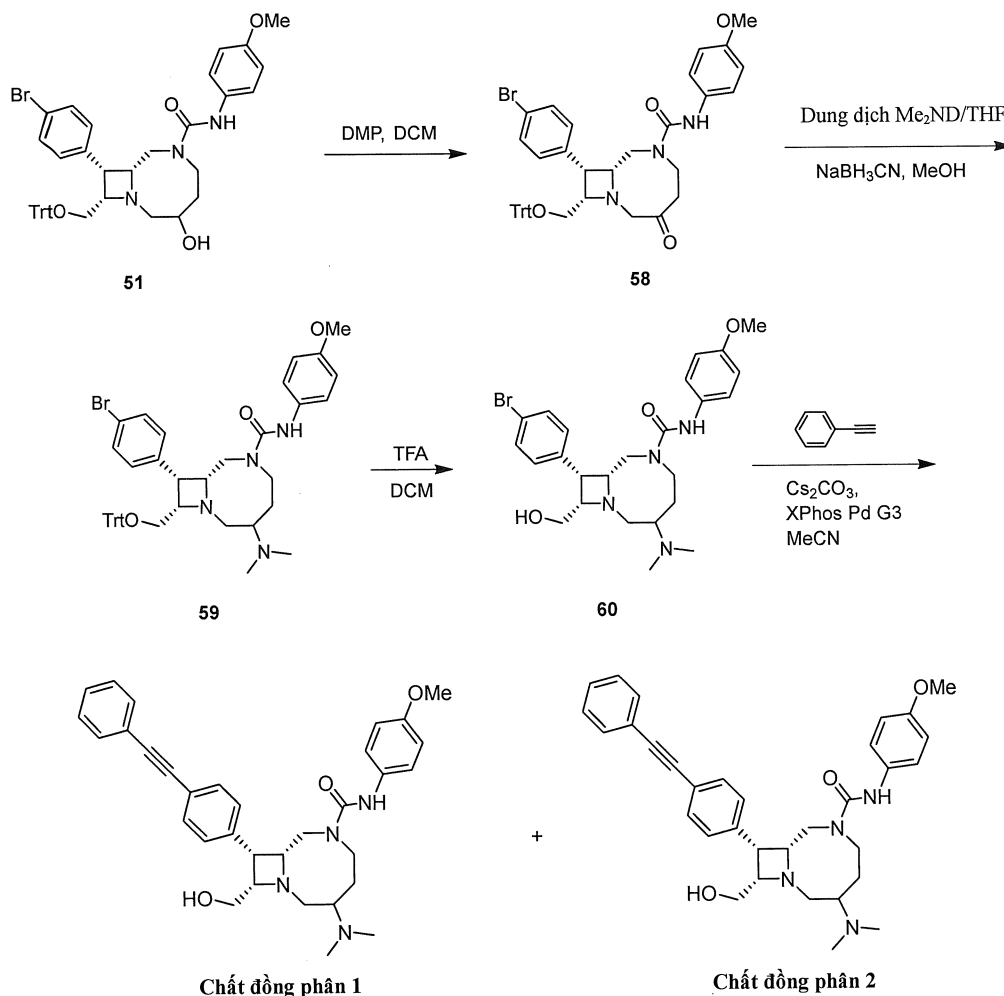
Tổng hợp E16 và E17: Chất đồng phân 1 (E16) và chất đồng phân 2 (E17) của (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-3-hydroxy-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 57 (50 mg, 96,63 μmol) và etynylbenzen (29,61 mg, 289,89 μmol) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (8,18 mg, 9,66 μmol) và Cs_2CO_3 (62,97 mg, 193,26 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra từng chất đồng phân lập thể của (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-3-hydroxy-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit. Mỗi đồng phân được tách để tạo ra chất đồng phân 1 (5,1 mg, hiệu suất 9,80%) và chất đồng phân 2 (17,1 mg, hiệu suất 32,85%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

E16: Chất đồng phân 1: HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539,29, tìm được là 529. ^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,60-7,50 (m, 6H), 7,39-7,37 (m, 3H), 7,36-7,18 (m, 2H), 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,83-3,80 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,69-3,68 (m, 2H), 3,55-3,52 (m, 3H), 3,15-3,09 (m, 2H), 3,01-3,00 (m, 2H), 3,41-3,34 (m, 2H), 2,26 (m, 6H), 1,75-1,72 (m, 1H).

E17: Chất đồng phân 2: HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 539,29, tìm được là 529,40 ^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,61-7,54 (m, 6H), 7,50 (d, $J = 1,6$ Hz, 3H), 7,38-7,36 (m, 2H), 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,84-3,80 (m, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,67-3,61 (m, 2H), 3,55-3,51 (m, 1H), 3,08-3,05 (m, 2H), 2,83-2,80 (m, 1H), 2,74-2,68 (m, 3H), 2,26 (s, 6H), 2,03-1,94 (m, 2H).

Ví dụ 18 và Ví dụ 19: Chất đồng phân 1 (“E18”) và chất đồng phân 2 (“E19”) của (8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit



Chất trung gian 58: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphe-nyl)-3-oxo-10-((trityloxy)methyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 51 (500,00 mg, 682,41 μ mol, 1 đương lượng) trong DCM (5 mL) được thêm Dess-Martin (347,32 mg, 818,89 μ mol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng Na₂SO₃ bão hoà (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được cô đặc và TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 58 (280 mg, hiệu suất 56,15%) dưới dạng chất rắn màu nâu. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,37-7,19 (m, 30H), 6,86-6,82 (m, 2H), 6,20 (s, 1H), 4,27-4,20 (m, 3H), 4,07-3,81 (m, 1H), 3,79-3,77 (m, 3H), 3,70-3,66 (m, 3H), 3,54-3,31 (m, 1H), 3,06-3,04 (m, 1H), 2,98-2,94 (m, 2H), 2,76-2,73 (m, 1H), 2,72-2,45 (m, 1H).

Chất trung gian 59: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-(dimethylamino)-N-(4-metoxyphenyl)-10-((trityloxy)methyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 58 (250 mg, 342,14 μmol) trong MeOH (2 mL) được thêm N-methylmetanamin (2 M, 1,71 mL) và CH_3COOH (205,46 mg, 3,42 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ, NaBH_3CN (21,50 mg, 342,14 μmol) được thêm. Sau khi khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 15 : 1) để tạo ra chất trung gian 59 (120 mg, hiệu suất 46,16%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. HRMS (ESI) calcd đối với $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 759,28, tìm được là 759,2.

Chất trung gian 60: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 59 (115 mg, 151,36 μmol) trong DCM (1 mL) được thêm TFA (172,58 mg, 1,51 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 bão hoà (5 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Dung dịch hữu cơ được thu, được cô đặc và sau đó được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 10: 1) để tạo ra chất trung gian 60 (45,00 mg, hiệu suất 57,45%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,47-7,43 (m, 2H), 7,38-7,31 (m, 4H), 6,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,99 (s, 1H), 3,77 (s, 5H), 3,63-3,61 (m, 5H), 3,59-3,57 (m, 5H), 3,48-3,46 (m, 2H), 3,32-3,13 (m, 3H), 2,76 (s, 6H), 2,48-2,34 (m, 4H), 2,04-2,00 (m, 1H).

Tổng hợp E18 và E19: Chất đồng phân 1 (E18) và chất đồng phân 2 (E19) của (8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

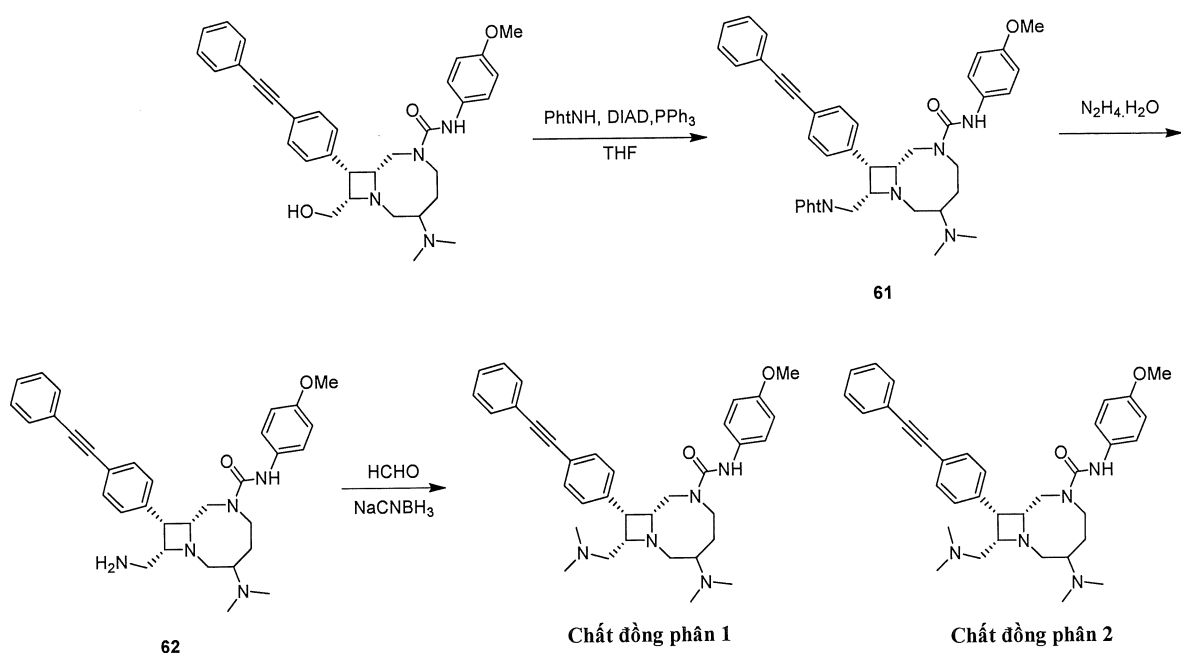
Dung dịch chứa chất trung gian 59 (30 mg, 57,98 μmol) và etynylbenzen (17,76 mg, 173,94 μmol) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (4,91 mg, 5,80 μmol) và Cs_2CO_3 (37,78 mg, 115,96 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra từng chất đồng phân lập thể của (8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-

10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit được tách dưới dạng chất đồng phân 1 (E18) (2,60 mg, hiệu suất 8,32%) và chất đồng phân 2 (E19) (11,40 mg, hiệu suất 36,50%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

E18: Chất đồng phân 1, HRMS (ESI) calcd đối với: $C_{33}H_{38}N_4O_3$ $[M + H]^+$ 539,29, tìm được là 539,4 1H NMR (400MHz, MeOD- d_4) δ 8,34 (s, 1H), 7,56-7,51 (m, 2H), 7,50-7,48 (m, 4H), 7,37 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 7,26 (d, $J = 9,6$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 4,09-4,05 (m, 1H), 3,75-3,72 (m, 3H), 3,66-3,65 (m, 1H), 3,52-3,46 (m, 4H), 3,26-3,20 (m, 2H), 2,64 (s, 6H), 2,55-2,52 (m, 1H), 1,97 (s, 2H).

E19: Chất đồng phân 2, HRMS (ESI) calcd đối với: $C_{33}H_{38}N_4O_3$ $[M + H]^+$ 539,29, tìm được là 539,4 1H NMR (400MHz, MeOD- d_4) δ 8,55 (s, 1H), 7,61 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,51-7,49 (m, 4H), 7,38-7,36 (m, 3H), 7,23 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,86 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,21-4,11 (m, 1H), 3,76-3,73 (m, 5H), 3,76-3,73 (m, 2H), 3,62-3,40 (m, 3H), 3,31-3,13 (m, 3H), 2,81-2,77 (s, 6H), 2,64 (s, 1H), 2,46 (s, 1H), 2,06-2,03 (m, 1H).

Ví dụ 20 và 21: Chất đồng phân 1 (“E20”) và chất đồng phân 2 trong ví dụ 21 của (“E21”)(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-10-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit



Chất trung gian 61: (8R,9S,10S)-3-(dimethylamino)-10-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-

diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa hỗn hợp của các chất đồng phân trong các ví dụ 18 và 19 (165 mg, 318,87 μmol , 1 đương lượng), isoindolin-1,3-dion (51,61 mg, 350,75 μmol) và PPh_3 (125,45 mg, 478,30 μmol) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (96,72 mg, 478,30 μmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 12 giờ, chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 0:1) để tạo ra chất trung gian 61 (184 mg, 89,25% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,83-7,81 (m, 1H), 7,73-7,72 (m, 2H), 7,55-7,26 (m, 5H), 6,82-6,79 (m, 2H), 3,94-3,74 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,67-3,56 (m, 5H), 3,54-3,55 (m, 2H), 3,35-3,06 (m, 1H), 2,77 (s, 6H), 1,26 (s, 1H).

Chất trung gian 62: (8*R*,9*S*,10*S*)-10-(aminometyl)-3-(dimethylamino)-*N*-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

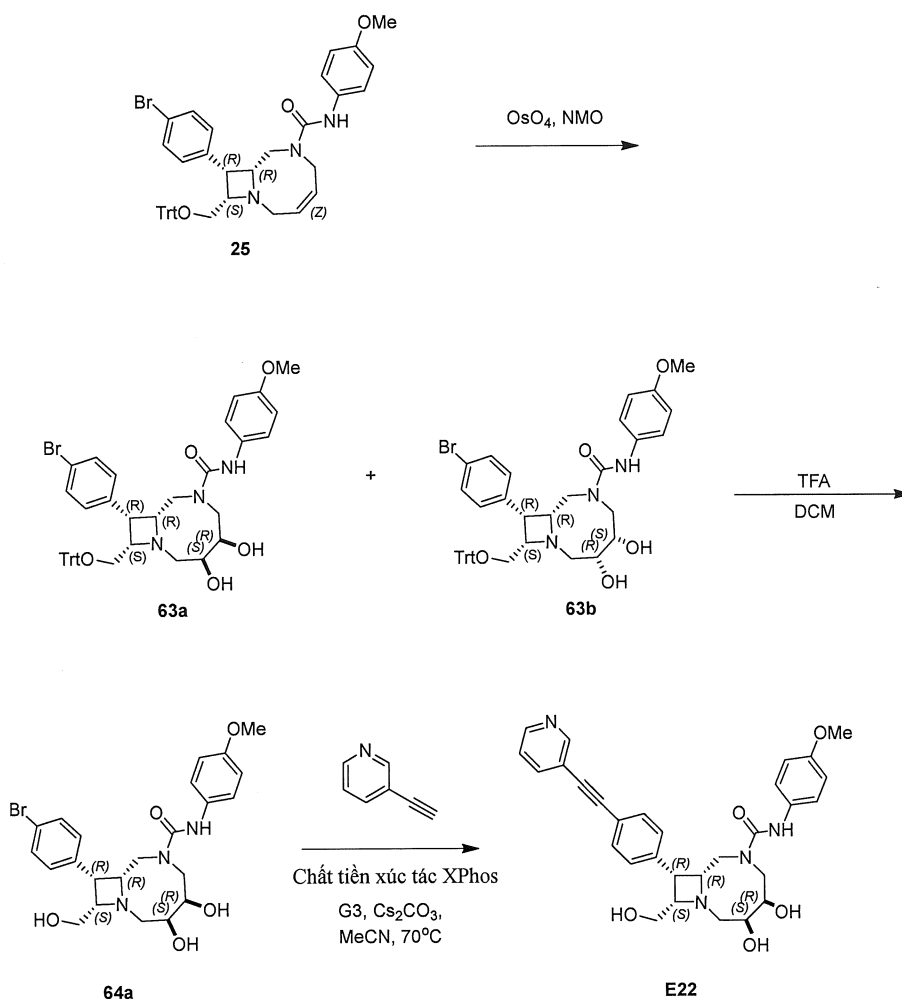
Dung dịch chứa chất trung gian 61 (174 mg, 260,56 μmol) trong EtOH (1 mL) được thêm từng giọt hydrazin hydrat (19,96 mg, 390,84 μmol). Sau khi khuấy ở 80°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=6:1) để tạo ra chất trung gian 62 (50,00 mg, hiệu suất 35,69%) dưới dạng chất lỏng màu nâu. HRMS (ESI) calcd đối với $\text{C}_{33}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 538,31, tìm được là 538,2

Tổng hợp E20 và E21: (4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-10-[(dimethylamino)metyl]-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E20) và (4*R*,8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-10-[(dimethylamino)metyl]-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E21).

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 61 (50 mg, 96,81 μmol) trong DCM (2,00 mL) được thêm HCHO (78,57 mg, 968,10 μmol , 72,08 μL) và MgSO_4 (116,53 mg, 968,10 μmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ, thêm CH_3COOH (5,81 mg, 96,81 μmol) và $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (102,59 mg, 484,05 μmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (5 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan

và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra và tách từng chất đồng phân của (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-(dimethylamino)-10-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-methoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid dưới dạng chất đồng phân 1 (E20) (2,90 mg, 5,33 μmol , hiệu suất 5,51%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt (HRMS (ESI) calcd đối với: $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 566,34, tìm được là 566,4; ^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,61-7,51 (m, 5H), 7,44-7,38 (m, 4H), 7,37-7,23 (m, 2H), 6,87-6,85 (m, 2H), 4,05-3,77 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,66-3,51 (m, 2H), 3,19-3,16 (m, 1H), 2,50-2,47 (m, 1H), 2,35-2,19 (m, 1H), 1,86-1,80 (m, 1H))) và chất đồng phân 2 (E21) (15,20 mg, 27,91 μmol , hiệu suất 28,83%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt (^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,56-7,54 (m, 6H), 7,52-7,51 (m, 3H), 7,23-7,22 (m, 2H), 6,83-6,84 (m, 2H), 4,14-4,12 (m, 1H), 3,87-3,81 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,67-3,48 (m, 2H), 3,24-3,22 (m, 2H), 2,77 (s, 6H), 2,71-2,60 (m, 4H), 2,32-2,31 (m, 2H), 2,31-2,30 (m, 1H)).

Ví dụ 22: (3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E22”)



Chất trung gian 63a và 63b: (3S,4R,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxypheyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (63a) và (3R,4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxypheyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (63b)

Dung dịch chứa chất trung gian 25 (220 mg, 307,83 μmol) và NMO (43,27 mg, 369,4 μmol) trong axeton/ H_2O = 10:1 (1 mL) được thêm OsO_4 (7,83 mg, 30,78 μmol) ở 25°C . Sau khi khuấy ở 25°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1 : 5) để tạo ra chất trung gian 63a (120 mg, hiệu suất 52,07%) dưới dạng chất rắn màu trắng ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,31-7,05 (m, 23H), 6,85-6,81 (m, 2H), 6,82 (d, J = 8 Hz, 2H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,76-3,73 (m, 6H), 3,50-3,43 (m, 2H),

3,19-3,13 (m, 2H), 2,98-2,96 (m, 1H), 2,86-2,84 (m, 1H), 2,78-2,59 (m, 1H)) và chất trung gian 63b (134 mg, hiệu suất 58,14%) dưới dạng chất rắn màu trắng (^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,39-7,24 (m, 23H), 7,09-7,05 (m, 2H), 6,84 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,85-3,78 (m, 5H), 3,69-3,61 (m, 4H), 3,45-3,40 (m, 3H), 3,14-3,13 (m, 1H), 3,05-3,04 (m, 1H), 2,78-2,75 (m, 1H)).

Chất trung gian 64a: (3S,4R,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

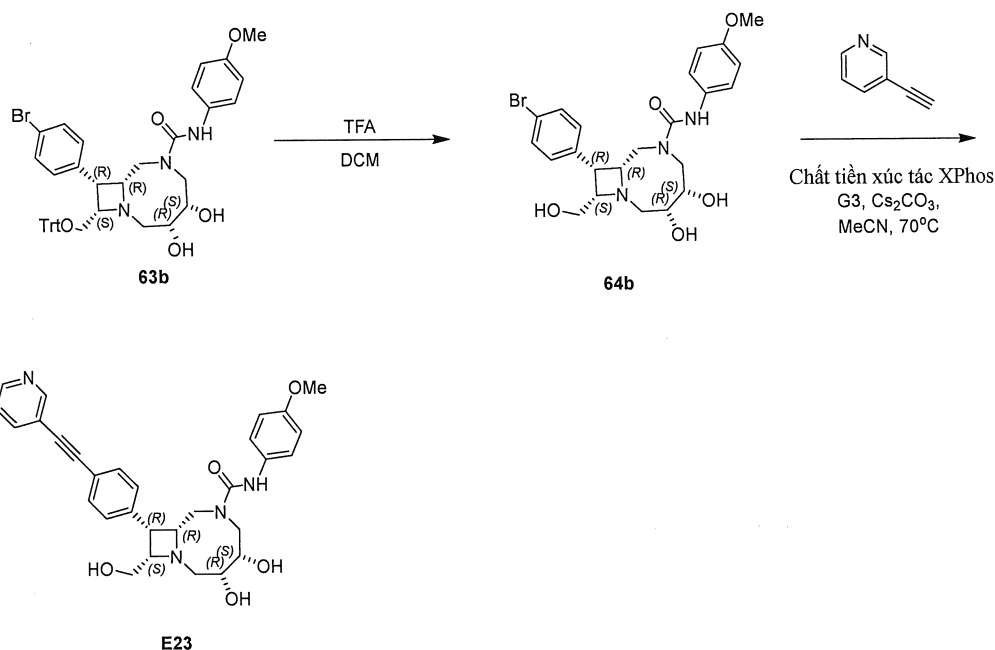
Dung dịch chứa chất trung gian 63a (60 mg, 80,14 μmol) trong DCM (2 mL) được thêm TFA (91,37 mg, 801,39 μmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 3 giờ, phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 (10 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat) để tạo ra chất trung gian 64a (35 mg, hiệu suất 86,24%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,43 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,30 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,20 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,32-4,28 (m, 1H), 4,13-4,06 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,61 (s, 1H), 3,48 (s, 3H), 3,22 (m, 1H), 2,98-2,88 (m, 2H), 2,77-2,70 (m, 2H), 2,0 (s, 1H).

Tổng hợp E22: (3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 64a (20 mg, 39,5 μmol) và 3-etylnylpyridin (8,15 mg, 78,99 μmol) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (3,34 mg, 3,95 μmol) và Cs_2CO_3 (25,74 mg, 78,99 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (3S,4R,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (6,8 mg, hiệu suất 29,69%) dưới dạng chất rắn màu trắng (HRMS (ESI) calcd đối với $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 529,24, tìm được là 529,30; ^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 8,69 (s, 1H), 8,51 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,60-7,52 (m,

4H), 7,48-7,45 (m, 1H), 7,16 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,84 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,16-4,11 (m, 2H), 3,84-3,82 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,64-3,58 (m, 4H), 3,39-3,60 (m, 2H), 2,88-2,79 (m, 3H)).

Ví dụ 23: (3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E23”).



Chất trung gian 64b: (3R,4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

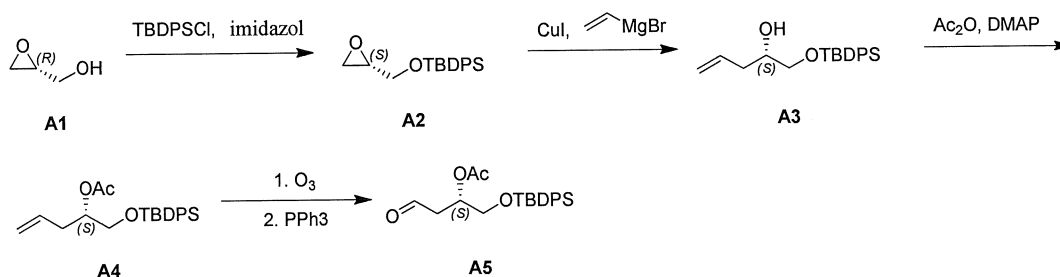
Dung dịch chứa chất trung gian 63b (130 mg, 173,63 μmol) trong DCM (2 mL) được thêm TFA (197,98 mg, 1,74 mmol). Sau khi khuấy ở 25°C trong 3 giờ, phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 (10 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat) để tạo ra chất trung gian 64b (75 mg, hiệu suất 85,30%) dưới dạng chất rắn màu trắng (^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,48 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,09-7,28 (m, 7H), 6,84 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 3,78 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 3,72-3,66 (m, 4H), 3,59-3,57 (m, 5H), 3,53-3,51 (m, 4H), 3,27-3,25 (m, 1H), 2,88-2,74 (m, 2H)).

Tổng hợp E23: (3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-

carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 64b (20 mg, 39,50 μmol) và 3-etylnylpyridin (8,15 mg, 78,99 μmol) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (3,34 mg, 3,95 μmol) và Cs_2CO_3 (25,74 mg, 78,99 μmol). Sau khi khuấy ở 70°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (3R,4S,8R,9R,10S)-3,4-dihydroxy-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-(4-(pyridin-3-yletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (7,4 mg, hiệu suất 29,69%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI) calcd đối với $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 529,24, tìm được là 529,30. ^1H NMR (400MHz, $\text{MeOD}-d_4$) δ 8,69 (s, 1H), 8,52 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,61-7,56 (m, 4H), 7,48-7,46 (m, 1H), 7,23 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,86 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 3,84-3,80 (m, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,65-3,50 (m, 7H), 3,31-3,28 (m, 1H), 3,08-3,26 (m, 1H), 2,74-2,71 (m, 1H).

Tổng hợp chất trung gian A5: [(1S)-1-[[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxymetyl]-3-oxo-propyl] axetat.



Chất trung gian A2: tert-butyl-[[[(2S)-oxiran-2-yl]metoxy]-diphenyl-silan

Dung dịch chứa (R)-oxiran-2-ylmetanol (3,00 g, 40,50 mmol, 2,68 mL) và imidazol (5,51 g, 80,99 mmol) trong DCM (80 mL) ở 0°C được thêm TBDPSCI (13,36 g, 48,60 mmol, 12,48 mL). Sau khi khuấy ở 25°C trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (20 mL) và được chiết bằng DCM (60 mL x 2 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 10:1) để tạo ra chất trung gian A2 (12,66 g, hiệu suất 100,00%) dưới dạng chất lỏng không màu. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3-d_1) δ 7,69-7,68 (m, 4H), 7,46-7,40 (m, 5H), 8,87-3,85 (m, 1H),

3,73-3,70 (m, 1H), 3,14-3,13 (m, 1H), 2,76-2,74 (m, 1H), 1,05 (s, 9H).

Chất trung gian A3: (2S)-1-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxypent-4-en-2-ol.

CuI (1,83 g, 9,60 mmol, 1,5 đương lượng) được đặt trong bình ba cổ trong nito và sau đó thêm THF khan (20 mL). Hỗn hợp thu được được làm lạnh xuống -78°C , và sau đó vinyl magie bromua (1 M, 22,40 mL, 3,5 đương lượng) được thêm từng giọt trong khi duy trì nhiệt độ bên trong dưới -78°C . Hỗn hợp không đồng nhất này được làm ấm đến -20°C và được khuấy ở nhiệt độ này trong 30 phút. Sau khi làm lạnh lại dung dịch xuống -78°C , chất trung gian A2 (2,00 g, 6,40 mmol, 1 đương lượng) được thêm từng giọt. Hỗn hợp này được khuấy, và để cho ấm dần đến 20°C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (20 mL) và được chiết bằng DCM (60 mL x 2 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 7:1) để tạo ra chất trung gian A3 (2,18 g, hiệu suất 100,00%) dưới dạng chất lỏng không màu. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,67-7,65 (m, 4H), 7,44-7,37 (m, 7H), 5,82-5,76 (m, 1H), 5,10-4,90 (m, 2H), 3,81-3,78 (m, 1H), 3,68-3,65 (m, 1H), 3,57-3,54 (m, 1H), 2,46-2,44 (m, 1H), 2,25-2,22 (m, 1H), 1,05 (m, 9H).

Chất trung gian A4: [(1S)-1-[[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxymetyl]but-3-enyl] axetat.

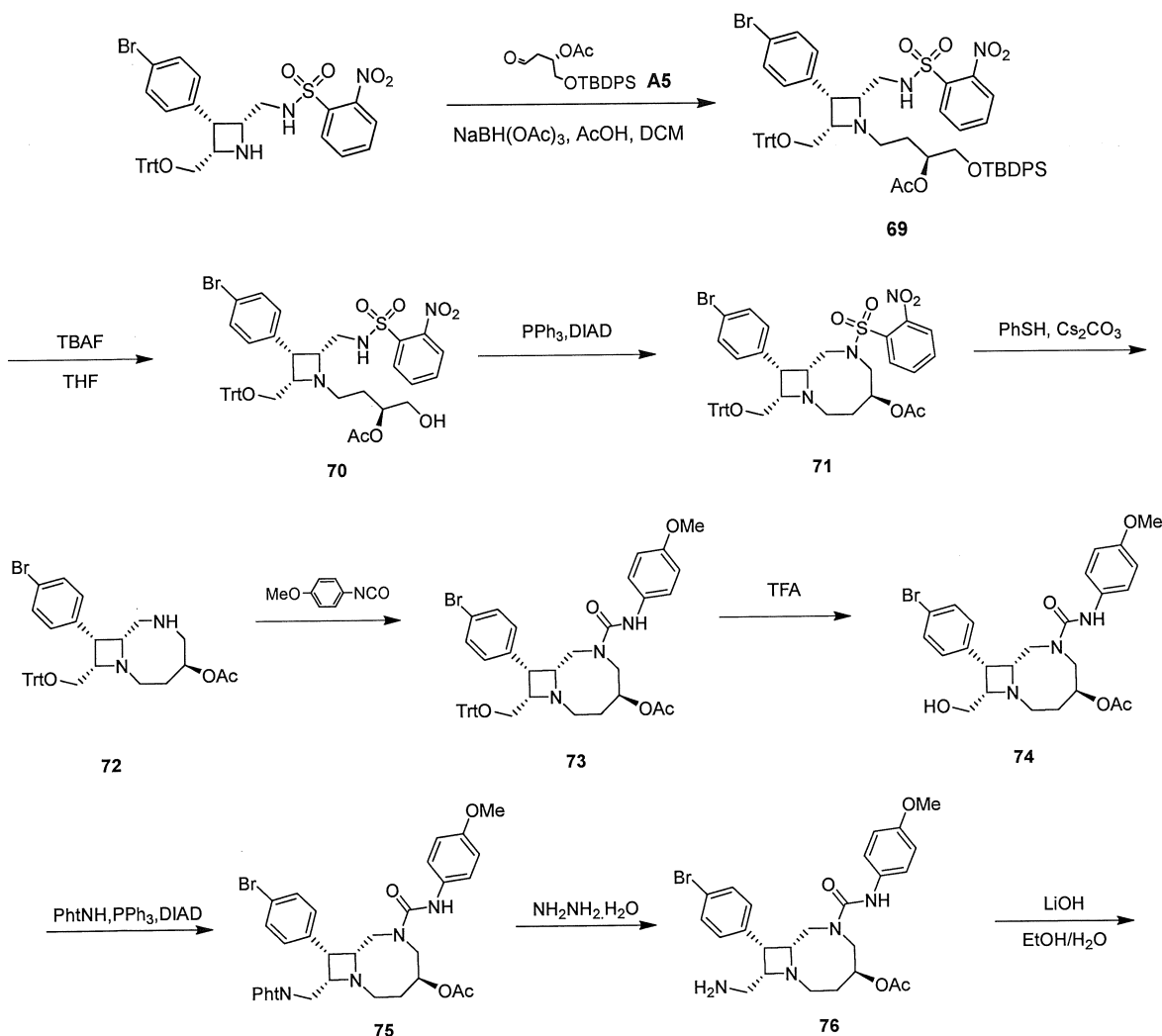
Dung dịch chứa chất trung gian A3 (2,18 g, 6,40 mmol, 1 đương lượng), Et_3N (1,94 g, 19,21 mmol, 3 đương lượng) và DMAP (78,21 mg, 640,18 μmol , 0,1 đương lượng) trong DCM (2 mL) ở 0°C được thêm axetic anhydrit (980,06 mg, 9,60 mmol, 1,5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. TLC (ete dầu mỏ: etyl axetat = 10:1) cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (10 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat=10:1) để tạo ra chất trung gian A4 (2,30 g, hiệu suất 93,94%) dưới dạng chất lỏng không màu. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,67-7,65 (m, 4H), 7,40-7,26 (m, 6H), 5,77-5,69 (m, 1H), 5,11-5,01 (m, 3H), 3,73-3,66 (m, 2H), 2,48-2,32 (m, 1H), 2,02 (m, 3H), 1,09 (m, 9H).

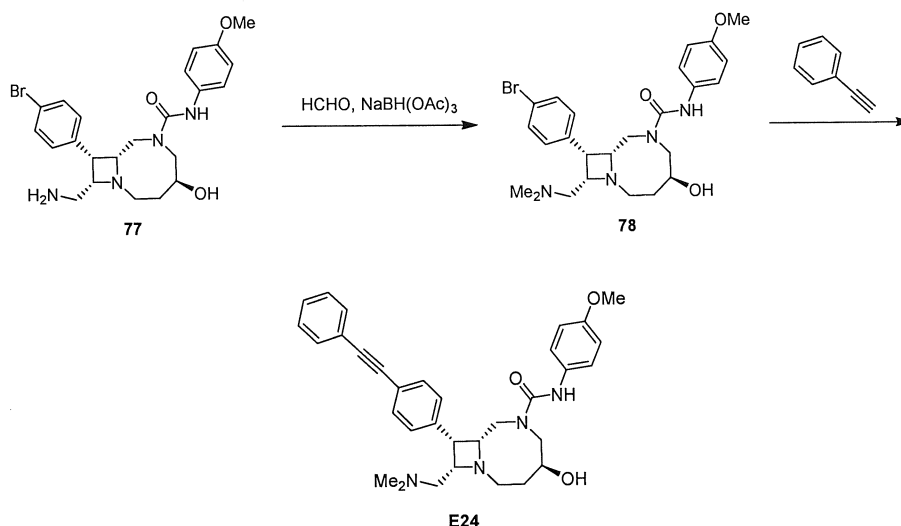
Chất trung gian A5: [(1S)-1-[[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxymetyl]-3-oxo-propyl]

axetat.

Dung dịch -78°C chứa chất trung gian A4 (1,70 g, 4,44 mmol, 1 đương lượng) trong DCM/MeOH = 1:1 (30 mL) được xử lý với dòng O_3 trong O_2 cho đến khi dung dịch chuyển sang màu xanh dương. Sau đó N_2 được sục vào dung dịch cho đến khi màu biến mất. Dung dịch thu được được xử lý bằng Me_2S (2,76 g, 44,44 mmol, 10 đương lượng), được làm ấm đến 20°C và được khuấy trong 2 giờ. TLC (ete dầu mỏ: etyl axetat = 5:1) cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (50 mL) và được rửa bằng H_2O (10 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất trung gian A5 (1,70 g, thô) dưới dạng chất lỏng không màu mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 24: (4S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-4-hydroxy-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E24”)





Chất trung gian 69: [(1S)-3-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]methyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-1-yl]-1-[[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxymethyl]propyl] axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa *N*-(((2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-((trityloxy)methyl)azetidin-2-yl)methyl)-2-nitrobenzensulfonamit (WO2015070204) (1,20 g, 1,72 mmol, 1 đương lượng) trong DCM (12 mL) được thêm chất trung gian A5 (1,46 g, 3,78 mmol, 2,2 đương lượng) ở 25°C và CH₃COOH (103,29 mg, 1,72 mmol, 1 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ. Hỗn hợp này được thêm NaBH(OAc)₃ (1,09 g, 5,16 mmol, 3 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1: 1) để tạo ra chất trung gian 69 (1,67 g, thô) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 5,15-5,11 (m, 1H), 4,96-4,95 (m, 1H), 4,10-4,07 (m, 1H), 3,62-3,44 (m, 4H), 3,17-3,12 (m, 1H), 2,88-2,81 (m, 3H), 2,51-2,44 (m, 2H), 2,06-2,08 (m, 3H).

Chất trung gian 70: [(1S)-3-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2-nitrophenyl)sulfonylamino]methyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-1-yl]-1-(hydroxymethyl)propyl] axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 69 (1,67 g, 1,56 mmol, 1 đương lượng) trong THF (16 mL) được thêm TBAF (1,22 g, 4,68 mmol, 3 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1: 1) để tạo ra chất trung gian 70 (920,00 mg, hiệu suất 71,16%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,85-7,66 (m, 10), 7,26-6,97 (m, 20H), 5,02 (m, 1H), 4,85-4,82 (m, 1H), 4,05-3,76 (m, 1H), 3,70-3,52 (m, 3H), 3,12-2,86 (m, 3H), 2,03 (s, 5H), 1,52-1,46 (m, 2H).

Chất trung gian 71: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 70 (660,00 mg, 796,36 μmol, 1 đương lượng) trong THF (20 mL) được thêm hỗn hợp của PPh₃ (835,51 mg, 3,19 mmol, 4 đương lượng) và DIAD (644,13 mg, 3,19 mmol, 619,35 μL, 4 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1 : 1) để tạo ra chất trung gian 71 (445,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,92-7,90 (m, 1H), 7,69-7,61 (m, 3H), 7,26-7,16 (m, 20H), 4,42-4,40 (m, 2H), 4,14-4,10 (m, 1H), 3,57 (s, 3H), 3,56-3,45 (m, 1H), 3,10-3,03 (m, 3H), 2,85-2,84 (m, 1H), 2,37-2,31 (m, 1H), 2,13-1,98 (m, 1H), 1,87-1,54 (m, 1H), 0,28-1,26 (m, 3H).

Chất trung gian 72: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 71 (660,00 mg, 796,36 μmol, 1 đương lượng) trong THF (20,00 mL) được thêm hỗn hợp của PPh₃ (835,51 mg, 3,19 mmol, 4 đương lượng) và DIAD (644,13 mg, 3,19 mmol, 619,35 μL, 4 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1: 1) để tạo ra chất trung gian 72 (445,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,26-

7,22 (m, 25H), 4,01-4,00 (m, 1H), 3,83-3,81 (m, 1H), 3,62-3,47 (m, 1H), 3,51-3,47 (m, 1H), 3,49-3,48 (m, 1H), 3,21-3,11 (m, 1H), 2,92-2,88 (m, 1H), 2,49-2,47 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,85-1,084 (m, 1H), 1,60 (s, 3H).

Chất trung gian 73: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 72 (154,00 mg, 246,17 μ mol, 1 đương lượng) và Et₃N (49,82 mg, 492,34 μ mol, 68,25 μ L, 2 đương lượng) trong DCM (2 mL) được thêm 1-isoxyanato-4-metoxybenzen (40,39 mg, 270,78 μ mol, 34,82 μ L, 1,1 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (2 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1: 1) để tạo ra chất trung gian 73 (169 mg, hiệu suất 88,61%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,33-7,23 (m, 20H), 6,83-6,82 (m, 2H), 4,59-4,57 (m, 1H), 4,30-4,27 (m, 1H), 3,78-3,75 (m, 4), 3,63-3,3,62 (m, 1H), 3,54-3,53 (m, 1H), 3,15-3,13 (m, 2H), 2,92-2,90 (m, 2H), 2,08-2,00 (m, 3H), 1,89-1,85 (s, 2H), 1,57 (m, 1H).

Chất trung gian 74: [(4S,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 73 (169,00 mg, 218,14 μ mol, 1 đương lượng) trong DCM (2 mL) là TFA (248,72 mg, 2,18 mmol, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1 : 2) để tạo ra chất trung gian 74 (81,00 mg, 152,13 μ mol, hiệu suất 69,74%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với C₂₅H₃₀BrN₃O₅ [M + H]⁺ 532,14, tìm được là 534,1

Chất trung gian 75: [(4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl] axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 74 (81,00 mg, 104,55 μmol , 1 đương lượng), isoindolin-1,3-dion (16,92 mg, 115,01 μmol , 1,1 đương lượng) và PPh_3 (41,13 mg, 156,82 μmol , 1,5 đương lượng) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (31,71 mg, 156,82 μmol , 30,49 μL , 1,5 đương lượng) ở 25°C trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: ethyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 75 (58,00 mg, hiệu suất 83,86%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,83-7,81 (m, 2H), 7,73-7,71 (m, 2H), 7,51-7,49 (m, 4H), 7,25-7,23 (m, 2H), 6,89-6,84 (m, 2H), 6,56 (s, 1H), 4,59-4,55 (m, 1H), 4,28-4,27 (m, 1H), 3,82-3,78 (m, 4H), 3,58-3,55 (m, 3,50H), 3,50-3,25 (m, 2H), 2,99-2,98 (m, 1H), 2,37-2,12 (m, 1H), 2,08 (s, 5H).

Chất trung gian 76: (4S,8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-6-((4-metoxyphenyl)carbamoyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 75 (58,00 mg, 87,67 μmol , 1 đương lượng) trong EtOH (1 mL) được thêm từng giọt hydrazin hydrat (6,72 mg, 131,51 μmol , 6,52 μL , 98% tinh khiết, 1,5 đương lượng) ở 25°C trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất trung gian 76 cặn mà không cần tinh chế thêm. HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{BrN}_4\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 531,15, tìm được là 531,1

Chất trung gian 77: (4S,8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-4-hydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 76 (46,00 mg, 86,56 μmol , 1 đương lượng) trong EtOH:H₂O=1:1 (1 mL) được thêm LiOH.H₂O (7,26 mg, 173,12 μmol , 2 đương lượng) ở 25°C. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (2 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất trung gian 77 (80,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): ET6538-397-P1P calcd đối với $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{BrN}_4\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 489,14, tìm được là 491,1.

Chất trung gian 78: (4S,8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-((dimethylamino)metyl)-4-

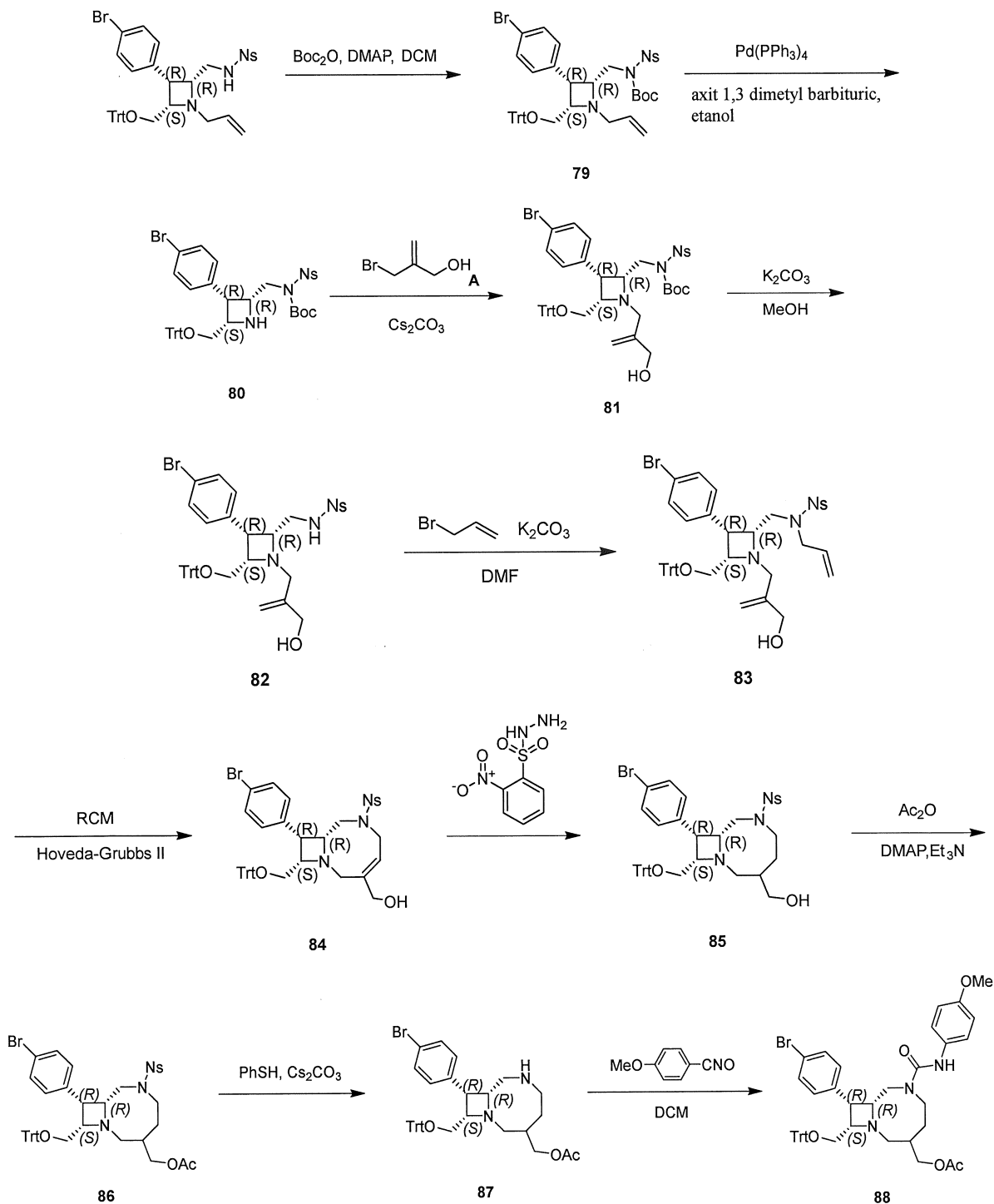
hydroxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

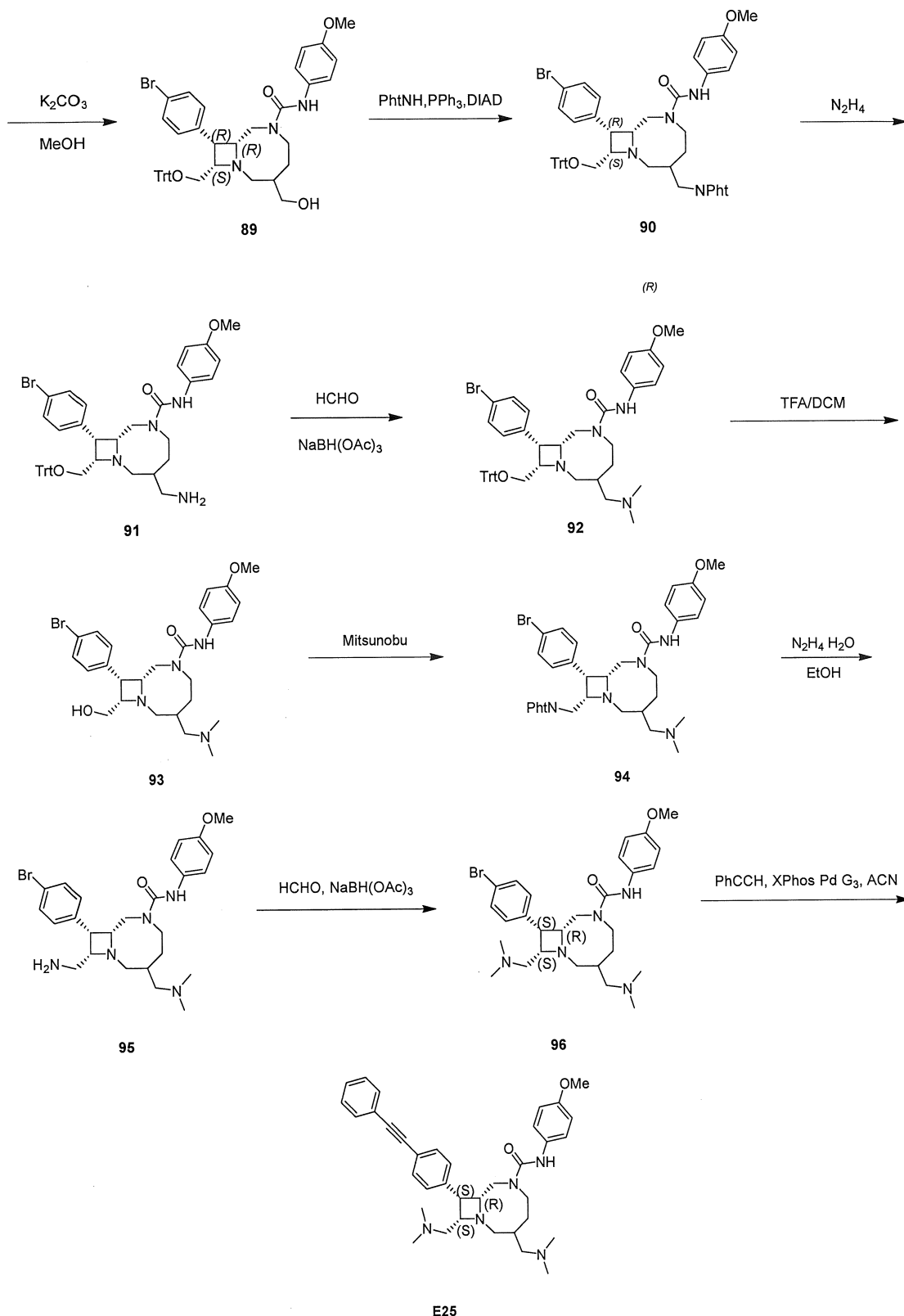
Dung dịch chứa chất trung gian 77 (757,00 mg, 1,01 mmol, 1 đương lượng), isoindolin-1,3-dion (164,07 mg, 1,12 mmol, 1,1 đương lượng) và PPh₃ (398,85 mg, 1,52 mmol, 1,5 đương lượng) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (307,49 mg, 1,52 mmol, 1,5 đương lượng) ở 25°C trong khí quyển N₂. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 78 (1,13 g, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,45-7,44 (m, 3H), 7,39-7,37 (m, 2H), 6,83-6,81 (m, 2H), 4,08-3,97 (m, 2H), 3,77-3,76 (m, 2H), 3,45-3,44 (m, 1H), 3,29-3,10 (m, 3H), 2,02 (s, 6H), 0,87 (s, 2H).

Tổng hợp E24: (4S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-4-hydroxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E24).

Dung dịch chứa chất trung gian 78 (40,00 mg, 77,30 μmol, 1 đương lượng) và etynylbenzen (23,68 mg, 231,90 μmol, 2,5 đương lượng) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (6,54 mg, 7,73 μmol, 0,1 đương lượng) và Cs₂CO₃ (50,37 mg, 154,60 μmol, 2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5μ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra (4S,8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-4-hydroxy-*N*-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (6,10 mg, hiệu suất 14,65%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với C₃₃H₃₈N₄O₃ [M + H]⁺ 539,29, tìm được là 539,4 ¹H NMR (400MHz, MeOD-d₄) δ7,55-7,50 (m, 2H), 7,49-7,37 (m, 4H), 6,86-6,84 (m, 2H), 4,18-4,05 (m, 1H), 4,02-4,00 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,64-3,31 (m, 1H), 2,90-2,85 (m, 3H), 2,43 (s, 6H), 2,35-2,34 (m, 1H), 2,34-2,06 (m, 1H).

Ví dụ 25: (8R,9S,10S)-3,10-bis[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit ("E25")





Chất trung gian 79: tert-butyl N-[[[(2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-N-(2-nitrophenyl)sulfonyl-carbamate.

Dung dịch chứa N-(((2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-((trityloxy)methyl)azetidin-2-yl)methyl)-2-nitrobenzensulfonamid (WO2015070204) (8,50 g, 11,51 mmol,

1 đương lượng), DMAP (140,58 mg, 1,15 mmol, 0,1 đương lượng) và Et₃N (3,49 g, 34,52 mmol, 4,79 mL, 3 đương lượng) trong DCM (60 mL) được thêm BOC₂O (2,76 g, 12,66 mmol, 1,1 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 4 giờ. TLC (ete dầu mỏ : DCM = 3:1) cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được dừng bằng H₂O (100 mL) và được chiết bằng DCM (300 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 3:1) để tạo ra chất trung gian 79 (8,19 g, hiệu suất 84,83%) dưới dạng chất rắn màu nâu. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ8,20 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,70 (s, 3H), 7,35-7,32 (m, 5H), 7,19-7,13 (m, 10H), 7,11 (m, 7H), 5,73-5,63 (m, 1H), 5,09-5,05 (m, 1H), 4,90-4,87 (m, 1H), 3,95-3,91 (m, 1H), 3,65-3,64 (m, 3H), 3,54-3,49 (m, 1H), 3,09-3,04 (m, 1H), 2,85-2,81 (m, 1H), 2,56-2,53 (m, 1H), 3,06-3,05 (m, 1H), 2,94-2,89 (m, 1H).

Chất trung gian 80: tert-butyl N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metyl]-N-(2-nitrophenyl)sulfonyl-carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 79 (7,70 g, 9,18 mmol, 1 đương lượng) trong EtOH (10 mL) được thêm 1,3-dimethylhexahydropyrimidin-2,4,6-trion (2,15 g, 13,77 mmol, 1,5 đương lượng) và Pd(PPh₃)₄ (1,06 g, 917,98 μmol, 0,1 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 40°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được dừng bằng 10% NaOH (20 mL) và được chiết bằng DCM (500 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 3:1) để tạo ra chất trung gian 80 (6,44 g, 8,06 mmol, hiệu suất 87,83%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁) δ8,24-8,22 (m, 1H), 7,72-7,65 (m, 3H), 7,33 (s, 4H), 7,22-7,19 (m, 16H), 7,42-7,34 (m, 2H), 3,95-3,89 (m, 1H), 3,06-3,04 (m, 1H), 3,02-2,95 (m, 1H), 2,05 (s, 1H), 1,03 (s, 9H).

Chất trung gian 81: tert-butyl N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-1-[2-(hydroxymethyl)alyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metyl]-N-(2-nitrophenyl)sulfonyl-carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 80 (6,44 g, 8,06 mmol, 1 đương lượng) và K₂CO₃ (3,34 g, 24,18 mmol, 3 đương lượng) trong DMF (60 mL) được thêm 2-

(bromomethyl)prop-2-en-1-ol (1,83 g, 12,09 mmol, 1,5 đương lượng) ở 25°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được dừng bằng H₂O (50 mL) và được chiết bằng DCM (100 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 2:1) để tạo ra chất trung gian 81 (5,52 g, hiệu suất 78,83%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 8,20 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 8,02 (s, 1H), 7,72-7,67 (m, 3H), 7,42-7,40 (m, 2H), 7,30-7,26 (m, 2H), 7,18-7,16 (m, 10H), 7,08-7,07 (m, 7H), 4,80 (s, 1H), 4,65 (s, 1H), 4,06-3,98 (m, 3H), 3,84 (m, 1H), 3,65-3,62 (m, 2H), 3,55-3,51 (m, 2H), 3,03-3,00 (m, 2H), 1,30 (s, 9H).

Chất trung gian 82: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-1-[2-(hydroxymethyl)allyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 81 (5,00 g, 5,75 mmol, 1 đương lượng) trong MeOH (50 mL) được thêm K₂CO₃ (3,97 g, 28,75 mmol, 5 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 3 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được dừng bằng H₂O (100 mL) và được chiết bằng DCM (300 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 82 (2,50 g, 3,25 mmol, 56,56% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ 7,82-7,78 (m, 2H), 7,71-7,69 (m, 1H), 7,18-7,13 (m, 18H), 5,10 (s, 1H), 5,01-4,97 (m, 2H), 4,12-4,07 (m, 2H), 3,70-3,58 (m, 3H), 3,34-3,23 (m, 1H), 3,07-3,06 (m, 1H), 2,93-2,89 (m, 2H).

Chất trung gian 83: N-allyl-N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-1-[2-(hydroxymethyl)allyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 82 (2,50 g, 3,25 mmol, 1 đương lượng) trong DMF (1,00 mL) được thêm 3-bromoprop-1-en (590,18 mg, 4,88 mmol, 1,5 đương lượng) và K₂CO₃ (1,35 g, 9,76 mmol, 3 đương lượng) ở 25°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được dừng bằng H₂O (100 mL) và được chiết bằng DCM (500 mL) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn.

Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 83 (2,62 g, hiệu suất 99,68%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 8,02 (s, 1H), 7,66-7,53 (m, 1H), 7,37-7,35 (m, 3H), 7,15-7,11 (m, 19H), 5,43-5,36 (m, 1H), 5,00-4,98 (m, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,80-4,76 (m, 2H), 4,04- (s, 2H), 3,82-3,79 (m, 2H), 3,52-3,32 (m, 3H), 3,16 (m, 1H), 3,06-3,02 (m, 2H), 2,96-2,88 (m, 2H).

Chất trung gian 84: [(3E,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-3-yl]metanol.

Dung dịch chứa chất trung gian 83 (2,20 g, 2,72 mmol, 1 đương lượng) trong DCM (20 mL) được thêm [1,3-bis(2,4,6-trimetylphenyl)imidazolidin-2-yliden]-diclo-[(2-isopropoxyphenyl) metylen]ruteni (chất xúc tác Hoyveda-Grubbs thế hệ thứ hai) (426,12 mg, 680,04 μmol , 0,25 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 40°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 84 (2,12 g, hiệu suất 100,00%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,89-7,87 (m, 1H), 7,70-7,61 (m, 3H), 7,26-7,22 (m, 17H), 7,11-7,08 (m, 2H), 5,68-5,64 (m, 1H), 4,15-4,05 (m, 1H), 3,99-3,64 (m, 2H), 3,53-3,52 (m, 1H), 3,31-3,22 (m, 2H), 3,12-3,09 (m, 2H), 2,85-2,84 (m, 1H), 2,17 (s, 1H).

Chất trung gian 85: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]metanol.

Dung dịch chứa chất trung gian 84 (750,00 mg, 960,65 μmol , 1 đương lượng) và Et_3N (1,94 g, 19,21 mmol, 2,66 mL, 20 đương lượng) trong THF (15 mL) được thêm 2-nitrobenzensulfonohydrazit (2,09 g, 9,61 mmol, 10 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 40°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, phản ứng được dừng bằng H_2O (3 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 2 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 85 (1,50 g, hiệu suất 100,00%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,76-7,74 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 7,65-7,55

(m, 4H), 7,26-7,22 (m, 19H), 7,10-7,08 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 3,75-3,61 (m, 6H), 3,26-3,22 (m, 1H), 3,16-3,12 (m, 1H), 3,00-2,99 (m, 2H), 2,89-2,87 (m, 2H), 2,72-2,69 (m, 1H), 2,17 (s, 1H), 1,97-1,90 (m, 3H), 1,40-1,26 (m, 2H).

Chất trung gian 86: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 85 (1,49 g, 1,90 mmol, 1 đương lượng), Et_3N (576,78 mg, 5,70 mmol, 3 đương lượng) và DMAP (23,21 mg, 190,00 μmol , 0,1 đương lượng) trong DCM (15 mL) ở 0°C được thêm axetic anhydrit (387,94 mg, 3,80 mmol, 355,91 μL , 2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (10 mL) và được chiết bằng DCM (30 mL x 2 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ : etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 86 (1,51 g, 96,32% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,80-7,76 (m, 1H), 7,61-7,56 (m, 3H), 7,27-7,22 (m, 15H), 7,13-7,11 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,01-3,99 (m, 2H), 3,69-3,63 (m, 4H), 3,22-3,12 (m, 3H), 2,94-2,88 (m, 2H), 2,62-2,61 (m, 1H), 2,20-2,05 (m, 1H), 1,92 (s, 1H), 1,82 (s, 3H), 1,32-1,27 (m, 1H).

Chất trung gian 87: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 86 (1,51 g, 1,83 mmol, 1. đương lượng) và benzenethiol (302,57 mg, 2,75 mmol, 280,16 μL , 1,5 đương lượng) trong axetonitril (15 mL) được thêm từng giọt Cs_2CO_3 (1,19 g, 3,66 mmol, 2 đương lượng) ở 25°C . Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (10 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Chất hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (diclometan: metanol = 10:1) để tạo ra chất trung gian 87 (1,09 g, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{37}\text{H}_{39}\text{BrN}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 639,21, tìm được là 639,1.

Chất trung gian 88: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl) carbamoyl]-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 87 và Et₃N (344,05 mg, 3,40 mmol, 2 đương lượng) trong DCM (10 mL) được thêm từng giọt 1-isoxyanato-4-metoxi-benzen (278,91 mg, 1,87 mmol, 1,1 đương lượng) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (20 mL) và được chiết bằng DCM (50 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 87 (1,10 g, hiệu suất 81,76%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,30-7,23 (m, 20H), 6,84-6,82 (m, 2H), 6,09 (s, 1H), 4,07-4,03 (m, 1H), 3,79-3,78 (m, 3H), 3,72 (m, 1H), 3,62-3,55 (m, 3H), 3,19-3,17 (m, 1H), 3,00-2,94 (m, 2H), 2,55-2,54 (m, 1H), 2,52-2,50 (m, 1H), 2,00 (s, 1H), 1,87 (s, 3H), 1,86-1,77 (m, 1H).

Chất trung gian 89: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 88 (750,00 mg, 950,85 μmol, 1 đương lượng) trong MeOH (7 mL) được thêm K₂CO₃ (394,25 mg, 2,85 mmol, 3 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được lọc để tạo ra dịch lọc và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 88 (757,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,29-7,23 (m, 24H), 7,09-7,07 (m, 1H), 6,84-6,81 (m, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,66-3,63 (m, 2H), 3,62 (m, 4H), 3,15-3,07 (m, 1H), 2,82-2,79 (m, 1H), 2,66-2,64 (m, 1H), 1,77 (s, 1H), 1,28-1,25 (s, 2H).

Chất trung gian 90: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 89 (757,00 mg, 1,01 mmol, 1 đương lượng), isindolin-1,3-dion (164,07 mg, 1,12 mmol, 1,1 đương lượng) và PPh₃ (398,85 mg, 1,52

mmol, 1,5 đương lượng) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (307,49 mg, 1,52 mmol, 1,5 đương lượng) ở 25°C trong khí quyển N₂. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: ethyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 90 (1,13 g, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,70-7,68 (m, 3H), 7,68-7,65 (m, 8H), 7,49-7,47 (m, 3H), 7,22-7,17 (m, 3H), 6,74-6,72 (m, 2H), 5,99 (s, 1H), 3,84-3,77 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,64-3,60 (m, 4H), 3,54-3,50 (m, 3H), 3,16 (s, 1H), 3,05 (s, 1H), 2,94 (s, 1H), 2,64-2,62 (m, 1H), 1,88 (s, 1H).

Chất trung gian 91: (8R,9R,10S)-3-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 90 (1,13 g, 1,29 mmol, 1 đương lượng) trong EtOH (2 mL) được thêm từng giọt NH₂NH₂.H₂O (98,86 mg, 1,94 mmol, 98% tinh khiết, 1,5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (2 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 12:1) để tạo ra chất trung gian 91 (586,00 mg, hiệu suất 60,91%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,21-7,14 (m, 20H), 7,12-7,09 (m, 3H), 6,81-6,78 (m, 2H), 3,76-3,70 (m, 5H), 3,59-3,51 (m, 5H), 3,17-3,14 (m, 1H), 3,00-2,99 (m, 1H), 2,77-2,72 (m, 1H), 2,68-2,46 (m, 3H), 1,91 (m, 2H), 1,69 (s, 1H), 1,63 (s, 1H).

Chất trung gian 92: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxyphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 91 (586,00 mg, 785,80 μmol, 1 đương lượng) trong DCM (6 mL) được thêm HCHO (637,77 mg, 7,86 mmol, 585,11 μL, 10 đương lượng) và MgSO₄ (945,86 mg, 7,86 mmol, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ. Hỗn hợp này được thêm CH₃COOH (47,19 mg, 785,80 μmol, 1 đương lượng) và NaBH(OAc)₃ (832,71 mg, 3,93 mmol, 5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ.

LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (5 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 12:1) để tạo ra chất trung gian 92 (370,00 mg, hiệu suất 60,85%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,34-7,29 (m, 2H), 7,76-7,22 (m, 10H), 7,14-7,12 (m, 2H), 6,83 (s, 1H), 6,83-6,79 (m, 2H), 3,76-3,67 (m, 4H), 3,63-3,60 (m, 4H), 3,15-3,14 (m, 1H), 2,97-2,96 (m, 1H), 2,73-2,64 (m, 3H), 2,73-2,65 (m, 1H), 2,02-1,88 (m, 3H).

Chất trung gian 93: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-[(dimethylamino)metyl]-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 92 (370,00 mg, 478,16 μmol, 1 đương lượng) trong DCM (1 mL) được thêm TFA (545,20 mg, 4,78 mmol, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 8 : 1) để tạo ra (172,00 mg, hiệu suất 67,68%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt.

¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,44 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,28-7,25 (m, 3H), 6,84 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 3,78-3,73 (m, 4H), 3,70-3,61 (m, 1H), 3,60-3,56 (m, 4H), 3,51-3,39 (m, 1H), 3,23-3,14 (m, 1H), 2,89-2,63 (m, 1H), 2,29 (m, 6H), 2,17-2,12 (m, 1H), 1,89 (s, 2H), 1,64-1,61 (m, 1H).

Chất trung gian 94: (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-[(dimethylamino)metyl]-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 93 (172,00 mg, 323,62 μmol, 1 đương lượng), isindolin-1,3-dion (52,38 mg, 355,98 μmol, 1,1 đương lượng) và PPh₃ (127,32 mg, 485,43 μmol, 1,5 đương lượng) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (98,16 mg, 485,43 μmol, 1,5 đương lượng) ở 25°C trong khí quyển N₂. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn

hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 10:1) để tạo ra chất trung gian 94 (152,00 mg, hiệu suất 71,10%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,81 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 7,70 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 7,51 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,44 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,26-7,23 (m, 3H), 6,82 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,92-3,89 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,70-3,68 (m, 2H), 3,66-3,64 (m, 2H), 3,57-3,53 (m, 4H), 2,79 (m, 1H), 2,67-2,61 (m, 1H), 2,39-2,38 (m, 1H), 2,36 (m, 3H), 2,16-1,99 (m, 1H), 1,26 (s, 1H).

Chất trung gian 95: (8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-3-[[dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 94 (152,00 mg, 230,09 μmol , 1 đương lượng) trong EtOH (2 mL) được thêm từng giọt $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (17,63 mg, 345,14 μmol , 17,12 μL , 98% tinh khiết, 1,5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (2 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 5:1) để tạo ra chất trung gian 95 (80,00 mg, hiệu suất 65,54%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{BrN}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 530,21, tìm được là 530,1

Chất trung gian 96: (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-3,10-bis[[dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxypheyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

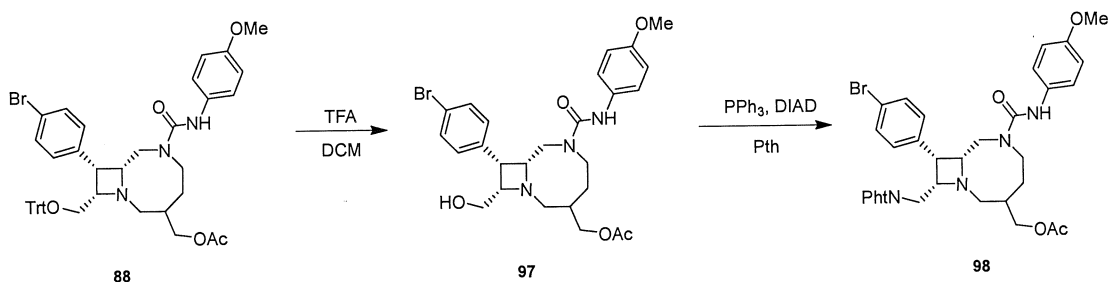
Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 95 (120,00 mg, 226,20 μmol , 1 đương lượng) trong DCM (2 mL) được thêm HCHO (183,43 mg, 2,26 mmol, 168,28 μL , 10 đương lượng) và MgSO_4 (272,28 mg, 2,26 mmol, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ. Hỗn hợp này được thêm CH_3COOH (13,58 mg, 226,20 μmol , 1 đương lượng) và $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (239,71 mg, 1,13 mmol, 5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (5 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được

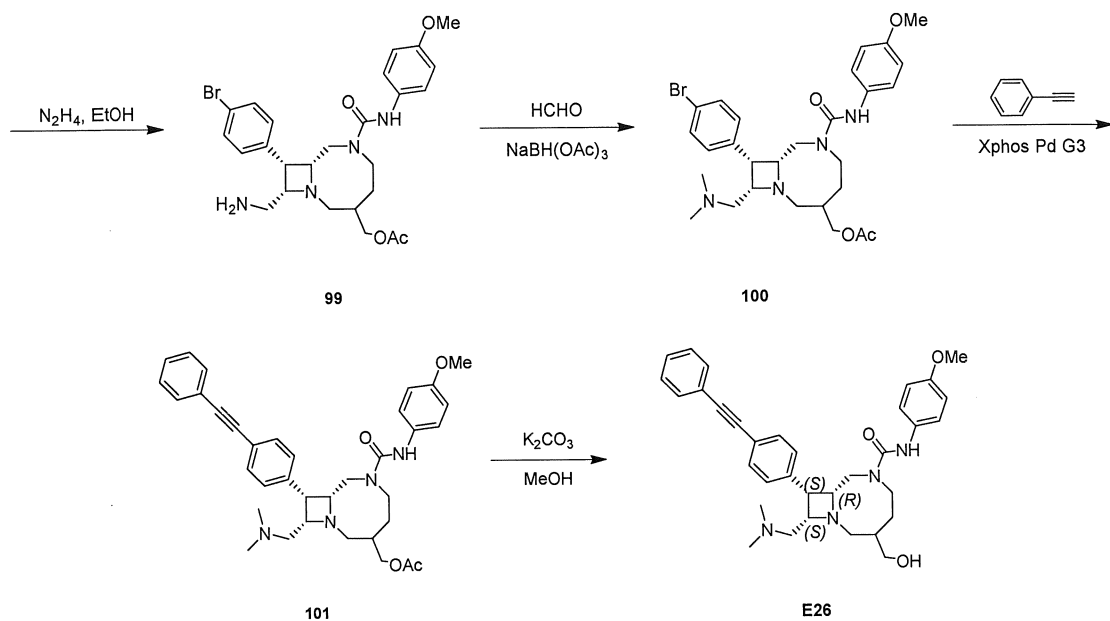
tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 2:1) để tạo ra (100,00 mg, 79,15% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,46 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,25 (d, $J = 12,8$ Hz, 2H), 6,83 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,12 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,61-3,59 (m, 2H), 3,57-3,55 (m, 2H), 3,41-3,39 (m, 2H), 2,78-2,75 (m, 1H), 2,42-2,38 (m, 1H), 2,28-2,26 (m, 2H), 2,16 (s, 6H), 2,00 (m, 1H), 1,76 (m, 1H).

Tổng hợp E25: (8R,9S,10S)-3,10-bis[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E25).

Dung dịch chứa chất trung gian 96 (50,00 mg, 89,52 μmol , 1 đương lượng) và etynylbenzen (27,43 mg, 268,55 μmol , 29,49 μL , 3 đương lượng) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (7,58 mg, 8,95 μmol , 0,1 đương lượng) và Cs_2CO_3 (58,33 mg, 179,04 μmol , 2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất trong ví dụ 25 (10,00 mg, 17,25 μmol , hiệu suất 19,27%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với $\text{C}_{36}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 580,36, tìm được là 580,5 ^1H NMR (400MHz, MeOD-d_4) δ 7,56-7,51 (m, 6H), 7,38-7,37 (m, 2H), 7,37 (d, $J = 13,2$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,02-3,98 (m, 2H), 3,853-3,82 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,54-3,51 (m, 1H), 2,99-2,91 (m, 3H), 2,87 (m, 1H), 2,71 (s, 6H), 2,44 (s, 6H), 2,02 (m, 2H), 1,84-1,81 (m, 1H).

Ví dụ 26: (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-3-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit ("E26")





Chất trung gian 97: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymethyl)-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 88 (180,00 mg, 228,20 μmol , 1 đương lượng) trong DCM (3,6 mL) được thêm TFA (2,28 mmol, 168,96 μL , 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 bão hoà (10 mL) và được chiết bằng DCM (50 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ và lớp này được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 12:1) để tạo ra chất trung gian 97 (300,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,47-7,45 (m, 1H), 7,38-7,32 (m, 2H), 7,26-7,22 (m, 3H), 6,84-6,82 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,08 (s, 1H), 4,24-4,20 (m, 1H), 4,11-4,07 (m, 1H), 3,80-3,77 (m, 4H), 3,65 (s, 4H), 3,55-3,54 (m, 2H), 3,48-3,43 (m, 1H), 2,97 (s, 1H), 2,83 (s, 1H), 2,08-2,03 (m, 4H), 1,96-1,94 (m, 1H), 1,86-1,84 (m, 1H).

Chất trung gian 98: [(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 97 (300,00 mg, 549,00 μmol , 1 đương lượng), isoindolin-1,3-dion (88,85 mg, 603,90 μmol , 1,1 đương lượng) và PPh_3 (216,00 mg, 823,50 μmol , 1,5 đương lượng) trong THF (2 mL) được thêm từng giọt DIAD (166,52

mg, 823,50 μ mol, 1,5 đương lượng) ở 25°C. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: ethyl axetat = 1:1) để tạo ra chất trung gian 98 (458,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,80-7,70 (m, 2H), 7,68-7,65 (m, 12H), 7,49-7,46((m, 19H), 7,46-7,44 (m, 3H), 6,85-6,80 (m, 3H), 6,06 (s, 1H), 4,12-4,06 (m, 2H), 3,84-3,77 (m, 1H), 3,67-3,65 (m, 4H), 3,59-3,55 (m, 5H), 2,87-2,83 (m, 2H), 2,46-2,42 (m, 1H), 1,98 (s, 3H), 1,30-1,26 (m, 3H).

Chất trung gian 99: [(8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 98 (458,00 mg, 677,95 μ mol, 1 đương lượng) trong EtOH (2 mL) được thêm từng giọt $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (51,95 mg, 1,02 mmol, 98% tinh khiết, 1,5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H_2O (2 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 12:1) để tạo ra chất trung gian 99 (180,00 mg, hiệu suất 48,67%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) δ 7,47-7,45 (m, 3H), 7,38-7,34 (m, 2H), 7,24-7,22 (m, 2H), 6,84-6,81 (m, 2H), 6,07 (s, 1H), 4,20-4,18 (m, 1H), 4,10-4,09 (m, 1H), 3,77-3,62 (m, 5H), 3,60-3,57 (m, 3H), 3,45-3,33 (m, 2H), 3,35-3,32 (m, 2H), 2,95-2,92 (m, 1H), 2,77-2,76 (m, 2H), 2,55-2,54 (m, 1H), 2,03 (s, 3H), 1,94-1,74 (m, 2H), 1,27-1,24 (m, 2H).

Chất trung gian 100: [(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimetylamino)metyl]-6-[(4-metoxyphenyl)carbamoyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 99 (180,00 mg, 329,99 μ mol, 1 đương lượng) trong DCM (2 mL) được thêm HCHO (267,83 mg, 3,30 mmol, 245,71 μ L, 10 đương lượng) và MgSO_4 (397,21 mg, 3,30 mmol, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 0,5 giờ. Hỗn hợp này được thêm CH_3COOH (19,82 mg, 329,99 μ mol, 1 đương lượng) và $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (349,69 mg, 1,65 mmol, 5 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 1,5 giờ.

LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (5 mL) và được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 12:1) để tạo ra chất trung gian 100 (134,00 mg, hiệu suất 70,80%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃-d₁) δ7,49-7,47 (m, 2H), 7,35-7,26 (m, 2H), 7,24-7,22 (m, 2H), 6,84-6,81 (m, 2H), 6,08 (s, 1H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,77 (s, 4H), 3,73-3,58 (m, 4H), 3,60-3,58 (m, 1H), 2,98-2,93(m, 1H), 2,95-2,93 (m, 1H), 2,76 (m, 2H), 2,56-2,51 (m, 2H), 2,05 (s, 6H), 1,92-1,88 (m, 2H).

Chất trung gian 101: [(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-6-[(4-metoxypheyl) carbamoyl]-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-3-yl]metyl axetat.

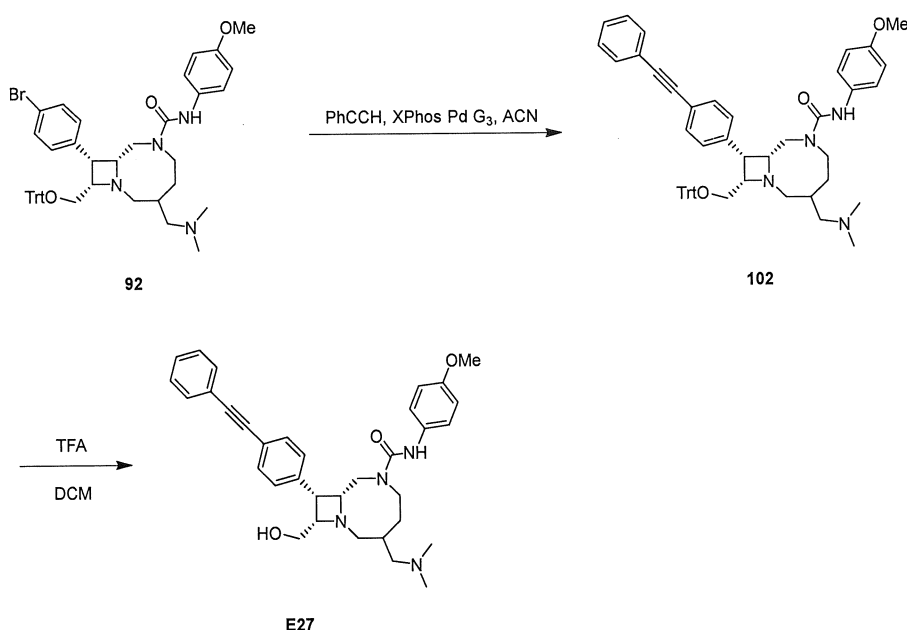
Dung dịch chứa chất trung gian 100 (60,00 mg, 104,62 μmol, 1 đương lượng) và etynylbenzen (32,05 mg, 313,85 μmol, 3 đương lượng) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (8,86 mg, 10,46 μmol, 0,1 đương lượng) và Cs₂CO₃ (68,17 mg, 209,23 μmol, 2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol=7:1) để tạo ra chất trung gian 101 (42,00 mg, hiệu suất 67,50%) dưới dạng chất rắn màu nâu. HRMS (ESI): calcd đối với C₃₆H₄₂N₄O₄ [M + H]⁺ 595,32, tìm được là 565,2

Tổng hợp E26: (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-3-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E26).

Dung dịch chứa chất trung gian 101 (42,00 mg, 70,62 μmol, 1 đương lượng) trong MeOH (2 mL) được thêm K₂CO₃ (29,28 mg, 211,86 μmol, 3 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng H₂O (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters

Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E26 (10,80 mg, hiệu suất 27,67%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với $C_{34}H_{40}N_4O_3$ $[M + H]^+$ 553,31, tìm được là 553,4 1H NMR (400MHz, MeOD- d_4) δ 7,57-7,51 (m, 6H), 7,39-7,38 (m, 3H), 6,85-6,83 (m, 2H), 3,91-3,82 (m, 1H), 3,76-3,71 (m, 1H), 3,71-3,69 (m, 4H), 3,76 (m, 2H), 3,03-2,94 (m, 3H), 2,59-2,47 (m, 4H), 1,95-1,92 (m, 1H), 1,91-1,82 (m, 2H).

Ví dụ 27: (8R,9R,10S)-3-[(dimethylamino)metyl]-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E27”)



Chất trung gian 102: (8R,9R,10S)-3-[(dimethylamino)metyl]-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 92 (30,00 mg, 38,77 μ mol, 1 đương lượng) và etynylbenzen (11,88 mg, 116,31 μ mol, 12,77 μ L, 3 đương lượng) trong axetonitril (1 mL) được thêm XPhos Pd G3 (3,28 mg, 3,88 μ mol, 0,1 đương lượng) và Cs_2CO_3 (25,26 mg, 77,54 μ mol, 2 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 70°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (diclometan: metanol = 7:1) để tạo ra chất trung gian 102 (50,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu nâu. HRMS (ESI):

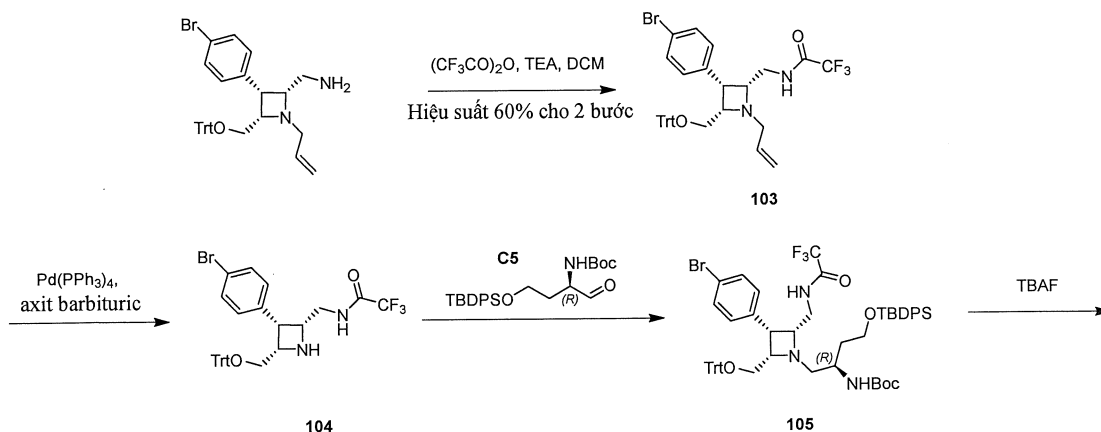
calcd đối với $C_{53}H_{54}N_4O_3$ $[M + H]^+$ 795,42, tìm được là 795,4

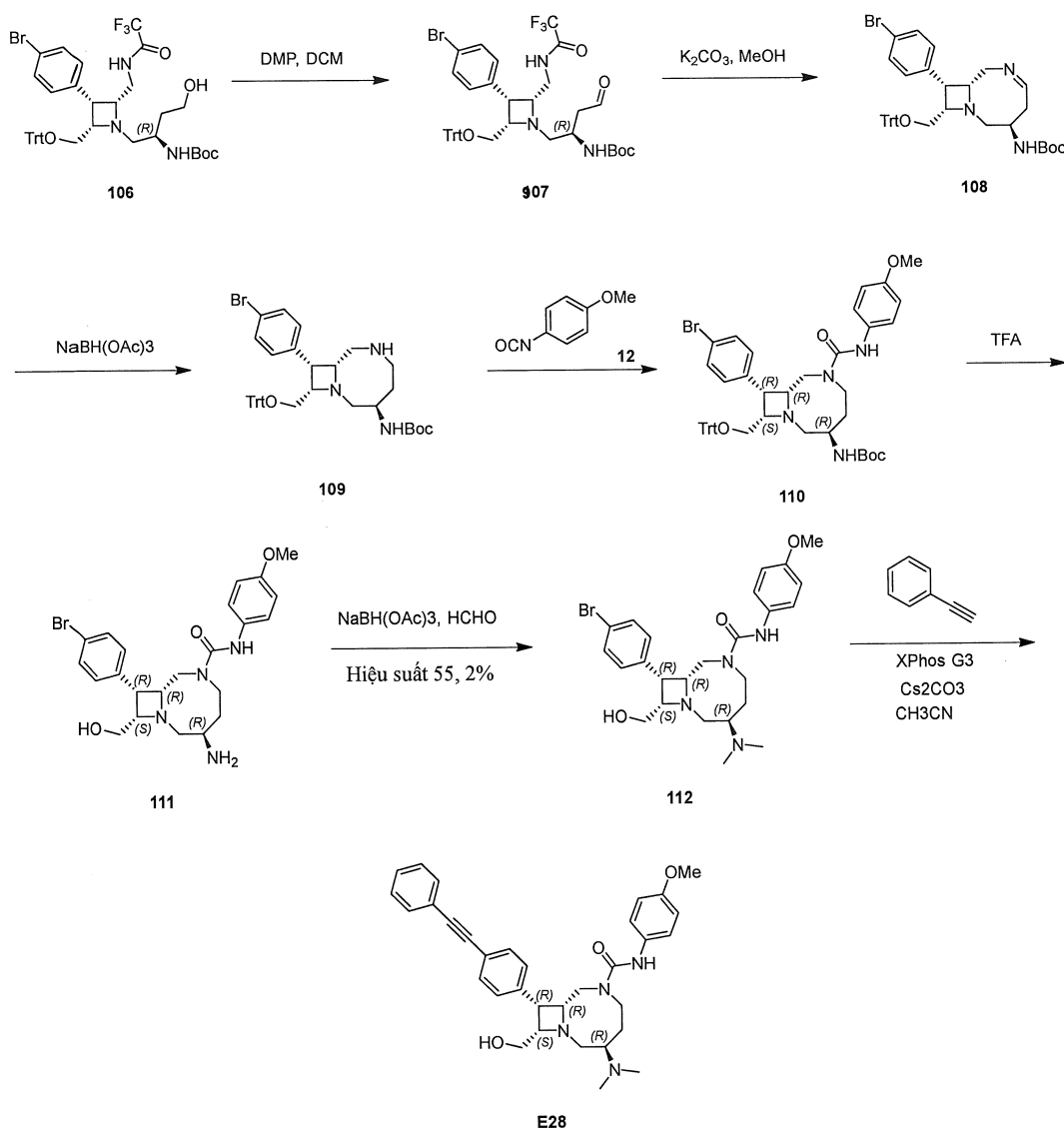
Tổng hợp E27: (8R,9R,10S)-3-[(dimethylamino)metyl]-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E27).

Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 102 (50,00 mg, 62,89 μ mol, 1 đương lượng) trong DCM (1 mL) được thêm TFA (71,71 mg, 628,91 μ mol, 46,56 μ L, 10,00 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng $NaHCO_3$ (5 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần) để tạo ra lớp hữu cơ. Lớp này được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E27 (4,70 mg, hiệu suất 13,52%) dưới dạng chất rắn màu trắng. HRMS (ESI): calcd đối với $C_{33}H_{37}N_4O_2$ $[M + H]^+$ 553,29, tìm được là 553,4

1H NMR (400MHz, $MeOD-d_4$) δ 7,544-7,51 (m, 6H), 7,39-7,37 (m, 3H), 7,34-7,22 (m, 2H), 6,86-6,81 (m, 2H), 4,02-3,99 (m, 1H), 3,76-3,72 (m, 4H), 3,70-3,66 (m, 1H), 3,41-3,40 (m, 1H), 3,38-3,35 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 2,85-2,75 (m, 1H), 2,16-2,09 (m, 2H), 1,81-1,77 (m, 1H).

Ví dụ 28: (3R,8R,9R,10S)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E28”)





Chất trung gian 103: N-[[[(2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-2,2,2-trifluoroacetamid.

Dung dịch chứa [(2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metanamin (J.O.C. (2012), 77(17), 7187-7211) (25,00 g, 31,62 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (250,00 mL) được thêm TEA (25,59 g, 252,92 mmol, 35,06 mL, 8,00 đương lượng), sau đó nó được làm lạnh xuống 0°C. TFAA (26,56 g, 126,46 mmol, 17,59 mL, 4,00 đương lượng) được thêm từng giọt vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi khuấy ở 20°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ dung dịch (100 mL), được chiết bằng DCM (50 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=20/1 đến 1:1) tạo ra chất trung gian 103 (11,00 g, 16,94 mmol, hiệu suất 53,56%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm

2,87 - 3,08 (m, 2 H) 3,09 - 3,24 (m, 2 H) 3,30 - 3,51 (m, 3 H) 3,57 - 3,69 (m, 2 H) 5,10 (br d, $J=10,14$ Hz, 1 H) 5,18 - 5,33 (m, 1 H) 5,80 (dddd, $J=17,28, 10,01, 7,44, 5,40$ Hz, 1 H) 6,11 (br s, 1 H) 7,17 - 7,23 (m, 16 H) 7,33 (d, $J=8,38$ Hz, 2 H)

Chất trung gian 104: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]methyl]-2,2,2-triflo-axetamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 103 (11,00 g, 16,94 mmol, 1,00 đương lượng) trong EtOH (169,00 mL) được thêm axit 1,3-dimethylbarbituric (3,97 g, 25,41 mmol, 1,50 đương lượng) và Pd(PPh₃)₄ (1,96 g, 1,69 mmol, 0,10 đương lượng) trong khí quyển N₂. Hỗn hợp này được khuấy ở 40°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ dung dịch (200 mL), được chiết bằng DCM (50 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/ethyl axetat=10/1 đến 5:1) tạo ra chất trung gian 104 (7,80 g, 12,80 mmol, hiệu suất 75,55%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 2,26 (br s, 1 H) 2,20 - 2,31 (m, 1 H) 2,99 - 3,07 (m, 1 H) 3,10 - 3,23 (m, 2 H) 3,30 - 3,39 (m, 1 H) 3,76 (br t, $J=7,28$ Hz, 1 H) 4,27 - 4,49 (m, 2 H) 6,10 (br s, 1 H) 7,17 - 7,24 (m, 16 H) 7,32 - 7,38 (m, 2 H)

Chất trung gian 105: tert-butyl N-[(1R)-1-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[[[(2,2,2-trifloaxetyl)amino]methyl]-4-(trityloxymethyl)azetidin-1-yl]methyl]-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-propyl]carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 104 (4,00 g, 6,56 mmol, 1,00 đương lượng), tert-butyl N-[(1R)-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-1-formyl-propyl]carbamate (được tổng hợp như mô tả trong Bioorganic & Medicinal Chemistry (2006), 14(1), 214-236, được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của tài liệu) (2,90 g, 6,56 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (50,00 mL) được thêm MgSO₄ (158,00 mg, 1,31 mmol, 20,00 đương lượng) và NaBH(OAc)₃ (139,10 mg, 656,30 μ mol, 10,00 đương lượng). Sau khi khuấy ở 20°C trong 16 giờ, tert-butyl N-[(1R)-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-1-formyl-propyl]carbamate (1 g) được bổ sung thêm. Sau thêm 0,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ dung dịch (200 mL), được chiết bằng DCM (50 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/ethyl axetat=20/1 đến 10:1) để

tạo ra chất trung gian 105 (4,20 g, 4,06 mmol, hiệu suất 61,85%) dưới dạng chất gồm màu vàng. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 1,01 - 1,05 (m, 9 H) 1,41 - 1,47 (m, 10 H) 1,63 - 1,78 (m, 1 H) 1,82 - 1,92 (m, 1 H) 2,65 - 2,76 (m, 1 H) 2,82 - 3,01 (m, 2 H) 3,13 (br dd, $J=9,60$, 6,09 Hz, 1 H) 3,29 - 3,79 (m, 7 H) 4,67 (br d, $J=9,29$ Hz, 1 H) 7,11 - 7,25 (m, 17 H) 7,31 - 7,50 (m, 8 H) 7,63 (td, $J=7,37$, 1,44 Hz, 4 H) 8,40 - 8,73 (m, 1 H)

Chất trung gian 106: tert-butyl N-[(1R)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[(2,2,2-trifloaxetyl)amino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-hydroxy-propyl]carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 105 (4,20 g, 4,06 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (50,00 mL) được thêm TBAF (1,59 g, 6,09 mmol, 1,50 đương lượng). Sau khi khuấy ở 20°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=10/1 đến 2:1) để tạo ra chất trung gian 106 (2,30 g, 2,89 mmol, hiệu suất 71,23%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 1,41 (s, 3 H) 1,45 - 1,53 (m, 9 H) 1,58 - 1,77 (m, 2 H) 2,49 (br dd, $J=12,74$, 4,33 Hz, 2 H) 2,82 (t, $J=12,17$ Hz, 1 H) 2,88 - 2,98 (m, 2 H) 3,08 - 3,29 (m, 3 H) 3,47 (td, $J=7,87$, 3,20 Hz, 1 H) 3,60 - 3,72 (m, 1 H) 4,51 (br d, $J=9,41$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=8,41$ Hz, 1 H) 7,09 - 7,14 (m, 1 H) 7,16 - 7,26 (m, 17 H) 7,34 (d, $J=8,41$ Hz, 1 H) 8,13 (br s, 1 H)

Chất trung gian 107: tert-butyl N-[(1R)-1-[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-2-[(2,2,2-trifloaxetyl)amino]metyl]-4-(trityloxymetyl)azetidin-1-yl]metyl]-3-oxo-propyl]carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 106 (2,30 g, 2,89 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (30,00 mL) được thêm DMP (2,45 g, 5,78 mmol, 1,79 mL, 2,00 đương lượng) ở 0°C trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 106 được tiêu thụ hoàn toàn và phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng dung dịch chứa NaHCO_3 (2,5 g) và Na_2SO_3 (2,5 g) trong H_2O (20 mL), được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=2/1 đến 0:1) để tạo ra chất trung gian 107 (1,80 g, 2,27

mmol, hiệu suất 78,37%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 1,47 (s, 9 H) 1,51 - 1,69 (m, 3 H) 2,46 - 2,54 (m, 2 H) 2,78 - 2,88 (m, 1 H) 2,89 - 3,00 (m, 2 H) 3,08 - 3,20 (m, 2 H) 3,49 - 3,69 (m, 4 H) 3,91 - 4,07 (m, 1 H) 4,50 - 4,76 (m, 1 H) 7,08 - 7,13 (m, 3 H) 7,17 - 7,26 (m, 22 H) 8,25 (br s, 1 H) 9,63 (s, 1 H)

Chất trung gian 108: tert-butyl N-[(3R,5Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-5-en-3-yl]carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 107 (1,70 g, 2,14 mmol, 1,00 đương lượng) trong MeOH (20,00 mL) và H_2O (77,13 mg, 4,28 mmol, 77,13 μL , 2,00 đương lượng) được thêm K_2CO_3 (591,32 mg, 4,28 mmol, 2,00 đương lượng). Sau khi khuấy ở 20°C trong 16 giờ, K_2CO_3 (200 mg) được bổ sung thêm. Sau thêm 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được hoà tan trong nước (30 mL), được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần), lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , sau đó được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=5/1 đến 0:1) để tạo ra chất trung gian 108 (750,00 mg, 771,30 μmol , hiệu suất 45,05%, 70% tinh khiết) dưới dạng chất rắn màu vàng.

Chất trung gian 109: tert-butyl N-[(3R,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 108 (750,00 mg, 1,10 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (18,00 mL) được thêm AcOH (66,17 mg, 1,10 mmol, 63,02 μL , 1,00 đương lượng) và $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (2,34 g, 11,02 mmol, 10,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 0,5 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 108 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 dung dịch (20 mL), được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất trung gian 109 dưới dạng chất rắn màu vàng (750 mg, thô), which được trực tiếp sử dụng trong bước tiếp theo.

Chất trung gian 110: tert-butyl N-[(3R,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-methoxyphenyl)carbamoyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-3-yl]carbamate.

Dung dịch chứa chất trung gian 109 (750,00 mg, 769,02 μmol , 1,00 đương lượng) trong DCM (10,00 mL) được thêm TEA (38,91 mg, 384,51 μmol , 53,30 μL , 0,50 đương lượng) và 1-isoxyanato-4-metoxy-benzen (137,64 mg, 922,82 μmol , 118,66 μL , 1,20 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 0,5 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 109 được tiêu thụ hoàn toàn, và phần lớn là sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat), được tinh chế thêm bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril). Chất trung gian 110 (150,00 mg, 180,33 μmol , hiệu suất 23,45%) thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CHLOROFORM-}d$) δ ppm 1,45 (br d, $J=6,15$ Hz, 9 H) 2,18 (br s, 2 H) 3,20 - 3,68 (m, 3 H) 3,72 - 4,51 (m, 11 H) 5,14 - 5,42 (m, 1 H) 6,78 (br s, 1 H) 6,88 (br t, $J=7,97$ Hz, 2 H) 7,22 - 7,38 (m, 20 H) 7,47 - 7,53 (m, 1 H).

Chất trung gian 111: (3R,8R,9R,10S)-3-amino-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 110 (120,00 mg, 144,26 μmol , 1,00 đương lượng) trong DCM (3,00 mL) được thêm TFA (1,54 g, 13,51 mmol, 1,00 mL, 93,63 đương lượng) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 110 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được dùng bằng NaHCO_3 dung dịch (20 mL), then được rửa bằng $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1 mL), được chiết bằng DCM (10 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 111 (60,00 mg, 122,60 μmol , hiệu suất 84,98%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 112: (3R,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 111 (60,00 mg, 122,60 μmol , 1,00 đương lượng), HCHO (99,50 mg, 1,23 mmol, 91,28 μL , 10,00 đương lượng) trong DCM (3,00 mL) được thêm MgSO_4 (147,57 mg, 1,23 mmol, 10,00 đương lượng) và $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (259,84 mg, 1,23 mmol, 10,00 đương lượng) ở 20°C. Hỗn hợp này được khuấy

ở 20°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 111 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ dung dịch (10 mL), được chiết bằng DCM (5 mL x 3 lần), lớp hữu cơ gom được được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 112 (38,00 mg, 73,44 µmol, hiệu suất 59,90%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 1,84 - 1,99 (m, 1 H) 2,49 (br s, 6 H) 2,55 (br d, *J*=9,26 Hz, 2 H) 2,88 (br d, *J*=11,69 Hz, 1 H) 3,02 - 3,16 (m, 3 H) 3,41 (br dd, *J*=11,58, 4,52 Hz, 1 H) 3,51 - 3,61 (m, 3 H) 3,62 - 3,86 (m, 6 H) 3,98 - 4,17 (m, 1 H) 4,73 (s, 1 H) 6,78 - 6,91 (m, 2 H) 7,23 (d, *J*=8,82 Hz, 2 H) 7,34 - 7,53 (m, 4 H).

Tổng hợp E28: (3R,8R,9R,10S)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-methoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E28).

Dung dịch chứa chất trung gian 112 (25,00 mg, 48,31 µmol, 1,00 đương lượng), etynylbenzen (14,80 mg, 144,93 µmol, 15,91 µL, 3,00 đương lượng) trong CH₃CN (350,00 µL) được thêm Cs₂CO₃ (47,22 mg, 144,93 µmol, 3,00 đương lượng) và XPhos Pd G3 (4,09 mg, 4,83 µmol, 0,10 đương lượng) trong khí quyển N₂. Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 3 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 1 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được hoà tan trong nước (2 mL), được chiết bằng DCM (2 mL x 3 lần), lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, sau đó được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, DCM: MeOH = 10:1), sau đó được tinh chế thêm bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E28 (13,00 mg, 24,13 µmol, hiệu suất 49,95% dưới dạng muối axit formic) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 1,88 (br d, *J*=7,65 Hz, 1 H) 2,38 (s, 7 H) 2,49 (br dd, *J*=13,30, 9,29 Hz, 3 H) 2,71 (br s, 1 H) 2,79 - 2,96 (m, 1 H) 3,09 (br d, *J*=15,94 Hz, 1 H) 3,25 (br dd, *J*=13,30, 5,02 Hz, 1 H) 3,41 - 3,73 (m, 6 H) 3,78 (s, 3 H) 3,90 - 4,03 (m, 1 H) 6,84 (d, *J*=8,91 Hz, 2 H) 7,21 (d, *J*=8,91 Hz, 2 H) 7,32 - 7,40 (m, 3 H) 7,46 - 7,57 (m, 6 H).

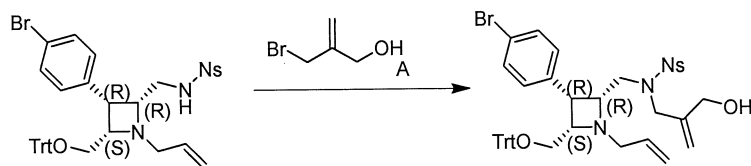
Ví dụ 29: (3S,8R,9R,10S)-3-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E29”)

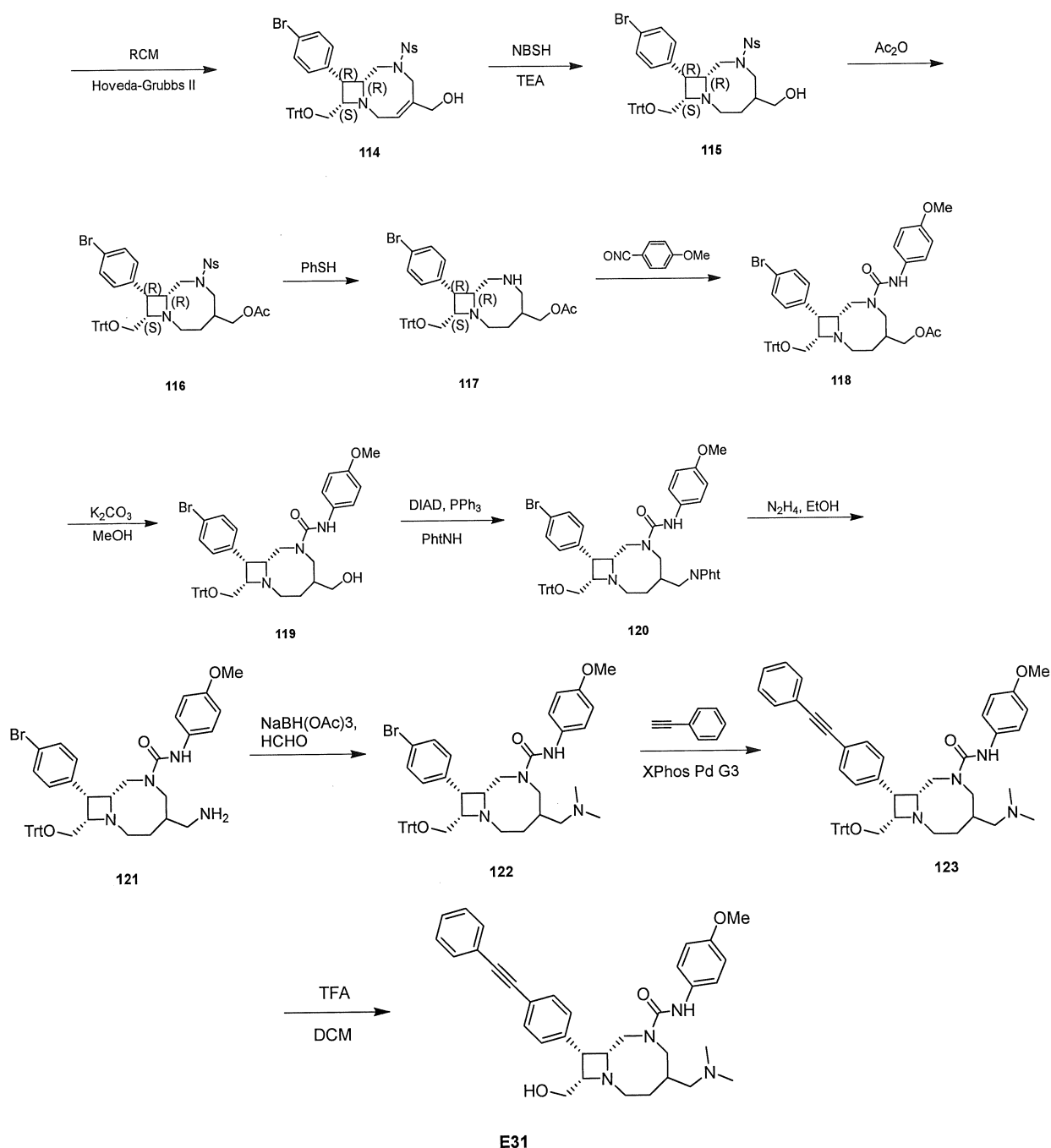
Việc tổng hợp được thực hiện giống như được mô tả trong ví dụ 28 sau khi tổng hợp chất trung gian 105 (chất trung gian 105) sử dụng tert-butyl N-[(1S)-3-[tert-butyl(diphenyl)silyl]oxy-1-formyl-propyl]carbamate đối quang (Bioorganic & Medicinal Chemistry (2006)) thay cho chất trung gian 105. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,64 - 7,46 (m, 6H), 7,44 - 7,34 (m, 3H), 7,33 - 7,29 (m, 1H), 7,29 - 7,25 (m, 2H), 6,85 (d, J =8,9 Hz, 2H), 6,29 (br s, 1H), 3,86 (br d, J =10,8 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,78 - 3,72 (m, 2H), 3,72 - 3,65 (m, 1H), 3,65 - 3,54 (m, 4H), 3,21 - 3,11 (m, 1H), 2,99 - 2,87 (m, 1H), 2,72 - 2,60 (m, 2H), 2,37 (s, 6H), 2,15 (br s, 1H), 2,01 (br d, J =7,9 Hz, 1H).

Ví dụ 30: (4R,8R,9R,10S)-4-(dimethylamino)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E30”)

Việc tổng hợp được thực hiện như được thể hiện trong ví dụ 3 sử dụng (*R*)-tert-butyl (1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4-oxobutan-2-yl)carbamate đối quang(US 20150266867) như vật liệu ban đầu. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,59 - 7,54 (m, 2H), 7,52 - 7,45 (m, 4H), 7,41 - 7,30 (m, 5H), 6,89 - 6,80 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,77 - 3,58 (m, 5H), 3,57 (br d, J =8,2 Hz, 1H), 3,51 - 3,43 (m, 2H), 3,29 (br d, J =13,6 Hz, 1H), 3,02 (br s, 1H), 2,67 - 2,44 (m, 2H), 2,34 (s, 6H), 1,81 (br s, 1H), 1,66 (br s, 1H).

Ví dụ 31: (8R,9R,10S)-4-((dimethylamino)methyl)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphenyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E31”)





Chất trung gian 113: N-[[[(2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metyl]-N-[2-(hydroxymethyl)allyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa N-[[[(2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-(trityloxymethyl)azetidin-2-yl]metyl]-2-nitro-benzensulfonamit (WO2015070204) (5,00 g, 6,77 mmol, 1,00 đương lượng) trong DMF (62,5 mL) được thêm K_2CO_3 (2,11 g, 15,23 mmol, 2,25 đương lượng) và được làm lạnh xuống 0°C , sau đó thêm 2-(bromometyl)prop-2-en-1-ol (2,04 g, 13,54 mmol, 2,00 đương lượng) trong DMF (7,5 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 16 giờ. LC-MS cho thấy chất phản ứng 113 được tiêu thụ hoàn toàn

và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (300 mL) và được chiết bằng ethyl axetat (100mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (100 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/ethyl axetat=20:1 đến 2:1) để tạo ra chất trung gian 113 (5,00 g, 6,18 mmol, hiệu suất 91,32%) dưới dạng chất rắn màu trắng: ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 8,00 (s, 1H), 7,68 - 7,62 (m, 1H), 7,60 - 7,46 (m, 3H), 7,30 - 7,23 (m, 3H), 7,19 - 7,12 (m, 10H), 7,07 (dd, J=2,9, 6,8 Hz, 6H), 5,57 (tdd, J=6,6, 10,4, 17,0 Hz, 1H), 5,10 - 5,00 (m, 2H), 4,89 (d, J=10,1 Hz, 1H), 4,69 (s, 1H), 3,91 (d, J=8,8 Hz, 3H), 3,70 - 3,61 (m, 1H), 3,54 - 3,38 (m, 3H), 3,26 - 3,14 (m, 3H), 2,98 (dd, J=4,4, 9,3 Hz, 1H), 2,85 - 2,73 (m, 2H)

Chất trung gian 114: [(3E,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-4-yl]metanol.

Dung dịch chứa chất trung gian 113 (5,00 g, 6,18 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (500,00 mL) được thêm chất xúc tác Hoveyda-Grubbs thế hệ thứ hai (774,77 mg, 1,24 mmol, 0,20 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 55°C trong 2 giờ. TLC (ete dầu mỏ: ethyl axetat=1:1) cho thấy chất trung gian 113 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/ethyl axetat=20:1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 114 (4,00 g, 5,12 mmol, hiệu suất 82,90%) dưới dạng chất rắn màu nâu: ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,88 - 7,83 (m, 1H), 7,64 - 7,51 (m, 3H), 7,18 (d, J=6,0 Hz, 2H), 7,13 (s, 14H), 7,06 (d, J=8,5 Hz, 2H), 5,81 (t, J=6,3 Hz, 1H), 4,07 - 4,02 (m, 3H), 3,96 - 3,88 (m, 1H), 3,59 - 3,32 (m, 6H), 3,19 (d, J=14,1 Hz, 1H), 3,09 - 2,93 (m, 3H), 2,83 - 2,79 (m, 1H).

Chất trung gian 115: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl]metanol.

Dung dịch chứa chất trung gian 114 (4,00 g, 5,12 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (51,00 mL) được thêm 2-nitrobenzensulfonohydrazit (5,56 g, 25,60 mmol, 4,00 đương lượng) và TEA (5,18 g, 51,23 mmol, 7,10 mL, 10,00 đương lượng). Sau khi khuấy ở 40°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước

(100 mL) và được chiết bằng ethyl axetat (50 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=10/1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 115 (3,60 g, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 116: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl]methyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 115 (3,60 g, 4,60 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (80,00 mL) được thêm DMAP (56,19 mg, 460,00 μmol , 0,1 đương lượng) và TEA (465,40 mg, 4,60 mmol, 637,53 μL , 1,00 đương lượng), sau đó là Ac_2O (939,07 mg, 9,20 mmol, 861,53 μL , 2,00 đương lượng) ở 0°C . Sau khi khuấy ở 20°C trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (150 mL) và được chiết bằng DCM (50 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=30/1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 116 (3,00 g, 3,64 mmol, hiệu suất 79,07%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 117: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl]methyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 116 6 (3,00 g, 3,64 mmol, 1,00 đương lượng) trong axetonitril (80,00 mL) được thêm Cs_2CO_3 (1,42 g, 4,37 mmol, 1,20 đương lượng) và benzenethiol ("PhSH") (601,14 mg, 5,46 mmol, 1,50 đương lượng) ở 0°C . Sau khi khuấy ở 20°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (100 mL) và được chiết bằng ethyl axetat (30 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (50 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat=10:1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 117 (2,00 g, 3,13 mmol, hiệu suất 85,90%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 118: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxypheyl) carbamoyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-4-yl]methyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 117 (2,00 g, 3,13 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (50,00 mL) được thêm 1-isoxyanato-4-metoxi-benzen (560,21 mg, 3,76 mmol, 1,20 đương lượng) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 2 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 117 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (100 mL) và được chiết bằng DCM (30mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM: MeOH = 100: 1 đến 20:1) để tạo ra chất trung gian 118 (2,20 g, 2,79 mmol, hiệu suất 89,11%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,28 - 7,16 (m, 23H), 6,83 (d, J=9,0 Hz, 2H), 4,01 - 3,95 (m, 1H), 3,92 - 3,85 (m, 1H), 3,80 - 3,73 (m, 5H), 3,63 - 3,54 (m, 2H), 3,42 (t, J=8,0 Hz, 1H), 3,20 - 2,90 (m, 5H), 2,74 (dd, J=11,0, 14,1 Hz, 1H), 2,50 - 2,40 (m, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,66 (dd, J=6,8, 13,8 Hz, 1H), 1,53 - 1,45 (m, 1H).

Chất trung gian 119: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxiphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 118 (200,00 mg, 253,56 μmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (1,00 mL) và MeOH (1 mL) được thêm K₂CO₃ (175,22 mg, 1,27 mmol, 5,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 4 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 118 được tiêu thụ hoàn toàn và một đỉnh chính với khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (10 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=10:1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 119 (150,00 mg, 200,88 μmol, hiệu suất 79,22%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,37 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,27 (s, 4H), 7,22 (s, 15H), 6,80 (d, J=8,5 Hz, 2H), 3,90 (d, J=16,1 Hz, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,70 - 3,57 (m, 3H), 3,43 - 3,32 (m, 2H), 3,19 - 3,07 (m, 2H), 3,05 - 2,94 (m, 2H), 2,75 (d, J=11,5 Hz, 1H), 2,47 (t, J=12,0 Hz, 1H), 1,89 (br. s., 1H), 1,52 - 1,38 (m, 2H).

Chất trung gian 120: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-N-(4-metoxiphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa PPh₃ (0,15 g) trong 3 mL THF được thêm DIAD (0,11 mL) ở 0°C. Sau 5 phút, hỗn hợp này được thêm vào dung dịch chứa chất trung gian 119 (20,00 mg, 26,78 µmol, 1,00 đương lượng) và isoindolin-1,3-dion (5,91 mg, 40,17 µmol, 1,50 đương lượng) trong THF (1 mL) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 16 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 9 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/ethyl axetat=1:1) để tạo ra chất trung gian 120 (10,00 mg, 11,42 µmol, hiệu suất 42,63%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,87 (dd, J=3,0, 5,5 Hz, 1H), 7,75 (dd, J=3,3, 5,3 Hz, 2H), 7,32 - 7,28 (m, 7H), 7,27 - 7,20 (m, 15H), 6,80 (d, J=9,0 Hz, 2H), 6,17 (s, 1H), 3,83 - 3,75 (m, 3H), 3,74 - 3,56 (m, 5H), 3,52 (d, J=7,5 Hz, 1H), 3,24 - 3,12 (m, 3H), 3,03 - 2,96 (m, 1H), 2,83 - 2,74 (m, 1H), 2,45 - 2,30 (m, 2H), 1,83 (d, J=7,5 Hz, 1H).

Chất trung gian 121: (8R,9R,10S)-4-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphenyl)-10-(trityloxymetyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 120 (500,00 mg, 570,87 µmol, 1,00 đương lượng) trong EtOH (10,00 mL) được thêm N₂H₄.H₂O (28,58 mg, 570,87 µmol, 27,75 µL, 1,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 120 được tiêu thụ và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (30 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (10 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM: MeOH = 100:1 đến 10:1) để tạo ra chất trung gian 121 (150,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng bao gồm Ph₃PO. ¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,64 - 7,56 (m, 4H), 7,51 - 7,45 (m, 3H), 7,39 (dt, J=2,8, 7,4 Hz, 5H), 7,14 (s, 13H), 6,71 (d, J=9,0 Hz, 2H), 3,79 - 3,62 (m, 4H), 3,56 - 3,46 (m, 2H), 3,31 (br. s., 1H), 3,11 - 2,85 (m, 5H), 2,74 (d, J=12,5 Hz, 1H), 2,44 - 2,18 (m, 2H), 1,62 - 1,39 (m, 3H).

Chất trung gian 122: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-((dimethylamino)metyl)-N-(4-metoxyphenyl)-10-((trityloxy)metyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 121 (150,00 mg, 201,14 μmol , 1,00 đương lượng) trong DCM (5,00 mL) được thêm MgSO_4 (290,53 mg, 2,41 mmol, 12,00 đương lượng) và HCHO (98,21 mg, 1,21 mmol, 90,10 μL , 37% tinh khiết, 6,02 đương lượng) sau đó là $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (639,44 mg, 3,02 mmol, 15,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 16 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 121 được tiêu thụ và một khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hoà (20 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 20:1) để tạo ra chất trung gian 122 (60,00 mg, 77,54 μmol , hiệu suất 38,55%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,24 - 7,08 (m, 24H), 6,72 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 3,88 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,57 - 3,48 (m, 3H), 3,33 - 3,25 (m, 1H), 3,10 - 2,86 (m, 5H), 2,64 (dd, $J=10,8, 14,3$ Hz, 1H), 2,44 - 2,36 (m, 1H), 2,21 (s, 6H), 1,90 (d, $J=12,0$ Hz, 1H), 1,51 (br. s., 2H), 1,36 (d, $J=4,5$ Hz, 2H).

Chất trung gian 123: (8R,9R,10S)-4-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10-(trityloxymethyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

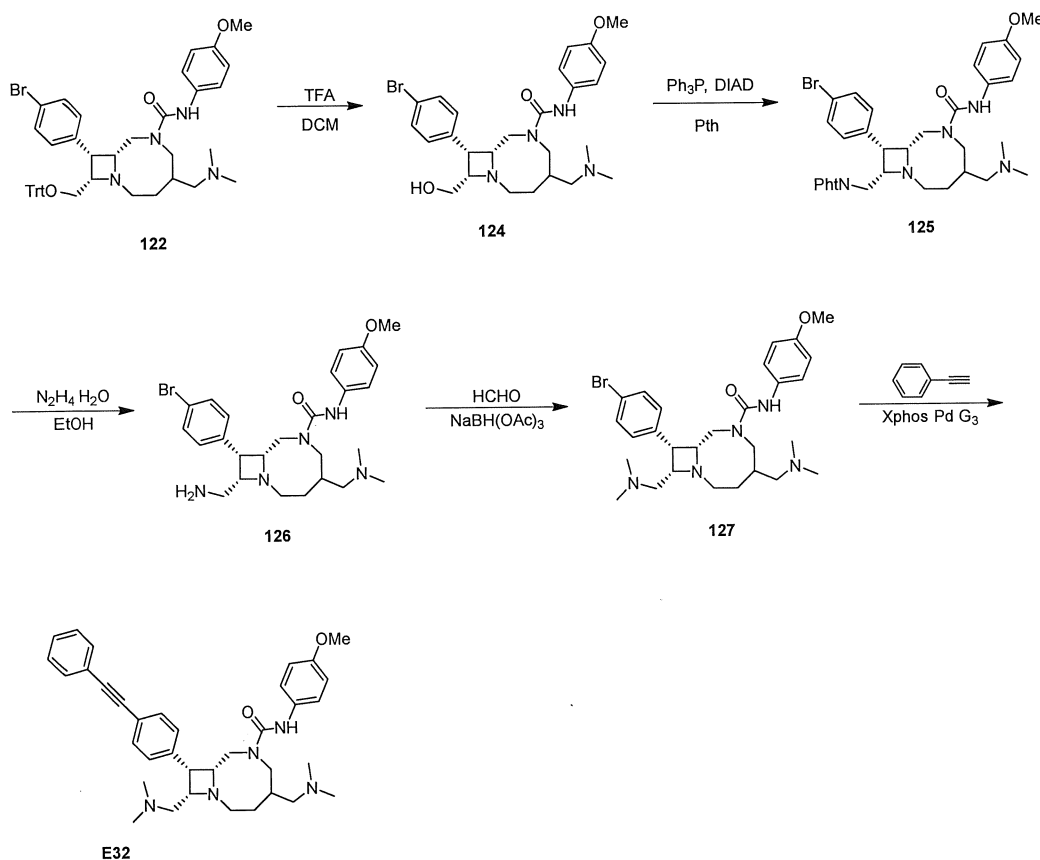
Dung dịch chứa chất trung gian 122 (60,00 mg, 77,54 μmol , 1,00 đương lượng) trong axetonitril (1,00 mL) được thêm etynylbenzen (23,76 mg, 232,62 μmol , 25,55 μL , 3,00 đương lượng), Cs_2CO_3 (101,06 mg, 310,16 μmol , 4,00 đương lượng) và Xphos Pd G3 (6,56 mg, 7,75 μmol , 0,1 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 2 giờ. LC-MS cho thấy chất phản ứng được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (10 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (5 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 20:1) để tạo ra chất trung gian 123 (50,00 mg, 62,89 μmol , hiệu suất 81,11%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

Tổng hợp E31: (8R,9R,10S)-4-((dimethylamino)methyl)-10-(hydroxymethyl)-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-

carboxamit (E31).

Dung dịch chứa chất trung gian 123 (50,00 mg, 62,89 μmol , 1,00 đương lượng) trong DCM (1,00 mL) được thêm TFA (71,71 mg, 628,90 μmol , 46,56 μL , 10,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 123 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hoà (10 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra hợp chất E31 (4,50 mg, 8,14 μmol , hiệu suất 12,95%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,54 (dd, $J=2,0$, 7,5 Hz, 2H), 7,48 (s, 4H), 7,37 - 7,29 (m, 5H), 6,82 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 4,05 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,73 - 3,62 (m, 4H), 3,60 - 3,52 (m, 2H), 3,46 (t, $J=8,5$ Hz, 1H), 3,15 (dd, $J=5,3$, 16,3 Hz, 2H), 2,86 (dd, $J=10,5$, 14,6 Hz, 1H), 2,58 (br. s., 1H), 2,32 (s, 6H), 2,25 (t, $J=12,3$ Hz, 2H), 2,03 (d, $J=12,5$ Hz, 1H), 1,59 (br. s., 2H), 1,53 (br. s., 1H)

Ví dụ 32: (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-4-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphe-nyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E32”)



Chất trung gian 124: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-[(dimethylamino)metyl]-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxyphe-nyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 122 (400,00 mg, 516,93 μmol , 1,00 đương lượng) trong DCM (10,00 mL) được thêm TFA (589,40 mg, 5,17 mmol, 382,73 μL , 10,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 122 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (10 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , DCM: MeOH = 100:1 đến 10:1) để tạo ra chất trung gian 124 (130,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,47 (d, J =8,8 Hz, 1H), 7,39 - 7,32 (m, 3H), 7,32 - 7,26 (m, 9H), 7,23 (d, J =9,3 Hz, 3H), 6,91 (d, J =8,4 Hz, 1H), 3,93 (d, J =14,1 Hz, 1H), 3,69 (s,

3H), 3,60 - 3,52 (m, 4H), 3,04 (d, $J=14,1$ Hz, 2H), 2,75 - 2,63 (m, 2H), 2,23 (s, 6H), 2,15 (d, $J=11,9$ Hz, 1H), 1,65 - 1,46 (m, 4H).

Chất trung gian 125: (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-4-[(dimethylamino)methyl]-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl]-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa PPh_3 (0,15 g) trong 3 mL THF được thêm DIAD (0,11 mL) ở 0°C . Hỗn hợp này (1,16 mL) được thêm vào dung dịch chứa chất trung gian 124 (30,00 mg, 56,45 μmol , 1,00 đương lượng) và isindolin-1,3-dion (12,46 mg, 84,67 μmol , 1,50 đương lượng) trong THF (1,00 mL) ở 0°C . Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 124 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 20:1) để tạo ra chất trung gian 125 (30,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu trắng bao gồm Ph_3PO .

Chất trung gian 126: (8R,9S,10S)-10-(aminomethyl)-9-(4-bromophenyl)-4-[(dimethylamino)methyl]-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 125 (100,00 mg, 151,38 μmol , 1,00 đương lượng) trong EtOH (2,00 mL) được thêm $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ (7,58 mg, 151,38 μmol , 7,36 μL , 1,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 125 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (10 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (5 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 8:1) để tạo ra chất trung gian 126 (90,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng.

Chất trung gian 127: (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-4,10-bis[(dimethylamino)methyl]-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

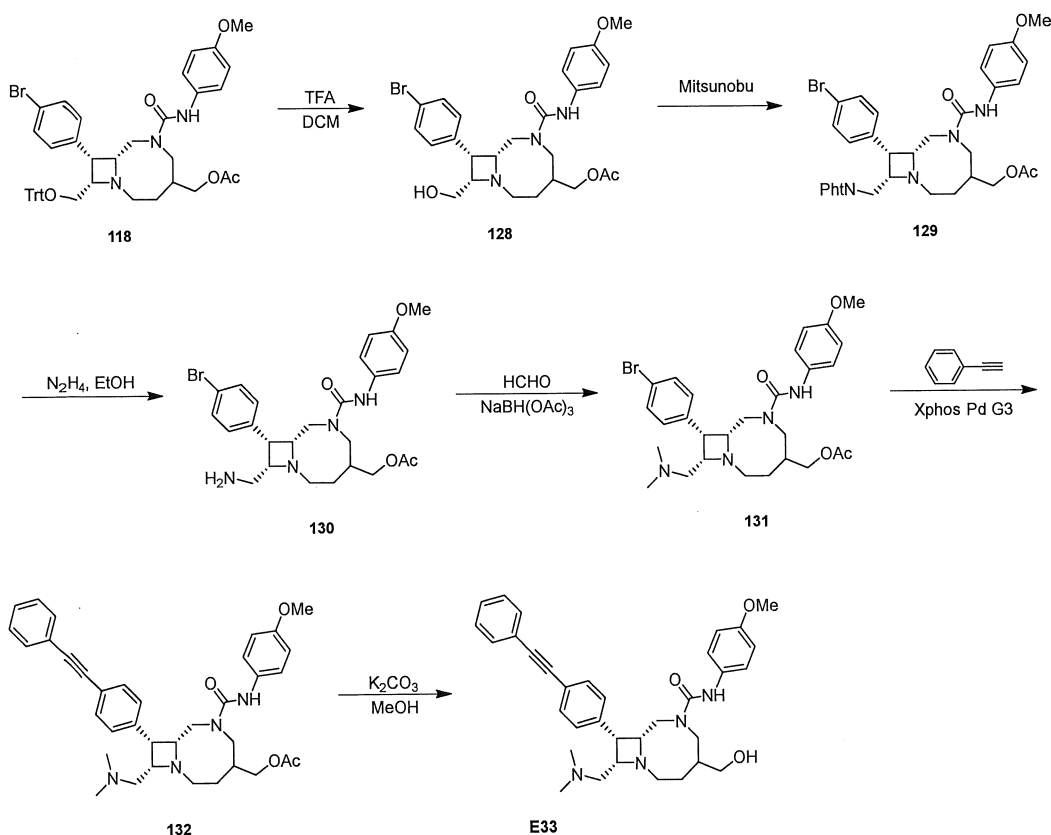
Dung dịch chứa chất trung gian 126 (45,00 mg, 84,83 μmol , 1,00 đương lượng) trong DCM (2,00 mL) được thêm HCHO (41,31 mg, 508,98 μmol , 37,90 μL ,

dung dịch 37%, 6,00 đương lượng) và MgSO_4 (122,53 mg, 1,02 mmol, 12,00 đương lượng), sau khi khuấy trong 30 phút, thêm $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (269,68 mg, 1,27 mmol, 15,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 16 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 126 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hoà (10 mL) và được chiết bằng DCM (3 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (3 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 127 (20,00 mg, 35,81 μmol , hiệu suất 42,21%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,46 - 7,40 (m, 2H), 7,37 - 7,33 (m, 2H), 7,30 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 6,81 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 3,97 (d, $J=14,1$ Hz, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,67 (d, $J=15,6$ Hz, 1H), 3,60 - 3,54 (m, 1H), 3,45 - 3,32 (m, 2H), 3,15 - 3,03 (m, 2H), 2,74 (dd, $J=10,8, 14,3$ Hz, 1H), 2,47 - 2,34 (m, 4H), 2,30 (s, 6H), 2,25 - 2,17 (m, 1H), 2,02 (s, 6H), 1,62 - 1,48 (m, 3H).

Tổng hợp E32: (8R,9S,10S)-4,10-bis[(dimethylamino)methyl]-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid (E32).

Dung dịch chứa chất trung gian 127 (15,00 mg, 26,86 μmol , 1,00 đương lượng) trong axetonitril (1,00 mL) được thêm etynylbenzen (10,97 mg, 107,42 μmol , 3,00 đương lượng), Xphos Pd G3 (2,27 mg, 2,69 μmol , 0,10 đương lượng) và Cs_2CO_3 (35,00 mg, 107,42 μmol , 4,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 127 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (10 mL) và được chiết bằng ethyl axetat (3 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (3 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 8:1) để tạo ra hợp chất E32 (4,30 mg, 7,42 μmol , hiệu suất 27,61%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-d) δ = 7,50 - 7,44 (m, 2H), 7,44 - 7,36 (m, 4H), 7,31 - 7,21 (m, 5H), 6,74 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 3,93 (d, $J=14,6$ Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,63 - 3,52 (m, 2H), 3,42 - 3,28 (m, 2H), 3,09 - 2,99 (m, 2H), 2,72 (dd, $J=10,5, 14,1$ Hz, 1H), 2,36 (d, $J=10,0$ Hz, 3H), 2,23 (s, 6H), 2,16 (t, $J=12,5$ Hz, 2H), 1,96 (br. s., 6H), 1,54 (br. s., 1H), 1,45 (br. s., 2H).

Ví dụ 33: (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-4-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E33”)



Chất trung gian 128: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 118 (600,00 mg, 760,68 μ mol, 1,00 đương lượng) trong DCM (10,00 mL) được thêm TFA (867,33 mg, 7,61 mmol, 563,20 μ L, 10,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 2 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 118 được tiêu thụ và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa (30 mL) và được chiết bằng DCM (10 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM /MeOH=1:0 đến 20:1) để tạo ra chất trung gian 128 (300,00 mg, 549,00 μ mol, hiệu suất 72,17%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 129: [(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxoisindolin-2-yl)metyl]-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl]metyl

axetat.

Dung dịch chứa triphenylphosphin (1 g, 3,76 mmol) trong THF (19 ml) ở 0°C được thêm chậm DIAD (0,73 mL, 3,76 mmol). Hỗn hợp được điều chế này (11 mL) được thêm vào hỗn hợp chứa chất trung gian 128 (300,00 mg, 549,00 μ mol, 1,00 đương lượng) và isoindolin-1,3-dion (121,16 mg, 823,50 μ mol, 1,50 đương lượng) trong THF (15,00 mL) ở 0°C và sau đó hỗn hợp được khuấy ở 25°C trong 16 giờ trong khí quyển N_2 . LC-MS cho thấy chất trung gian 128 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , DCM: MeOH = 1:0 đến 10:1) để tạo ra chất trung gian 129 (400,00 mg, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng bao gồm Ph_3PO .

Chất trung gian 130: [(8R,9S,10S)-10-(aminometyl)-9-(4-bromophenyl)-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 129 (400,00 mg, 592,09 μ mol, 1,00 đương lượng) trong EtOH (10,00 mL) được thêm $N_2H_4 \cdot H_2O$ (29,64 mg, 592,09 μ mol, 28,78 μ L, 1,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (30 mL) và được chiết bằng DCM (30 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (30 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , DCM: MeOH = 1:0 đến 20:1) để tạo ra chất trung gian 130 (280,00 mg, 513,32 μ mol, hiệu suất 86,70%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 131: [(8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(dimetylamino)metyl]-6-[(4-metoxypheyl)carbamoyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl]metyl axetat.

Dung dịch chứa chất trung gian 130 (140,00 mg, 256,66 μ mol, 1,00 đương lượng) trong DCM (5,00 mL) được thêm $MgSO_4$ (370,73 mg, 3,08 mmol, 12,00 đương lượng) và HCHO (124,99 mg, 1,54 mmol, 114,67 μ L, dung dịch 37%, 6,00 đương lượng) sau đó $NaBH(OAc)_3$ (815,95 mg, 3,85 mmol, 15,00 đương lượng) được thêm theo từng phần. Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 16 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 130 được tiêu thụ và một khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp

phản ứng được dừng bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hoà (20 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 20:1) để tạo ra chất trung gian 131 (73,00 mg, 127,28 μmol , hiệu suất 49,59%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 132: [(8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-6-[(4-metoxypheyl) carbamoyl]-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-4-yl]metyl axetat.

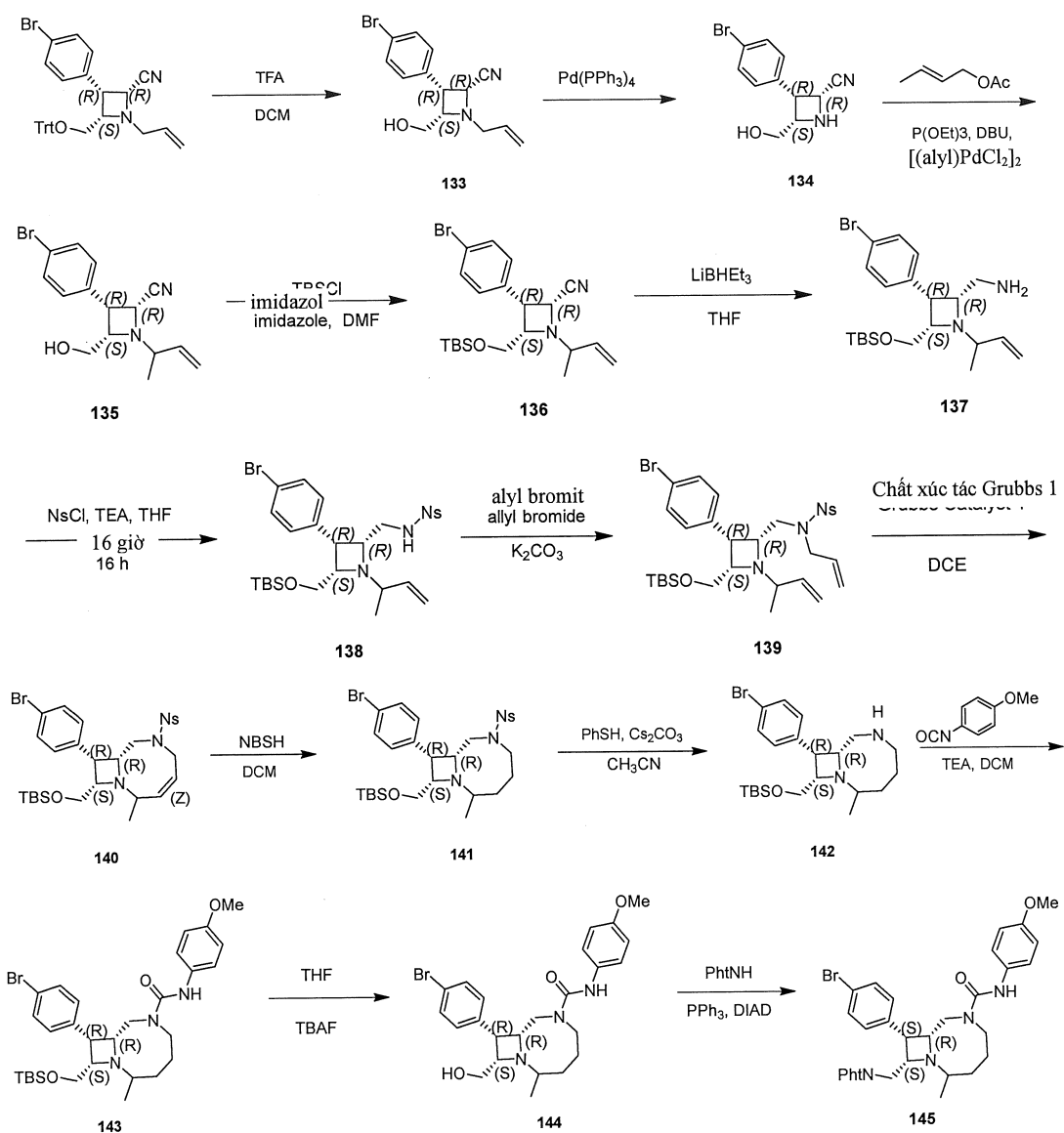
Dung dịch chứa chất trung gian 131 (73,00 mg, 127,28 μmol , 1,00 đương lượng) trong axetonitril (4,00 mL) được thêm etynylbenzen (39 mg, 381,85 μmol , 3,00 đương lượng), Xphos Pd G3 (10,77 mg, 12,73 μmol , 0,10 đương lượng) và Cs_2CO_3 (165,89 mg, 509,14 μmol , 4,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 131 được tiêu thụ hoàn toàn và khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (10 mL) và được chiết bằng etyl axetat (3 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối (3 mL x 2 lần), được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , DCM: MeOH = 10:1) để tạo ra chất trung gian 132 (30,00 mg, 50,44 μmol , hiệu suất 39,63%) dưới dạng chất rắn màu nâu.

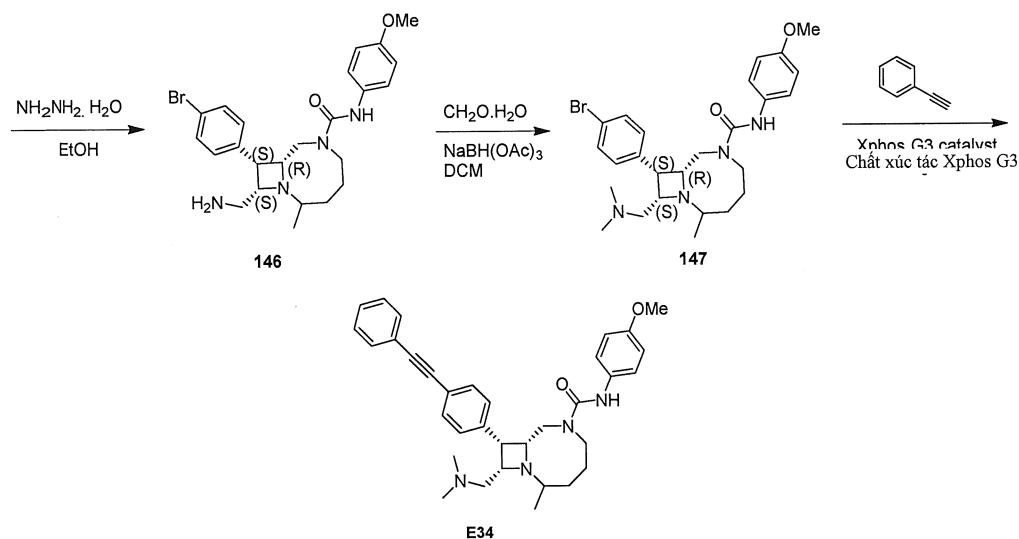
Tổng hợp E33: (8R,9S,10S)-10-[(dimethylamino)metyl]-4-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E33).

Dung dịch chứa chất trung gian 132 (30,00 mg, 50,44 μmol , 1,00 đương lượng) trong MeOH (500,00 μL) /DCM(0,5 mL) được thêm K_2CO_3 (34,86 mg, 252,20 μmol , 5,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 15°C trong 1 giờ. LC-MS cho thấy chất trung gian 132 được tiêu thụ hoàn toàn và một đỉnh chính với khối phổ mong muốn được phát hiện. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng cách thêm nước (10 mL) và được chiết bằng DCM (5 mL x 2 lần). Các lớp hữu cơ gom được được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Luna C18 150*25 5u; pha động: [nước(0,225%

axit formic)-axetonitril]; B%: 25%-45%, 12 phút) để tạo ra hợp chất E33 (11,00 mg, 18,37 μmol , hiệu suất 36,42%, muối axit formic)) dưới dạng chất rắn màu trắng: ^1H NMR (400MHz, METANOL- d_4) δ = 7,58 - 7,49 (m, 6H), 7,38 (d, $J=3,5$ Hz, 3H), 7,29 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 6,81 (d, $J=9,3$ Hz, 2H), 3,92 (d, $J=15,4$ Hz, 1H), 3,82 - 3,71 (m, 5H), 3,59 (d, $J=6,2$ Hz, 2H), 3,45 (t, $J=9,0$ Hz, 1H), 3,20 - 3,05 (m, 2H), 3,01 - 2,91 (m, 2H), 2,88 - 2,81 (m, 1H), 2,48 (t, $J=12,1$ Hz, 1H), 2,40 - 2,29 (m, 6H), 1,83 (br. s., 1H), 1,67 - 1,48 (m, 2H).

Ví dụ 34: (8*R*,9*S*,10*S*)-10-((dimethylamino)metyl)-*N*-(4-metoxiphenyl)-2-metyl-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E34”)





Chất trung gian 133: (2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-(hydroxymethyl)azetidin-2-carbonitril.

Dung dịch chứa (2R,3R,4S)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)-4-((trityloxy)methyl)azetidin-2-carbonitril (J.O.C (2012), 77(17), 7187-7211) (16,00 g, 29,12 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (291,00 mL) được thêm TFA (33,20 g, 291,20 mmol, 21,56 mL, 10,00 đương lượng) ở 25°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. TLC cho thấy chất phản ứng được tiêu thụ hoàn toàn, sản phẩm mong muốn được quan sát thấy, được dừng bằng dung dịch NaHCO₃ (500 mL), được chiết bằng DCM (200 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn (8,95 g, thô) dưới dạng chất rắn màu vàng được trực tiếp sử dụng trong bước tiếp theo.

Chất trung gian 134: (2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-(hydroxymethyl)azetidin-2-carbonitril.

Hỗn hợp chứa chất trung gian 133 (8,95 g, 29,14 mmol, 1,00 đương lượng), axit 1, 3-dimetyl barbituric (6,82 g, 43,71 mmol, 1,50 đương lượng), Pd(PPh₃)₄ (3,37 g, 2,91 mmol, 0,10 đương lượng) trong EtOH (290,00 mL) được khử khí và sục 3 lần với N₂, và sau đó hỗn hợp được khuấy ở 40°C trong 16 giờ trong khí quyển N₂. LCMS cho thấy chất phản ứng 133 được tiêu thụ hoàn toàn, khối phổ mong muốn được quan sát thấy, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5μ; A: nước (10mM NH₄HCO₃); B: axetonitril) để tạo ra chất trung gian 134 (4,70 g, 17,60 mmol, hiệu suất 60,38%) dưới dạng chất rắn màu da cam.

Chất trung gian 135: (2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-(hydroxymetyl)-1-(1-methylalyl)azetidin-2-carbonitril

Dung dịch chứa chất trung gian 134 (1,60 g, 5,99 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (3,50 mL) được thêm P(OEt)₃ (39,81 mg, 239,59 μ mol, 41,04 μ L, 0,04 đương lượng), (*E*)-but-2-en-1-yl axetat (724,70 mg, 6,35 mmol, 1,06 đương lượng), allyl(clo)paladi (21,92 mg, 59,90 μ mol, 0,01 đương lượng) và DBU (911,89 mg, 5,99 mmol, 902,86 μ L, 1,00 đương lượng), hỗn hợp này được khử khí và sục 3 lần với N₂, và sau đó hỗn hợp được khuấy ở 40°C trong 16 giờ trong khí quyển N₂. Phản ứng được dừng bằng nước (15 mL), được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=10/1 đến 0:1) để tạo ra chất trung gian 135 (150,00 mg, 466,98 μ mol, hiệu suất 7,80%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ = 1,20 (dd, *J*=11,04, 6,53 Hz, 3 H) 3,11 (quin, *J*=7,03 Hz, 1 H) 3,43 - 3,55 (m, 2 H) 3,59 - 3,67 (m, 1 H) 3,80 - 3,92 (m, 1 H) 4,04 - 4,15 (m, 1 H) 4,35 (d, *J*=8,53 Hz, 1 H) 4,41 (d, *J*=8,53 Hz, 1 H) 5,05 - 5,41 (m, 2 H) 5,64 - 5,91 (m, 1 H) 7,47 - 7,52 (m, 2 H) 7,52 - 7,56 (m, 2 H).

Chất trung gian 136: (2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-[[*tert*-butyl(dimetyl)silyl]oxymetyl]-1-(1-methylalyl)azetidin-2-carbonitril.

Dung dịch chứa chất trung gian 135 (1,23 g, 3,83 mmol, 1,00 đương lượng) trong DMF (6,00 mL) được thêm imidazol (1,56 g, 22,98 mmol, 6,00 đương lượng) và TBSCl (2,31 g, 15,32 mmol, 1,88 mL, 4,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng được tiêu thụ hoàn toàn, khối phổ mong muốn được quan sát thấy, được rửa bằng nước (30 mL), được chiết bằng etyl axetat (30 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=100/1 đến 10:1) để tạo ra chất trung gian 136 (1,60 g, 3,67 mmol, hiệu suất 95,93%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm -0,36 - -0,13 (m, 7 H) 0,69 - 0,77 (m, 9 H) 1,19 (dd, *J*=18,57, 6,53 Hz, 3 H) 3,04 - 3,17 (m, 1 H) 3,39 - 3,47 (m, 1 H) 3,53 - 3,59 (m, 1 H) 3,61 - 3,72 (m, 1 H) 3,82 - 3,92 (m, 1 H) 4,33 - 4,44 (m, 1 H) 5,07 - 5,35 (m, 2 H) 5,61 - 5,85 (m, 1 H) 7,46 - 7,50 (m, 2 H) 7,52 - 7,56 (m, 2 H).

Chất trung gian 137: [(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-(1-methylalyl)azetidin-2-yl]metanamin.

Dung dịch chứa chất trung gian 136 (1,85 g, 4,25 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (200,00 mL) được thêm LiBHEt₃ (1 M, 5,06 mL, 10,00 đương lượng) ở 0°C trong khí quyển N₂. Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 136 được tiêu thụ hoàn toàn, khối phổ mong muốn được quan sát thấy, được dừng bằng H₂O (100 mL), được chiết bằng etyl axetat (300 ml x 3 lần), được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM/MeOH=1/0 đến 10:1) để tạo ra chất trung gian 137 (1,40 g, 3,19 mmol, hiệu suất 74,95%) dưới dạng dầu.

Chất trung gian 138: N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-(1-methylalyl)azetidin-2-yl]methyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 138 (1,36 g, 3,09 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (55,00 mL) được thêm TEA (9,91 g, 97,95 mmol, 13,58 mL, 31,70 đương lượng) và 2-nitrobenzensulfonyl clorua (2,05 g, 9,27 mmol, 3,00 đương lượng) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 1 được tiêu thụ hoàn toàn, khối phổ mong muốn được quan sát thấy, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=20/1 đến 5:1) để tạo ra chất trung gian 138 (1,93 g, thô) dưới dạng dầu màu vàng.

Chất trung gian 139: N-allyl-N-[[[(2R,3R,4S)-3-(4-bromophenyl)-4-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-1-(1-methylalyl)azetidin-2-yl]methyl]-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 138 (1,95 g, 3,12 mmol, 1,00 đương lượng) trong DMF (15,00 mL) được thêm K₂CO₃ (647,17 mg, 4,68 mmol, 1,50 đương lượng), sau đó thêm 3-bromoprop-1-en (1,13 g, 9,36 mmol, 808,84 µL, 3,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 138 được tiêu thụ hoàn toàn, khối phổ mong muốn được quan sát thấy, được rửa bằng nước muối (20 mL x 3 lần), được chiết bằng etyl axetat (20 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete

dầu mỡ/ethyl axetat=20/1 đến 5:1) để tạo ra chất trung gian 139 (1,90 g, 2,86 mmol, hiệu suất 91,61%) dưới dạng chất gồm màu vàng. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ =ppm -0,34 - -0,27 (m, 3 H) -0,23 - -0,18 (m, 3 H) 0,70 - 0,75 (m, 9 H) 1,14 (dd, J =16,76, 6,62 Hz, 3 H) 3,11 - 3,42 (m, 5 H) 3,15 - 3,79 (m, 6 H) 4,69 - 4,82 (m, 1 H) 4,93 - 5,04 (m, 1 H) 5,05 - 5,22 (m, 2 H) 5,28 - 5,50 (m, 1 H) 5,67 - 5,81 (m, 1 H) 7,32 (d, J =8,38 Hz, 2 H) 7,43 (dd, J =8,38, 1,32 Hz, 2 H) 7,52 - 7,62 (m, 3 H) 7,62 - 7,70 (m, 1 H).

Chất trung gian 140: [(3Z,8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-2-metyl-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en-10-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan.

Dung dịch chứa chất trung gian 139 (1,84 g, 2,77 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCE (368,00 mL) được thêm chất xúc tác Hoveyda-Grubbs thế hệ thứ nhất (569,51 mg, 692,50 μmol , 0,25 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 90°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỡ/ethyl axetat= 5:1). Chất trung gian 140 (1,25 g, 1,96 mmol, hiệu suất 70,88%) dưới dạng chất rắn màu đen nhạt.

Chất trung gian 141: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-2-metyl-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-10-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan.

Dung dịch chứa chất trung gian 140 (1,00 g, 1,57 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (40,00 mL) được thêm TEA (1,43 g, 14,13 mmol, 1,96 mL, 9,00 đương lượng) và 2-nitrobenzensulfonohydrazit (1,02 g, 4,71 mmol, 3,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 40°C trong bể dầu trong 16 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 140 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa (20 mL) và được chiết 3 lần bằng ethyl axetat (30 mL x 3 lần). Các dịch chiết hữu cơ gom được được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỡ/ethyl axetat=20/1 đến 5:1) để tạo ra chất trung gian 141 (830,00 mg, 1,04 mmol, hiệu suất 66,22%, 80% tinh khiết) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ =ppm -0,29 - -0,08 (m, 6 H) 0,75 (d, J =14,05 Hz, 9 H) 1,03 - 1,17 (m, 2 H) 1,36 - 1,48 (m, 1 H) 1,71 - 2,17 (m, 3 H) 2,62

(br. s., 1 H) 2,75 - 2,94 (m, 1 H) 3,00 - 3,29 (m, 2 H) 3,37 - 3,48 (m, 1 H) 3,49 - 3,67 (m, 3 H) 3,69 - 3,87 (m, 2 H) 7,28 - 7,46 (m, 4 H) 7,53 - 7,66 (m, 3 H) 7,78 (d, $J=6,02$ Hz, 1 H)

Chất trung gian 142: [(8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-2-metyl-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-10-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan.

Dung dịch chứa chất trung gian 141 (830,00 mg, 1,30 mmol, 1,00 đương lượng) trong CH₃CN (8,00 mL) được thêm Cs₂CO₃ (508,28 mg, 1,56 mmol, 1,20 đương lượng) và benzenthiol (214,77 mg, 1,95 mmol, 198,86 μ L, 1,50 đương lượng). Sau khi khuấy ở 20°C trong 16 giờ, phản ứng được pha loãng bằng nước (15 mL), được chiết bằng etyl axetat (15 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat= 5:1) để tạo ra chất trung gian 142 (580,00 mg, 1,02 mmol, hiệu suất 78,70%, 80% tinh khiết) dưới dạng chất rắn màu vàng

Chất trung gian 143: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxymetyl]-N-(4-metoxypheyl)-2-metyl-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 142 (550,00 mg, 1,21 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (10,00 mL) được thêm TEA (61,36 mg, 606,35 μ mol, 84,05 μ L, 0,50 đương lượng) và 1-isoxyanato-4-metoxi-benzen (180,88 mg, 1,21 mmol, 155,93 μ L, 1,00 đương lượng) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 20°C trong 3 giờ, phản ứng được pha loãng bằng nước (10 mL), được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=10/1 đến 5:1) để tạo ra chất trung gian 143 (700,00 mg, 1,16 mmol, hiệu suất 95,99%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

Chất trung gian 144: (8R,9R,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxypheyl)-2-metyl-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 143 (690,00 mg, 1,14 mmol, 1,00 đương lượng) trong THF (10,00 mL) được thêm TBAF (596,13 mg, 2,28 mmol, 2,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 50°C trong 16 giờ. TLC cho thấy chất phản ứng 1

được tiêu thụ hoàn toàn, sản phẩm mong muốn được quan sát thấy, được rửa bằng nước (10 mL x 3 lần), được chiết bằng etyl axetat (20 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM/MeOH=1/0 đến 20:1) để tạo ra chất trung gian 144 (440,00 mg, 900,86 μ mol, hiệu suất 79,02%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = ppm 1,09 (d, *J*=6,53 Hz, 3 H) 1,40 (d, *J*=16,56 Hz, 1 H) 1,77 - 1,99 (m, 2 H) 2,72 - 2,90 (m, 2 H) 3,51 (d, *J*=6,02 Hz, 1 H) 3,57 - 3,69 (m, 4 H) 3,71 - 3,80 (m, 4 H) 3,81 - 3,94 (m, 2 H) 6,02 - 6,08 (m, 1 H) 6,79 - 6,87 (m, 2 H) 7,24 (d, *J*=9,03 Hz, 2 H) 7,36 - 7,43 (m, 2 H) 7,43 - 7,49 (m, 2 H)

Chất trung gian 145: (8R,9S,10S)-9-(4-bromophenyl)-10-[(1,3-dioxo-3a,7a-dihydroisindol-2-yl)methyl]-N-(4-metoxyphenyl)-2-methyl-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 144 (420,00 mg, 859,92 μ mol, 1,00 đương lượng) trong THF (18,00 mL) được thêm isoindolin-1,3-dion (189,78 mg, 1,29 mmol, 1,50 đương lượng), PPh₃ (451,09 mg, 1,72 mmol, 2,00 đương lượng) và DIAD (347,77 mg, 1,72 mmol, 334,39 μ L, 2,00 đương lượng) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 145 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, được rửa bằng nước (10 mL), được chiết bằng etyl axetat (10 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=5/1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 145 (800,00 mg, 645,63 μ mol, hiệu suất 75,08%, 50% tinh khiết) dưới dạng gồm màu nâu.

Chất trung gian 146: (8R,9S,10S)-10-(aminomethyl)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphenyl)-2-methyl-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 145 (750,00 mg, 605,28 μ mol, 1,00 đương lượng) trong EtOH (14,00 mL) được thêm NH₂NH₂.H₂O (30,30 mg, 605,28 μ mol, 29,42 μ L, 1,00 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 80°C trong 2 giờ. LCMS cho thấy chất trung gian 145 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn (chất trung gian 146) được rửa bằng nước (40 mL), được chiết bằng etyl axetat (30 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được

tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, DCM/MEOH=0/1 đến 10:1) để tạo ra (10S,10aR)-9-amino-10-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxypheyl)-6-metyloctahydropyrololo[1,2-a][1,4]diazocin-2(1H)-carboxamit ("R146") (190 mg) (¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ=ppm 0,97 (d, *J*=6,02 Hz, 1 H) 1,14 (d, *J*=8,03 Hz, 2 H) 1,25 - 1,48 (m, 2 H) 1,87 - 2,09 (m, 2 H) 2,72 - 2,84 (m, 1 H) 3,01 (d, *J*=10,04 Hz, 1 H) 3,15 - 3,23 (m, 1 H) 3,28 (d, *J*=6,02 Hz, 1 H) 3,45 (br. s., 1 H) 3,62 - 4,11 (m, 7 H) 6,82 (d, *J*=10,04 Hz, 2 H) 7,18 - 7,25 (m, 2 H) 7,29 (d, *J*=8,03 Hz, 2 H) 7,49 (d, *J*=8,03 Hz, 2 H)) dưới dạng chất rắn hỗn hợp màu vàng và chất trung gian 146 (40 mg) dưới dạng chất rắn màu vàng (¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) =ppm 0,99 - 1,16 (m, 3 H) 1,44 (d, *J*=11,04 Hz, 1 H) 1,87 (br. s., 3 H) 2,66 (br. s., 1 H) 2,80 - 2,91 (m, 1 H) 2,92 - 3,00 (m, 1 H) 3,01 - 3,15 (m, 1 H) 3,38 (br. s., 1 H) 3,59 (d, *J*=12,55 Hz, 2 H) 3,67 - 3,84 (m, 6 H) 6,14 (s, 1 H) 6,81 (d, *J*=8,53 Hz, 2 H) 7,20 (d, *J*=8,53 Hz, 2 H) 7,34 (d, *J*=8,03 Hz, 2 H) 7,46 (d, *J*=8,03 Hz, 2)). H).

Chất trung gian 147: (8*R*,9*S*,10*S*)-9-(4-bromophenyl)-10-((dimetylamino)metyl)-*N*-(4-metoxypheyl)-2-metyl-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit

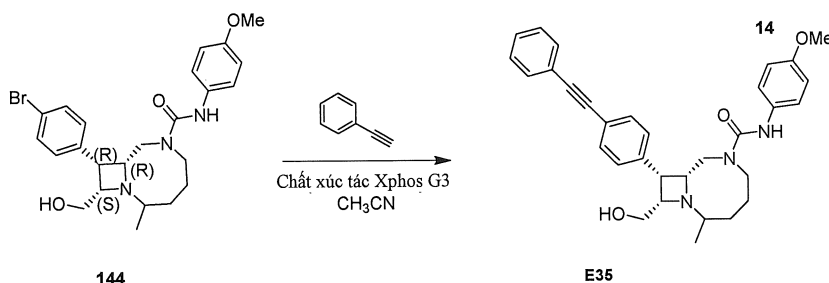
Dung dịch chứa hợp chất 146 (15,00 mg, 21,54 μmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (3,00 mL) được thêm HCHO (17,48 mg, 215,42 μmol, 16,04 μL, 37% tinh khiết, 10,00 đương lượng) và MgSO₄ (51,86 mg, 430,83 umol, 20,00 đương lượng) sau đó là NaBH(OAc)₃ (45,66 mg, 215,42 μmol, 10,00 đương lượng). Sau khi hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 2 giờ, hỗn hợp thu được được lọc và dịch lọc được cô đặc. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, diclometan:metanol = 20:1) để tạo ra hợp chất 147 (5,00 mg, 7,76 umol, hiệu suất 36,02%, 80% tinh khiết) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Tổng hợp E34: (8*R*,9*S*,10*S*)-10-((dimetylamino)metyl)-*N*-(4-metoxypheyl)-2-metyl-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E34).

Dung dịch chứa chất trung gian 147 (5,00 mg, 9,70 μmol, 1,00 đương lượng) trong CH₃CN (500,00 μL) được thêm etynylbenzen (2,97 mg, 29,10 μmol, 3,19 μL, 3,00 đương lượng), Cs₂CO₃ (12,64 mg, 38,80 μmol, 4,00 đương lượng), được khử khí 3 lần bằng N₂, và sau đó thêm XPhos Pd G3 (821,04 ug, 0,97 μmol, 0,10 đương lượng). Sau khi khuấy ở 70°C trong 3 giờ, phản ứng được pha loãng bằng nước (3 mL), được

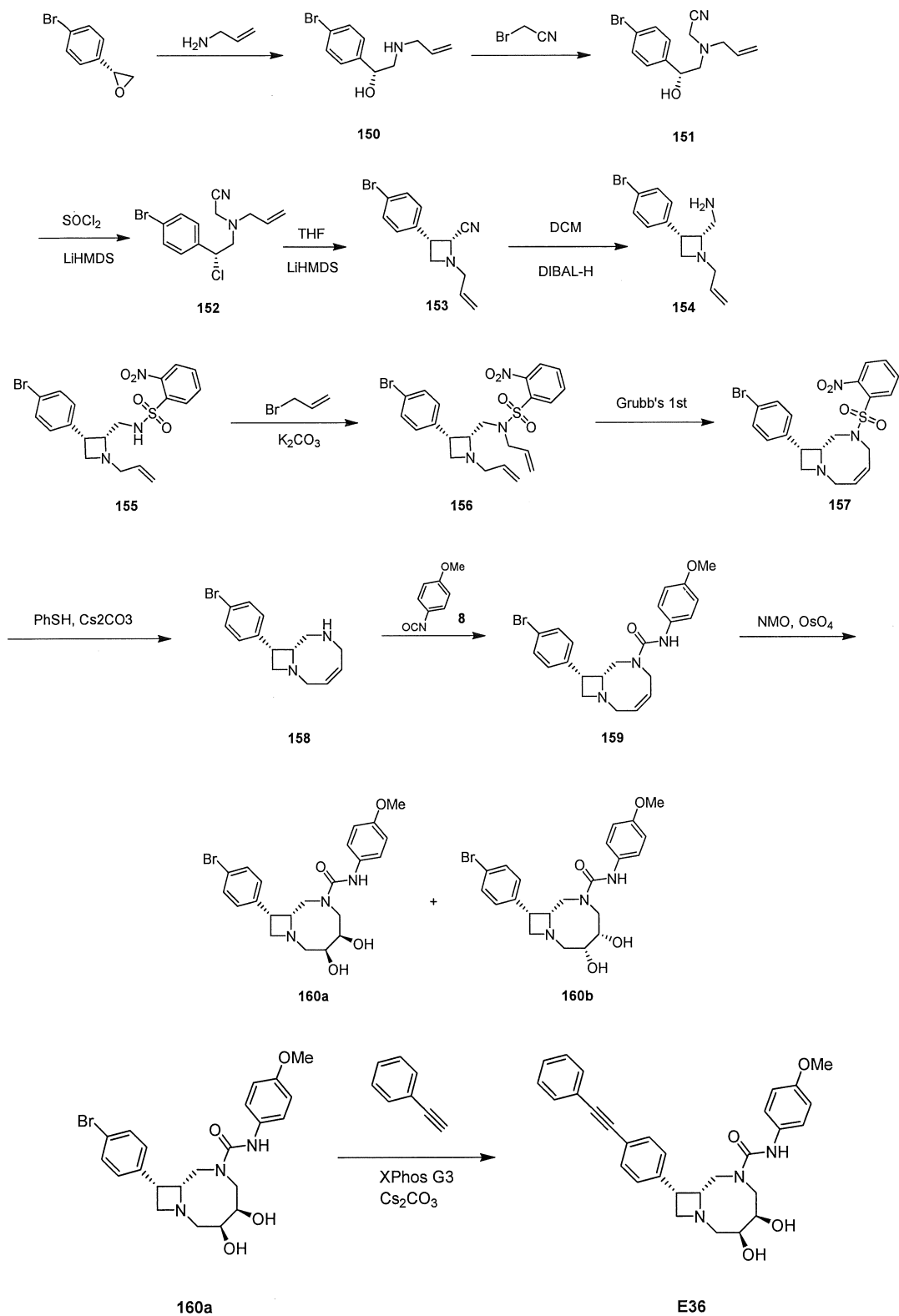
chiết bằng etyl axetat (5 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat= 1:1) để tạo ra hợp chất E34 (5,00 mg, 9,32 μmol, 96,04% hiệu suất) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ=ppm 1,16 (d, *J*=6,17 Hz, 3 H) 1,70 - 1,94 (m, 4 H) 2,01 (br. s., 6 H) 2,42 - 2,66 (m, 3 H) 2,83 - 2,94 (m, 1 H) 3,47 (br. s., 2 H) 3,53 - 3,62 (m, 1 H) 3,65 - 3,82 (m, 6 H) 6,04 (s, 1 H) 6,83 (d, *J*=8,82 Hz, 2 H) 7,24 (d, *J*=8,82 Hz, 2 H) 7,33 - 7,39 (m, 3 H) 7,39 - 7,44 (m, 2 H) 7,50 (d, *J*=7,94 Hz, 2 H) 7,53 - 7,57 (m, 2 H).

Ví dụ 35: (8R,9R,10S)-10-(hydroxymetyl)-N-(4-metoxiphenyl)-2-metyl-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (“E35”)



Dung dịch chứa chất trung gian 144 (20,00 mg, 40,95 μmol, 1,00 đương lượng) trong CH₃CN (1,00 mL) được thêm etynylbenzen (12,55 mg, 122,85 μmol, 13,49 μL, 3,00 đương lượng), Cs₂CO₃ (53,37 mg, 163,80 μmol, 4,00 đương lượng), được khử khí 3 lần bằng N₂ và sau đó thêm XPhos Pd G3 (3,47 mg, 4,10 μmol, 0,10 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 16 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 144 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, được rửa bằng nước (10 mL), được chiết bằng etyl axetat (10 mL x 3 lần), được làm khô bằng Na₂SO₄, được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (10mM NH₄HCO₃); B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E35 (8,30 mg, 16,29 μmol, hiệu suất 39,77%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 1,10 (d, *J*=6,02 Hz, 3 H) 1,40 (d, *J*=13,55 Hz, 1 H) 1,76 - 2,01 (m, 3 H) 2,72 - 3,03 (m, 1 H) 2,76 (br. s., 1 H) 3,43 - 3,81 (m, 9 H) 3,82 - 3,96 (m, 2 H) 6,03 - 6,11 (m, 1 H) 6,80 - 6,88 (m, 2 H) 7,24 (d, *J*=9,03 Hz, 2 H) 7,32 - 7,40 (m, 3 H) 7,48 - 7,56 (m, 6 H).

Ví dụ 36: (3S,4R,8R,9S)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenylethynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid (“E36”)



Chất trung gian 150: (*R*)-2-(allylamino)-1-(4-bromophenyl)etan-1-ol

Bình chứa (R)-2-bromophenyl)oxiran (8,0g, 40,2 mmol) được thêm alylamin

(12,03 ml, 161 mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở 55°C trong 20 giờ. Sau thời gian này, phân tích bằng LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành và hỗn hợp được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và dung môi hữu cơ được bay hơi dưới áp suất giảm. Ngay khi thêm hexan vào chất cặn, chất rắn màu trắng được tạo thành và được lọc và làm khô trong chân không cao trong 2 giờ để tạo ra sản phẩm mong muốn (*R*)-2-(allylamino)-1-(4-bromophenyl)etan-1-ol (9,66 g, 37,7 mmol, hiệu suất 94%) dưới dạng chất rắn màu trắng. Phản ứng này được tiếp tục đến bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,53 – 7,36 (m, 2H), 7,29 – 7,13 (m, 2H), 5,96 – 5,72 (m, 1H), 5,28 – 5,02 (m, 2H), 4,67 (dd, *J* = 9,0, 3,6 Hz, 1H), 3,41 – 3,18 (m, 2H), 2,87 (dd, *J* = 12,2, 3,6 Hz, 1H), 2,66 (dd, *J* = 12,2, 8,9 Hz, 1H).

Chất trung gian 151: (*R*)-2-(allyl(2-(4-bromophenyl)-2-hydroxyethyl)amino)axetonitril

Dung dịch chứa (*R*)-2-(allylamino)-1-(4-bromophenyl)etan-1-ol (9,66 g, 37,7 mmol) trong axetonitril khan (60 ml) ở nhiệt độ trong phòng được thêm K₂CO₃ (7,82 g, 56,6 mmol) và 2-bromoaxetonitril (7,88 ml, 113 mmol). Hỗn hợp không đồng nhất này được khuấy ở 85°C trong nitơ trong 18 giờ. Sau thời gian này, phân tích bằng LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành và hỗn hợp được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Dung môi hữu cơ được bay hơi dưới áp suất giảm, được pha loãng bằng nước (50 ml) và được chiết bằng etyl axetat. Các thành phần hữu cơ gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, etyl axetat/hexan=20-30%) để tạo ra (*R*)-2-(allyl(2-(4-bromophenyl)-2-hydroxyethyl)amino)axetonitril (9 g, 30,5 mmol, hiệu suất 81%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,54–7,40 (m, 2H), 7,31–7,16 (m, 2H), 5,91–5,66 (m, 1H), 5,43–5,22 (m, 2H), 4,78–4,65 (m, 1H), 3,79–3,54 (m, 2H), 3,45–3,30 (m, 1H), 3,27–3,11 (m, 2H), 2,86 – 2,74 (m, 1H), 2,68 – 2,54 (m, 1H).

Chất trung gian 152: (*R*)-2-(allyl(2-(4-bromophenyl)-2-cloetyl)amino)axetonitril

Dung dịch chứa pyridin (12,1 ml, 151 mmol) trong DMF khan (100 ml) ở 0°C được thêm từng giọt thionyl clorua (4,38 ml, 60,3 mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 15 phút. Dung dịch này được thêm trong khoảng 5 phút (*R*)-2-(allyl(2-(4-bromophenyl)-2-hydroxyethyl)amino)axetonitril (8,9 g, 30,2 mmol) trong DCM (10 ml).

Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 30 phút ngay khi phân tích TLC cho thấy phản ứng đã hoàn thành. Hỗn hợp phản ứng này được thêm dung dịch nước NaHCO₃ bão hoà và dung dịch thu được được khuấy mạnh trong 10 phút trước khi được chuyển vào phễu tách. Các lớp được tách và pha nước được chiết DCM và các dịch chiết hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng MgSO₄, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, etyl axetat/hexan = 0%-20%) để tạo ra chất trung gian mong muốn (5,00 g, 9,87 mmol, hiệu suất 92%) dưới dạng chất rắn màu nâu. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 7,57 – 7,42 (m, 2H), 7,32 – 7,23 (m, 2H), 5,84 – 5,58 (m, 1H), 5,37 – 5,14 (m, 2H), 4,91 – 4,71 (m, 1H), 3,65 – 3,38 (m, 2H), 3,26 – 2,94 (m, 4H).

Chất trung gian 153: (2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-carbonitril

Bình cổ tròn dung tích 100 ml được nạp với (R)-2-(allyl(2-(4-bromophenyl)-2-cloetyl)amino)axetonitril (0,55 g, 1,754 mmol) và THF khan (10 ml) để tạo ra dung dịch màu vàng nhạt. Bình này đã được ngâm hoàn toàn trong bể đá khô/axeton và được làm lạnh xuống -50°C. LiHMDS (1M, dung dịch THF) được thêm từng giọt vào dung dịch lạnh này. Sau khi hoàn thành việc thêm, phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở -50°C. Phân tích LCMS và TLC (20% EtOAc trong hexan, nhuộm KMnO₄) cho thấy sự biến mất hoàn toàn của vật liệu ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng dung dịch nước NH₄Cl bão hoà và dung dịch thu được được khuấy mạnh trong 10 phút trước khi được chuyển vào phễu tách. Các lớp được tách, pha nước được chiết EtOAc và các dịch chiết hữu cơ gom được được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng MgSO₄, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, etyl axetat/hexan = 0%-20%) để tạo ra hai bộ chính của các phân đoạn. Bộ thứ nhất của các phân đoạn (0,16g, 0,577 mmol, hiệu suất 33%) tạo ra sản phẩm phụ (2*S*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-carbonitril. Bộ thứ hai của các phân đoạn (0,17g, 0,613 mmol, hiệu suất 35%) được hoá rắn ngay khi để yên để tạo ra sản phẩm mong muốn (2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-carbonitril. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,59 – 7,45 (m, 2H), 7,36 – 7,28 (m, 2H), 5,91 – 5,69 (m, 1H), 5,36 – 5,14 (m, 2H), 4,39 – 4,26 (m, 1H), 3,87 – 3,75 (m, 1H), 3,60 – 3,40 (m, 2H), 3,31 – 3,18 (m, 2H).

Chất trung gian 154: ((2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-yl)metanamin

Thêm chậm bằng ống tiêm DIBAL-H (2,41 ml, 13,51 mmol) vào dung dịch chứa (2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-carbonitril (0,62 g, 2,25 mmol) trong DCM (23 ml) và làm lạnh xuống 0°C trong khi khuấy. Sau 15 phút, phản ứng được để cho ấm lên đến nhiệt độ trong phòng trong hơn 45 phút. Sau thời gian này, phân tích bằng LCMS cho thấy phản ứng đã hoàn thành và phản ứng được làm mát xuống 0°C và metanol (1,366 ml, 33,8 mmol) được thêm chậm. Hỗn hợp này được thêm chậm dung dịch Rochelle (100 mL)(cần cẩn thận, toả nhiệt). Pha nước được chiết bằng DCM và các pha hữu cơ gom được được làm khô bằng MgSO₄ và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra (2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-carbonitril dưới dạng dầu màu vàng được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế.

Chất trung gian 155: N-(((2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-yl)metyl)-2-nitrobenzensulfonamit

Dung dịch chứa chất trung gian 154 (1,454 g, 5,171 mmol) trong DCM (26 ml) và được làm lạnh xuống 0°C được thêm 2,6-lutidin (1,797 ml, 15,51 mmol) sau đó thêm 2-nitrobenzen-1-sulfonyl clorua (1,261 g, 5,69 mmol) theo một phần duy nhất. Sau đó, dung dịch này được để cho ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được thêm nước và lớp nước được chiết bằng DCM. Các dịch chiết hữu cơ gom được được làm khô bằng MgSO₄, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, etyl axetat/hexan = 0%-20%) để tạo ra chất trung gian 155 (2,4 g, hiệu suất 100%).

Chất trung gian 156: N-allyl-N-(((2*R*,3*S*)-1-allyl-3-(4-bromophenyl)azetidin-2-yl)metyl)-2-nitro-benzensulfonamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 155 (5,00 g, 10,72 mmol, 1,00 đương lượng) trong DMF (10,00 mL) được thêm K₂CO₃ (2,22 g, 16,08 mmol, 1,50 đương lượng) và 3-bromoprop-1-en (1,95 g, 16,08 mmol, 1,39 mL, 1,50 đương lượng). Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 156 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được hoà tan trong nước (100 mL), được chiết bằng DCM (20 mL x 3 lần), lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, sau đó được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, ete dầu mỏ/etyl axetat=10/1 đến 5:1) để tạo ra chất trung gian 156 (5,00 g,

9,87 mmol, hiệu suất 92,10%) thu được dưới dạng chất rắn màu nâu. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 2,53 (s, 1 H) 2,90 (dd, $J=13,80$, 6,65 Hz, 1 H) 2,94 - 3,11 (m, 2 H) 3,18 - 3,26 (m, 1 H) 3,33 (dd, $J=7,34$, 2,20 Hz, 1 H) 3,41 (dd, $J=13,80$, 5,14 Hz, 1 H) 3,47 - 3,63 (m, 2 H) 3,65 - 3,75 (m, 1 H) 3,88 (dd, $J=16,00$, 5,96 Hz, 1 H) 4,95 (dd, $J=17,07$, 1,13 Hz, 1 H) 5,03 - 5,14 (m, 2 H) 5,21 (dd, $J=17,19$, 1,51 Hz, 1 H) 5,48 (ddt, $J=16,89$, 10,43, 6,23, 6,23 Hz, 1 H) 5,64 - 5,87 (m, 1 H) 7,35 - 7,40 (m, 2 H) 7,42 - 7,49 (m, 2 H) 7,55 - 7,62 (m, 2 H) 7,64 - 7,72 (m, 2 H)

Chất trung gian 157: (3Z,8R,9S)-9-(4-bromophenyl)-6-(2-nitrophenyl)sulfonyl-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en.

Dung dịch chứa chất trung gian 156 (5,00 g, 9,87 mmol, 1,00 đương lượng) trong toluen (500,00 mL) được thêm chất xúc tác Hoveyda-Grubbs thế hệ thứ nhất (812 mg) trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp này được khuấy ở 60°C trong bể dầu trong 16 giờ. Bổ sung thêm chất xúc tác Hoveyda-Grubbs thế hệ thứ nhất (1218 mg), khuấy thêm trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/etyl axetat = 5/1 đến 0:1) để tạo ra chất trung gian 157 (1,20 g, 1,25 mmol, hiệu suất 12,71%, 50% tinh khiết) dưới dạng chất rắn màu đen cùng với SM được phục hồi (2,2 g). ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 2,62 (br s, 1 H) 3,15 - 3,31 (m, 2 H) 3,38 (br s, 1 H) 3,52 (br d, $J=16,98$ Hz, 1 H) 3,60 - 3,79 (m, 3 H) 3,82 - 3,95 (m, 1 H) 4,03 (br dd, $J=14,33$, 6,62 Hz, 1 H) 5,58 - 5,67 (m, 1 H) 5,68 - 5,81 (m, 1 H) 7,30 (br d, $J=7,94$ Hz, 2 H) 7,45 (br d, $J=8,16$ Hz, 2 H) 7,56 (br d, $J=7,28$ Hz, 1 H) 7,61 - 7,67 (m, 2 H) 7,83 (br d, $J=7,50$ Hz, 1 H).

Chất trung gian 158: (3Z,8R,9S)-9-(4-bromophenyl)-1,6-diazabicyclo[6.2.0]dec-3-en.

Dung dịch chứa chất trung gian 157 (1,70 g, 1,78 mmol, 1,00 đương lượng) trong CH_3CN (17,00 mL) được thêm benzenethiol (293,67 mg, 2,67 mmol, 271,92 μL , 1,50 đương lượng) và Cs_2CO_3 (694,74 mg, 2,13 mmol, 1,20 đương lượng). Sau khi khuấy ở 40°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được hoà tan trong nước (100 mL), được chiết bằng DCM (30 mL x 3 lần), lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , sau đó được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/etyl axetat = 1/1 đến diclometan: metanol = 10:1) để tạo ra chất trung gian 158

(650,00 mg, 1,55 mmol, hiệu suất 87,18%, 70% tinh khiết) dưới dạng dầu màu đen. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 2,42 - 2,50 (m, 1 H) 2,52 - 2,61 (m, 1 H) 2,77 - 3,10 (m, 3 H) 3,22 (br dd, $J=16,22, 4,38$ Hz, 1 H) 3,36 - 3,50 (m, 3 H) 3,53 - 3,69 (m, 3 H) 3,77 (br t, $J=8,99$ Hz, 1 H) 5,67 - 5,86 (m, 2 H) 7,21 - 7,28 (m, 2 H) 7,44 (d, $J=8,33$ Hz, 2 H).

Chất trung gian 159: (3Z,8R,9S)-9-(4-bromophenyl)-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]dec-3-en-6-carboxamit.

Dung dịch chứa chất trung gian 158 (650,00 mg, 1,55 mmol, 1,00 đương lượng) trong DCM (10,00 mL) được thêm TEA (78,52 mg, 775,92 μmol , 107,56 μL , 0,50 đương lượng) và sau đó 1-isoxyanato-4-metoxy-benzen (277,75 mg, 1,86 mmol, 239,44 μL , 1,20 đương lượng) được thêm ở 20°C trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 158 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn, hỗn hợp phản ứng được hoà tan trong nước (10 mL), được chiết bằng DCM (5 mL x 3 lần), lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , sau đó được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , ete dầu mỏ/etyl axetat = 5/1 đến 1:1) để tạo ra chất trung gian 159 (560,00 mg, 1,27 mmol, hiệu suất 81,84%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 2,37 - 2,56 (m, 1 H) 3,24 - 3,33 (m, 1 H) 3,34 - 3,41 (m, 1 H) 3,42 - 3,53 (m, 1 H) 3,54 - 3,64 (m, 2 H) 3,68 - 3,74 (m, 2 H) 3,77 (s, 3 H) 3,86 (br dd, $J=15,88, 7,28$ Hz, 1 H) 4,17 (br d, $J=15,44$ Hz, 1 H) 5,64 (br d, $J=11,69$ Hz, 1 H) 5,74 - 5,91 (m, 1 H) 6,06 (s, 1 H) 6,82 (d, $J=8,82$ Hz, 2 H) 7,22 (d, $J=9,04$ Hz, 2 H) 7,34 (d, $J=8,16$ Hz, 2 H) 7,48 (d, $J=8,38$ Hz, 2 H).

Chất trung gian 160a và 160b: (3S,4R,8R,9S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (160a);

(3R,4S,8R,9S)-9-(4-bromophenyl)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (160b).

Dung dịch chứa chất trung gian 159 (500,00 mg, 1,13 mmol, 1,00 đương lượng) trong axeton (5,00 mL) và H_2O (500,00 μL) được thêm NMO (198,63 mg, 1,69 mmol, 178,95 μL , 1,50 đương lượng) và OsO_4 (2,87 mg, 11,30 μmol , 0,59 μL , 0,01 đương lượng) ở -78°C. Sau đó, hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 20°C trong

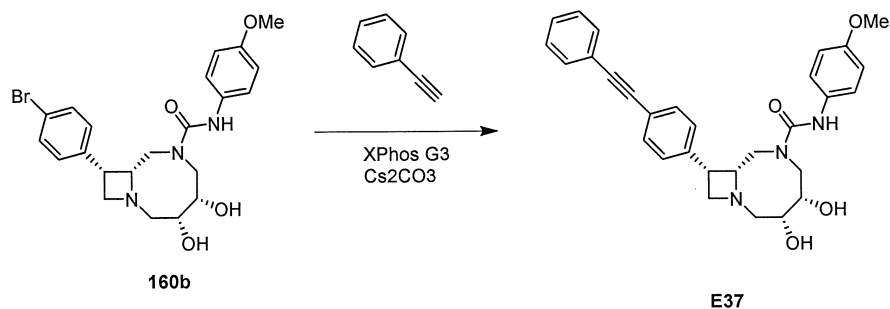
0,5 giờ. TLC cho thấy chất phản ứng được tiêu thụ hoàn toàn, hai sản phẩm mong muốn được quan sát thấy, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat). Chất trung gian 160a (100,00 mg, 209,93 μmol , hiệu suất 61,92%) thu được dưới dạng chất rắn màu trắng (^1H NMR (400 MHz, $\text{CHLOROFORM-}d$) δ ppm 2,17 - 2,37 (m, 1 H) 2,63 (br d, $J=13,16$ Hz, 1 H) 2,90 (br dd, $J=13,37$, 8,55 Hz, 1 H) 3,23 (br d, $J=15,79$ Hz, 1 H) 3,39 - 3,45 (m, 1 H) 3,46 - 3,52 (m, 2 H) 3,58 (br d, $J=5,26$ Hz, 2 H) 3,73 - 3,83 (m, 5 H) 3,95 (br s, 1 H) 4,11 (br dd, $J=15,57$, 5,04 Hz, 1 H) 4,25 (br s, 1 H) 6,81 (d, $J=8,77$ Hz, 2 H) 7,16 (d, $J=8,77$ Hz, 2 H) 7,32 (d, $J=8,33$ Hz, 2 H) 7,44 (d, $J=8,33$ Hz, 2 H) 7,92 (br s, 1 H)) và chất trung gian 160b (275,00 mg, 577,29 μmol , hiệu suất 72,98%) dưới dạng chất rắn màu trắng (^1H NMR (400 MHz, $\text{CHLOROFORM-}d$) δ ppm 2,27 (br s, 1 H) 2,79 (br d, $J=14,03$ Hz, 1 H) 2,93 - 3,05 (m, 1 H) 3,27 - 3,52 (m, 1 H) 3,45 - 3,52 (m, 3 H) 3,54 - 3,70 (m, 5 H) 3,73 - 3,82 (m, 4 H) 6,79 (d, $J=9,21$ Hz, 2 H) 7,21 (d, $J=8,77$ Hz, 2 H) 7,25 - 7,30 (m, 1 H) 7,27 (d, $J=6,82$ Hz, 1 H) 7,28 - 7,31 (m, 1 H) 7,47 (d, $J=8,33$ Hz, 2 H)).

Tổng hợp E36: (3S,4R,8R,9S)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamid (E36).

Dung dịch chứa chất trung gian 160a (10,00 mg, 20,99 μmol , 1,00 đương lượng), etynylbenzen (6,43 mg, 62,97 μmol , 6,91 μL , 3,00 đương lượng) trong CH_3CN (150,00 μL) được thêm Cs_2CO_3 (27,36 mg, 83,96 μmol , 4,00 đương lượng) và Xphos Pd G3 (1,78 mg, 2,10 μmol , 0,10 đương lượng) trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 1 được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp phản ứng được lọc, bánh lọc được rửa bằng DCM (10 mL), dịch lọc được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỏ/ethyl axetat = 1:1) và sau đó được tinh chế thêm bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5u; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E36 (4,00 mg, 8,04 μmol , hiệu suất 38,30%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CHLOROFORM-}d$) δ ppm 2,31 - 2,44 (m, 1 H) 2,73 (br d, $J=13,45$ Hz, 1 H) 2,92 - 2,99 (m, 1 H) 3,33 (br d, $J=15,66$ Hz, 1 H) 3,57 (br t, $J=7,39$ Hz, 2 H) 3,70 (br d, $J=4,63$ Hz, 1 H) 3,75 - 3,85 (m, 4 H) 3,87 - 3,94 (m, 1 H) 4,00 (br s, 1 H) 4,16 (br d, $J=16,32$ Hz, 1 H) 6,83 (br d, $J=8,82$ Hz, 2 H)

7,21 (br d, $J=8,82$ Hz, 2 H) 7,35 (br s, 3 H) 7,44 (br d, $J=7,94$ Hz, 2 H) 7,49 - 7,59 (m, 4 H) 7,82 (br s, 1 H).

Ví dụ 37: (3R,4S,8R,9S)-3,4-dihydroxy-N-(4-metoxyphenyl)-9-[4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1,6-diazabicyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit ("E37").



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 160b (10,00 mg, 20,99 μmol , 1,00 đương lượng), etynylbenzen (6,43 mg, 62,98 μmol , 6,92 μL , 3,00 đương lượng) trong CH_3CN (150,00 μL) được thêm Cs_2CO_3 (27,36 mg, 83,97 μmol , 4,00 đương lượng) và Xphos Pd G3 (1,78 mg, 2,10 μmol , 0,10 đương lượng) trong khí quyển N_2 . Hỗn hợp này được khuấy ở 70°C trong 1 giờ. LCMS cho thấy chất phản ứng 160b được tiêu thụ hoàn toàn, phần lớn là sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp phản ứng được lọc, bánh lọc được rửa bằng DCM (5 mL), dịch lọc được cô đặc để tạo ra chất cặn. Chất cặn này được tinh chế bằng TLC điều chế (SiO_2 , ete dầu mỏ/etyl axetat = 1:1), sau đó được tinh chế thêm bằng HPLC điều chế (cột: Waters Xbridge Prep OBD C18 150*30 5 μ ; A: nước (0,225% axit formic) B: axetonitril) để tạo ra hợp chất E37 (5,00 mg, 10,05 μmol , hiệu suất 47,87%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CHLOROFORM}-d$) δ ppm 2,32 (br s, 1 H) 2,60 (br s, 2 H) 2,87 (br d, $J=14,11$ Hz, 1 H) 3,06 (dd, $J=14,00$, 6,95 Hz, 1 H) 3,29 - 3,48 (m, 2 H) 3,57 - 3,65 (m, 2 H) 3,71 (br d, $J=5,51$ Hz, 4 H) 3,77 (s, 3 H) 3,80 - 3,84 (m, 1 H) 6,66 (br s, 1 H) 6,82 (d, $J=8,82$ Hz, 2 H) 7,20 - 7,26 (m, 2 H) 7,27 (s, 1 H) 7,33 - 7,43 (m, 5 H) 7,49 - 7,57 (m, 4 H).

Ví dụ 38: (3*R*,4*S*,8*R*,9*S*,10*S*)-*N*-(4-xyclopropoxyphenyl)-10-((dimethylamino)metyl)-3,4-dihydroxy-9-(4-(phenyletynyl)phenyl)-1,6-diazabixyclo[6.2.0]decan-6-carboxamit (E38)

Mặt khác, việc tổng hợp hợp chất E38 được thực hiện bằng con đường tổng hợp giống như tổng hợp hợp chất E1 trong đó chất trung gian 4b được sử dụng thay cho chất trung gian 4a. Sau đó là các bước phản ứng tương tự như đã được mô tả trên đây.

Đo hoạt tính sinh học

Ví dụ 39: Thử nghiệm và nuôi cấy *in vitro* *P. falciparum* giai đoạn trong máu.

Các chủng *P. falciparum* (Dd2, 3D7, D6, K1, NF54, V1/3, HB3, 7G8, FCB và TM90C2B) lấy từ Trung tâm tài nguyên thuốc thử tham khảo và nghiên cứu bệnh sốt rét (Malaria Research and Reference Reagent Resource Center: MR4). Các mẫu phân lập *P. falciparum* được duy trì trong máu O⁺ của người trong khí quyển chứa 93% N₂, 4% CO₂, 3% O₂ ở 37°C trong môi trường nuôi cấy đầy đủ (10,4 g/L RPMI 1640, 5,94 g/L HEPES, 5 g/L albumax II, 50 mg/L hypoxantin, 2,1 g/L natri bicarbonat, 10% huyết thanh người và 43 mg /L gentamicin). Ký sinh trùng được nuôi cấy trong môi trường cho đến khi hàm lượng ký sinh trùng đạt từ 3% đến 8%. Hàm lượng ký sinh trùng được xác định bằng cách kiểm tra ít nhất 500 tế bào hồng cầu từ vệt máu nhuộm Giemsa. Để sàng lọc hợp chất, dịch pha loãng của ký sinh trùng ở 2,0% hàm lượng ký sinh trùng và 2,0% tỷ lệ thể tích hồng cầu được tạo ra với môi trường. 25 µl môi trường được phân phối vào các đĩa màu đen 384 lỗ có đáy trong và 100 nl mỗi hợp chất trong DMSO được chuyển vào các đĩa thử nghiệm này cùng với hợp chất đối chứng (mefloquin). Sau đó, 25 µl huyền phù của ký sinh trùng trong môi trường được phân phối vào các đĩa thử nghiệm tạo ra hàm lượng cuối của ký sinh trùng là 1% và tỷ lệ thể tích hồng cầu cuối là 1%. Các đĩa thử nghiệm này được ủ trong 72 giờ ở 37°C. 10 µl thuốc thử phát hiện chứa 10× SYBR Green I (Invitrogen; được cung cấp với nồng độ 10000×) trong đệm ly giải (20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 0,16% (khối lượng/thể tích) Saponin, 1,6% (thể tích/thể tích) Triton X-100) được phân phối vào các đĩa thử nghiệm. Để nhuộm tối ưu, các đĩa thử nghiệm này được để ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ trong bóng tối. Các đĩa thử nghiệm này được đọc bằng gương lưỡng sắc 505 với thiết lập kích thích là 485 nm và bức xạ là 530 nm trong Envision (PerkinElmer).

Bằng cách thực hiện theo quy trình được mô tả trên đây, đo được nồng độ có hiệu quả 50% (EC₅₀ : 50% effective concentration) của các hợp chất từ E1 đến E38 chống lại *P. falciparum* Dd2 và kết quả được thể hiện trong Bảng 4 dưới đây dưới dạng +++ cho EC₅₀ thấp hơn 50 nM, ++ cho EC₅₀ từ 50 nM đến 250 nM và + cho EC₅₀ >250 nM.

Bảng 4

Ví dụ	Pf Dd2 (nM)						
E1	+++	E11	++	E21	+	E31	+
E2	+++	E12	++	E22	+	E32	+
E3	+	E13	+++	E23	++	E33	+++
E4	+++	E14	+++	E24	+	E34	+++
E5	+++	E15	+++	E25	++	E35	+++
E6	+++	E16	+	E26	+++	E36	++
E7	+++	E17	+++	E27	+++	E37	++
E8	++	E18	+	E28	++	E38	+++
E9	+++	E19	++	E29	++		
E10	+++	E20	+	E30	+		

Ví dụ 40: Thử nghiệm *in vitro* *P. berghei* giai đoạn trong gan.

Các tế bào HepG2 (ATCC) được duy trì trong DMEM, 10% (thể tích/ thể tích) FBS (Sigma), và 1% (thể tích/ thể tích) kháng sinh - chống nấm trong máy ủ nuôi cấy mô tiêu chuẩn (37°C, 5% CO₂). Muỗi *A. stephensi* nhiễm *P. berghei* (ANKA GFP-luc) được lấy từ phòng nghiên cứu côn trùng trung tâm y tế Langone, Đại học New York. Để thử nghiệm, ~17500 tế bào HepG2 mỗi lỗ được thêm hai lần vào đĩa vi chuẩn độ

384 lỗ. Sau từ 18 đến 24 giờ ở 37°C, môi trường được đổi và thêm các hợp chất. Sau 1 giờ, ký sinh trùng thu được từ muỗi mới mổ được thêm vào các đĩa (4000 ký sinh trùng mỗi đĩa), các đĩa này được ly tâm trong 10 phút ở 1000 vòng mỗi phút. và sau đó được ủ ở 37°C. Thể tích thử nghiệm cuối là 30 μ l. Sau 48 giờ ủ ở 37°C, Bright-Glo (Promega) được thêm vào đĩa chứa ký sinh trùng trên đây để đo sự phát quang. Cường độ tín hiệu tương đối của mỗi đĩa được đánh giá bằng hệ thống EnVision (PerkinElmer).

Ví dụ 41: Thử nghiệm *in vitro* *P. falciparum* giai đoạn trong gan.

Đồng nuôi cấy vi mô hình (MPCC: Micropatterned co-culture) là hệ đồng nuôi cấy *in vitro* các tế bào gan sơ cấp của người được tổ chức thành các cụm và được bao quanh bởi các tế bào đệm hỗ trợ. Khi được đánh giá bởi các chức năng cụ thể chính của gan và sự biểu hiện của gen, các tế bào gan ở dạng này duy trì kiểu hình chức năng cho đến từ 4 đến 6 tuần mà không cần làm tăng sinh. Một cách gọn, các đĩa 96 lỗ được phủ đồng nhất bằng collagen typ I đuôi chuột cống (50 μ g /mL) và được áp dụng các kỹ thuật in thạch bản mềm để tạo mẫu collagen vào miền siêu nhỏ đảo 500 μ m làm trung gian kết dính tế bào gan chọn lọc. Để tạo ra MPCC, các tế bào gan sơ cấp của người bảo quản lạnh (BioreclamationIVT) được làm viên kết bằng cách ly tâm ở 100g trong 6 phút ở 4°C, được đánh giá khả năng sống bằng cách đếm tế bào với Trypan blue (thường từ 70% đến 90%), và được nuôi giống trên các đĩa collagen vi mô hình (mỗi lỗ chứa ~10000 tế bào gan được tổ chức thành các cụm 500 μ M) trong DMEM không chứa huyết thanh với 1% penicillin–streptomycin. Sau từ 2 đến 3 giờ, các tế bào này được rửa bằng DMEM không chứa huyết thanh với 1% penicillin–streptomycin và được thay thế bằng môi trường nuôi cấy tế bào gan người 48. Sau 24 giờ nuôi giống tế bào gan, nguyên bào sợi phôi chuột nhất 3T3-J2 được nuôi giống (7000 tế bào mỗi lỗ).

Sau 1 ngày sau nuôi giống tế bào gan, các MPCC được nhiễm 75000 thoa trùng (NF54) (Johns Hopkins University). Sau khi ủ ở 37°C và 5% CO₂ trong 3 giờ, các lỗ được rửa 1 lần bằng PBS, và thêm các hợp chất tương ứng. Các mẫu nuôi được định lượng hàng ngày. Các mẫu được cố định ở ngày 3,5 sau gây nhiễm. Để nhuộm huỳnh quang miễn dịch, MPCC được cố định bằng -20°C metanol trong 10 phút ở 4°C, được rửa 2 lần bằng PBS, được phong bế bằng 2% BSA trong PBS, được ủ với kháng thể kháng *P. falciparum* Hsp70 từ chuột nhất (dòng 4C9, 2 μ g /mL) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các mẫu được rửa bằng PBS sau đó được ủ với kháng thể dê kháng chuột

thứ cấp liên hợp với Alexa 488 trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các mẫu được rửa bằng PBS, được nhuộm tương phản bằng thuốc nhuộm ADN Hoechst 33258 (Invitrogen; 1:1000), và được gắn lên tấm kính với flomount G (Southern Biotech). Các hình ảnh được chụp lại trên kính hiển vi huỳnh quang Nikon Eclipse Ti. Đường kính của ký sinh trùng giai đoạn trong gan đang phát triển được đo và được sử dụng để tính diện tích tương ứng.

Ví dụ 42: Thử nghiệm hóa sinh PheRS tế bào chất của *P. falciparum*.

Các trình tự protein của các cấu trúc dưới phân tử α (PF3D7_0109800) và β (PF3D7_1104000) của *P. falciparum* PheRS tế bào chất được lấy từ PlasmoDB (<http://plasmodb.org/plasmo/>). Các trình tự gen của cấu trúc dưới phân tử α và β có chiều dài đầy đủ đã tối ưu hóa để biểu hiện trong *E. coli* được tách dòng vào các vector biểu hiện pETM11 (kháng kanamycin) và pETM20 (kháng ampicillin) sử dụng các vị trí NcoI và KpnI và được đồng biến nạp vào tế bào *E. coli* B834. Sự biểu hiện của protein được cảm ứng bằng cách thêm 0,5 mM isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) và các tế bào được phát triển cho đến khi đạt đến OD₆₀₀ 0,6–0,8 ở 37°C. Sau khi cảm ứng, các tế bào được để cho phát triển ở 18°C trong 20 giờ. Các tế bào được tách bằng ly tâm ở 5000g trong 20 phút và viên kết vi khuẩn được tạo huyền phù trong dung dịch đệm chứa 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 200 mM NaCl, 4 mM β -mercaptoethanol, 15% (thể tích/thể tích) glycerol, 0,1 mg/mL lysozym và 1 mM phenylmethylsulfonyl florua (PMSF). Các tế bào được phân giải bằng sóng siêu âm và được làm trong bằng ly tâm ở 20000g trong 1 giờ. Dịch nổi được nạp lên cột NiNTA đóng gói sẵn (GE Healthcare), và các protein đã bám được rửa giải bằng cách trộn gradien với dung dịch đệm rửa giải (50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 80 mM NaCl, 4 mM β -mercaptoethanol, 15% (thể tích/thể tích) glycerol, 1 M imidazol). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được nạp vào cột heparin để tinh chế thêm. Một lần nữa, các protein đã bám được rửa giải bằng cách sử dụng gradien của dung dịch đệm rửa giải heparin 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1 M NaCl, 4 mM β -mercaptoethanol, 15% (thể tích/thể tích) glycerol). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại một lần nữa và được thẩm tách qua đệm trong dung dịch đệm chứa 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 200 mM NaCl, 4 mM β -mercaptoethanol, 1 mM DTT và 0,5 mM EDTA. TEV proteaza (protease:protein theo tỷ lệ 1:50) được thêm vào mẫu protein và ủ ở 20°C trong 24 giờ để loại bỏ đuôi

polyhistidin. Protein được tinh chế thêm bằng sắc ký lọc gel trên cột GE HiLoad 60/600 Superdex trong 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 200 mM NaCl, 4 mM β -mercaptoethanol, 1 mM $MgCl_2$. Protein đã được rửa giải (heterodime của *P. falciparum* cPheRS) được thu, được đánh giá độ tinh khiết bằng SDS-PAGE và được bảo quản ở $-80^\circ C$.

tRNAPhe mã hóa trong nhân từ *P. falciparum* được tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp phiên mã *in vitro* như được mô tả trong Nature 538, 344–349 (20 October 2016) doi:10.1038/nature19804. Các thử nghiệm aminoacyl hóa và ức chế enzym cho *P. falciparum* PheRS phần bào tan được thực hiện như được mô tả trong *Biochem. J.* 465, 459–469 (2015). Thử nghiệm enzym được thực hiện trong đệm chứa 30 mM HEPES (pH 7,5), 150 mM NaCl, 30 mM KCl, 50 mM $MgCl_2$, 1 mM DTT, 100 μM ATP, 100 μM L-phenylalanin, 15 μM *P. falciparum* tRNAPhe, 2 U /mL *E. coli* pyrophosphatase vô cơ (NEB) và 500 nM *P. falciparum* PheRS tái tổ hợp ở $3^\circ C$. Các phản ứng được dừng lại ở các thời điểm khác nhau bằng cách thêm 40 mM EDTA và sau đó chuyển vào đá. Protein gắn maltoza tái tổ hợp được sử dụng làm đối chứng âm tính. Thử nghiệm ức chế cPheRS được thực hiện bằng cách sử dụng các nồng độ của chất ức chế là 0,01 nM, 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 μM , 5 μM và 10 μM cho các chất gắn mạnh và 1 nM, 10 nM, 100 nM, 1 μM , 10 μM , 100 μM và 500 μM cho các chất gắn yếu hơn trong dung dịch đệm thử nghiệm. Thử nghiệm enzym và thử nghiệm ức chế được thực hiện 2 lần gồm ba bản sao.

Ví dụ 43: Thử nghiệm gây độc tế bào trên tế bào động vật có vú.

Tế bào động vật có vú (HepG2, A549, và HEK293) được thu từ ATCC và được nuôi cấy theo các thông thường trong DMEM với 10% FBS và 1% (thể tích/thể tích) kháng sinh - chống nấm. Đối với thử nghiệm gây độc, 1×10^6 tế bào được nuôi giống vào đĩa 384 lỗ 1 ngày trước khi xử lý bằng hợp chất. Các tế bào được xử lý với liều tăng dần của hợp chất trong 72 giờ, và khả năng sống được đo bằng cách sử dụng Cell-Titer Glo (Promega). Tất cả các dòng tế bào được kiểm tra xem có tạp nhiễm *Mycoplasma* bằng cách sử dụng kit phát hiện mycoplasma thông dụng (ATCC: Universal mycoplasma Detection Kit).

Ví dụ 44: Thử nghiệm *in vitro* ADME/PK và thử nghiệm an toàn.

Các thử nghiệm đánh giá *in vitro* (sự liên kết của protein, sự ổn định của vi lập

thể, sự ổn định tế bào gan, sự ức chế P450 sắc tố tế bào (CYP : cytochrome P450), và tính tan trong nước) được thực hiện theo các kỹ thuật tiêu chuẩn công nghiệp. Các nghiên cứu về sự ức chế kênh ion được thực hiện bằng cách dùng hệ thống Q-Patch sử dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn.

Ví dụ 45: Thử nghiệm *in vivo* *P. berghei* giai đoạn trong máu.

Các con chuột nhắt CD-1 ($n = 4$ cho mỗi nhóm thử nghiệm; con cái; 6–7 tuần tuổi; 20–24 g, Charles River) được gây nhiễm vào trong tĩnh mạch với khoảng 1×10^5 ký sinh trùng *P. berghei* (ANKA GFP-luc) giai đoạn trong máu 24 giờ trước khi điều trị và các hợp chất được sử dụng qua đường miệng (ở 0 giờ). Hàm lượng ký sinh trùng được theo dõi bằng hệ thống chụp ảnh *in vivo* (IVIS SpectrumCT, PerkinElmer) để có được tín hiệu phát quang sinh học (150 mg kg^{-1} luciferin được tiêm vào màng bụng khoảng 10 phút trước khi chụp ảnh). Ngoài ra, các mẫu vệt máu được thu định kỳ từ mỗi con chuột nhắt, được nhuộm bằng Giemsa, và được quan sát dưới kính hiển vi để phát hiện bằng trực quan hàm lượng ký sinh trùng trong máu. Các con chuột nhắt với hàm lượng ký sinh trùng vượt quá 25% được gây chế nhạo.

Ví dụ 46: Thử nghiệm phòng ngừa hậu quả *in vivo* do *P. berghei*.

Các con chuột nhắt CD-1 ($n = 4$ cho mỗi nhóm thử nghiệm; con cái; 6–7 tuần tuổi; 20–24 g, Charles River) được gây nhiễm vào trong tĩnh mạch với khoảng 1×10^5 thoa trùng *P. berghei* (ANKA GFP-luc) mới được cắt ra từ muỗi *A. stephensi*. Ngay sau khi gây nhiễm, các con chuột nhắt này được điều trị bằng các liều duy nhất của hợp chất; sự gây nhiễm được theo dõi như được mô tả trong thử nghiệm *P. berghei* giai đoạn nội hồng cầu. Đối với các thí nghiệm thời gian, thời gian điều trị bằng hợp chất (liều dùng trong miệng duy nhất 10 mg kg^{-1}) là giao động từ 5 ngày trước khi gây nhiễm đến 2 ngày sau khi gây nhiễm.

Ví dụ 47: Thử nghiệm *in vivo* *P. berghei* giai đoạn lây truyền.

Các con chuột nhắt CD-1 ($n = 3$ cho mỗi nhóm thử nghiệm; con cái; 6–7 tuần tuổi; 21–24 g, Charles River) được gây nhiễm với *P. berghei* (ANKA GFP-luc) trong 96 giờ trước khi điều trị bằng chất dẫn hoặc hợp chất (ngày 0). Ở ngày 2, muỗi cái *A. stephensi* được để cho đốt chuột trong 20 phút. Sau 1 tuần (ngày 9), trung tràng của

muỗi được mổ ra và kén hợp tử được đếm dưới kính hiển vi (độ phóng đại $12,5\times$).

Ví dụ 48: Thử nghiệm *in vivo* *P. falciparum* giai đoạn trong máu.

P. falciparum (3D7HLH/BRD) đã thích nghi *in vivo* được chọn như được mô tả trong PLoS One 3, e2252 (2008). Một cách ngắn gọn, các con chuột nhắt NSG ($n = 2$ cho mỗi nhóm thử nghiệm; con cái; 4–5 tuần tuổi; 19–21 g; The Jackson Laboratory) được tiêm hàng ngày vào trong màng bụng với 1 ml tế bào hồng cầu của người (O^+ , 50% tỷ lệ thể tích hồng cầu, 50% RPMI 1640 với 5% albumax) để tạo ra chuột nhắt với tế bào hồng cầu tuần hoàn tương thích với người (huRBC NSG). Khoảng 2×10^7 *P. falciparum* 3D7HLH/BRD giai đoạn trong máu (FASEB J. 25, 3583–3593 (2011)) được gây nhiễm trong tĩnh mạch cho chuột nhắt huRBC NSG và hàm lượng ký sinh trùng $>1\%$ đạt được sau 5 tuần gây nhiễm. Sau 3 lần cấy chuyển *in vivo*, ký sinh trùng được làm đông lạnh và được sử dụng cho thử nghiệm. Khoảng 48 giờ sau gây nhiễm với 1×10^7 *P. falciparum* 3D7HLH/BRD giai đoạn trong máu, hàm lượng ký sinh trùng trung bình là khoảng 0,4%. Chuột nhắt huRBC NSG được điều trị qua đường miệng với liều duy nhất của hợp chất và hàm lượng ký sinh trùng được theo dõi trong 30 ngày bằng IVIS để thu được tín hiệu phát quang sinh học (150 mg kg^{-1} luciferin được tiêm vào màng bụng khoảng 10 phút trước khi chụp ảnh).

Ví dụ 49: Thử nghiệm *in vivo* *P. falciparum* giai đoạn lây truyền.

Các con chuột nhắt huRB CNSG ($n=2$ cho mỗi nhóm thử nghiệm; con cái; 4–5 tuần tuổi; 18–20 g; Jackson Laboratory) được gây nhiễm với *P. falciparum* 3D7HLH/BRD giai đoạn trong máu trong 2 tuần để cho phép sự phát triển của tế bào mẹ giao tử trưởng thành. Sau đó, chuột nhắt được điều trị bằng liều dùng qua đường miệng duy nhất của hợp chất. Các mẫu máu được thu trong 11 ngày. Để phát hiện phân tử các giai đoạn của ký sinh trùng, 40 μ l máu thu được từ các con chuột nhắt đối chứng và chuột nhắt được điều trị. Một cách ngắn gọn, ARN tổng số được phân lập từ các mẫu máu bằng cách sử dụng RNeasy Plus Kit với các cột khử ADN bộ gen (Qiagen). Việc tổng hợp cADN mạch đầu tiên được thực hiện từ ARN đã chiết bằng cách sử dụng hệ thống tổng hợp mạch đầu tiên SuperScript III (Life Technologies). Các giai đoạn của ký sinh trùng được định lượng bằng cách sử dụng thử nghiệm qRT–PCR đặc trưng giai đoạn như được mô tả trong Sci. Transl. Med. 6, 244re5 (2014). Các mẫu được thiết kế

để đo mức sản phẩm phiên mã của PF3D7_0501300 (ký sinh trùng giai đoạn vòng), PF3D7_1477700 (tế bào mẹ giao tử chưa trưởng thành) và PF3D7_1031000 (tế bào mẹ giao tử trưởng thành). Các mẫu cho sản phẩm phiên mã của PF3D7_1120200 (*P. falciparum* UCE) được sử dụng làm chỉ thị cho sự biểu hiện cơ bản của ký sinh trùng. Thử nghiệm này được thực hiện bằng cách sử dụng cADN trong tổng thể tích phản ứng 20 μ l, chứa các mẫu cho mỗi gen ở nồng độ cuối là 250 nM. Việc khuếch đại được thực hiện trên máy qRT-PCR Viia7 (Life Technologies) sử dụng SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems) với điều kiện phản ứng như sau: 1 chu kỳ $\times$ 10 phút ở 95°C và 40 chu kỳ $\times$ 1 giây ở 95°C và 20 giây ở 60°C. Mỗi mẫu cADN được chạy 3 lần và giá trị Ct trung bình được sử dụng cho phân tích. Các giá trị Ct thu được trên đối chứng âm tính cho mỗi chỉ thị được xem là âm tính với sự có mặt của các sản phẩm phiên mã cụ thể. Các mẫu máu từ mỗi chuột nhất trước khi nhiễm ký sinh trùng cũng được kiểm tra cho “sự nhiễu nền” bằng cách sử dụng cùng bộ mẫu. Không có sự khuếch đại được phát hiện từ các mẫu bất kỳ.

Ví dụ 50: Thử nghiệm *in vivo* *P. falciparum* giai đoạn trong gan.

Các con chuột nhắt FRG bị bất hoạt C57BL/6 (được phục hồi quần thể bởi người, >70%) (huHep FRG bất hoạt; $n = 2$ cho mỗi nhóm thử nghiệm; con cái; 5,5–6 tháng tuổi; 19–21 g; Yecuris) được gây nhiễm vào trong tĩnh mạch với khoảng 1×10^5 thoa trùng *P. falciparum* (NF54HT-GFP-luc) và hợp chất được sử dụng với liều dùng qua đường miệng duy nhất 10 mg kg⁻¹ một ngày sau khi gây nhiễm. Sự gây nhiễm được theo dõi hàng ngày bằng IVIS. Sau 5 ngày gây nhiễm, bắt đầu đưa vào hàng ngày tế bào bạch cầu của người (0,4 ml, O⁺, 50% tỷ lệ thể tích hồng cầu, 50% RPMI 1640 với 5% albumax). Sau 7 ngày gây nhiễm, thu các mẫu máu (40 μ l) để phân tích qPCR. Để phát hiện phân tử ký sinh trùng giai đoạn trong máu, 40 μ l máu thu được từ chuột nhắt đối chứng và chuột nhắt được điều trị. Một cách ngắn gọn, ARN tổng số được phân lập từ các mẫu máu bằng cách sử dụng RNeasy Plus Kit với các cột khử ADN bộ gen (Qiagen). Việc tổng hợp cADN mạch đầu tiên được thực hiện từ ARN đã chiết bằng cách sử dụng hệ thống tổng hợp mạch đầu tiên SuperScript III (Life Technologies). Sự có mặt của ký sinh trùng giai đoạn trong máu được định lượng bằng cách sử dụng thử nghiệm qRT-PCR đặc trưng giai đoạn cao như được mô tả trong PLOS Comput. Biol. 9, e1003392 (2013). Các mẫu được thiết kế để đo mức sản phẩm phiên mã của

PF3D7_1120200 (*P. falciparum* UCE). Thử nghiệm này được thực hiện bằng cách sử dụng cADN trong tổng thể tích phản ứng 20 μ l chứa các môi cho mỗi gen ở nồng độ cuối là 250 nM. Việc khuếch đại được thực hiện trên máy qRT-PCR Viia7 (Life Technologies) sử dụng SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems) và điều kiện phản ứng như sau: 1 chu kỳ $\times$ 10 phút ở 95°C và 40 chu kỳ $\times$ 1 giây ở 95°C và 20 giây ở 60°C. Mỗi mẫu cADN được chạy 3 lần và giá trị Ct trung bình được sử dụng cho phân tích. Các giá trị Ct thu được trên đối chứng âm cho mỗi chỉ thị được xem là âm tính với sự có mặt của các sản phẩm phiên mã cụ thể. Các mẫu máu từ mỗi con chuột nhất cũng được kiểm tra sự nhiễu nền sử dụng cùng bộ môi trước khi tiêm ký sinh trùng. Không có sự khuếch đại được phát hiện từ các mẫu bất kỳ.

Ví dụ 51: Thử nghiệm *in vivo* *C. parvum*.

Mô hình chuột nhắt NOD SCID gamma nhiễm *C. parvum* mãn tính không có triệu chứng được sử dụng để kiểm tra hiệu quả *in vivo* của hợp chất. Các con chuột nhắt NOD SCID gamma được gây nhiễm với $\sim 1 \times 10^5$ kén hợp tử bằng ống thông qua miệng 5-7 ngày sau cai sữa. Các con bị nhiễm bắt đầu phát tán kén hợp tử trong phân sau 1 tuần gây nhiễm, mà được đo bằng PCR định lượng (qPCR). Dựa trên thử nghiệm với đối chứng dương tính là hợp chất paromomycin, cần 4 con chuột nhắt từ mỗi nhóm thử nghiệm để đạt 80% năng lượng để phát hiện sự giảm 80% phát tán ký sinh trùng sau 4 ngày sử dụng hợp chất làm thuốc. Ngoài các nhóm theo chế độ thuốc thử nghiệm, mỗi thí nghiệm còn bao gồm các nhóm đối chứng âm tính bổ sung (dùng qua ống thông chất mang DMSO/metylcelulaza) và đối chứng dương tính bổ sung (paromomycin 2000 mg/kg dùng 1 lần mỗi ngày). Chuột nhắt được gây nhiễm tại thời điểm 5-7 ngày sau cai sữa (ngày 6), sự nhiễm bệnh được xác nhận 1 tuần sau đó (ngày 0), và các hợp chất thử nghiệm được dùng theo liều bằng ống thông qua miệng ở các ngày 1 đến ngày 4. Tần suất dùng thuốc như đã được chỉ định. Hiệu quả điều trị được đánh giá bằng cách đo sự phát tán kén hợp tử trong phân bằng qPCR ở ngày 5.

Ví dụ 52: Thử nghiệm EC₅₀ *in vitro* *C. parvum*.

Tế bào ung thư tuyến van hồi manh tràng của người (HCT-8) thu được từ ATCC và được duy trì trong bình nuôi cấy mô T-75 với môi trường RPMI 1640 với HEPES, natri pyruvat (1 mM), và L-glutamin (ATCC) được bổ sung 10% huyết thanh ngựa

(ATCC) và 120 U/ml penicillin và 120 µg/ml streptomycin. Các tế bào được đưa vào các đĩa có lỗ micro, 384 lỗ, đã xử lý nuôi cấy mô, có thành đen và đáy trong (BD Falcon) với mật độ 8850 tế bào/lỗ và được để cho phát triển đến hội lưu. Sau đó các tế bào này được gây nhiễm với $5,5 \times 10^3$ kén hợp tử *C. parvum* đã được gây miễn cảm sơ bộ (Bunchgrass Farms, Deary, ID) lơ lửng trong môi trường gây nhiễm (RPMI 1640 không có huyết thanh ngựa). Các kén hợp tử đã được gây miễn cảm sơ bộ để thoát nang bằng cách thực hiện theo quy trình đã được mô tả trước đó (J. Eukaryot. Microbiol. 46:56S–57S). Một cách ngắn gọn, kén hợp tử được xử lý bằng 10 mM HCl trong 10 phút ở 37°C, được ly tâm, và được xử lý bằng 2 mM dung dịch chứa natri taurocholat (Sigma-Aldrich) trong nước muối đệm phosphat (PBS : phosphat-buffered saline) với Ca^{2+} và Mg^{2+} . Huyền phù được ủ trong 10 phút ở 16°C và sau đó được pha loãng trong môi trường gây nhiễm và được thêm vào mỗi lỗ. Các tế bào bị nhiễm được ủ ở 37°C trong 3 giờ, tại thời điểm một thể tích tương đương của môi trường phát triển chứa 20% huyết thanh ngựa (nồng độ huyết thanh tổng là 10%). Các hợp chất được pha loãng và được thử nghiệm với các liều cố định là 0,12, 0,37, 1,1, 3,3, và 10 µM (mỗi nồng độ, n =14) để tạo ra các đường cong của EC₅₀. Trong trường hợp các đường cong EC₅₀ cuối cùng, 3 lỗ được để không gây nhiễm nhưng được xử lý với từng nồng độ tương ứng của hợp chất để đánh giá sự nhuộm màu nền. Tất cả các đường cong được tạo ra bằng cách sử dụng công thức log[chất ức chế] so với công thức độ dốc đáp ứng _ biến thiên trong GraphPad Prism (công thức 3), với sự ràng buộc dưới cùng được đặt bằng 0.

Bằng cách thực hiện theo quy trình đã được mô tả trên đây, đo được nồng độ có hiệu quả 50% (EC₅₀) của các hợp chất có công thức (I) chống lại *C. parvum* và kết quả được thể hiện trong Bảng 5 dưới đây.

Bảng 5

Hợp chất	EC ₅₀ (nM)
E26	98
E27	134
E15	33

E36	6
E6	95
E4	68

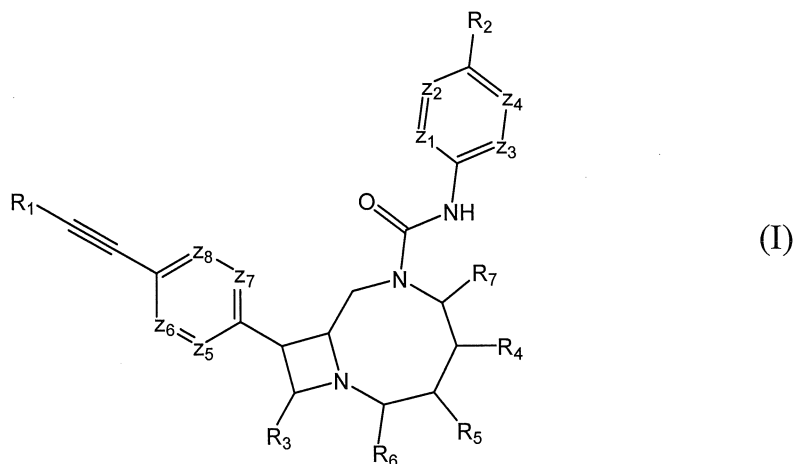
Các phương án khác

Các phần mô tả trong từng và mọi patent, đơn sáng chế, và tài liệu công bố đã trích dẫn được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng. Bản mô tả của Công bố đơn US số 2016/0289235 cũng được đưa vào bằng cách viện dẫn. Theo các phương án cụ thể, hợp chất theo sáng chế không phải là hợp chất được mô tả trong Bảng 1 của Công bố đơn US số 2016/0289235.

Mặc dù sáng chế đề xuất các phương án cụ thể, nhưng nên hiểu là nó có thể có các cải biến khác và, nói chung, sáng chế này nhằm mục đích bao gồm các biến đổi, sử dụng hoặc điều chỉnh bất kỳ sau đây, các nguyên tắc được mô tả ở đây và bao gồm cả sai số từ sáng chế đến thực tiễn thông thường hoặc đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế này và có thể được áp dụng cho các dấu hiệu cơ bản đã nêu trước đó.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



R_1 tùy ý là aryl hoặc heteroaryl được thế;

R_2 tùy ý là alkoxy, xycloalkoxy hoặc heteroxyclyl được thế;

R_3 là hydro, hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$;

R_4 và R_5 độc lập là hydro, $-\text{X}$, hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$, R_4 và R_5 có thể cùng nhau tạo thành vòng dung hợp 5 hoặc 6 cạnh, và ít nhất một trong số R_4 và R_5 không phải là hydro;

R_6 và R_7 độc lập là hydro hoặc R; và

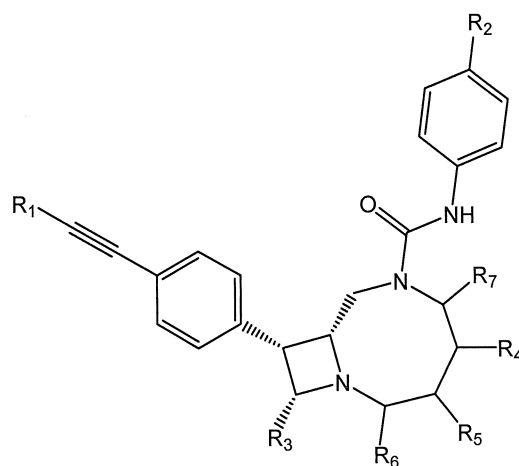
mỗi lần xuất hiện, z_1 đến z_8 độc lập được chọn từ CH hoặc N; trong đó

mỗi lần xuất hiện, $-\text{X}$ độc lập được chọn từ $-\text{OH}$, $-\text{OR}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$, $-\text{N}(\text{R})-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{N}(\text{R})(\text{R})$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NHR}$, $-\text{N}(\text{R})-\text{C}(\text{O})-\text{R}$, $-\text{NH}_2$ hoặc $-\text{N}(\text{R})(\text{R})$; và

R độc lập là $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkyl được thế tùy ý mỗi lần xuất hiện;

hoặc muối được dụng của nó,

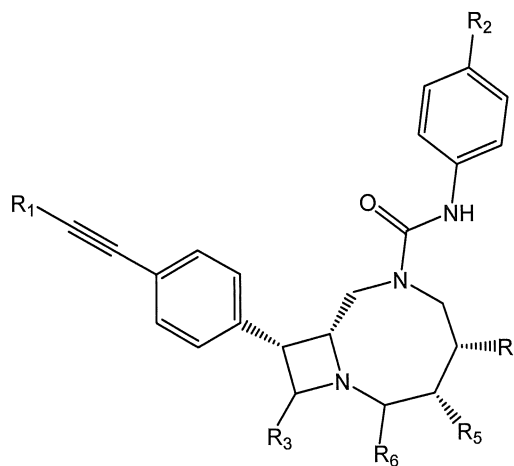
2. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (II):



(II)

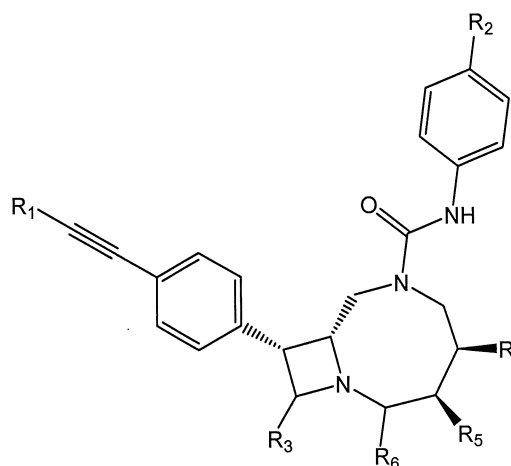
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 2 trong đó R₇ là hydro.

4. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (IIb):



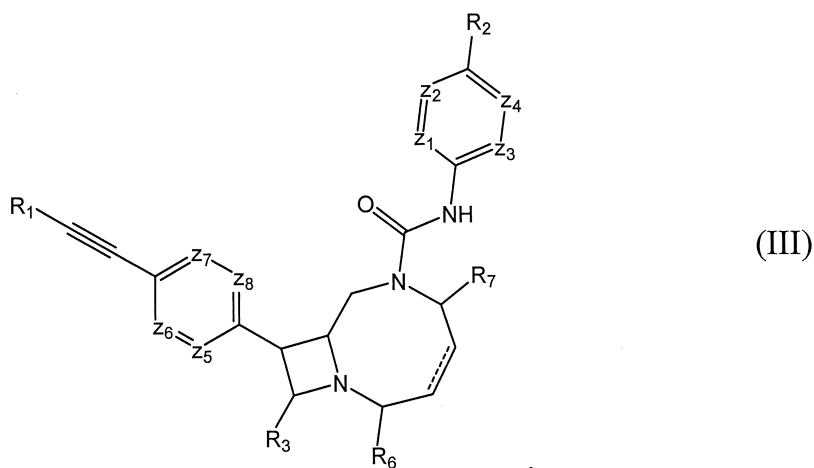
(IIb)

5. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (IIa):



(IIa)

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 5, trong đó R_4 và R_5 là cùng nhóm chức được chọn từ $-X$ hoặc $-\text{CH}_2-X$.
7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 5, trong đó R_5 là hydro và R_4 là $-X$, hoặc $-(\text{CH}_2)-X$.
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 5, trong đó R_4 là hydro và R_5 là $-X$, hoặc $-(\text{CH}_2)-X$.
9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 6 đến 8, trong đó $-X$ trong nhóm $-X$ hoặc $-(\text{CH}_2)-X$ của R_4 hoặc R_5 là $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, hoặc $-\text{N}(\text{R})(\text{R})$.
10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 5, trong đó R_4 và R_5 độc lập được chọn từ $-\text{OH}$ và $-\text{OR}$ và R_4 và R_5 cùng nhau tạo thành vòng dung hợp 6 cạnh.
11. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 10, trong đó R_6 là C_{1-4} hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh.
12. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 11, trong đó R_1 là C_6 aryl hoặc heteroaryl được thế tùy ý.
13. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 12, trong đó R_2 là C_{1-4} alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh.
14. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 12, trong đó R_2 là C_{1-4} alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh được thế bằng một hoặc nhiều F.
15. Hợp chất có công thức (III):



trong đó liên kết “nét đứt” có thể là liên kết đơn hoặc liên kết đôi;

R_1 tùy ý là aryl hoặc heteroaryl được thế;

R_2 tùy ý là alkoxy, xycloalkoxy hoặc heteroxyclyl được thế;

R_3 là hydro hoặc $-\text{CH}_2-\text{X}$;

R_6 và R_7 độc lập là hydro hoặc R; và

mỗi lần xuất hiện, từ z_1 đến z_8 độc lập được chọn từ CH hoặc N; trong đó:

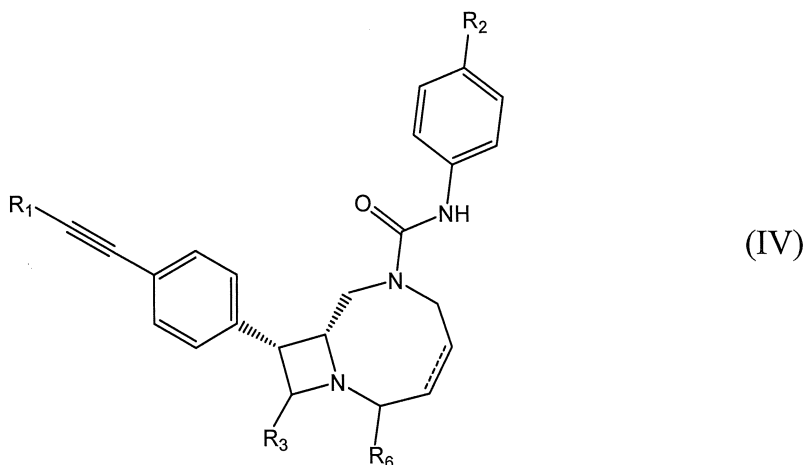
mỗi lần xuất hiện, $-\text{X}$ độc lập được chọn từ $-\text{OH}$, $-\text{OR}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$, $-\text{N}(\text{R})-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{N}(\text{R})(\text{R})$, $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NHR}$, $-\text{N}(\text{R})-\text{C}(\text{O})-\text{R}$ hoặc $-\text{N}(\text{R})(\text{R})$; và

mỗi lần xuất hiện, R độc lập là $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkyl;

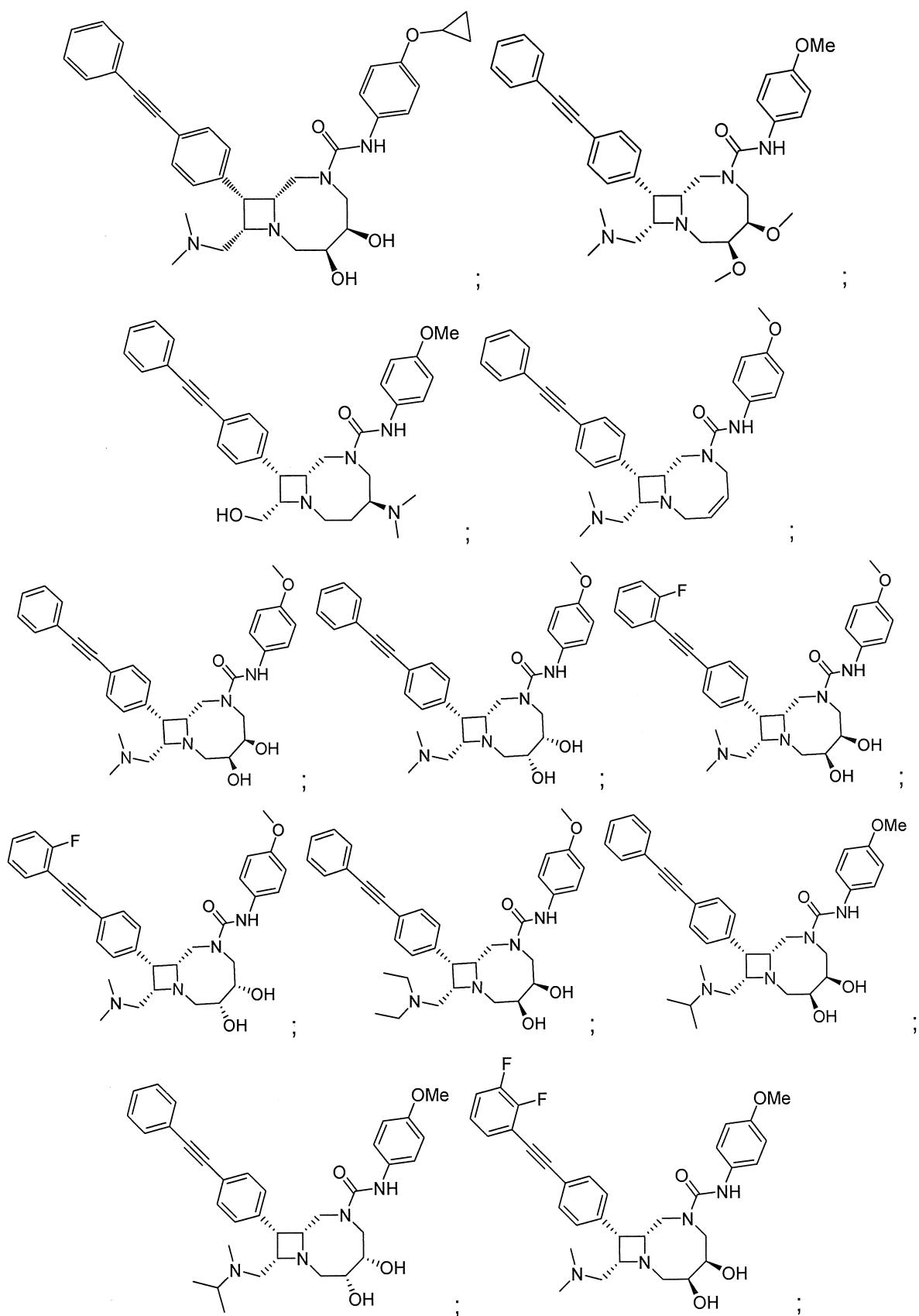
với điều kiện là trong trường hợp R_6 là hydro, thì R_3 là $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})(\text{R})$ và liên kết “nét đứt” nêu trên là liên kết đôi;

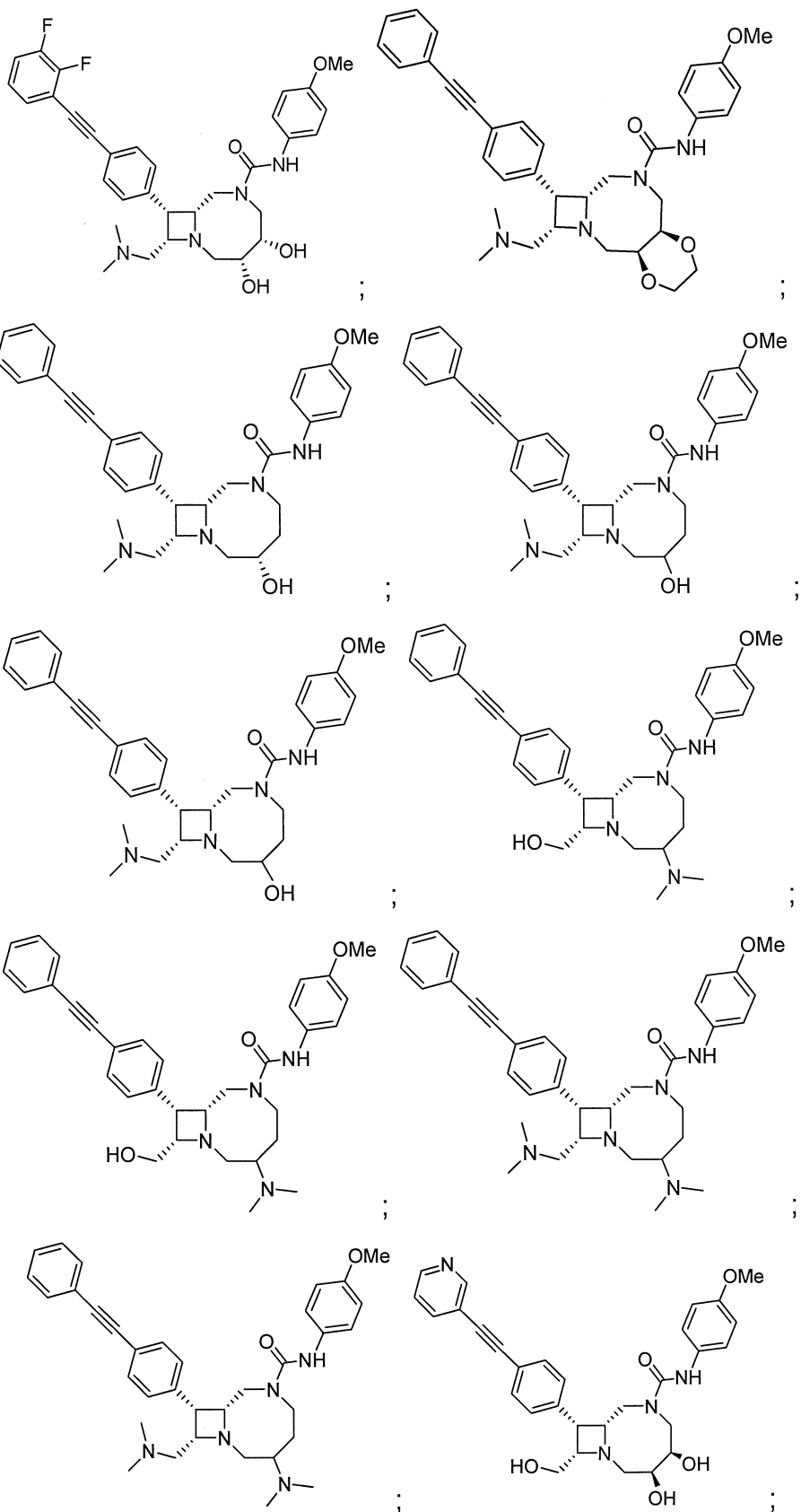
hoặc muối được dụng của nó.

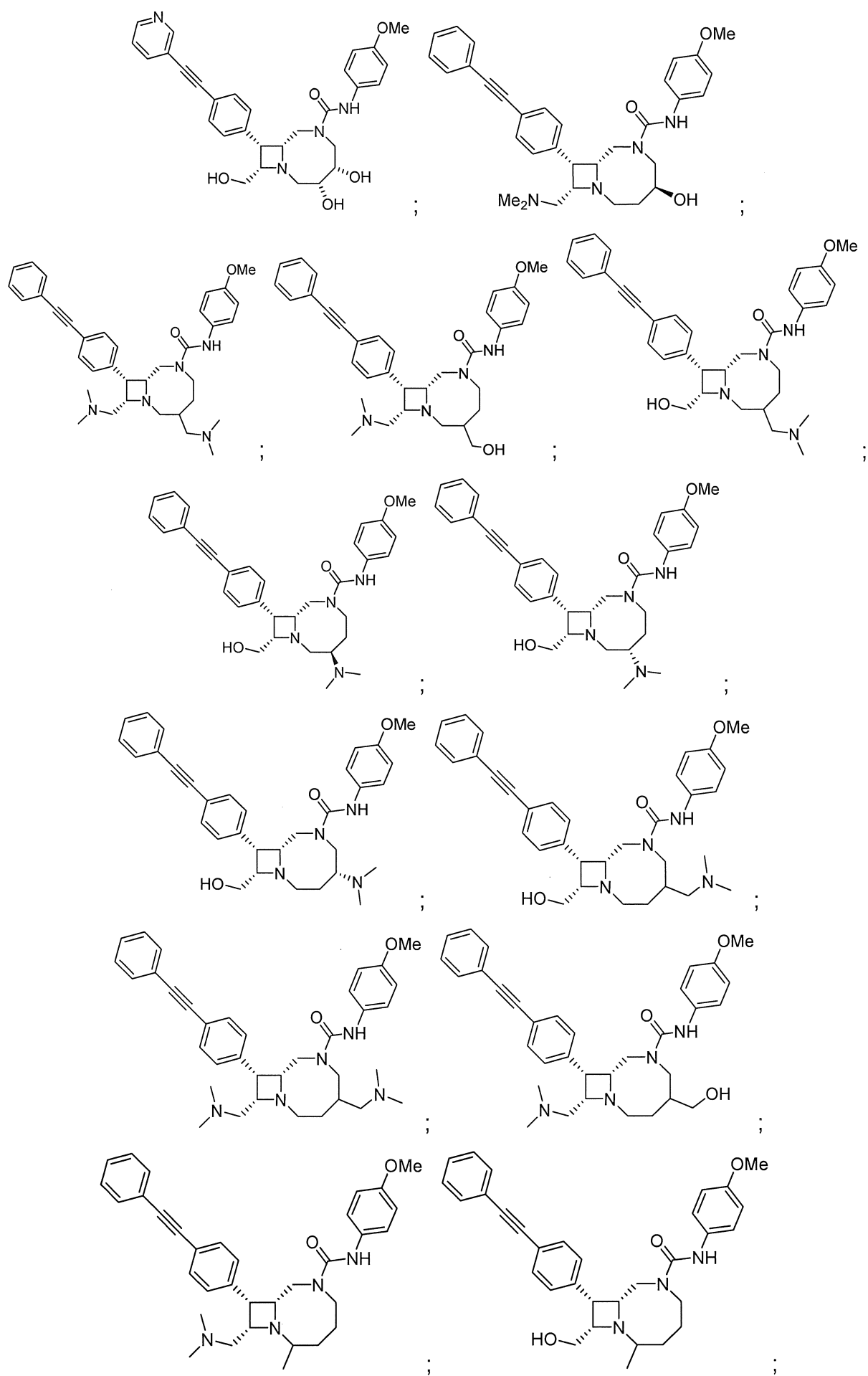
16. Hợp chất theo điểm 15 có công thức (IV):

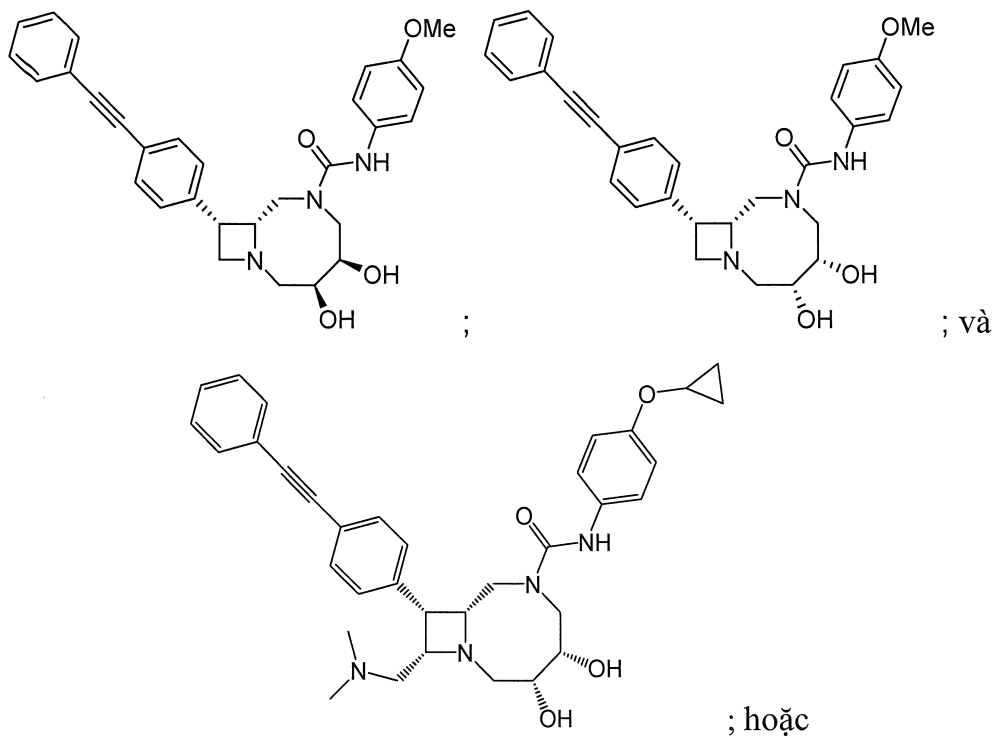


17. Hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 15, trong đó hợp chất nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất có công thức





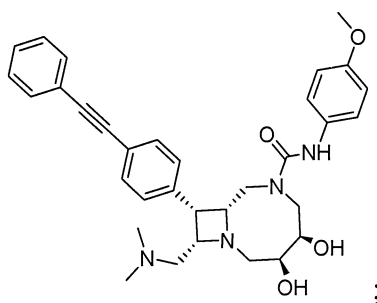




muối được dụng của nó.

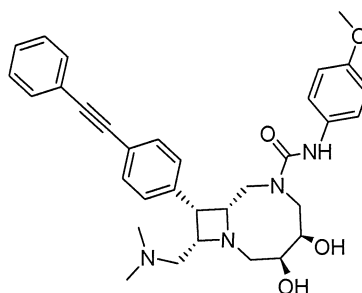
18. Dược phẩm chứa tá dược được dụng và hợp chất trong điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 17.

19. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất nêu trên có công thức:

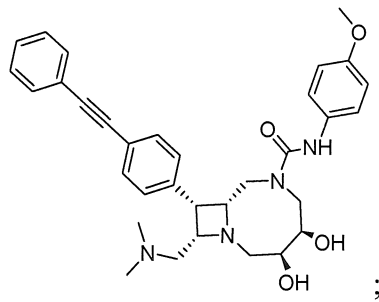


hoặc muối được dụng của nó.

20. Hợp chất theo điểm 19, trong đó hợp chất nêu trên có công thức:



21. Dược phẩm theo điểm 18, trong đó hợp chất nêu trên có công thức:



hoặc muối dược dụng của nó.

22. Dược phẩm theo điểm 21, trong đó hợp chất nêu trên có công thức:

