



(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)



1-0044282

(51)^{2020.01} C07J 63/00; A61P 31/18; A61K 31/18; (13) B
A61K 31/58

(21) 1-2021-05477

(22) 11/02/2020

(86) PCT/IB2020/051048 11/02/2020

(87) WO2020/165741 20/08/2020

(30) 201941005217 11/02/2019 IN

(45) 25/03/2025 444

(43) 27/12/2021 405A

(71) Hetero Labs Limited (IN)

Plot No B-80 & 81 A.P.I.E, Balanagar Hyderabad 500018, India

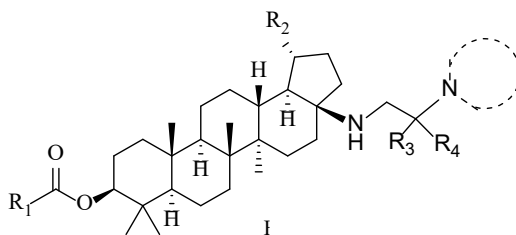
(72) BANDI, Parthasaradhi Reddy (IN); KURA, Rathnakar Reddy (IN); ADULLA, Panduranga Reddy (IN); KASIREDDY, Bhaskar Reddy (IN).

(74) Công ty TNHH Đại Tín và Liên Danh (DAITIN AND ASSOCIATES CO.,LTD)

(54) DẪN XUẤT TRITERPEN LÀM CHẤT ỨC CHẾ VIRUT SUY GIẢM MIỄN DỊCH Ở NGƯỜI (HIV) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG

(21) 1-2021-05477

(57) Sáng chế đề xuất các dẫn xuất triterpen có công thức (I); và các muối được dụng của chúng, trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , và vòng  như được định nghĩa trên đây. Sáng chế cũng đề xuất các dẫn xuất triterpen, các hợp chất, và dược phẩm có liên quan hữu ích trong điều trị các bệnh do virus gây ra và cụ thể là các bệnh liên quan đến HIV.



công thức (I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dẫn xuất triterpen và các hợp chất, các dược phẩm liên quan hữu ích trong điều trị các bệnh do virus gây ra và cụ thể hơn là các bệnh liên quan đến HIV.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) hiện được coi là tác nhân gây ra Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS) trong hơn 20 năm (Science 1983, 220, 868-871; N.Eng.J.Med.1984, 311, 1292 -1297). AIDS được đặc trưng bởi sự phá hủy hệ thống miễn dịch, cụ thể là các tế bào T CD4. HIV là loại virus retro (retrovirus), và vòng đời của HIV bao gồm một số bước quan trọng, bắt đầu từ quá trình gắn virus vào màng tế bào chủ và kết thúc bằng quá trình giải phóng các virion thế hệ con cháu khỏi tế bào.

Hợp chất axit betulonic tự nhiên, được phân lập từ cây *Syzygium clavifolium* thuộc họ đào kim nương và một số loài thực vật khác được phát hiện có hoạt tính chống HIV. Các sửa đổi hóa học đã được thực hiện bởi một số nhóm nghiên cứu trong nỗ lực xác định các tác nhân chống HIV mạnh bằng cách tạo ra các chất bán tổng hợp tương tự như axit betulonic, dẫn đến việc phát hiện ra bevirimat là hợp chất có cơ chế hoạt động mới (J. Nat. Prod. 1994, 57 (2): 243-7; J. Med. Chem. 1996, 39 (5), 1016). Các nghiên cứu sâu hơn cho thấy bevirimat tác động bằng cách làm gián đoạn quá trình Gag (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003, 100 (23): 13555-60; Antimicrob. Agents. Chemother. 2001, 45 (4), 1225-30; J. Virol. 2004, 78 (2): 922-9; J. Biol. Chem. 2005, 280 (51): 42149-55; J. Virol. 2006, 80 (12): 5716-22) và là chất ức chế sự trưởng thành mới có hoạt tính mạnh chống lại HIV-1. Bevirimat đã trải qua thử nghiệm lâm sàng pha 2, trong cơ thể mặc dù nồng độ thuốc trong huyết tương tối ưu, không phải tất cả bệnh nhân được sử dụng bevirimat đều giảm tải lượng virus mạnh mẽ. Kết quả báo cáo cho thấy rằng những bệnh nhân không đáp ứng có đa hình Gag đường cơ sở ở gần vị trí phân cắt capsid SP-1 thường xuyên hơn những người đáp ứng. (Tính đa hình Gag HIV xác định sự đáp ứng điều trị với bevirimat. Bàn luận nghiên cứu quốc tế về HIV kháng thuốc lần thứ XVII, 10-14 tháng 6 năm 2008, Sitges, Tây Ban Nha).

Từ những kết quả nghiên cứu này, các nhà hóa học y học bắt đầu nghiên cứu các dẫn xuất của axit betulinic và các hợp chất liên quan một cách chuyên sâu cho các hoạt động điều trị. Ví dụ, sáng chế có số công bố quốc tế WO2017/149518 đề cập đến triterpen C-3 với các dẫn xuất amin C-17 làm chất ức chế HIV; sáng chế có số công bố quốc tế WO2014/105926 đã đề cập đến các dẫn xuất prolin của axit betulinic được công bố là chất ức chế HIV; sáng chế có số công bố quốc tế WO2014/130810 đề cập đến quá trình bào chế C3 alkyl và các dẫn xuất axit betulinic biến tính alkenyl hữu ích trong điều trị HIV; sáng chế có số công bố quốc tế WO2014/123889 đề cập đến quá trình bào chế các dẫn xuất triterpenoit để sử dụng làm chất ức chế sự trưởng thành của HIV; sáng chế có số công bố quốc tế WO2013/160810 đề xuất các dẫn xuất của axit betulinic làm chất ức chế HIV; sáng chế có số công bố quốc tế WO2013/169578 đề cập đến các amin hai vòng C-17 của triterpenoit có hoạt tính ức chế sự trưởng thành của HIV và quá trình bào chế các hợp chất này; sáng chế có số công bố quốc tế WO 2013/123019 đề cập đến C-3 xycloalkenyl triterpenoit có hoạt tính ức chế sự trưởng thành của HIV; sáng chế có số công bố quốc tế WO2013/043778 đề cập đến các dẫn xuất axit betulinic có hoạt tính kháng virus; sáng chế có số công bố quốc tế WO2013/035943 đề cập đến axit betulinic và các dẫn xuất của chúng có hoạt tính chống lão hóa; sáng chế có số công bố quốc tế WO2012/106190 đề cập đến quá trình bào chế triterpenoit cải biến C17 và C3 có hoạt tính ức chế sự trưởng thành của HIV; sáng chế Trung Quốc CN102399254 đề cập đến các dẫn xuất triterpenoit năm vòng, phương pháp bào chế và ứng dụng dẫn xuất này để ngăn ngừa và điều trị bệnh tiểu đường, bệnh tim mạch, bệnh mạch máu não và khối u; sáng chế có số công bố quốc tế WO2011/007230 đề cập đến quá trình bào chế các dẫn xuất triterpen loại lupeol làm chất kháng virus; sáng chế có số công bố quốc tế WO2010/032123 đề cập đến quá trình bào chế các hợp chất triterpenoit để sử dụng trong dược phẩm; Tạp chí Hóa học Dược liệu (2010), 53 (1), 178-190 đề cập đến nghiên cứu mối quan hệ cấu trúc-hoạt tính của axit betulinic, chất chủ vận TGR5 chọn lọc, và các dẫn xuất tổng hợp của nó: tác động tiềm năng trong bệnh tiểu đường; sáng chế có số công bố quốc tế WO 2009/100532 đề cập đến quá trình bào chế các dẫn xuất 17 β -lupan để điều trị nhiễm HIV; sáng chế Trung Quốc CN 101367861 đề cập đến phương pháp bào chế và ứng dụng của các hợp chất và dẫn xuất triterpen 2-hydroxy-3-deoxy-pentacyclic; sáng chế có số công bố quốc tế WO2008/138200 đề cập đến quá trình bào chế các dẫn xuất lupan làm chất đối kháng thụ thể NMDA và MC thể hiện hoạt tính bảo vệ thần kinh và tăng cường trí nhớ; sáng chế có số công bố quốc tế

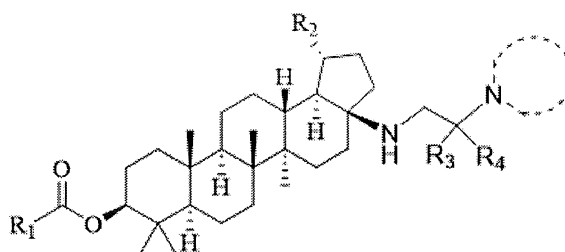
WO2008/127364 mô tả quá trình bào chế các dẫn xuất của axit betulinic để sử dụng trong dược phẩm kháng virus và chống ung thư.

Một số tài liệu tham khảo khác cũng mô tả các hợp chất liên quan đến axit betulinic. Ví dụ, sáng chế có số công bố quốc tế WO2006/053255 mô tả quá trình bào chế các dẫn xuất betulinic để sử dụng trong dược phẩm ức chế sự lây truyền của virus; sáng chế có số công bố quốc tế WO2004/089357 mô tả công thức chống nấm của triterpen và tinh dầu; Tạp chí khoa học Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2003), 13(20), 3549-3552 mô tả các triterpen và các dẫn xuất lupan có hoạt tính kháng virus; Tạp chí Hóa học sinh học của Nga (2003), 29 (6), 594-600 mô tả sự tổng hợp và hoạt tính kháng virus của các chất ure và cacbamat của axit betulinic và các dẫn xuất của nó; Tạp chí Journal of Medicinal Chemistry (1996), 39 (5), 1056-68 mô tả các dẫn xuất của axit betulinic: loại chất ức chế đặc hiệu virus suy giảm miễn dịch tuýp 1 ở người với phương thức hoạt động khác; Oxidation Communications (1987), 10 (3-4), 305-12 mô tả quá trình khử cacbon oxy hóa II, khử cacboxyl oxy hóa của axit axetyl betulinic.

Với thực tế là mức độ đại dịch AIDS trên toàn thế giới, nhu cầu tiếp tục cao đối với các loại thuốc hiệu quả để điều trị bệnh nhân nhiễm HIV, tình trạng bệnh và/hoặc các rối loạn liên quan đến HIV đặt ra yêu cầu nghiên cứu phát hiện các hợp chất có cấu trúc và/hoặc cơ chế tác động khác với các hoạt chất đã có hiện nay.

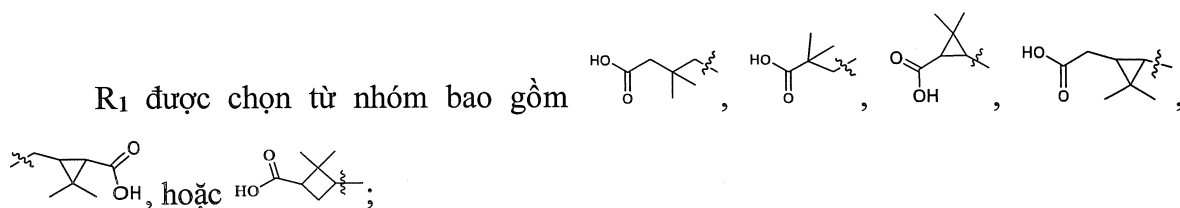
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I)



Công thức (I)

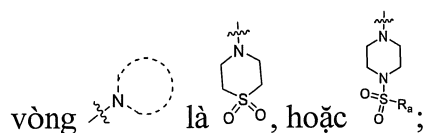
trong đó,



R_2 được chọn từ C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl được thể tùy ý, hoặc C_3 - C_8 xycloalkyl được thể tùy ý; trong đó nhóm thể tùy ý là C_1 - C_6 alkyl;

R_3 là hydro, hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R_4 được chọn từ C_1 - C_6 alkyl được thể tùy ý, hoặc $-C(O)OR_a$; trong đó nhóm thể tùy ý được chọn từ halo, hydroxy, alkoxy, $-OC(O)CH_2$ alkoxy, $-OSi(R_a)_3$, $-N(R_a)(R_b)$, $-S(R_a)$, hoặc $-O-CH_2-P(O)(OR_a)_2$;

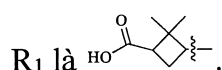


R_a là hydro, hoặc C_1 - C_6 alkyl; và

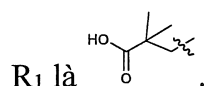
R_b được chọn từ hydro, alkyl, $-C(O)$ alkoxy, hoặc $-S(O)_2$ alkyl, hoặc

muối được dụng, đồng phân lập thể được dụng, tiền được, hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo phương án thực hiện, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó



Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó

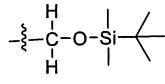
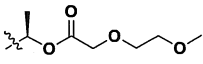
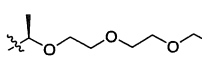
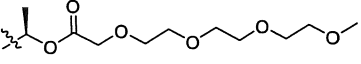


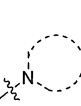
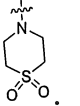
Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó R_2 là isopropylen.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó R_2 là metylxyclopropyl.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó R_3 là hydro.

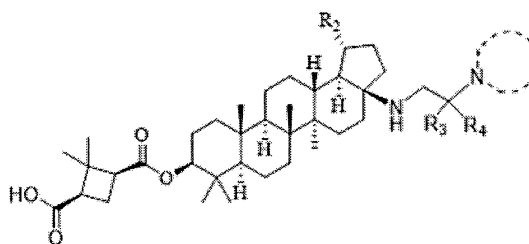
Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó R_3 là metyl.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó R_4 là metyl, isopropyl, $-C(O)OH$, , hydroxyetyl, hydroxymetyl, flometyl, floetyl, , , và .

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó vòng  là .

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), trong đó vòng  là .

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA):



Công thức (IA)

trong đó,

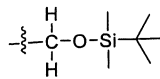
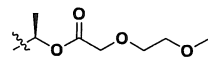
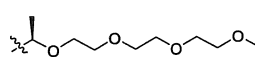
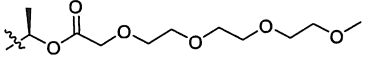
R_2 , R_3 , R_4 và vòng  giống như được định nghĩa trong công thức (I); hoặc muối dược dụng, đồng phân lập thể dược dụng, tiền dược, hoặc hỗn hợp của chúng.

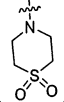
Theo phương án thực hiện, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó R_2 là isopropylen.

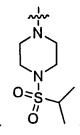
Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó R_2 là metylxyclopropyl.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó R_3 là hydro.

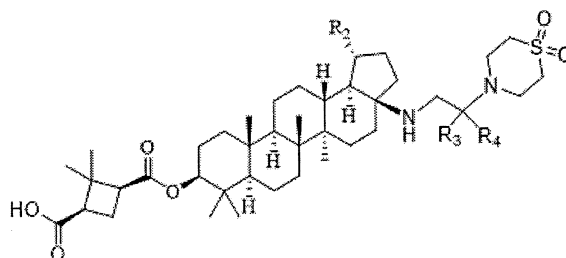
Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó R_3 là metyl.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó R_4 là metyl, isopropyl, $-C(O)OH$, , hydroxyetyl, hydroxymetyl, flometyl, floetyl, ,  và .

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó vòng  là .

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IA), trong đó vòng  là .

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IB):



Công thức (IB)

trong đó,

R_2 , R_3 , và R_4 giống như được định nghĩa trong công thức (I); hoặc

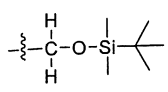
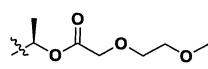
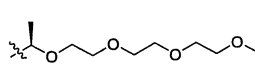
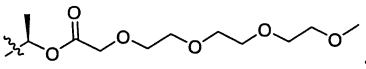
muối được dụng, đồng phân lập thể được dụng, tiền được, hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo phương án thực hiện, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IB), trong đó R_2 là isopropylen.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IB), trong đó R_2 là methylcyclopropyl.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IB), trong đó R_3 là hydro.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IB), trong đó R_3 là methyl.

Theo phương án thực hiện khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IB), trong đó R_4 là methyl, isopropyl, $-C(O)OH$, , hydroxyethyl, hydroxymethyl, flomethyl, floethyl, , , và .

Dưới đây là các hợp chất đại diện, chỉ mang tính chất minh họa và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế (Danh pháp đã được tạo từ phiên bản ChemBioDraw Ultra 13.0):

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-(1,1-dioxithiomorpholin)-2-methylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxypropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxypropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flobutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-hydroxy-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-carboxy-2-(1,1-dioxithiomorpholin)etyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-(2-(2-metoxetoxo)acetoxo)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-(2-(2-metoxetoxo)acetoxo)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic,

axit 4-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)-2,2-dimetyl-4-oxobutanoic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((15R,16R)-16-(1,1-dioxithiomorpholin)-15-metyl-13-oxo-2,5,8,11,14-pentaohaheptadecan-17-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic, hoặc

muối được dụng, và tiền được của các hợp chất trên.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm bao gồm ít nhất một hợp chất theo sáng chế và ít nhất một tá được dụng (cụ thể như chất mang hoặc chất pha loãng được dụng). Cụ thể, được phẩm bao gồm lượng điều trị hữu hiệu của ít nhất một hợp chất được mô tả. Hợp chất có trong chế phẩm có thể được liên kết với tá được dụng (như chất mang hoặc

chất pha loãng) hoặc có thể được pha loãng bởi chất mang, hoặc được bao bọc trong chất mang có thể ở dạng viên nang, gói, hoặc vỏ bọc khác.

Các hợp chất và dược phẩm được mô tả hữu ích trong việc điều trị các bệnh, tình trạng bệnh và/hoặc các rối loạn do nhiễm virus gây ra.

Sáng chế cũng đề xuất quy trình bào chế các hợp chất theo sáng chế.

Khả năng ức chế HIV của các hợp chất theo sáng chế có thể được chứng minh bằng một hoặc nhiều phương pháp luận bất kỳ thường được sử dụng trong cùng lĩnh vực này, cụ thể như bằng cách sử dụng các xét nghiệm được mô tả theo Mossman T, tháng 12 năm 1983, *Journal of immunological methods*, 65 (1-2), 55-63 và SPC Cole, *cancer chemotherapy và Pharmacology*, 1986, 17, 259-263.

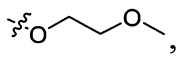
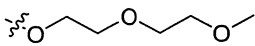
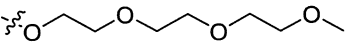
Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất các dẫn xuất triterpen và các hợp chất liên quan, có thể được sử dụng làm chất kháng virus, cụ thể là các hợp chất kháng HIV. Sáng chế cũng đề xuất các quy trình tổng hợp các hợp chất này, muối được dùng của chúng, cùng với chất mang, tá dược, hoặc chất pha loãng được dùng, có thể được sử dụng để điều trị các bệnh, tình trạng và/hoặc các rối loạn liên quan đến nhiễm virus.

Các định nghĩa sau áp dụng cho các thuật ngữ được sử dụng trong quá trình mô tả sáng chế:

Thuật ngữ “alkyl” dùng để chỉ gốc chuỗi hydrocacbon thẳng hoặc phân nhánh chỉ bao gồm các nguyên tử cacbon và hydro, không chứa liên kết không bão hòa, có từ một đến tám nguyên tử cacbon và được gắn với phần còn lại của phân tử bằng một liên kết đơn, ví dụ: metyl, etyl, n-propyl, 1-metyletyl (isopropyl), n-butyl, n-pentyl và 1,1-dimetyletyl (t-butyl).

Thuật ngữ “alkenyl” dùng để chỉ chuỗi hydrocacbon có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh, chứa số nguyên tử cacbon được chỉ định có ít nhất một $-C = C-$, ví dụ, nhóm C_2-C_6 alkenyl có thể có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon bao gồm cả $-C = C-$. Ví dụ về nhóm alkenyl C_2-C_6 bao gồm, nhưng không giới hạn, etylen, prop-1-en, bu-1-en, but-2-en, pent-1-en, pent-2-en, hex-1-en, hex-2-en và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “alkoxy” dùng để chỉ chuỗi hydrocarbon thẳng hoặc phân nhánh với gốc oxy bao gồm các nguyên tử cacbon và hydro, chứa liên kết bão hòa hoặc không bão hòa, có từ một đến tám nguyên tử cacbon, và được gắn qua nguyên tử oxy với phần còn lại của phân tử bằng một liên kết đơn. Một trong các nguyên tử hydro trong nhóm alkoxy có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy để tăng thêm chiều dài chuỗi alkoxy. Ví dụ: metyloxy, etyloxy, isopropoxy, n-propyloxy, t-butyloxy, 1-metyletyloxy (isopropyloxy), n-butyloxy, n-pentyloxy, 1,1-dimetyletyloxy (t-butyloxy), , , hoặc .

Thuật ngữ “xycloalkyl” biểu thị hệ thống vòng đơn hoặc đa vòng không thơm có từ 3 đến khoảng 12 nguyên tử cacbon, cụ thể như, nhưng không giới hạn, xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl và xyclohexyl. Ví dụ về nhóm xycloalkyl đa vòng bao gồm, nhưng không giới hạn, nhóm perhydronaphthyl, adamantyl và norbornyl, nhóm mạch vòng có cầu nối và nhóm spirobic, ví dụ, spiro (4,4) non-2-yl.

Thuật ngữ “halogen” hoặc “halo” bao gồm flo, clo, brom hoặc iot.

Thuật ngữ “hydroxy” dùng để chỉ –OH.

Thuật ngữ “được thế tùy ý” dùng để chỉ sự thay thế một hoặc nhiều gốc hydro trong một cấu trúc nhất định bằng một gốc của nhóm thế được chỉ định bao gồm, nhưng không giới hạn: hydroxy, halo, carboxyl, cyano (CN), nitro, oxo (=O), thio (=S), alkyl, methyl sulfonyl, haloalkyl, alkoxy, alkenyl, aryl, aralkyl, xycloalkyl, xycloalkylalkyl, amin, -C(O)O-alkyl, heteroxycyl, heteroaryl, heteroxycylalkyl, heteroarylalkyl, alkylthio, arylthio, aryloxy, amin cacbonyl, alkoxycacbonyl, alkylamin, arylamin, axyl, axit carboxylic, axit sulfonic, sulfonyl, axit photphonic, và axit aliphatic. Cần lưu ý rằng, nhóm thế có thể tiếp tục được thế.

Thuật ngữ “tiền dược” biểu thị một dẫn xuất của hợp chất, dẫn xuất này, khi được sử dụng cho động vật máu nóng, cụ thể như người, được chuyển hóa thành hợp chất (thuốc). Sự phân cắt thủy phân bằng enzym và/hoặc hóa học của các hợp chất theo sáng chế xảy ra theo cách mà dạng thuốc đã được chứng minh (thuốc axit cacboxylic gốc) được giải phóng, và phần gốc hoặc phân tách ra vẫn không độc hại hoặc được chuyển hóa để sản phẩm chuyển hóa không độc hại được tạo ra. Ví dụ, nhóm axit cacboxylic có thể được este hóa,

cụ thể như với nhóm methyl hoặc nhóm ethyl để tạo ra một este. Khi este được sử dụng cho đối tượng, este bị phân cắt, bởi enzyme hoặc không bởi enzyme, bị khử, oxy hóa hoặc thủy phân, để lộ ra nhóm anion. Nhóm anion có thể được este hóa với các gốc (ví dụ, axylomethyl este) được phân cắt để lộ ra hợp chất trung gian mà sau đó sẽ bị phân hủy để tạo ra hợp chất có hoạt tính. Một cuộc thảo luận về việc sử dụng tiền dược được cung cấp bởi T. Higuchi và W. Stella, "Pro-drug as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, và trong *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Thuật ngữ "điều trị" trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bao gồm:

(1) ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự xuất hiện của các triệu chứng lâm sàng của trạng thái, bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng phát triển ở đối tượng có thể bị ảnh hưởng hoặc có khuynh hướng mắc trạng thái, bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng nhưng chưa trải qua hoặc biểu hiện lâm sàng hoặc cận lâm sàng các triệu chứng của trạng thái, bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng;

(2) ức chế trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng, cụ thể là ức chế hoặc làm giảm sự phát triển của trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng hoặc ít nhất một triệu chứng lâm sàng hoặc cận lâm sàng của chúng; hoặc

(3) làm giảm trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng, cụ thể là làm thoái lui trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng hoặc ít nhất một trong các triệu chứng lâm sàng hoặc cận lâm sàng của chúng.

Lợi ích đối với đối tượng được điều trị hoặc có ý nghĩa thống kê hoặc ít nhất có thể cảm nhận được đối với đối tượng hoặc bác sĩ.

Thuật ngữ "đối tượng" bao gồm động vật có vú (cụ thể là người) và các động vật khác, cụ thể như động vật nuôi trong nhà (ví dụ: vật nuôi trong nhà bao gồm cả mèo và chó) và động vật không phải động vật nuôi (cụ thể như động vật hoang dã).

"Lượng điều trị hữu hiệu" có nghĩa là lượng hợp chất mà khi được sử dụng cho đối tượng để điều trị trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng, là đủ để điều trị. "Lượng điều trị hữu hiệu" sẽ khác nhau tùy thuộc vào hợp chất, trạng thái, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng

và mức độ nghiêm trọng của bệnh và tuổi, cân nặng, tình trạng thể chất và khả năng đáp ứng của đối tượng được điều trị.

Các hợp chất theo sáng chế có thể tạo thành muối. Các ví dụ không giới hạn về các muối được dựng tạo thành một phần của sáng chế bao gồm các muối có nguồn gốc từ bazơ vô cơ, muối của bazơ hữu cơ, muối của bazơ bất đối, muối của axit amin tự nhiên và muối của axit amin không tự nhiên. Một số hợp chất theo sáng chế có khả năng tồn tại ở dạng đồng phân lập thể (ví dụ, đồng phân không đối quang, đồng phân đối quang, raxemat (chất triệt quang), và hỗn hợp của chúng). Đối với toàn bộ các hợp chất được mô tả bởi công thức (I), sáng chế đề cập đến các dạng đồng phân lập thể và các hỗn hợp của chúng. Trong phạm vi kỹ thuật hiện nay mô tả về tổng hợp hoặc tách các chất đồng phân lập thể cụ thể, các dạng đồng phân lập thể khác nhau của sáng chế có thể được tách ra khỏi nhau bằng các phương pháp thông thường trong cùng lĩnh vực kỹ thuật, hoặc một đồng phân nhất định có thể thu được bằng cách tổng hợp lập thể đặc hiệu hoặc không đối xứng. Các dạng tautome và hỗn hợp của các hợp chất theo sáng chế cũng thuộc phạm vi này.

Dược phẩm

Dược phẩm được đề xuất theo sáng chế bao gồm ít nhất một hợp chất theo sáng chế và ít nhất một tá dược được dựng (cụ thể như chất mang hoặc chất pha loãng được dựng). Cụ thể, dược phẩm dự kiến bao gồm hợp chất theo sáng chế với lượng đủ để điều trị tình trạng nhiễm virus ở đối tượng.

Các đối tượng dự kiến bao gồm tế bào sống và động vật có vú, bao gồm cả con người. Hợp chất theo sáng chế có thể được liên kết với tá dược được dựng (như chất mang hoặc chất pha loãng) hoặc được pha loãng bởi chất mang, hoặc được bao bọc trong chất mang có thể ở dạng viên nang, gói, hoặc vỏ chứa khác.

Ví dụ về chất mang phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn, nước, dung dịch muối, rượu, polyetylen glycol, dầu đậu phộng, dầu ô liu, gelatin, lactoza, terra alba, sucroza, dextrin, magie cacbonat, đường, amyloza, magie stearat, bột tan (talc), thạch, pectin, keo acacia, axit stearic, este ankyl thấp của xenluloza, axit silixic, axit béo, amin axit béo, monoglyxerit và diglyxerit axit béo, este axit béo và polyoxyetylen.

Chất mang hoặc chất pha loãng có thể bao gồm chất giải phóng kéo dài, cụ thể như, glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat, độc lập hoặc trộn với sáp.

Dược phẩm cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều tác nhân phụ dược dụng, chất làm ướt, chất nhũ hóa, chất tạo huyền phù, chất bảo quản, muối tác động đến áp suất thẩm thấu, chất đệm, chất làm ngọt, chất tạo hương vị, chất tạo màu, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để tạo ra thành phần hoạt tính giải phóng nhanh, giải phóng kéo dài, hoặc giải phóng chậm sau khi được sử dụng cho đối tượng thông qua quy trình thông dụng trong cùng lĩnh vực kỹ thuật.

Các dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế như được mô tả trong Remington: Khoa học và Thực hành Dược, phiên bản thứ 20, 2003 (Lippincott Williams & Wilkins). Ví dụ, hợp chất hoạt tính có thể được trộn với chất mang, hoặc pha loãng bởi chất mang, hoặc được bao bọc trong chất mang, có thể ở dạng ống, viên nang hoặc gói. Khi chất mang đóng vai trò là chất pha loãng, nó có thể là vật liệu rắn, bán rắn, hoặc lỏng đóng vai trò là phương tiện, tá dược hoặc môi trường cho hợp chất hoạt tính.

Dược phẩm có thể ở dạng thông thường, ví dụ, viên nang, viên nén, dung dịch, hỗn dịch, thuốc tiêm, hoặc các sản phẩm để bôi tại chỗ. Hơn nữa, dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để cung cấp cấu hình giải phóng mong muốn.

Đường sử dụng có thể là đường bất kỳ vận chuyển hiệu quả hợp chất hoạt tính đến vị trí tác dụng thích hợp hoặc mong muốn. Các đường dùng thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn, miệng, mũi, phổi, niêm mạc, dưới da, trong da, qua da, tiêm, trực tràng, tiêm dưới da, tĩnh mạch, trong miệng, tiêm bắp, trong mũi, nhỏ mắt (cụ thể như với dung dịch nhỏ mắt) hoặc tại chỗ (cụ thể như thuốc mỡ bôi ngoài da). Đường uống là đường phù hợp cụ thể.

Công thức uống dạng rắn bao gồm, nhưng không giới hạn, viên nén, viên nang (gelatin mềm hoặc cứng), viên bao đường (chứa thành phần hoạt tính ở dạng bột hoặc viên nén), viên dẹt và viên ngậm. Viên nén, viên bao đường hoặc viên nang có bột talc và/hoặc chất mang hoặc chất kết dính carbohydrat hoặc thành phần tương tự thích hợp để sử dụng qua đường miệng. Chất mang thông thường cho viên nén, viên bao đường hoặc viên nang bao gồm lactoza, bột ngô và/hoặc tinh bột khoai tây. Xi-rô hoặc cồn thuốc ngọt có thể được sử dụng trong trường hợp có thể sử dụng chất dẫn thuốc ngọt.

Viên nén điển hình có thể được tạo ra bằng kỹ thuật đóng viên thông thường.

Các chế phẩm dạng lỏng bao gồm, nhưng không giới hạn, xi-rô, nhũ tương, gelatin mềm và chất lỏng tiêm vô trùng, cụ thể như hỗn dịch hoặc dung dịch lỏng có nước hoặc không chứa nước.

Đối với việc sử dụng ngoài đường tiêu hóa, phù hợp nhất là các dung dịch tiêm hoặc hỗn dịch, cụ thể là các dung dịch nước với hợp chất hoạt tính được hòa tan trong dầu thầu dầu polyhydroxyl hóa.

Phương pháp sàng lọc

Hoạt tính kháng virus HIV và độc tính tế bào của các hợp chất theo sáng chế có thể được đo song song bằng cách thực hiện theo các phương pháp được công bố trong tài liệu.

Tác dụng gây độc tế bào của các hợp chất có thể được phân tích bằng cách đo sự tăng sinh của tế bào bằng cách sử dụng phương pháp nhuộm 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromua (MTT). Tế bào (5×10^3 tế bào/giếng) sẽ được ủ trong đĩa 96 giếng có hoặc không có hợp chất. Khi kết thúc xử lý, 20 μ L MTT (5 mg/ml trong PBS) sẽ được thêm vào mỗi giếng và ủ thêm 4 giờ ở 37°C. Kết tủa MTT formazan màu xanh tím sẽ được hòa tan trong chất phản ứng triplex chứa 10% SDS, 5% isobutanol và 10 mmol/lit HCl. Hoạt động của ty thể, phản ánh sự phát triển và khả năng sống sót của tế bào, sẽ được đánh giá bằng cách đo mật độ quang học ở bước sóng 570 nm trên đĩa vi thể.

Tác động của các hợp chất đối với sự nhân lên của HIV trong tế bào Sup-T1 có thể được xác định bằng phương pháp được công bố bởi Roda Rani và cộng sự, 2006 (Archives of Biochemistry và Biophysics, Volume 456, Issue 1, 1 December 2006, Pages 79-92).

Tóm lại, các tế bào Sup-T1 1×10^6 với 100% khả năng sống sót của tế bào sẽ được cấy trong bốn đĩa vi thể 12 giếng có chứa RPMI 1640, 0,1% FBS. Nồng độ peptit Epa-1 ngày càng tăng sẽ được thêm vào tế bào và sẽ được gây nhiễm HIV1_{93 IN 101} ở nồng độ cuối cùng của virus tương đương với 2 ng p24 trên mỗi ml. Tế bào nhiễm bệnh sẽ được ủ ở nhiệt độ 37°C và 5% CO₂ trong 2 giờ. Sau 2 giờ, các tế bào sẽ được ly tâm ở 350 g trong 10 phút, dịch nổi phía trên sẽ được loại bỏ và tế bào sẽ được giữ bằng RPMI 1640 chứa 10% FBS. Các tế bào sẽ được pha thành huyền phù trong cùng một môi trường với nồng độ peptide Epa-1 tăng và sẽ được ủ trong 96 giờ. Các tế bào sẽ được bổ sung peptit sau

mỗi 24 giờ. Phần dịch nổi sẽ được thu thập sau 96 giờ và được phân tích bằng cách sử dụng bộ xét nghiệm bất giữ kháng nguyên P24 (SAIC Fredrick). Nhiễm trùng trong trường hợp không có Epap-1 sẽ được coi là ức chế 0%, Azidothymidin (AZT) sẽ được coi là đối chứng dương.

Hoạt động của hợp chất đối với sự xâm nhập của virus và định lượng virus xâm nhập có thể được thực hiện về biểu hiện GFP bằng các phương pháp đã được công bố sau đây: Cecilia và cộng sự, *J. Virol.* 72, 6988 (1998), và Dyavar S. Ravi và Debashis Mitra, *Analytical Biochemistry* Volume 360, Issue 2, 15 January 2007, Pages 315-317.

Tóm lại, các tế bào sẽ được cấy vào các giếng của đĩa 24 giếng 1 ngày trước khi thí nghiệm. Các tế bào sẽ được chuyển nhiễm bằng Tat-reporter. Chất cấy virus sẽ được điều chỉnh thành 1.000-4.000 TCID₅₀/ml trong môi trường xét nghiệm (DMEM, 10% FCS, glutamin và kháng sinh), các phần nhỏ 50 µl sẽ được ủ với các dung dịch pha loãng nối tiếp của các hợp chất (50 µl) trong 1 giờ ở 37°C. Biểu hiện báo cáo sẽ được định lượng tại thời điểm thích hợp theo liều ức chế được tính toán, liên quan đến nồng độ của các tác nhân này trong hỗn hợp ủ trước.

Các tài liệu tham khảo có liên quan khác hữu ích cho việc sàng lọc hoạt tính kháng virus HIV là: Averett, D.R.1989. Anti-HIV compound assessment by two novel high capacity assays. *J. Virol. Methods* 23: 263-276; Schwartz, O., et al.1998; A rapid and simple colorimetric test for the study of anti HIV agents. *AIDS Res. and Human Retroviruses*, 4(6):441-447; Daluge, S. M., et al. 1994. 5-Chloro-2',3'-deoxy-3'fluorouridine (935U83), a selective anti human immunodeficiency virus agent with an improved metabolic and toxicological profile; *Antimicro. Agents and Chemotherapy*, 38(7): 1590-1603; H.Mitsuya and S.Border, Inhibition of the in vitro infectivity and cytopathic effect of human T - lymphotropic virus type lymphadenopathy-associated virus (HLTV-111/LAV) by 2,3'-dideoxynucleosides, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 1911-15 (1986); Pennington et al., *Peptides* 1990; Meek T.D et al., Inhibition of HIV-1 protease in infected T-lymphocytes by synthetic peptide analogues, *Nature*, 343, p90 (1990); Weislow et al., *J. Natl. Cancer Inst.* 81, 577-586, 1989; T. Mimoto et al., *J. Med. Chem.*, 42, 1789-1802, 1999; Uckun et al 1998, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42:383; for P24 antigen assay Erice et al., 1993, *Antimicrob. Ag. Chemotherapy* 37: 385-383; Koyanagi et al., *Int. J. Cancer*, 36, 445-451, 1985; Balzarini et al. *AIDS* (1991), 5, 21-28; Connor et al., *Journal of virology*, 1996,

70, 5306-5311; Popik et al., Journal of virology, 2002, 76, 4709-4722; Harrington et al., Journal of Virology Methods, 2000, 88, 111-115; Roos et al., Virology 2000, 273, 307-315; Fedjuk N.V. et al; Problems of Virology 1992, (3)P135; Mosmann T, December 1983, Journal of immunological methods, 65 (1-2), 55-63 ; SPC Cole, cancer chemotherapy and Pharmacology, 1986, 17, 259-263, Antiviral methods and protocols (Eds: D Kinchington and R. F. Schinazi) Humana Press Inc., 2000, HIV protocols (Eds: N. L. Michael and J. H. Kim) Humana Press Inc, 1999, DAIDS Virology manual from HIV laboratories, Publication NIH-97-3838, 1997, 4. HIV-1 p24 antigen capture assay, enzyme immunoassay for detection of Human immunodeficiency Virus Type 1 (HIV -1) p24 in tissue culture media - Advanced bio science laboratories, Inc kit procedure.

Các bệnh, tình trạng và/hoặc rối loạn có liên quan đến nhiễm virus bao gồm, nhưng không giới hạn, nhiễm HIV, nhiễm HBV, nhiễm HCV, nhiễm virus retro có liên quan về mặt di truyền đến HIV, AIDS, bệnh viêm nhiễm, rối loạn hô hấp (bao gồm hội chứng suy hô hấp ở người lớn (ARDS), viêm phế quản, viêm phế quản mạn tính, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, xơ nang, hen suyễn, khí phế thũng, viêm mũi và viêm xoang mạn tính), bệnh viêm ruột (bao gồm bệnh Crohn và viêm loét đại tràng), bệnh đa xơ cứng, viêm khớp dạng thấp, thải ghép (cụ thể là, nhưng không giới hạn ở ghép thận và phổi), lạc nội mạc tử cung, tiểu đường tuýp I, bệnh thận, viêm tụy mạn tính, tình trạng viêm phổi, suy tim mạn tính và nhiễm trùng do vi khuẩn (cụ thể là, nhưng không giới hạn ở bệnh lao).

Các hợp chất theo sáng chế có thể thu được nhiều tác dụng có lợi hơn so với tác dụng phụ trong việc phòng hoặc điều trị các bệnh nêu trên khi sử dụng kết hợp một cách thích hợp với các loại thuốc có sẵn. Ngoài ra, liều dùng có thể giảm so với khi dùng riêng lẻ, hoặc có thể tránh hoặc loại bỏ các tác dụng phụ của thuốc được phối hợp khác với thuốc kháng virus.

Phương pháp bào chế

Các hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế bằng các kỹ thuật thông thường trong cùng lĩnh vực kỹ thuật. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế thông qua trình tự phản ứng như được mô tả trong các sơ đồ dưới đây. Hơn nữa, trong các sơ đồ sau đây, khi đề cập đến bazơ, axit, chất phản ứng, dung môi, chất liên kết cụ thể, v.v..., cần hiểu rằng các bazơ, axit, chất phản ứng, dung môi, chất liên kết khác, v.v...,

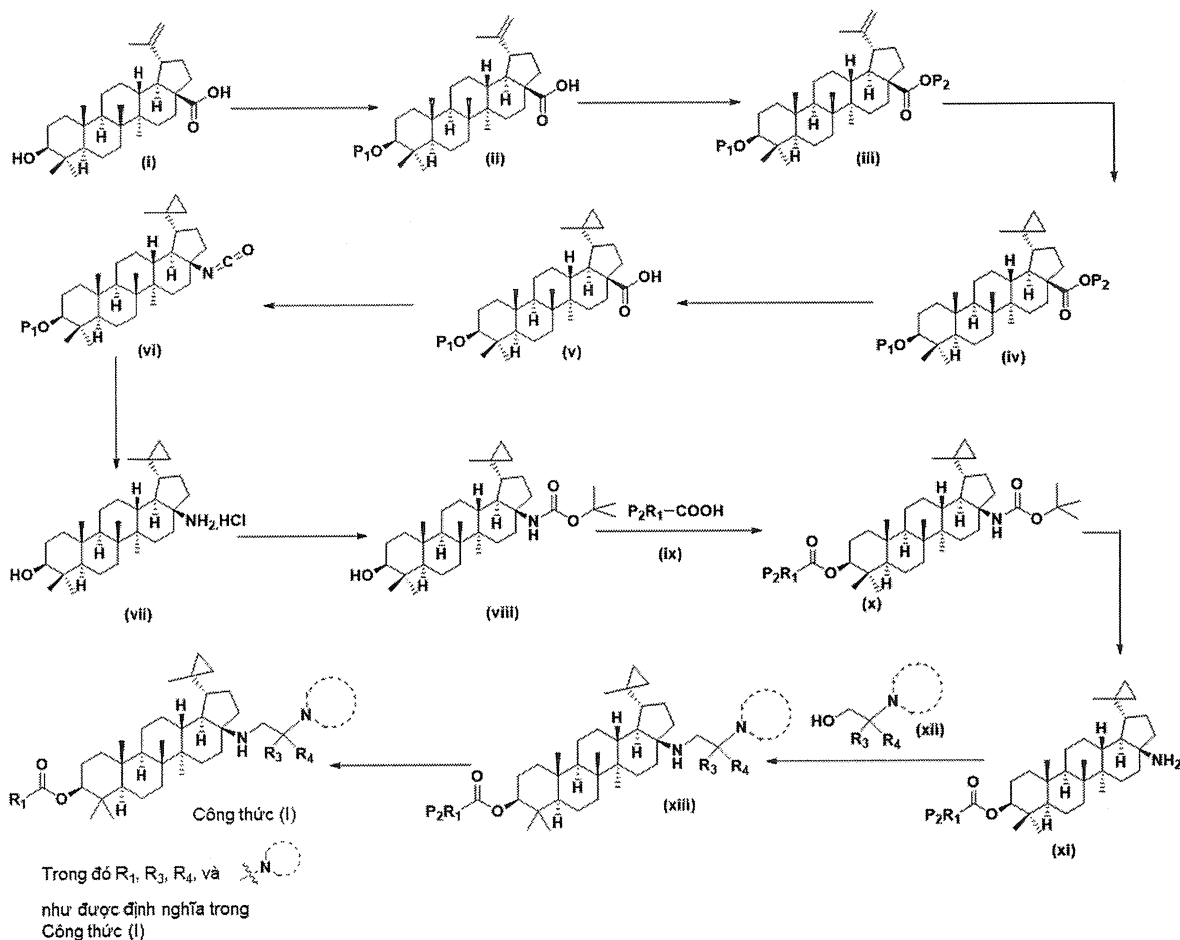
thông thường trong cùng lĩnh vực kỹ thuật cũng có thể được sử dụng và do đó vẫn thuộc phạm vi của sáng chế. Các thay đổi về điều kiện phản ứng, ví dụ, nhiệt độ và/hoặc thời gian của phản ứng, có thể được sử dụng theo cách thông thường trong cùng lĩnh vực kỹ thuật, cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Tất cả các đồng phân lập thể của các hợp chất trong các sơ đồ này, trừ khi có quy định khác, cũng được thuộc phạm vi của sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được tổng hợp từ axit Betulinic có trong tự nhiên. Các chất trung gian chính cần thiết để tổng hợp các chất tương tự hoặc có sẵn trên thị trường hoặc có thể được bào chế bằng các phương pháp được công bố trong các tài liệu. Ví dụ, các chất trung gian quan trọng trong sáng chế được bào chế bằng cách sửa đổi các quy trình được công bố trên *Journal of organic chemistry* 2010, 75, 1285-1288; *Journal of organic chemistry* 2000, 65, 3934-3940; *Tetrahedron: asymmetry* 2008, 19, 302-308; hoặc *Tetrahedron: asymmetry* 2003, 14, 217-223.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất quy trình bào chế các hợp chất có công thức chung (I) được trình bày trong các sơ đồ tổng quát dưới đây. Người có trình độ trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rõ rằng các sơ đồ tổng quát dưới đây có thể được điều chỉnh để tạo ra các hợp chất có công thức chung (I) và các muối được dụng theo sáng chế. Trong đó tất cả các ký hiệu/biến được định nghĩa trước đó trừ khi có quy định khác.

Quy trình tổng hợp chung:

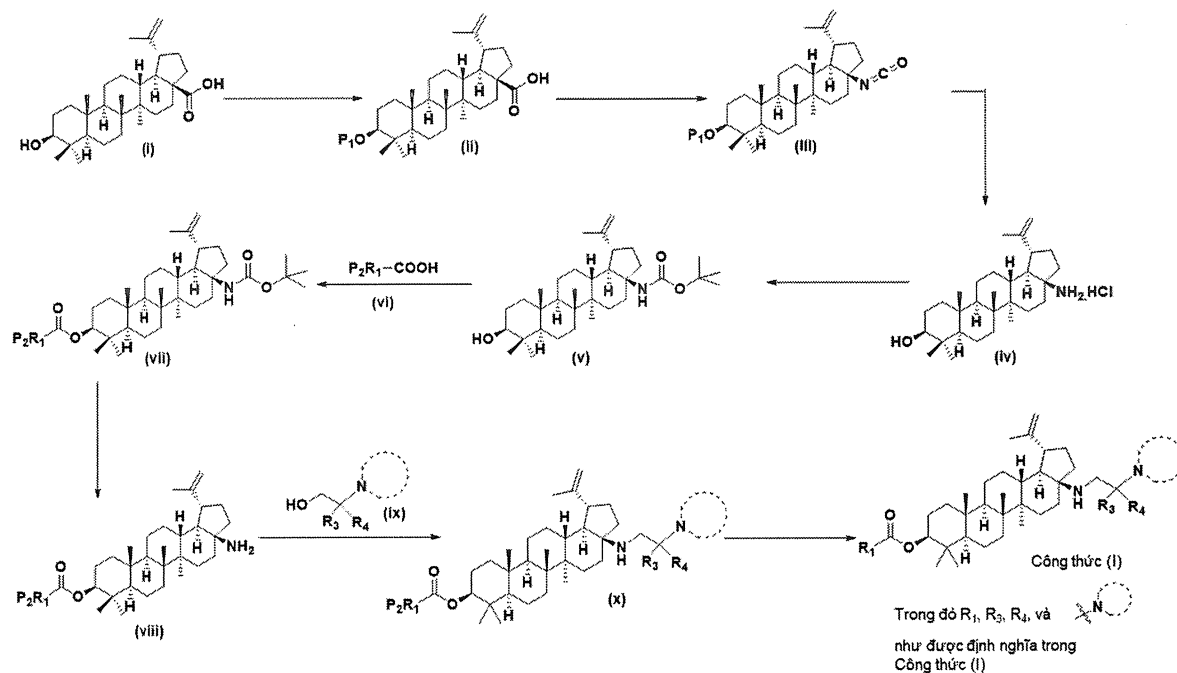
Sơ đồ-1:



Các hợp chất có công thức (I) (trong đó, R_1 , R_3 và R_4 giống như được định nghĩa ở trên; P_1 và P_2 là các nhóm bảo vệ như axetyl, benzyl hoặc tương tự) có thể được bào chế như được mô tả trong Sơ đồ 1. Các hợp chất C-3 hydroxy có công thức (i) có thể được bảo vệ bằng cách sử dụng chất phản ứng như anhydrit axetic với axit axetic trong điều kiện hồi lưu (hoặc) với anhydrit axetic ở điều kiện bazơ bằng cách sử dụng thuốc chất phản ứng trietylamin hoặc N,N-diisopropyletylamin và chất xúc tác như 4-Dimetylaminopyridin ở điều kiện hồi lưu trong dung môi như tetrahydrofuran (THF) hoặc tương tự. Các hợp chất C-28 axit có công thức (ii) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất este có công thức (iii) bằng cách sử dụng chất phản ứng như benzyl bromua và các bazơ như kali cacbonat hoặc natri cacbonat trong dung môi như axetonitril hoặc THF trong điều kiện hồi lưu. Các hợp chất C-3 axetyl và C-28 este có công thức (iii) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất C-20 xyclopropyl có công thức (iv) khi có mặt các chất tạo mạch vòng như kẽm dietyl hoặc kẽm dimetyl với Diiodometan trong dung môi như Diclometan hoặc Toluen hoặc tương tự. Các hợp chất este C-28 có công thức (iv) có thể được cắt nhóm bảo vệ thành các hợp chất axit C-28 có công thức (v) bằng cách sử dụng (i) chất xúc tác như Pd/C trong các dung

môi như ethyl axetat và metanol hoặc tương tự dưới áp suất hydro (hoặc) (ii) chất xúc tác như Pd/C và chất phản ứng như amoni format trong dung môi như etanol và THF. Các hợp chất axit C-28 có công thức (v) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất isoxyanato C-17 có công thức (vi) khi có mặt chất phản ứng như azit diphenylphosphoryl (DPPA) hoặc tương tự khi có mặt các bazơ như triethylamin (TEA) hoặc N,N-Diisopropyletylamin hoặc tương tự trong dung môi như Toluene hoặc 1,4-dioxan hoặc tương tự. Các hợp chất isoxyanato C-17 có công thức (vi) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất hydroclorua amin C-17 có công thức (vii) khi có mặt các chất phản ứng như HCl đậm đặc hoặc tương tự trong các dung môi như 1,4-dioxan hoặc tương tự. Các hợp chất hydroclorua amin C-17 có công thức (vii) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất được bảo vệ amin C-17 có công thức (viii) khi có mặt chất phản ứng như di-tert-butyl dicacbonat [(Boc)₂O] hoặc tương tự khi có mặt các bazơ như natri bicacbonat (NaHCO₃) hoặc natri cacbonat hoặc tương tự trong dung môi như 1,4-dioxan: H₂O hoặc tương tự. Các hợp chất hydroxy C-3 có công thức (viii) có thể được kết hợp với các hợp chất có công thức (ix) để tạo ra các hợp chất este C-3 có công thức (x) với chất phản ứng như EDC.HCl hoặc tương tự, và chất xúc tác như 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) hoặc tương tự, trong dung môi như diclometan (DCM) hoặc THF hoặc tương tự. Các hợp chất được bảo vệ amin C-17 có công thức (x) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất amin C-17 có công thức (xi) khi có mặt chất phản ứng như HCl 4N trong 1,4-dioxan hoặc tương tự trong dung môi như 1,4-dioxan hoặc tương tự. Các hợp chất amin C-17 có công thức (xi) có thể được kết hợp với các hợp chất hydroxy có công thức (xii) ở điều kiện tại chỗ để tạo ra các hợp chất amin được thể C-17 tương ứng có công thức (xiii) khi có mặt chất phản ứng như anhydrit triflic, 2,6-Lutidin và các bazơ như triethylamin hoặc N, N-diisopropyletylamin hoặc tương tự trong dung môi như Diclometan hoặc tương tự. Các hợp chất được bảo vệ C-3 có công thức (xiii) có thể được khử nhóm bảo vệ để tạo ra các hợp chất axit tương ứng theo sáng chế có công thức (I) khi có mặt chất phản ứng như KOH hoặc NaOH cùng với các dung môi như metanol, THF, H₂O hoặc tương tự.

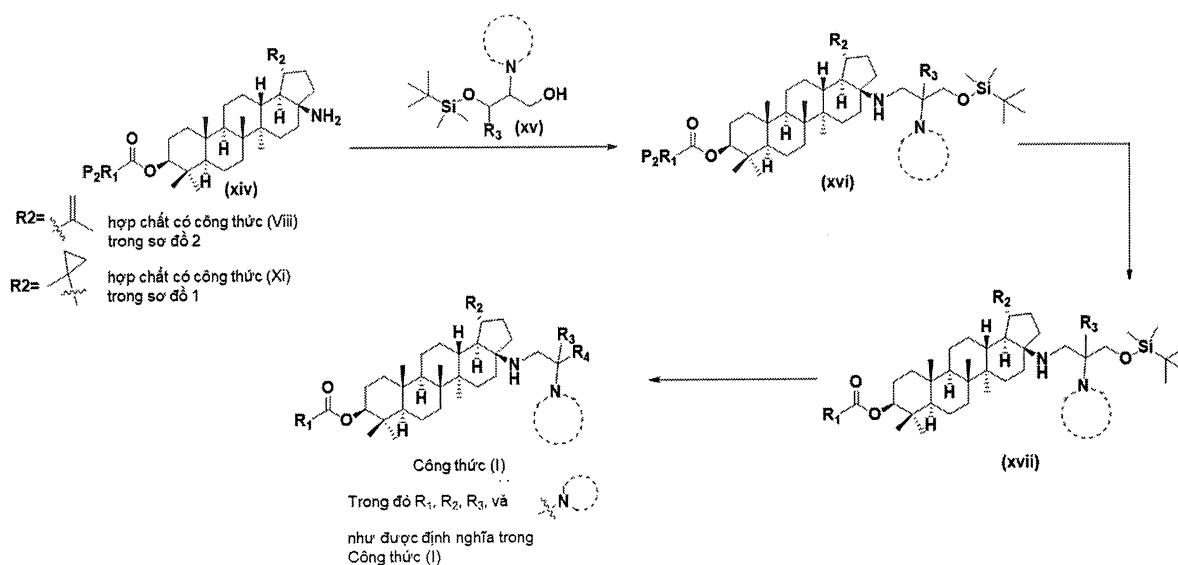
Sơ đồ 2



Các hợp chất có công thức (I) (trong đó, R₁, R₃ và R₄ giống như được định nghĩa trên đây; P₁ và P₂ là các nhóm bảo vệ như axetyl, benzyl hoặc tương tự) có thể được bào chế như mô tả trong Sơ đồ 2. Các hợp chất C-3 Hydroxy có công thức (i) có thể được bảo vệ bằng cách sử dụng chất phản ứng như anhydrit axetic với axit axetic trong điều kiện hồi lưu (hoặc) với anhydrit axetic ở điều kiện bazơ bằng cách sử dụng chất phản ứng như triethylamin hoặc N,N-diisopropyletylamin và chất xúc tác như 4-Dimethylaminopyridin ở điều kiện hồi lưu trong dung môi như THF hoặc tương tự. Các hợp chất axit C-28 có công thức (ii) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất isoxyanato C-17 có công thức (iii) khi có mặt chất phản ứng như azit diphenylphosphoryl (DPPA) hoặc tương tự khi có mặt của bazơ như triethylamin (TEA) hoặc N, N-Diisopropyletylamin hoặc tương tự trong các dung môi như Toluene hoặc 1,4-dioxan hoặc tương tự. Các hợp chất isoxyanato C-17 có công thức (iii) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất hydroclorua amin C-17 có công thức (iv) khi có mặt các chất phản ứng như HCl đậm đặc hoặc tương tự trong các dung môi như 1,4-dioxan hoặc tương tự. Các hợp chất hydroclorua amin C-17 có công thức (iv) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất được bảo vệ amin C-17 có công thức (v) khi có mặt chất phản ứng như di-tert-butyl dicacbonat [(Boc)₂O] hoặc tương tự khi có mặt các bazơ như natri bicacbonat (NaHCO₃) hoặc natri cacbonat hoặc tương tự trong dung môi như 1,4-dioxan: H₂O hoặc tương tự. Các hợp chất hydroxy C-3 có công thức (v) có thể được kết hợp với các hợp chất có công thức (vi) để tạo ra các hợp chất este C-3 có công thức (vii) với chất phản ứng như EDC.HCl hoặc tương tự, và chất xúc tác như 4-

Dimethylaminopyridin (DMAP) hoặc tương tự, trong dung môi như diclometan (DCM) hoặc THF hoặc tương tự. Các hợp chất được bảo vệ amin C-17 có công thức (vii) có thể được chuyển đổi thành các hợp chất amin C-17 có công thức (viii) khi có mặt chất phản ứng như HCl 4N trong 1,4-dioxan hoặc tương tự trong dung môi như 1,4-dioxan hoặc tương tự. Các hợp chất amin C-17 có công thức (xiii) có thể được kết hợp với các hợp chất hydroxyl có công thức (ix) ở điều kiện tại chỗ để tạo ra các hợp chất amin được thế C-17 tương ứng có công thức (x) khi có mặt chất phản ứng như anhydrit triflic, 2,6-Lutidin và các bazơ như triethylamin hoặc N, N-diisopropyletylamin hoặc tương tự trong dung môi như Diclometan hoặc tương tự. Các hợp chất được bảo vệ C-3 có công thức (x) có thể được khử nhóm bảo vệ để tạo ra các hợp chất axit tương ứng theo sáng chế có công thức (I) khi có mặt chất phản ứng như KOH hoặc NaOH cùng với các dung môi như metanol, THF, H₂O hoặc tương tự.

Sơ đồ 3



Các hợp chất amin C-17 có công thức (xiv) có thể được kết hợp với các hợp chất hydroxy có công thức (xv) ở điều kiện tại chỗ để tạo ra các hợp chất amin được thế C-17 tương ứng có công thức (xvi) khi có mặt chất phản ứng như anhydrit triflic, 2,6-Lutidin và các bazơ như triethylamin hoặc N, N-diisopropyletylamin hoặc các chất tương tự trong dung môi như Diclometan hoặc tương tự. Các hợp chất được bảo vệ C-3 có công thức (xvi) có thể được khử nhóm bảo vệ để tạo ra các hợp chất axit tương ứng có công thức (xvii) khi có mặt chất phản ứng như KOH hoặc NaOH cùng với các dung môi như metanol, THF,

H₂O hoặc tương tự. Nhóm ete silyl trong các hợp chất có công thức (xvii) có thể được khử nhóm bảo vệ để tạo ra các hợp chất axit tương ứng theo sáng chế có công thức (I) với chất phản ứng như TBAF trong THF hoặc tương tự và trong dung môi như THF hoặc tương tự.

Theo khía cạnh khác, các hợp chất theo sáng chế cũng có thể chứa các tỷ lệ không tự nhiên của các đồng vị nguyên tử đối với một hoặc nhiều nguyên tử tạo thành các hợp chất đó. Cụ thể, sáng chế cũng đề xuất các biến thể được đánh dấu đồng vị của sáng chế giống với các biến thể được nêu ở đây, nhưng thực tế là một hoặc nhiều nguyên tử của hợp chất được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử chiếm ưu thế hoặc số khối thường có trong tự nhiên của nguyên tử. Tất cả các đồng vị của bất kỳ nguyên tử hoặc nguyên tố cụ thể nào như được chỉ định đều được xem xét trong phạm vi của các hợp chất theo sáng chế, và công dụng của chúng. Các đồng vị mẫu có thể được đưa vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, lưu huỳnh, flo, clo và iốt, cụ thể như ²H (“D”), ³H, ¹²C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁵O, ¹⁷O, ¹⁸O, ³²P, ³³P, ³⁵S, ¹⁸F, ³⁶Cl, ¹²³I và ¹²⁵I. Các đồng vị cụ thể là -CD₃ hoặc -C(D₂)-. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế thường có thể được bào chế thông qua các quy trình tương tự với các quy trình được mô tả trong các sơ đồ và/hoặc trong các ví dụ dưới đây, bằng cách thế chất phản ứng được đánh dấu đồng vị cho chất phản ứng không được đánh dấu đồng vị.

Chữ viết tắt: Các chữ viết tắt được sử dụng trong toàn bộ phần mô tả có thể được tóm tắt sau đây dưới đây cùng với ý nghĩa cụ thể của chúng: ¹H NMR (Cộng hưởng từ hạt nhân proton); Hz (hec); MHz (megahec); DMSO-d₆ (Dimetylsulfoxit đơteri); δ (delta); ppm (phần triệu); s (đơn); d (nhóm kép); dd (nhóm kép của kép); t (nhóm ba); m (bội số); J (hằng số ghép nối); JAB (hằng số ghép nối); ABq (nhóm bốn AB); brs (đơn rộng); ml (mililit); °C (độ C); mol (mol); mmol (milimol); N (Dung dịch bình thường); g (gam); pH (độ hoạt động của hydro); Pd/C (paladi trên than hoạt tính); eq (đương lượng); psi (pound trên inch vuông); ESI-MS (Khối phổ ion hóa phun điện tử); ES-MS (Khối phổ phun điện tử); m/z (tỷ số khối lượng trên điện tích); M-H- (đỉnh phổ khối lượng gốc trừ đi hydro-); M + Na + (đỉnh phổ khối lượng chính cộng với natri +); M + H + (đỉnh phổ khối chính cộng với hydro+); DCM (Diclometan); DMF (N, N-dimetylformamit); THF (Tetrahydrofuran); Na₂SO₄ (natri sunfat); HCl (axit clohydric); TLC (Sắc ký lớp mỏng); % (phần trăm); TEMPO (2,2,6,6-Tetrametylpiperidin-1-yl)oxyl); KBr (kali bromua);

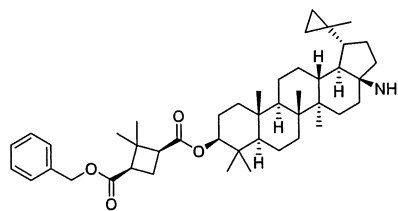
DIBAL-H (Diisobutyl nhôm Hydrua); DAST (Diethylaminsulfua triflorua); TBAF (Tetra-n-butylamoni florua); NaOH (natri hidroxit); KOH (kali hydroxit); EDC.HCl (1-(3-Dimetylaminpropyl)-3-etylcarbodiimit Hydroclorua); MTBE (metyl tert-butyl ete); HBTU (N,N,N',N'-Tetrametyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat); h (giờ); H (Hidro); APCI-MS (khối phổ ion hóa hóa học áp suất khí quyển); DMAP (4-Dimetylaminpyridin); TBDMSCl (tert-butyl dimethylsilyl clorua).

Ví dụ thực hiện sáng chế

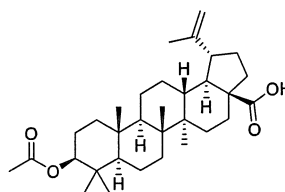
Sáng chế được mô tả rõ ràng hơn thông qua các ví dụ sau đây, tuy nhiên, các ví dụ được mô tả chỉ nhằm mục đích minh họa mà không giới hạn phạm vi của sáng chế. Hơn nữa, cần hiểu rõ rằng, người có trình độ trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể thực hiện các cải biến hoặc sửa đổi tương đương dựa trên các phương án thực hiện của sáng chế mà không rời khỏi phạm vi và tinh thần của sáng chế. Các thay đổi, sửa đổi có thể được thực hiện bằng cách thay đổi các ví dụ, nhóm thế, chất phản ứng, hoặc điều kiện khác nhau.

Các chất trung gian

Chất trung gian 1: Bào chế 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

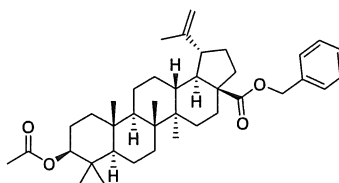


Bước 1: Tổng hợp axit (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylic:



Cho Axit betulinic (200 g, 0,438 mol, 1,0 eq) vào bình đáy tròn, axit axetic (1600 ml) và anhydrit axetic (173 g, 1,696 mol, 3,87 eq) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy và được gia nhiệt đến 130-140 °C trong khoảng 4 giờ. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng (TLC), cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất. Axit axetic được chưng cất ra khoảng 1100 ml trong điều kiện chân không. Bình được làm mát về nhiệt độ phòng, metanol (1400 ml) được thêm từ từ và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12-16 giờ. Chất rắn được lọc, được rửa bằng metanol (200 ml) và được sấy trong điều kiện chân không (50-55 °C) để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 182 g, 83,32%).

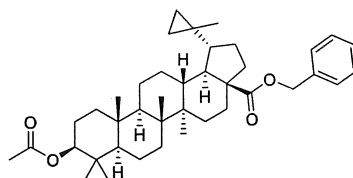
Bước 2: Tổng hợp benzyl (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylic (bước 1, 180 g, 0,361 mol, 1,0 eq) trong axetonitril (1800 ml) được bổ sung kali cacbonat (99,75 g, 0,721 mol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng, benzyl bromua (42,5 ml, 0,361 mol, 1,0 eq) được bổ sung từng giọt trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy và được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 6 giờ. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC, cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về nhiệt độ phòng, nước (2700 ml) được bổ sung và được khuấy trong 2 giờ. Etyl axetat (2700 ml) được bổ sung và được khuấy trong 30 phút. Lớp hữu cơ được tách ra và lớp nước được chiết lại 2 lần bằng etyl axetat (2x900 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (1800 ml) và dung dịch muối (1800 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng cách xử lý với metanol (720 ml), được khuấy và được gia nhiệt đến 60-65 °C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong 2 giờ. Hỗn hợp được lọc, được rửa bằng metanol (180 ml) và được sấy trong

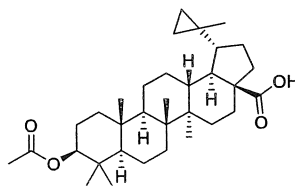
điều kiện chân không (55-60 °C) để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 180 g, 84,7%) dưới dạng chất rắn.

Bước 3: Tổng hợp benzyl (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm benzyl (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylat (bước 2, 120 g, 0,204 mol, 1,0 eq) trong DCM (1200 ml) ở -25 đến -35 °C dưới áp suất nitơ được bổ sung kèm diethyl (75,61 g, 408 ml, 0,612 mol, 3,0 eq, 1,5M trong Toluen). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -25 đến -35 °C trong 1 giờ. Diotmetan (81,5 ml, 1,02 mol, 5,0 eq) được thêm từ từ từng giọt ở -25 đến -35 °C trong khoảng 45 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -25 đến -35 °C trong khoảng 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 14 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0-5 °C, được dừng phản ứng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (600 ml), HCl 1 N (240 ml) được thêm từ từ để điều chỉnh pH (3 đến 4) và được khuấy trong 30 phút. Lớp hữu cơ được tách ra và lớp nước được chiết bằng DCM (600 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat 10%, nước (1800 ml) và dung dịch muối (1800 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cho chất rắn thu được vào Diisopropyl ete (360 ml) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Chất rắn được lọc, được rửa bằng diisopropyl ete (120 ml) và được sấy trong điều kiện chân không (55-60 °C) để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 100 g, 81,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

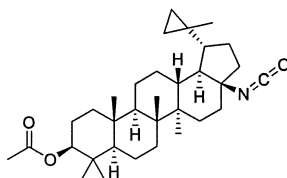
Bước 4: Tổng hợp axit (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylic:



Huyền dịch gồm 10% Pd/C (15 g, độ ẩm 50%) trong etyl axetat (350 ml) được bổ sung benzyl (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxycyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylat (bước 3, 35 g, 58,13 mmol, 1,0 eq) được hòa tan trong metanol (200 ml). Hỗn hợp phản ứng được hydro hóa trong thiết bị lắc Parr ở áp suất 50 psi trong 3 giờ. TLC cho biết mức tiêu thụ nguyên liệu ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm xe-lit và dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (30 g) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,51-4,46 (m, 1H), 2,25-2,21 (m, 1H), 2,13-0,78 (m, 24H), 2,04 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,91 (s, 6H), 0,86 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,38-0,34 (m, 2H), 0,27-0,24 (m, 2H); ESI-MS: m/z 511,45 (M-H) $^-$.

Bước 5: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-isoxyanato-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat:

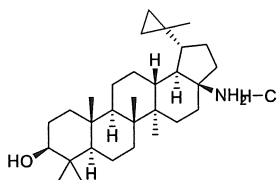


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxycyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylic (bước 4, 20 g, 39,00 mmol, 1,0 eq) trong Toluene (200 ml) được bổ sung Diphenylphosphoryl azua (22,36 ml, 97,50 mmol, 2,5 eq) và triethylamin (13,70 ml, 97,50 mmol, 2,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong 1 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (250 ml) và được chiết bằng DCM (2x200 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được nghiền nhỏ với metanol (100 ml), được lọc và được sấy trong

điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 19 g, 95,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,45 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 2,03-0,78 (m, 25H), 1,04 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,38-0,26 (m, 4H).

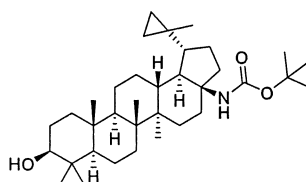
Bước 6: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-ol hydroclorua:



Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-isoxyanato-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (bước 5, 19 g, 37,27 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (190 ml) ở 0°C được bổ sung HCl đậm đặc (57 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở $50-60^\circ\text{C}$ qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp và được đồng pha loãng với axetonitril (100 ml) để thu được hợp chất mong muốn (20 g) dưới dạng chất rắn, sẽ được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

ES-MS: m/z 442,20 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

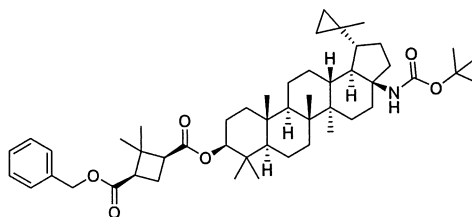
Bước 7: Tổng hợp tert-butyl ((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)carbammat:



Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8, 11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-ol hydroclorua (bước 6, 20 g, 41,823 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (200 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch natri bicacbonat bão hòa (100 ml) và di-*tert*-butyldicacbonat (14,41 ml, 62,734 mmol, 1,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước và được chiết bằng DCM (2x200 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ethyl axetat 10% trong hexan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất qua hai bước 9 g, 44,57%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 3,23-3,16 (m, 1H), 2,54-2,51 (m, 1H), 2,42-2,25 (m, 2H), 2,0-1,80 (m, 2H), 1,73-0,67 (m, 20H), 1,42 (s, 9H), 1,01 (s, 3H), 0,97 (s, 6H), 0,91 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,77 (s, 3H), 0,40-0,25 (m, 4H); ES-MS: m/z 564,17 (M+Na)⁺.

Bước 8: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((*tert*-butoxycarbonyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

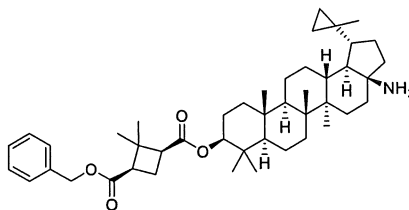


Dung dịch đã khuấy gồm *tert*-butyl ((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)carbamate (bước 7, 9 g, 16,609 mmol, 1,0 eq) trong Diclometan (90 ml) được bổ sung axit (1S,3R)-3-((benzyloxy)carbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic (được bào chế theo quy trình được mô tả trong WO2011/007230A2, 8,71 g, 33,21 mmol, 2,0 eq), 1-(3-Dimetylaminpropyl)-3-ethylcarbodiimide Hydroclorua (EDC.HCl) (9,55 g, 49,82 mmol, 3,0 eq) và 4-(Dimetylamin)pyridin (0,81 g, 6,643 mmol, 0,4 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu

đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (100 ml) và được chiết bằng diclometan (2x100 ml). Lóp hữu cơ hỗn hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat 10%: hexan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 11 g, 84,29%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,34 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 4,17 (s, 1H), 2,84-2,73 (m, 2H), 2,69-2,58 (m, 1H), 2,57-2,51 (m, 1H), 2,42-2,23 (m, 2H), 2,07-1,81 (m, 3H), 1,72-0,76 (m, 20H), 1,42 (s, 9H), 1,34 (s, 3H), 1,0 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,40-0,25 (m, 4H); ES-MS: m/z 786,47 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

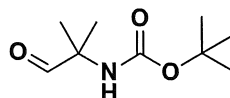
Bước 9: Tổng hợp 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8, 11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:



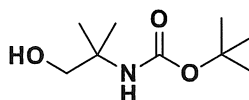
Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((tert-butoxycacbonyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl) icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 8, 11 g, 13,99 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (11 ml) ở 0 °C được bổ sung HCl 4 N trong 1,4-dioxan (33 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, cặn được kiểm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và được chiết bằng diclometan (3x100 ml). Lóp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 9 g, 93,84%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,34 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,45 (m, 1H), 2,81-2,73 (m, 2H), 2,65-2,62 (m, 1H), 2,08-1,88 (m, 3H), 1,74-0,78 (m, 23H), 1,34 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,91 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,37-0,22 (m, 4H); ES-MS: m/z 686,45 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 2: Bào chế tert-butyl (2-metyl-1-oxopropan-2-yl)carbamat:



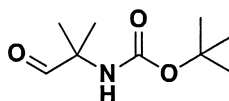
Bước 1: Tổng hợp tert-butyl (1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)carbamat:



Dung dịch đã khuấy gồm 2-amin-2-metylpropan-1-ol (10 g, 112,17 mmol, 1,0 eq) trong diclometan (120 ml) và metanol (100 ml) được bổ sung triethylamin (1,57 ml, 11,217 mmol, 0,1 eq) và di-*tert*-butyl dicacbonat (30,92 ml, 134,60 mmol, 1,2 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, nước (100 ml) được bổ sung và hợp chất được chiết bằng DCM (2x50 ml). Lớp hữu cơ được tách ra, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được nghiền nhỏ với n-hexan, chất rắn được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 14,0 g, 66%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,66 (s, 1H), 4,04 (s, 1H), 3,58 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,25 (s, 6H); ES-MS: m/z 189,80 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp tert-butyl (2-metyl-1-oxopropan-2-yl)carbamat:

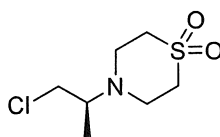


Dung dịch đã khuấy gồm tert-butyl (1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)carbamate (bước 1, 4 g, 21,134 mmol, 1,0 eq) trong diclometan (50 ml) được bổ sung TEMPO (0,098 g,

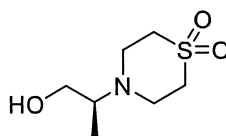
0,634 mmol, 0,03 eq), KBr (0,251 g, 2,1134 mmol, 0,1 eq), natri bicarbonat (10,82 g, 128,91 mmol, 6,1 eq), 10% NaOCl (26 ml) và sau đó là nước (1,05 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với diclometan (2x50 ml) và được rửa bằng nước (50 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (7,0 g) dưới dạng chất lỏng không màu. Hợp chất thu được được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 9,43 (s, 1H), 4,98 (s, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,33 (s, 6H); ES-MS: m/z 187,78 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 3: Bào chế (S)-4-(1-clopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



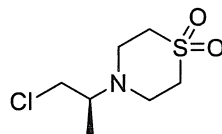
Bước 1: Tổng hợp (S)-4-(1-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm (S)-2-aminopropan-1-ol (1,0 g, 13,31 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (5 ml) và etanol (5 ml) được bổ sung divinyl sulfon (2,67 ml, 26,62 mmol, 2,0 eq) và triethylamin (5,61 ml, 39,93 mmol, 3,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 85 °C trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp và hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 5% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 2,0 g, 80%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,51-3,34 (m, 2H), 3,22-3,16 (m, 2H), 3,13-3,06 (m, 4H), 3,03-2,90 (m, 3H), 2,60 (s, 1H), 0,97 (d, J = 6,9 Hz, 3H); ES-MS: m/z 193,97 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

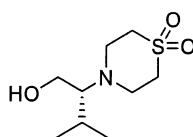
Bước 2: Tổng hợp (S)-4-(1-clopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm (S)-4-(1-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 1, 1,3 g, 6,72 mmol, 1,0 eq) trong 1,2-dicloetan (13 ml) được bổ sung thionyl clorua (1,47 ml, 20,18 mmol, 3,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với diclometan (20 ml), được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và nước. Lớp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 3% trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,925 g, 64,91%) dưới dạng chất lỏng không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,06-3,99 (m, 1H), 3,12-3,05 (m, 8H), 2,84-2,77 (m, 1H), 2,72-2,66 (m, 1H), 1,51 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 212,34 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

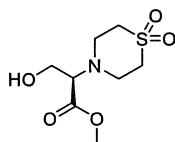
Chất trung gian 4: Bào chế (R)-4-(1-hydroxy-3-metylbutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm (R)-2-amin-3-metylbutan-1-ol (3 g, 29,069 mmol, 1,0 eq) trong ethanol (10 ml) và 1,4-dioxan (10 ml) được bổ sung triethylamin (12,25 ml, 87,207 mmol, 3,0 eq) và sau đó là divinyl sulfon (6,869 g, 58,139 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 3,6 g, 55,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,69 (m, 1H), 3,46-3,39 (m, 1H), 3,32-3,14 (m, 4H), 3,05-3,03 (m, 4H), 2,45-2,38 (m, 1H), 1,85-1,73 (m, 1H), 1,02 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,89 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

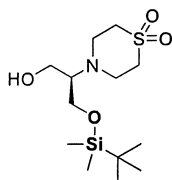
Chất trung gian 5: Bào chế methyl (R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxypropanoat:



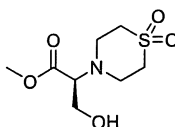
Dung dịch đã khuấy gồm methyl D-serinat hydroclorua (4,0 g, 25,70 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (20 ml) và etanol (20 ml) được bổ sung triethylamin (14,34 ml, 102,8 mmol, 4,0 eq) và sau đó là divinyl sulfon (5,15 ml, 51,4 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 85 °C trong 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về nhiệt độ phòng và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 5-10% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 5,8 g, 95%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,90-3,84 (m, 1H), 3,81-3,73 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,54 (dd, $J = 8,1, 6,0$ Hz, 1H), 3,40-3,30 (m, 2H), 3,17-3,13 (m, 1H), 3,09-3,06 (m, 5H), 2,48 (s, 1H).

Chất trung gian 6: Bào chế (R)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



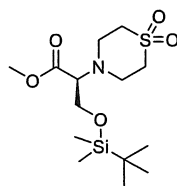
Bước 1: Tổng hợp methyl (S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxypropanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl L-serinat hydroclorua (4 g, 25,707 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (40 ml) và etanol (40 ml) được bổ sung triethylamin (14,3 ml, 102,828 mmol, 4,0 eq) và divinyl sulfon (6 g, 51,414 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 85 °C trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 40-80% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 5 g, 81,96%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,91-3,83 (m, 1H), 3,81-3,73 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,54 (dd, $J = 8,1, 6,0$ Hz, 1H), 3,40-3,31 (m, 2H), 3,19-3,02 (m, 6H), 2,42 (s, 1H); ES-MS: m/z 238,04 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

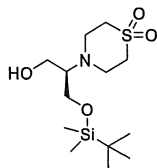
Bước 2: Tổng hợp methyl (S)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin) propanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxy propanoat (bước 1, 2,5 g, 10,536 mmol, 1,0 eq) trong DCM (37,5 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (4,4 ml, 31,609 mmol, 3,0 eq), 4-(Dimethylamin)pyridin (0,064 g, 0,525 mmol, 0,05 eq) và sau đó là *tert*-Butyldimetylsilyl clorua (2,5 g, 16,858 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước và lớp nước được tách ra. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch amoni clorua bão hòa, dung dịch natri bicarbonat 5%, nước và dung dịch muối. Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-40% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 3 g, 81%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,93-3,90 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,53-3,49 (m, 1H), 3,29-3,24 (m, 4H), 3,08-3,02 (m, 4H), 0,87 (s, 9H), 0,05 (s, 6H).

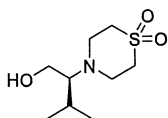
Bước 3: Tổng hợp (R)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propanoat (bước 2, 3,5 g, 9,956 mmol, 1,0 eq) trong metanol (70 ml) ở 0 °C được bổ sung natri bohdyrua (7,53 g, 199,129 mmol, 20 eq) cẩn thận từng phần. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng HCl 1 N, pha hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất thấp và lớp nước được chiết bằng ethyl axetat (2x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), dung dịch muối (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-10% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 3 g, 93,7%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,73-3,68 (m, 1H), 3,67-3,57 (m, 1H), 3,56-3,47 (m, 1H), 3,46-3,33 (m, 2H), 3,18-3,01 (m, 7H), 2,99-2,89 (m, 1H), 0,89 (s, 9H), 0,06 (s, 6H); ES-MS: m/z 323,64 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 7: Bào chế (S)-4-(1-hydroxy-3-metylbutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:

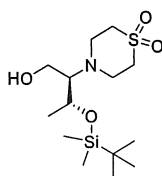


Dung dịch đã khuấy gồm (S)-2-amin-3-metylbutan-1-ol (2,0 g, 19,398 mmol, 1,0 eq) trong etanol (10 ml) và 1,4-dioxan (10 ml) được bổ sung divinyl sulfon (3,89 ml, 38,797 mmol, 2,0 eq) và triethylamin (8,178 ml, 58,19 mmol, 3,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 5 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất

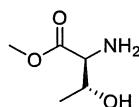
thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4,0 g, 95,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,74-3,68 (m, 1H), 3,45-3,38 (m, 1H), 3,32-3,14 (m, 4H), 3,05-3,02 (m, 4H), 2,47-2,36 (m, 2H), 1,83-1,75 (m, 1H), 1,02 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,89 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 221,85 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 8: Bào chế 4-((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



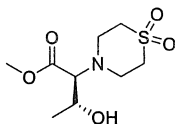
Bước 1: Tổng hợp metyl L-threoninat:



Dung dịch đã khuấy gồm L-threonin (10 g, 83,94 mmol, 1,0 eq) trong metanol (100 ml) ở 0 °C được bổ sung thionyl clorua (18,38 ml, 251,84 mmol, 3,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, etyl axetat (100 ml) và trietylamin (35,39 ml, 251,84 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, kết tủa được tạo thành. Kết tủa tạo ra được thu lại bằng cách lọc và dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (8 g) dưới dạng dầu. Hợp chất thu được được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 4,62 (s, 1H), 3,85-3,82 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,16 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 1,08 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 134,07 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

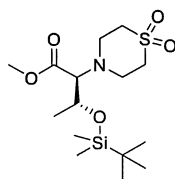
Bước 2: Tổng hợp metyl (2S,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl L-threoninat (bước 1, 2,5 g, 18,77 mmol, 1,0 eq) trong etanol (25 ml) và 1,4-dioxan (25 ml) được bổ sung triethylamin (7,91 ml, 56,31 mmol, 3,0 eq) và divinyl sulfon (5,61 ml, 37,55 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4 g, 85,1%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,13-3,96 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,42-2,90 (m, 9H), 1,21 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 252,26 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

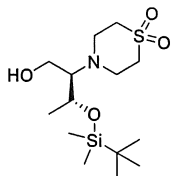
Bước 3: Tổng hợp methyl (2S,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2S,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutanoat (bước 2, 1,5 g, 5,976 mmol, 1,0 eq) trong DCM (15 ml) và DMF (10 ml) được bổ sung imidazol (0,813 g, 11,952 mmol, 2,0 eq) và *tert*-Butyldimethylsilyl clorua (1,35 g, 8,964 mmol, 1,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (20 ml) và được chiết bằng DCM (2x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được tách ra, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 1% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,6 g, 27,52%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,39 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,64-3,56 (m, 2H), 3,30-3,24 (m, 3H), 3,06-3,03 (m, 4H), 1,26 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,08 (s, 3H), 0,04 (s, 3H); ES-MS: m/z 388,10 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

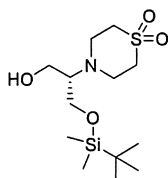
Bước 4: Tổng hợp 4-((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl) thiomorpholin 1,1-dioxit:



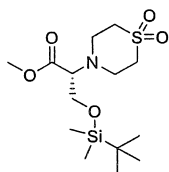
Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2S,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butanoat (bước 3, 0,6 g, 1,641 mmol, 1,0 eq) trong DCM (12 ml) ở -78°C được bổ sung DIBAL-H (6,5 ml, 9,847 mmol, 6,0 eq, 1,5M trong toluen). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và được chiết bằng ethyl axetat (2x30 ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (0,442 g, 79,92%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,11-4,03 (m, 1H), 3,71-3,64 (m, 2H), 3,55-3,39 (m, 4H), 3,19-3,08 (m, 4H), 2,81-2,74 (m, 1H), 2,49 (s, 1H), 1,30 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,0 (s, 9H), 0,20 (s, 6H); ESI-MS: m/z 360,05 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Chất trung gian 9: Bào chế (S)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl) thiomorpholin 1,1-dioxit:



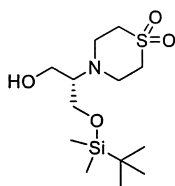
Bước 1: Tổng hợp methyl (R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin) propanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxy propanoat (Chất trung gian 5, 4,4 g, 18,54 mmol, 1,0 eq) trong DCM (45 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (7,7 ml, 55,63 mmol, 3,0 eq), 4-(Dimethylamin)pyridin (0,113 g, 0,92 mmol, 0,05 eq) và *tert*-Butyldimetylsilyl clorua (4,4 g, 29,67 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (150 ml), được rửa bằng nước (100 ml) và dung dịch muối (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-40% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 5 g, 77%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,93-3,90 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,51 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,26-3,24 (m, 4H), 3,06-3,02 (m, 4H), 0,87 (s, 9H), 0,05 (s, 6H); ES-MS: m/z 352,55 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp (S)-4-(1-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl) thiomorpholin 1,1-dioxit:

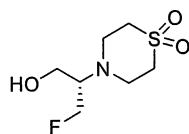


Dung dịch đã khuấy gồm methyl (R)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxit thiomorpholin)propanoat (bước 1, 5 g, 14,223 mmol, 1,0 eq) trong metanol (100 ml) ở 0 °C được bổ sung natri bohydrua (10,76 g, 284,47 mmol, 20,0 eq) cẩn thận từng phần. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được trung hòa bằng HCl 1 N và pha hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2x150 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (150 ml) và dung dịch muối (150 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat,

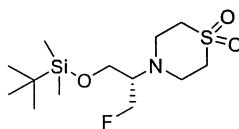
được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-10% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4 g, 87%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,75-3,62 (m, 1H), 3,61-3,55 (m, 1H), 3,54-3,46 (m, 1H), 3,42-3,33 (m, 2H), 3,17-3,10 (m, 2H), 3,10-3,02 (m, 5H), 3,0-2,90 (m, 1H), 2,50 (s, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,06 (s, 6H); ES-MS: m/z 324,56 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 10: Bào chế (S)-4-(1-flo-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



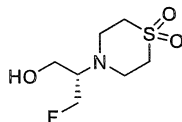
Bước 1: Tổng hợp (S)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-flopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm (R)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 6, 7,5 g, 23,291 mmol, 1,0 eq) trong DCM (150 ml) ở 0 °C được bổ sung DAST (3 ml, 23,291 mmol, 1,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa và được chiết bằng DCM. Lóp hữu cơ được rửa bằng nước, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-20% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,8 g, 23,8%) dưới dạng chất lỏng không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,67-4,64 (m, 1H), 4,51-4,49 (m, 1H), 3,79-3,71 (m, 2H), 3,25-3,22 (m, 3H), 3,14-2,87 (m, 6H), 0,90 (s, 9H), 0,07 (s, 6H); ES-MS: m/z 326,46 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

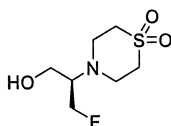
Bước 2: Tổng hợp (S)-4-(1-flo-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



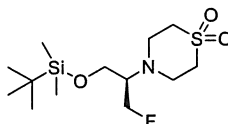
Dung dịch đã khuấy gồm (S)-4-(1-((tert-butyltrimethylsilyl)oxy)-3-flopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 1, 1,8 g, 5,538 mmol, 1,0 eq) trong THF (36 ml) ở 0 °C được bổ sung 1,0M TBAF trong THF (6,64 ml, 6,646 mmol, 1,2 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM, được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và nước. Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-4% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,950 g, 81,9%) dưới dạng chất lỏng không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,65-4,63 (m, 1H), 4,49-4,47 (m, 1H), 3,66-3,64 (m, 2H), 3,39-3,30 (m, 2H), 3,21-3,12 (m, 3H), 3,11-3,05 (m, 4H), 2,20 (s, 1H); ES-MS: m/z 212,34 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 11: Bào chế (R)-4-(1-flo-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Bước 1: Tổng hợp (R)-4-(1-((tert-butyltrimethylsilyl)oxy)-3-flopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:

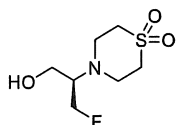


Dung dịch đã khuấy gồm (S)-4-(1-((tert-butyltrimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 9, 6 g, 18,633 mmol, 1,0 eq) trong DCM (120 ml) ở 0 °C được bổ sung DAST (1,83 ml, 18,633 mmol, 1,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ, được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 1 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong

muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được dừng phản ứng bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa và được chiết bằng DCM (100 ml). Lốp hữu cơ được rửa bằng nước, dung dịch muối (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 0-20% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,3 g, 21,5%) dưới dạng chất lỏng không màu.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,67-4,64 (m, 1H), 4,51-4,49 (m, 1H), 3,75 (dd, $J = 6,0, 1,2$ Hz, 2H), 3,25-3,22 (m, 4H), 3,04-2,90 (m, 5H), 0,89 (s, 9H), 0,06 (s, 6H); ES-MS: m/z 326,53 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

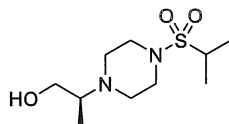
Bước 2: Tổng hợp (R)-4-(1-flo-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



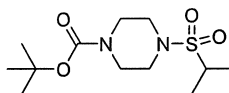
Dung dịch đã khuấy gồm (R)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-flopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 1, 1,3 g, 4,0 mmol, 1,0 eq) trong THF (26 ml) ở 0 °C được bổ sung TBAF (4,8 ml, 4,80 mmol, 1,2 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml), được rửa bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa và nước. Lốp hữu cơ được tách ra, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,650 g, 77%) dưới dạng chất lỏng không màu.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,65-4,63 (m, 1H), 4,49-4,47 (m, 1H), 3,66-3,64 (m, 2H), 3,39-3,30 (m, 2H), 3,22-3,12 (m, 3H), 3,11-3,03 (m, 4H), 2,19 (s, 1H); ES-MS: m/z 212,34 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 12: Bào chế (S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propan-1-ol:



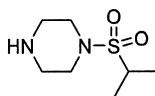
Bước 1: Tổng hợp tert-butyl 4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-carboxylat:



Hỗn hợp gồm tert-butyl piperazin-1-carboxylat (5 g, 26,84 mmol, 1,0 eq) và DCM (100 ml) được làm mát về -25°C , triethylamin (3,25 g, 32,21 mmol, 1,2 eq) và sau đó Isopropylsulfonyl clorua (4,4 g, 30,87 mmol, 1,15 eq) được bổ sung nhỏ giọt từ từ. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0°C , được trung hòa bằng dung dịch HCl 1 N và được chiết bằng DCM (3x400 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 6,9 g, 87,92%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,48-3,46 (m, 4H), 3,33-3,30 (m, 4H), 3,23-3,14 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,34 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H); ES-MS: m/z 315,45 ($\text{M}+\text{Na}$) $^{+}$.

Bước 2: Tổng hợp 1-(isopropylsulfonyl)piperazin:

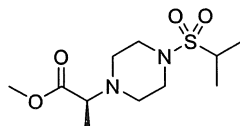


Dung dịch đã khuấy gồm tert-butyl 4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-carboxylat (bước 1, 6,9 g, 23,60 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (30 ml) ở 0°C được bổ sung HCl 4 N/1,4-dioxan (30 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0°C , dung dịch natri bicacbonat bão hòa được bổ sung và được chiết bằng DCM (3x400 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (150 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-10% trong diclometan. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong

muốn được kết hợp và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 2,8 g, 62,2%) dưới dạng chất bán rắn màu vàng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,35-3,32 (m, 4H), 3,23-3,14 (m, 1H), 2,92-2,89 (m, 4H), 1,34 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H); ES-MS: m/z 193,42 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

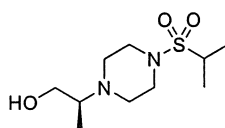
Bước 3: Tổng hợp methyl (S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (R)-2-hydroxypropanoat (1,461 g, 14,042 mmol, 1,5 eq) trong DCM (40 ml) ở -78 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (2,67 ml, 15,915 mmol, 1,7 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78 °C trong khoảng 45 phút, trong thời gian đó, 2,6-lutidin (1,85 ml, 15,915 mmol, 1,7 eq) được bổ sung và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 45 phút. Dung dịch gồm 1-(isopropylsulfonyl)piperazin (bước 2, 1,8 g, 9,361 mmol, 1,0 eq) trong DCM (10 ml) và sau đó là triethylamin (3,9 ml, 28,085 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở -78 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được dừng phản ứng bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và được chiết bằng DCM (3x250 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfate, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,8 g, 69,2%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,71 (s, 3H), 3,43-3,31 (m, 5H), 3,23-3,14 (m, 1H), 2,71-2,59 (m, 4H), 1,34 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H), 1,30 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 279,40 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

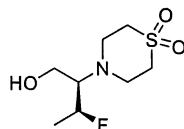
Bước 4: Tổng hợp (S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propan-1-ol:



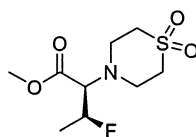
Dung dịch đã khuấy gồm methyl (S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propanoat (bước 3, 1,8 g, 6,466 mmol, 1,0 eq) trong metanol (100 ml) ở 0 °C được bổ sung natri bohydrua (6,11 g, 161,65 mmol, 25,0 eq) cẩn thận từng phần. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 6,0 bằng HCl 1 N và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, dung dịch natri bicacbonat bão hòa được bổ sung và được chiết bằng DCM (3x250 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,0 g, 61,8%) dưới dạng chất lỏng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,55-3,39 (m, 6H), 3,24-3,13 (m, 1H), 3,01-2,90 (m, 1H), 2,87-2,78 (m, 2H), 2,65-2,57 (m, 2H), 1,35 (d, $J = 6,6$ Hz, 6H), 0,99 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 251,58 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 13: Bào chế 4-((2R,3S)-3-fluoro-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Bước 1: Tổng hợp methyl (2R,3S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flobutanoat:

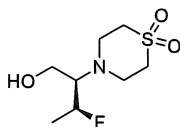


Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2S,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutanoat (Chất trung gian 8-bước 2, 15 g, 59,76 mmol, 1,0 eq) trong DCM (150 ml) ở 0 °C được bổ sung DAST (8,68 ml, 65,73 mmol, 1,1 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 30 phút và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, dung dịch natri bicacbonat bão hòa được bổ sung và được chiết bằng DCM (2x200 ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký

cột silica gel sử dụng metanol 1% trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 8 g, 52,94%) dưới dạng chất lỏng.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 5,22-5,13 (m, 0,5H), 5,06-4,98 (m, 0,5H), 3,77 (s, 3H), 3,44-3,22 (m, 5H), 3,10-2,96 (m, 4H), 1,45 (d, $J = 6,3$ Hz, 1,5H), 1,37 (d, $J = 6,3$ Hz, 1,5H); ES-MS: m/z 254,46 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

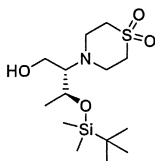
Bước 2: Tổng hợp 4-((2R,3S)-3-flu-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



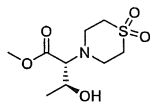
Huyền dịch đã khuấy gồm Lithi nhôm hydrua (3,59 g, 94,86 mmol, 3,0 eq) trong THF (160 ml) ở 0 °C được bổ sung metyl (2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flobutanoat (bước 1, 8 g, 31,62 mmol, 1,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ và tiếp đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được dừng phản ứng từ từ bằng nước (3,59 ml), dung dịch NaOH 10% (3,59 ml) và sau đó là nước (10,59 ml), và được khuấy trong khoảng 2 giờ. Kết tủa được tạo thành được lọc và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 0-2% trong diclometan gradient để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1 g, 14,06%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,57-4,51 (m, 0,5H), 4,40-4,33 (m, 0,5H), 3,94-3,83 (m, 2H), 3,30-3,22 (m, 3H), 3,18-3,0 (m, 6H), 1,17 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 226,48 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 14: Bào chế 4-((2S,3S)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



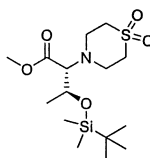
Bước 1: Tổng hợp metyl (2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm D-Threonin methyl este hydroclorua (13 g, 76,65 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (78 ml) và etanol (78 ml) được bổ sung divinyl sulfon (19,18 ml, 191,62 mmol, 2,5 eq) và sau đó là triethylamin (53,4 ml, 383,25 mmol, 5,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 6 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-6% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 10 g, 51,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,0-3,96 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,40-3,33 (m, 2H), 3,18-2,99 (m, 7H), 1,20 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 252,45 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

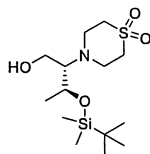
Bước 2: Tổng hợp methyl (2R,3S)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2R,3S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutanoat (bước 1, 5,0 g, 19,89 mmol, 1,0 eq) trong DCM (40 ml) và DMF (20 ml) ở 0 °C được bổ sung imidazol (2,7 g, 39,78 mmol, 2,0 eq) và *tert*-Butylidimethylsilyl clorua (3,29 g, 21,88 mmol, 1,1 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 72 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (200 ml) và được chiết bằng ethyl axetat (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (2x200 ml), được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4,5 g, 61,89%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,41-4,37 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,62-3,52 (m, 2H), 3,29-3,20 (m, 3H), 3,11-2,99 (m, 4H), 1,22 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,82 (s, 9H), 0,04 (s, 3H), 0,01 (s, 3H); ES-MS: m/z 366,50 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

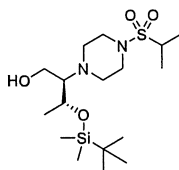
Bước 3: Tổng hợp 4-((2S,3S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



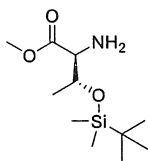
Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2R,3S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butanoat (bước 2, 2,8 g, 7,65 mmol, 1,0 eq) trong DCM (56 ml) ở -78 °C được thêm từ từ DIBAL-H (15,3 ml, 22,97 mmol, 3,0 eq, 1,5M trong toluen). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78 °C trong khoảng 30 phút và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch amoni clorua và được chiết bằng DCM (3x80 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (80 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,8 g, 69,7%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,02-3,92 (m, 1H), 3,57-3,48 (m, 2H), 3,44-3,32 (m, 3H), 3,14-3,0 (m, 6H), 2,43 (s, 1H), 1,19 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,1 (s, 6H); ES-MS: m/z 338,57 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 15: Bào chế (2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropyl sulfonyl)piperazin-1-yl)butan-1-ol:



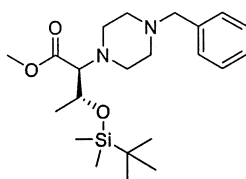
Bước 1: Tổng hợp methyl O-(tert-butyldimethylsilyl)-L-threoninat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl L-threoninat hydroclorua (21,5 g, 126,76 mmol, 1,0 eq) trong DCM (400 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (124,7 ml, 887,32 mmol, 7,0 eq), 4-(Dimethylamin)pyridin (1,54 g, 12,676 mmol, 0,1 eq) và tert-butyldimethylsilyl clorua (38,21 g, 253,53 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (200 ml) và được chiết bằng DCM (2x200 ml). Lớp hữu cơ được tách ra, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-1% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 20 g, 63,77%) dưới dạng chất lỏng không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,34-4,27 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,29 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 1,62 (brs, 2H), 1,26 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,04 (s, 6H); ES-MS: m/z 248,37 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp methyl (2S,3R)-2-(4-benzylpiperazin-1-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl) oxy)butanoat:

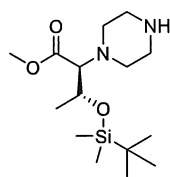


Dung dịch đã khuấy gồm methyl O-(tert-butyldimethylsilyl)-L-threoninat (bước 1, 20 g, 80,83 mmol, 1,0 eq) và N-benzyl-2-clo-N-(2-cloetyl)etan-1-amin hydroclorua (được bào chế như được mô tả trong E. J. M. C, 2014, 75, pp:11-20) (32,56 g, 121,24 mmol, 1,5 eq) trong metanol (20 ml) được bổ sung N,N-Diisopropyletylamin (100 ml). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 90-100 °C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (200 ml) và được chiết bằng DCM (2x200 ml). Lớp hữu cơ được tách ra, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong diclometan làm

dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 18 g, 54,86%) dưới dạng chất lỏng không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,32-7,30 (m, 5H), 4,23-4,14 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,49 (s, 2H), 3,07 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 2,83-2,76 (m, 2H), 2,64-2,58 (m, 2H), 2,45 (m, 4H), 1,19 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,85 (s, 9H), 0,04 (s, 6H); APCI-MS: m/z 407,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

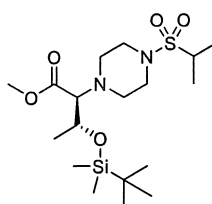
Bước 3: Tổng hợp methyl (2S,3R)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(piperazin-1-yl)butanoat:



Huyền dịch đã khuấy gồm 10% Pd/C (9 g, độ ẩm 50%) trong metanol (360 ml) được bổ sung methyl (2S,3R)-2-(4-benzylpiperazin-1-yl)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)butanoat (bước 2, 18 g, 44,33 mmol, 1,0 eq) và amoni format (55,90 g, 886,6 mmol, 20 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm xe-lit và được rửa bằng metanol. Dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với DCM, được rửa bằng nước, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 12 g, 85,7%), sẽ được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,36-4,30 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,37-3,29 (m, 2H), 3,23-3,11 (m, 5H), 3,05-2,97 (m, 2H), 1,21 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,04 (s, 6H); APCI-MS: m/z 317,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

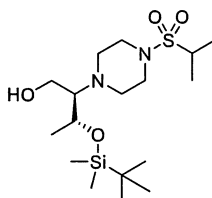
Bước 4: Tổng hợp methyl (2S,3R)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropylsulfonyl) piperazin-1-yl)butanoat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2S,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(piperazin-1-yl)butanoat (bước 3, 12,0 g, 37,97 mmol, 1,0 eq) trong DCM (180 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (21,18 ml, 151,88 mmol, 4,0 eq) và sau đó là isopropylsulfonyl clorua (8,12 g, 56,96 mmol, 1,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (100 ml) và được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 8,0 g, 50%) dưới dạng chất lỏng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,30-4,26 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,34-3,31 (m, 4H), 3,20-3,12 (m, 2H), 3,03-2,96 (m, 2H), 2,77-2,70 (m, 2H), 1,34 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H), 1,22 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,85 (s, 9H), 0,05 (s, 3H), 0,02 (s, 3H); ES-MS: m/z 423,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

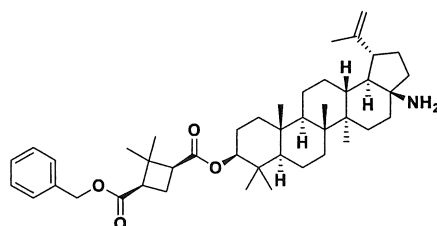
Bước 5: Tổng hợp (2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butan-1-ol:



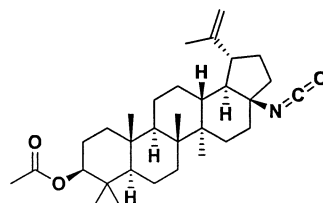
Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2S,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butanoat (bước 4, 5,0 g, 11,82 mmol, 1,0 eq) trong DCM (75 ml) ở -78 °C được bổ sung DIBAL-H (19,7 ml, 29,57 mmol, 2,5 eq, 1,5M trong Toluen). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78 °C trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và được khuấy trong khoảng 10 phút. Hỗn hợp được lọc và dịch lọc được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 3,7 g, 80%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,99-3,95 (m, 1H), 3,54-3,26 (m, 6H), 3,22-3,13 (m, 1H), 3,04-2,96 (m, 2H), 2,82-2,75 (m, 2H), 2,63-2,56 (m, 1H), 1,34 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H), 1,15 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,086 (s, 3H), 0,081 (s, 3H); ES-MS: m/z 395,46 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 16: Bào chế 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Bước 1: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-isoxyanato-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat:

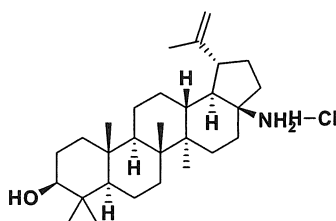


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-axetoxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-carboxylic (Chất trung gian 1-bước 1, 26 g, 52,13 mmol, 1,0 eq) trong toluen ở 0 °C được bổ sung diphenylphosphorylazua (28,684 g, 104,26 mmol, 2,0 eq) và triethylamin (15,82 g, 156,39 mmol, 3,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 80 °C trong 1,5 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (500 ml) và được chiết bằng DCM (3x500 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (200 ml) và dung dịch muối (200 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được xử lý bằng metanol (78 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, được lọc và được sấy trong

điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 23 g, 89,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,74 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,63 (t, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,45 (m, 1H), 2,57-2,50 (m, 1H), 2,15-2,02 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,88-0,77 (m, 23H), 1,68 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,84 (s, 3H).

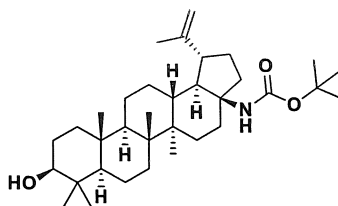
Bước 2: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-ol hydroclorua:



Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-isoxyanato-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (bước 1, 23 g, 46,394 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (230 ml) ở 0 °C được bổ sung được axit clohydric đậm đặc (69 ml). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 60 °C qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thu được được xử lý bằng heptan (69 ml), được khuấy trong 15 phút, chất rắn được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 20 g, 93%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,67 (s, 3H), 4,72 (s, 1H), 4,62 (s, 1H), 3,09-2,94 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,11-1,99 (m, 1H), 1,91-1,79 (m, 2H), 1,76-0,62 (m, 21H), 1,66 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,78 (s, 3H), 0,65 (s, 3H).

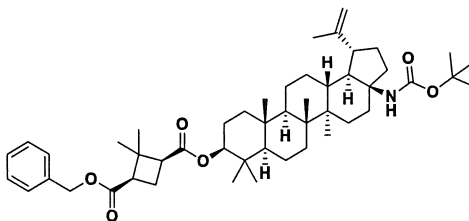
Bước 3: Tổng hợp tert-butyl ((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)carbamate:



Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-ol hydroclorua (bước 2, 20 g, 43,087 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (200 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch natri bicacbonat bão hòa (200 ml) và di-*tert*-butyl dicacbonat (14,1 g, 64,631 mmol, 1,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (400 ml) và được chiết bằng DCM (3x500 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (400 ml) và dung dịch muối (200 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-3% trong hexan. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 16 g, 70,48%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,732 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,628 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 4,33 (s, 1H), 3,22-3,17 (m, 1H), 2,58-2,54 (m, 1H), 2,50-2,35 (m, 2H), 2,06-1,92 (m, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,66-0,69 (m, 21H), 1,46 (s, 9H), 1,03 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,78 (s, 3H); ESI-MS: m/z 550,45 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Bước 4: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((*tert*-butoxycarbonyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

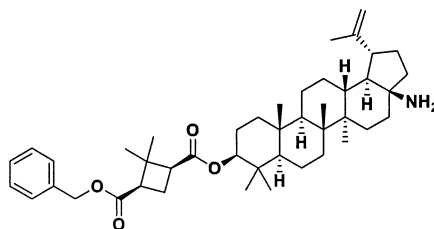


Dung dịch đã khuấy gồm *tert*-butyl ((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-

1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)carbamate (bước 3, 16 g, 30,312 mmol, 1,0 eq) trong DCM (240 ml) ở 0 °C được bổ sung axit (1S,3R)-3-((benzyloxy)carbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic (được bào chế như được mô tả trong WO 2011/007230 A2, 11,92 g, 45,469 mmol, 1,5 eq), 1-(3-Dimethylaminpropyl)-3-ethylcarbodiimide Hydrochloride (EDC.HCl) (14,52 g, 75,781 mmol, 2,5 eq) và 4-(Dimethylamin)pyridine (1,11 g, 9,093 mmol, 0,3 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (500 ml) và được chiết bằng DCM (3x500 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (200 ml) và dung dịch muối (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfate, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl acetate 0-3% trong hexane. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 16 g, 68,37%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,32 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,70 (s, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,43 (dd, $J = 11,4, 4,5$ Hz, 1H), 4,30 (s, 1H), 2,84-2,51 (m, 4H), 2,48-2,31 (m, 2H), 2,07-0,76 (m, 23H), 1,68 (s, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,34 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,85 (s, 6H), 0,84 (s, 3H); ESI-MS: m/z 794,55 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Bước 5: Tổng hợp 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)-3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

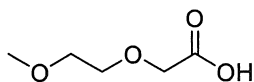


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((tert-butoxycarbonyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 4, 11,0 g, 14,24 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxane (55 ml) ở 0 °C được bổ sung HCl 4 N trong 1,4-

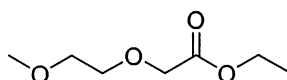
dioxan (55 ml). Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (50 ml), được kiềm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat trong nước và được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được xử lý bằng hexan (50 ml), được khuấy, được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 7,0 g, 73,1%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,32 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,72 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,43 (dd, $J = 11,4, 4,5$ Hz, 1H), 2,84-2,48 (m, 4H), 2,07-1,98 (m, 2H), 1,68 (s, 3H), 1,63-0,76 (m, 23H), 1,34 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,85 (s, 6H), 0,83 (s, 3H); ES-MS: m/z 672,49 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 17: Bào chế axit 2-(2-metoxymethoxy) axetic:

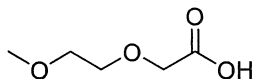


Bước 1: Tổng hợp ethyl 2-(2-metoxymethoxy)acetat:



Dung dịch đã khuấy gồm natri hydrua (6,6 g, 275,98 mmol, 3,0 eq) trong THF (140 ml) ở 0 °C được bổ sung 2-metoxietan-1-ol (7,0 g, 91,996 mmol, 1,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 30 phút. Ethyl bromacetat (19,97 g, 119,59 mmol, 1,3 eq) và kali iodua (3,054 g, 18,399 mmol, 0,2 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được dừng phản ứng bằng dung dịch natri clorua bão hòa và được chiết bằng DCM (3x350 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (150 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 10 g, 67%) dưới dạng dầu, sẽ được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

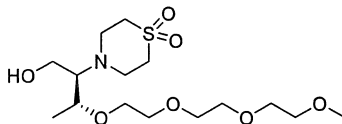
Bước 2: Tổng hợp axit 2-(2-metoxymethoxy) axetic:



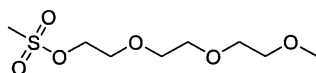
Dung dịch đã khuấy gồm etyl 2-(2-methoxyethoxy)acetat (bước 1, 10 g, 61,656 mmol, 1,0 eq) trong metanol (100 ml) và THF (100 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (184,96 ml, 462,42 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 2,0 bằng HCl 1 N và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Chất rắn thu được được khuấy với DCM (4x150 ml), được lọc và dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 5,0 g, 60,97%) dưới dạng dầu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,19 (s, 2H), 3,77-3,74 (m, 2H), 3,64-3,59 (m, 2H), 3,42 (s, 3H); ES-MS: m/z 135,17 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 18: Bào chế 4-((12R,13R)-14-hydroxy-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



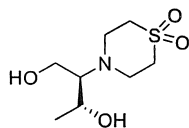
Bước 1: Tổng hợp 2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)etyl metansulfonat:



Dung dịch đã khuấy gồm 2-(2-(2-methoxyethoxy)ethoxy)etan-1-ol (3,29 g, 20,03 mmol, 1,0 eq) trong DCM (40 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (8,4 ml, 60,09 mmol, 3,0 eq) và sau đó là metansulfonyl clorua (2,01 ml, 26,04 mmol, 1,3 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Nước được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được chiết bằng DCM (2x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (4,3 g) dưới dạng chất lỏng, được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,40-4,36 (m, 2H), 3,78-3,75 (m, 2H), 3,70-3,61 (m, 6H), 3,56-3,52 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,07 (s, 3H); ES-MS: m/z 243,37 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

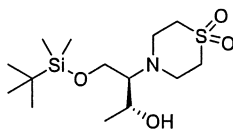
Bước 2: Tổng hợp 4-((2R,3R)-1,3-dihydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (2S,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutanoat (Chất trung gian 8-bước 2, 15 g, 59,713 mmol, 1,0 eq) trong metanol (300 ml) ở 0 °C được bổ sung natri bohydrua (22,5 g, 597,13 mmol, 10,0 eq) cẩn thận từng phần. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng HCl 4 N/1,4-dioxan (120 ml) và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được khuấy với DCM, được lọc và dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 6,5 g, 48,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 4,38 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,26 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 4,09-4,04 (m, 1H), 3,61-3,44 (m, 2H), 3,25-3,16 (m, 2H), 3,08-3,02 (m, 6H), 2,40-2,33 (m, 1H), 1,04 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 224,16 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 3: Tổng hợp 4-((2R,3R)-1-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-3-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:

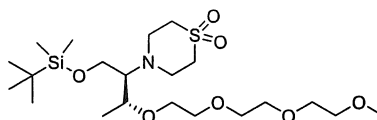


Dung dịch đã khuấy gồm 4-((2R,3R)-1,3-dihydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 2, 4,5 g, 20,153 mmol, 1,0 eq) trong DCM (90 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (14 ml, 100,76 mmol, 5,0 eq), DMAP (0,492 g, 4,030 mmol, 0,2 eq) và TBDMSCl (7,59 g, 50,383 mmol, 2,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn

được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (200 ml), được rửa bằng nước (200 ml) và dung dịch muối (250 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 0-60% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4 g, 58,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,80 (dd, $J = 11,1, 3,0$ Hz, 1H), 3,72-3,61 (m, 2H), 3,52-3,39 (m, 3H), 3,12-3,02 (m, 6H), 2,50-2,43 (m, 1H), 1,20 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,07 (s, 6H); ES-MS: m/z 338,32 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

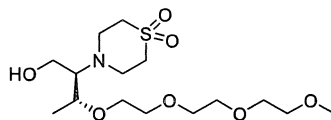
Bước 4: Tổng hợp 4-((12R,13R)-12,16,16,17,17-pentametyl-2,5,8,11,15-pentaoxa-16-silaoctadecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Huyền dịch gồm natri hydrua (1,77 g, 74,05 mmol, 5,0 eq) trong THF (50 ml) ở 0 °C được bổ sung 4-((2R,3R)-1-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-3-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 3, 5 g, 14,81 mmol, 1,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 40-50 °C trong khoảng 30 phút. 2-(2-(2-metoxymethoxy)ethoxy)ethyl metansulfonat (bước 1, 4,3 g, 17,77 mmol, 1,2 eq) và kali iodua (0,245 g, 1,48 mmol, 0,1 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 50-60 °C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được dừng phản ứng bằng nước đá lạnh và được chiết bằng DCM (2x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 0-40% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 2,0 g, 27,93%) dưới dạng chất lỏng không màu.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,0-3,93 (m, 1H), 3,84-3,70 (m, 2H), 3,68-3,63 (m, 10H), 3,62-3,50 (m, 4H), 3,38 (s, 3H), 3,14-2,95 (m, 6H), 2,66-2,61 (m, 1H), 1,20 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,07 (s, 3H), 0,05 (s, 3H); ES-MS: m/z 484,65 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

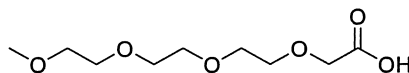
Bước 5: Tổng hợp 4-((12R,13R)-14-hydroxy-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



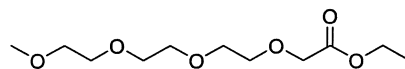
Dung dịch đã khuấy gồm 4-(((12R,13R)-12,16,16,17,17-pentamethyl-2,5,8,11,15-pentaoxa-16-silaoctadecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 4, 2,0 g, 4,134 mmol, 1,0 eq) trong THF (20 ml) được bổ sung TBAF (8,26 ml, 8,269 mmol, 2,0 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml) và được rửa bằng nước (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-9% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,8 g, 52,6%) dưới dạng chất lỏng không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 3,67-3,59 (m, 9H), 3,58-3,53 (m, 4H), 3,47-3,41 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,35-3,20 (m, 2H), 3,13-3,0 (m, 6H), 2,63-2,56 (m, 1H), 1,20 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); ES-MS: m/z 370,20 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 19: Bào chế axit 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-ic:



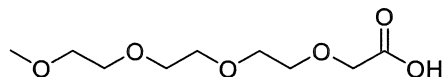
Bước 1: Tổng hợp etyl 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-oat:



Huyền dịch đã khuấy gồm natri hydrua (3,65 g, 152,25 mmol, 5,0 eq) trong THF (125 ml) ở 0 °C được bổ sung 2-(2-(2-metoxyetoxy)etox)etan-1-ol (5,0 g, 30,45 mmol, 1,0 eq) và Tetrabutylamoniiotua (2,24 g, 6,09 mmol, 0,2 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 30 phút, etyl 2-bromaxetat (6,611 g, 39,58 mmol, 1,3 eq) được bổ sung, được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ và được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, được dừng phản ứng bằng nước đá và được chiết bằng DCM (3x250 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (150 ml) và dung dịch muối (150 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới

áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 6 g, 78,74%) dưới dạng chất rắn, sẽ được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 2: Tổng hợp axit 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-oic:

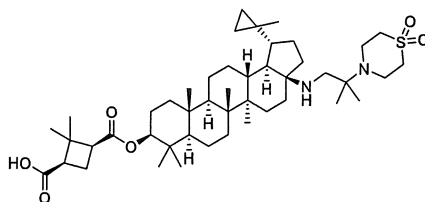


Dung dịch đã khuấy gồm etyl 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-oat (bước 1, 6,0 g, 23,97 mmol, 1,0 eq) trong metanol (60 ml) và THF (60 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (71,85 ml, 179,79 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, nước (50 ml) được bổ sung, được làm mát về 0 °C, được axit hóa đến pH 2,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (3x250 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn (5,3 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,17 (s, 2H), 3,75-3,57 (m, 12H), 3,39 (s, 3H); ES-MS: m/z 223,63 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

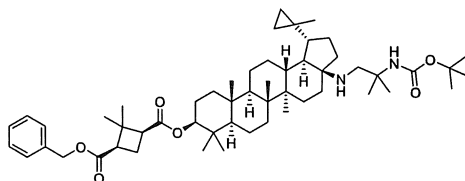
Các ví dụ

Ví dụ 1: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-(1,1-dioxithiomorpholin)-2-metylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-((tert-butoxycacbonyl)amin)-2-metylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-

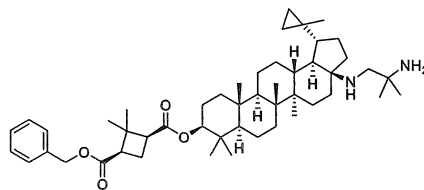
methyl xyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 4 g, 5,83 mmol, 1,0 eq) trong 1,2-dicloetan (40 ml) được bổ sung tert-butyl (2-methyl-1-oxopropan-2-yl)carbamate (Chất trung gian 2, 3,27 g, 17,49 mmol, 3,0 eq) và Titan tetraisopropoxit (3,4 ml, 11,66 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ và tiếp đó natri triaxetoxymetana (3,7 g, 17,49 mmol, 3,0 eq) được bổ sung và được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, lớp hữu cơ được tách ra và lớp nước được chiết bằng diclometan (2x40 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 1% trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4 g, 80%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,34 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, *J*_{AB} = 12,3 Hz, 2H), 4,45 (m, 1H), 2,90-2,46 (m, 3H), 2,40-2,30 (m, 2H), 2,10-2,0 (m, 2H), 1,97-1,13 (m, 32H), 1,42 (s, 9H), 1,03-0,76 (m, 22H), 0,40-0,20 (m, 4H); ESI-MS: *m/z* 857,75 (M+H)⁺.

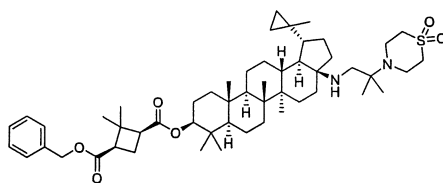
Bước 2: Tổng hợp 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-amin-2-methylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-((tert-butoxycarbonyl)amin)-2-methylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 4 g, 4,66 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (10 ml) ở 0 °C được bổ sung HCl 4 N/1,4-dioxan (30 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được kiềm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và được chiết bằng diclometan (2x40 ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 3 g, 85,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,34 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, *J*_{AB} = 12,3 Hz, 2H), 4,45 (m, 1H), 2,84-2,61 (m, 3H), 2,27-2,13 (m, 2H), 2,07-1,17 (m, 34H), 1,13-0,78 (m, 22H), 0,36-0,22 (m, 4H); ESI-MS: *m/z* 757,50 (M+H)⁺.

Bước 3: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-(1,1-dioxithiomorpholin)-2-methylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat:

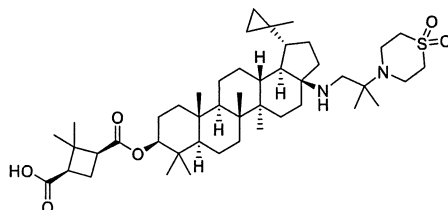


Dung dịch đã khuấy gồm 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-amin-2-methylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 2, 0,4 g, 0,52 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (4 ml) và ethanol (4 ml)

được bổ sung triethylamin (0,21 ml, 1,56 mmol, 3,0 eq) và sau đó là divinyl sulfon (0,12 g, 1,056 mmol, 2,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 85 °C trong khoảng 3 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (100 ml) và được chiết bằng ethyl axetat (3x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 20-40% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,4 g, 88,8%) dưới dạng chất rắn.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,49-4,40 (m, 1H), 3,05 (m, 8H), 2,86-2,73 (m, 2H), 2,71-2,60 (m, 1H), 2,50-2,28 (m, 2H), 2,10-1,13 (m, 34H), 1,08-0,78 (m, 22H), 0,42-0,22 (m, 4H).

Bước 4: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-2-metylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclo butan-1-carboxylic:

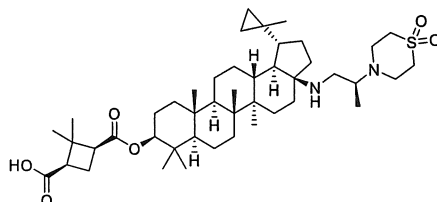


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-2-metylpropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxyclo butan-1,3-dicarboxylat (bước 3, 0,4 g, 0,456 mmol, 1,0 eq) trong THF (4 ml) và metanol (4 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,35 ml, 3,427 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp và được pha loãng với nước (5 ml). Hỗn hợp phản ứng được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 5 bằng HCl 1 N và được chiết bằng diclometan (3x30 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (20 ml) và dung dịch muối (10 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô

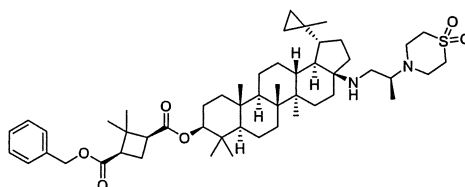
đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 30-45% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,15 g, 41,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,46 (dd, $J = 10,8, 4,8$ Hz, 1H), 3,10-2,92 (m, 8H), 2,86-2,74 (m, 2H), 2,65-2,53 (m, 1H), 2,39-2,28 (m, 2H), 2,10-2,0 (m, 2H), 1,98-1,05 (m, 32H), 1,03-0,78 (m, 22H), 0,40-0,20 (m, 4H). ESI-MS: m/z 785,65 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 2: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl xyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat:

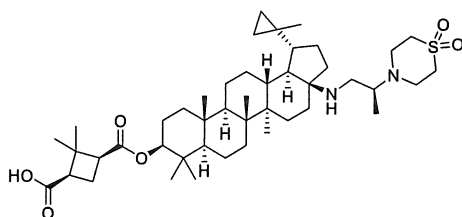


Dung dịch đã khuấy gồm 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 1 g, 1,457 mmol, 1,0 eq) trong axetonitril (20 ml) được bổ sung (S)-4-(1-clopropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 3, 0,925 g, 4,372 mmol, 3,0 eq), kali phosphat tribazơ (1,36 g, 6,4108 mmol, 4,4 eq) và kali iotua (0,653 g, 3,934 mmol, 2,7 eq). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được lọc

qua tấm xe-lit và được rửa bằng axetonitril (25 ml). Dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp và cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 2% metanol trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,35 g, 27,88%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 10,5, 4,8$ Hz, 1H), 3,32 (m, 1H), 3,12-3,06 (m, 8H), 2,88-2,72 (m, 2H), 2,70-2,52 (m, 2H), 2,50-2,48 (m, 1H), 2,18-2,0 (m, 3H), 1,92-1,17 (m, 25H), 1,17-0,78 (m, 25H), 0,68 (m, 1H), 0,50-0,36 (m, 2H), 0,28 (m, 1H); ES-MS: m/z 861,79 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

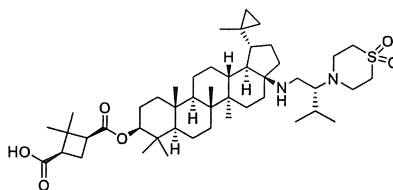
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:



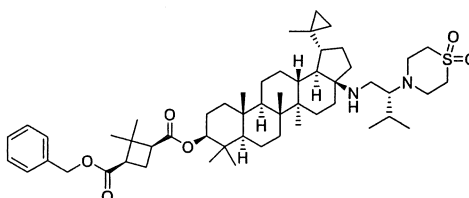
Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,35 g, 0,406 mmol, 1,0 eq) trong THF (3,5 ml) và metanol (3,5 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,22 ml, 3,047 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (10 ml), được làm mát về 0 °C và pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng HCl 1 N. Lóp nước được chiết bằng diclometan (2x20 ml). Lóp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong DCM. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách tái kết tinh với MTBE (10 ml) để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,1 g, 32%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,46 (m, 1H), 3,30-2,90 (m, 9H), 2,88-2,72 (m, 2H), 2,68-2,50 (m, 2H), 2,28-2,0 (m, 3H), 2,0-1,17 (m, 26H), 1,14-0,78 (m, 25H), 0,62-0,52 (m, 1H), 0,50-0,36 (m, 2H), 0,32-0,25 (m, 1H); ES-MS: m/z 771,87 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 3: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

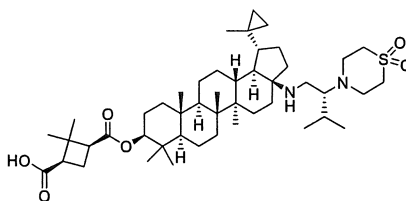


Dung dịch đã khuấy gồm (R)-4-(1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 4, 0,241 g, 1,093 mmol, 1,25 eq) trong diclometan (12 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,20 ml, 1,224 mmol, 1,4 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 10 phút. 2,6-Lutidin (0,145 ml, 1,25 mmol, 1,43 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,6 g, 0,874 mmol, 1,0) và sau đó là trietylamin (0,175 ml, 1,25 mmol, 1,43 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp được bỏ ra khỏi bể làm mát và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn

được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với diclometan (2x20 ml), lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat 30% trong hexan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,3 g, 38,96%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,45 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 3,22-3,06 (m, 6H), 3,02-2,94 (m, 2H), 2,88-2,58 (m, 3H), 2,52-2,18 (m, 3H), 2,10-1,90 (m, 2H), 1,88-1,10 (m, 27H), 1,06-0,78 (m, 28H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 889,81 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

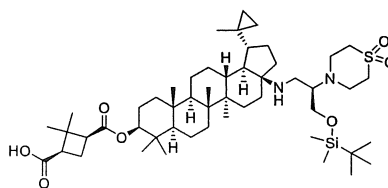
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



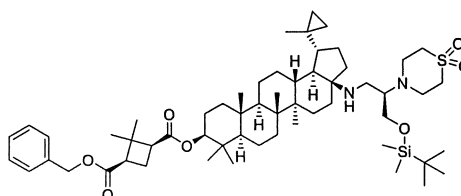
Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,3 g, 0,337 mmol, 1,0 eq) trong metanol (3 ml) và THF (3 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,01 ml, 2,527 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 5,0 và được chiết bằng diclometan (2x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 5% trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,100 g, 37,3%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,45 (m, 1H), 3,25-2,95 (m, 8H), 2,80-2,70 (m, 3H), 2,62-2,42 (m, 2H), 2,38-2,20 (m, 1H), 2,20-1,20 (m, 29H), 1,18-0,78 (m, 28H), 0,42-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 799,89 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 4: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)carbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat:

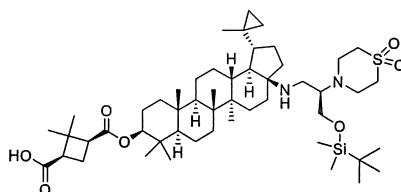


Dung dịch đã khuấy gồm (R)-4-(1-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 6, 0,742 g, 2,186 mmol, 1,5 eq) trong DCM (20 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,39 ml, 2,332 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút, tiếp đó 2,6-Lutidin (0,21 ml, 2,332 mmol, 1,6 eq) được bổ sung, được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 1-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 1 g, 1,457 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (0,32 ml, 2,332 mmol, 1,6 eq) được bổ sung lần lượt ở 0 °C và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được

quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml), được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa, nước và dung dịch muối. Lớp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 0-15% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1 g, 69,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,34 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,8$ Hz, 1H), 3,71-3,65 (m, 2H), 3,40-3,20 (m, 3H), 3,19-2,98 (m, 8H), 2,85-2,57 (m, 3H), 2,46-2,40 (m, 2H), 2,08-2,0 (m, 1H), 1,95-0,70 (m, 26H), 1,34 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,898 (s, 6H), 0,891 (s, 6H), 0,84 (s, 9H), 0,36-0,21 (m, 4H), 0,07 (s, 3H), 0,05 (s, 3H); ESI-MS: m/z 992,16 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) cacbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic:

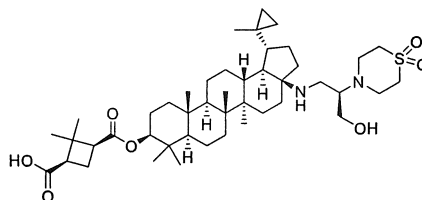


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 1 g, 1,008 mmol, 1,0 eq) trong metanol(10 ml) và THF (10 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (3 ml, 7,56 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml) và dung dịch muối (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel

sử dụng gradient metanol 0-6% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,350 g, 38,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,53-4,45 (m, 1H), 3,76-3,62 (m, 2H), 3,40-3,23 (m, 3H), 3,20-2,93 (m, 8H), 2,80-2,52 (m, 5H), 2,02-0,78 (m, 24H), 1,35 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 1,0 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,40-0,24 (m, 4H), 0,05 (s, 3H), 0,04 (s, 3H); ESI-MS: m/z 901,91 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

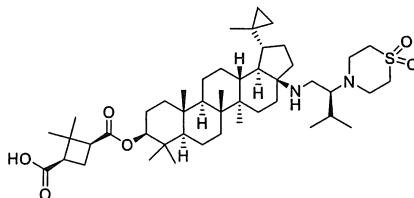
Ví dụ 5: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxypropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



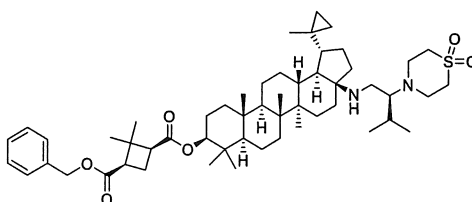
Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic (Ví dụ 4, 0,500 g, 0,554 mmol, 1,0 eq) trong THF (15 ml) ở 0 °C được bổ sung TBAF (0,66 ml, 0,6659 mmol, 1,2 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Cặn được hòa tan trong etyl axetat (100 ml), được rửa bằng nước (2x100 ml) và dung dịch muối. Lớp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-10% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,110 g, 25,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 4,35 (m, 1H), 3,55-3,45 (m, 1H), 3,44-3,38 (m, 1H), 3,20-3,10 (m, 2H), 3,09-2,92 (m, 6H), 2,82-2,70 (m, 3H), 2,35-2,22 (m, 4H), 1,98-0,78 (m, 25H), 1,33 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,83 (s, 6H), 0,82 (s, 3H), 0,35-0,20 (m, 4H); ESI-MS: m/z 787,55 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 6: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-metylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-metylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:

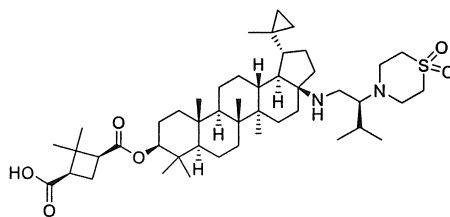


Dung dịch đã khuấy gồm (S)-4-(1-hydroxy-3-metylbutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 7, 0,290 g, 1,311 mmol, 1,5 eq) trong DCM (10 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,234 ml, 1,399 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 2,6-Lutidin (0,161 ml, 1,399 mmol, 1,6 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,6 g, 0,8745 mmol, 1,0 eq) và trietylamin (0,36 ml, 2,623 mmol, 3,0 eq) được bổ sung lần lượt ở 0 °C và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và được chiết bằng DCM (2x20 ml). Lốp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 2% metanol trong DCM làm

dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,4 g, 51,48%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,31 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,8$ Hz, 1H), 3,15-3,13 (m, 4H), 3,03-2,98 (m, 4H), 2,84-2,73 (m, 2H), 2,70-2,59 (m, 1H), 2,50-2,37 (m, 2H), 2,32-2,24 (m, 1H), 2,14-0,77 (m, 33H), 1,34 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,91 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,39-0,20 (m, 4H); ESI-MS: m/z 889,65 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclo butan-1-carboxylic:

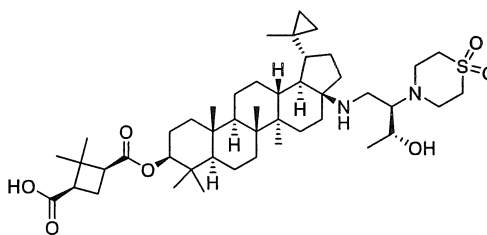


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methylbutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclo butan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,4 g, 0,449 mmol, 1,0 eq) trong metanol (4 ml) và THF (4 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,35 ml, 3,373 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x25 ml). Lốp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 5% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,120 g, 33,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

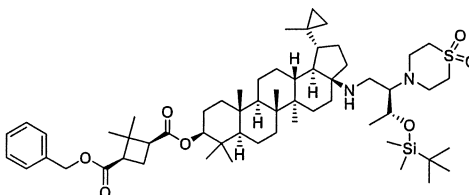
$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 4,44 (m, 1H), 3,06-2,95 (m, 8H), 2,84-2,71 (m, 3H), 2,45-2,24 (m, 5H), 1,95-0,78 (m, 31H), 1,26 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 0,95 (s, 3H),

0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,86 (s, 6H), 0,83 (s, 3H), 0,38-0,18 (m, 4H); ESI-MS: m/z 799,60 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 7: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b, 8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:

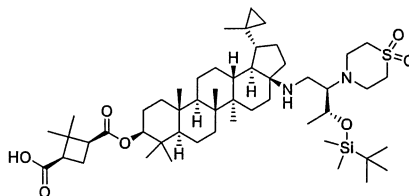


Dung dịch đã khuấy gồm 4-((2R,3R)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 8, 0,442 g, 1,311 mmol, 1,5 eq) trong DCM (10 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,234 ml, 1,399 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong 10 phút. 2,6-Lutidin (0,166 ml, 1,399 mmol, 1,6 eq) được bổ sung, được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR, 11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,6 g, 0,8745 mmol, 1,0 eq) và trietylamin (0,36 ml, 2,623 mmol, 3,0 eq) được bổ sung lần lượt ở 0 °C và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản

phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và được chiết bằng DCM (2x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 20% ethyl axetat trong hexan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,4 g, 45,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,33 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 4,0-3,97 (m, 1H), 3,46-3,35 (m, 2H), 3,28-3,20 (m, 2H), 2,98 (m, 4H), 2,84-2,72 (m, 2H), 2,70-2,60 (m, 1H), 2,60-2,50 (m, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,15-0,78 (m, 28H), 1,34 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,91 (s, 3H), 0,87 (brs, 12H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,38-0,20 (m, 4H), 0,06 (s, 3H), 0,05 (s, 3H); ESI-MS: m/z 1005,85 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)carbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic:

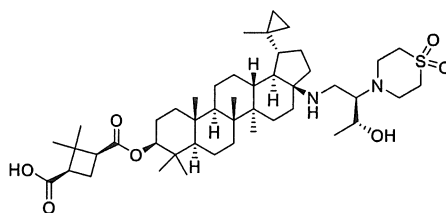


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,4 g, 0,3977 mmol, 1,0 eq) trong metanol (5 ml) và THF (5 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,19 ml, 2,983 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x20 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô

được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 3% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,3 g, 82,41%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,56-4,50 (m, 1H), 3,99-3,96 (m, 1H), 3,43-3,29 (m, 4H), 3,17-3,03 (m, 2H), 3,0-2,82 (m, 3H), 2,78-2,63 (m, 2H), 2,60-2,47 (m, 3H), 2,02-0,78 (m, 29H), 1,33 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,85 (s, 3H), 0,40-0,22 (m, 4H), 0,06 (s, 3H), 0,04 (s, 3H); ES-MS: m/z 915,60 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 3: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:

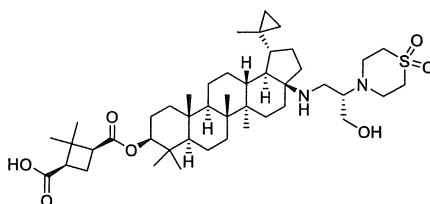


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl) amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic (bước 2, 0,3 g, 0,327 mmol, 1,0 eq) trong THF (6 ml) ở 0 °C được bổ sung Tetra-n-butylamoni florua (10 ml, 10,0 mmol, 31,0 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (20 ml) và được chiết bằng DCM (2x20 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 5% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 65 mg, 24,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

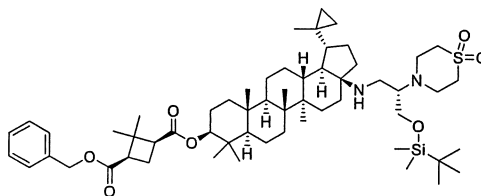
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,48-4,45 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,33 (m, 2H), 3,20-3,05 (m, 6H), 2,82-2,74 (m, 2H), 2,63-2,53 (m, 5H), 2,10-2,0 (m, 2H), 1,97-0,78 (m,

26H), 1,33 (s, 3H), 1,07 (s, 6H), 0,98 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,86 (s, 6H), 0,42-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 802,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 8: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxypropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

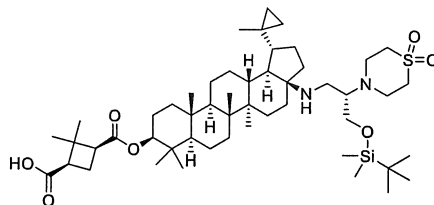


Dung dịch đã khuấy gồm (S)-4-(1-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 9, 0,844 g, 2,623 mmol, 1,5 eq) trong DCM (24 ml) ở 0 °C được bổ sung Anhydrit triflometansulfonic (0,47 ml, 2,798 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 2,6-Lutidin (0,32 ml, 2,798 mmol, 1,6 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S, 11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl) icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 1,2 g, 1,749 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (0,39 ml, 2,798 mmol, 1,6 eq) được bổ sung lần lượt ở 0 °C, được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (150 ml), được rửa bằng

dung dịch natri bicacbonat bão hòa, nước và dung dịch muối. Lốp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 0-15% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1 g, 57,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,33 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,8$ Hz, 1H), 3,71-3,67 (m, 2H), 3,30-3,22 (m, 2H), 3,18-3,06 (m, 2H), 3,05-2,90 (m, 5H), 2,83-2,72 (m, 3H), 2,70-2,59 (m, 2H), 2,46-2,32 (m, 2H), 2,10-1,20 (m, 26H), 1,0-0,78 (m, 31H), 0,39-0,23 (m, 4H), 0,05 (s, 6H); ES-MS: m/z 992,09 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

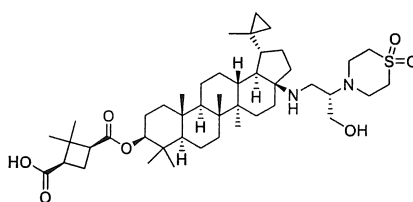
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) carbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) carbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 1,0 g, 1,008 mmol, 1,0 eq) trong metanol (12 ml) và THF (12 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (3,0 ml, 7,564 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x100 ml). Lốp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml) và dung dịch muối (100 ml). Lốp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 0-6% trong DCM làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,4 g, 44,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,45 (m, 1H), 3,69-3,65 (m, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,10-2,96 (m, 7H), 2,80-2,72 (m, 3H), 2,60-2,50 (m, 2H), 2,10-0,78 (m, 38H), 1,36 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,86 (s, 6H), 0,35-0,27 (m, 4H), 0,05 (s, 6H); ES-MS: m/z 902,18 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 3: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxypropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:

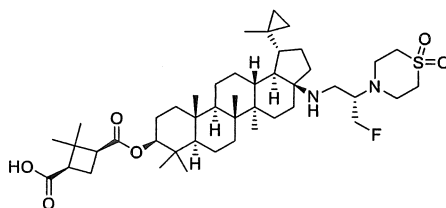


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic (bước 2, 0,4 g, 0,444 mmol, 1,0 eq) trong THF (10 ml) ở 0 °C được bổ sung TBAF (0,532 ml, 0,532 mmol, 1,2 eq, 1,0 M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước và được chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ được sấy bằng Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-10% trong DCM để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 90 mg, 25,7%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

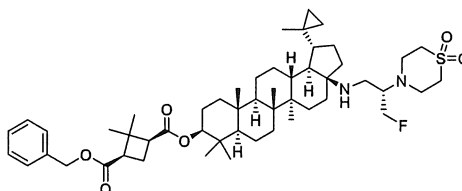
^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 4,40-4,32 (m, 1H), 3,62-3,58 (m, 1H), 3,50-3,45 (m, 1H), 3,10-2,92 (m, 8H), 2,82-2,70 (m, 3H), 2,38-2,23 (m, 5H), 1,92-0,78 (m, 24H), 1,26 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,83 (s, 6H), 0,81 (s, 3H), 0,33-0,22 (m, 4H); ESI-MS: m/z 788,27 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 9: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-

metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl
xyclobutan-1-carboxylic:



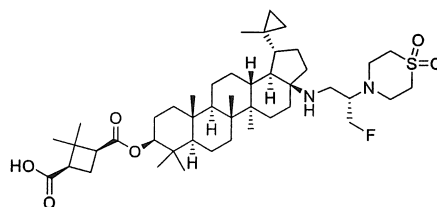
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metyl xyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm (S)-4-(1-flo-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 10, 0,922 g, 4,372 mmol, 3,0 eq) trong DCM (10 ml) ở 0 °C được bổ sung Anhydrit triflometansulfonic (0,78 ml, 4,664 mmol, 3,2 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 2,6-Lutidin (0,54 ml, 4,664 mmol, 3,2 eq) được bổ sung, được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 1,0 g, 1,457 mmol, 1,0 eq) và trietylamin (0,65 ml, 4,664 mmol, 3,2 eq) được bổ sung lần lượt ở 0 °C, được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml), được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (100 ml) và dung dịch muối (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-20% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,300 g, 23,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,33 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,3$ Hz, 2H), 4,67 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,51 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 3,28-3,14 (m, 4H), 3,11-3,07 (m, 1H), 3,05-2,98 (m, 4H), 2,85-2,73 (m, 3H), 2,69-2,62 (m, 1H), 2,53-2,47 (m, 3H), 2,08-0,78 (m, 24H), 1,34 (s, 3H), 1,0 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 880,01 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

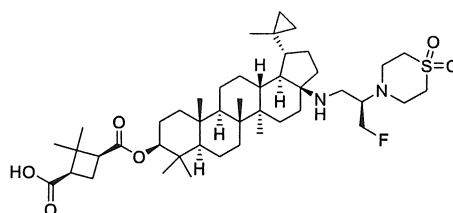
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl xyclobutan-1-carboxylic:



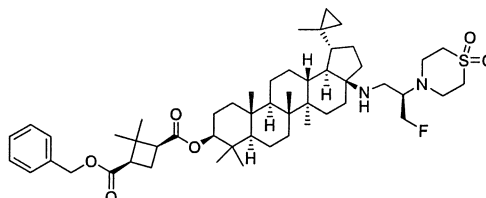
Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,300 g, 0,341 mmol, 1,0 eq) trong metanol (3 ml) và THF (3 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1 ml, 2,559 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 4,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x100 ml). Lốp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với DCM: hexan (1:9 ratio), chất rắn được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,090 g, 33,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,67 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,51 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,46 (dd, $J = 11,1, 4,2$ Hz, 1H), 3,23-3,0 (m, 9H), 2,84-2,75 (m, 3H), 2,64-2,56 (m, 4H), 2,09-0,78 (m, 24H), 1,37 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,87 (s, 6H), 0,85 (s, 3H), 0,38-0,29 (m, 4H); ES-MS: m/z 790,02 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 10: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl xyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metyl xyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:

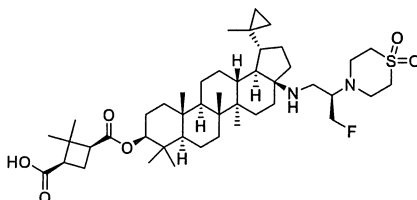


Dung dịch đã khuấy gồm (R)-4-(1-flo-3-hydroxypropan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 11, 0,645 g, 3,061 mmol, 3,0 eq) trong DCM (14 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,548 ml, 3,265 mmol, 3,2 eq). Sau 10 phút khuấy ở 0 °C, 2,6-Lutidin (0,38 ml, 3,265 mmol, 3,2 eq) được bổ sung và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 10 phút. 1-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,700 g, 1,020 mmol, 1,0 eq) và trietylamin (0,45 ml, 3,265 mmol, 3,2 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong

muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml), được rửa bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa (100 ml), nước và dung dịch muối (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-20% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,200 g, 22,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,64-4,62 (m, 1H), 4,48-4,36 (m, 2H), 3,27-3,22 (m, 2H), 3,18-3,02 (m, 7H), 2,85-2,72 (m, 3H), 2,59-2,50 (m, 1H), 2,42-2,32 (m, 1H), 2,10-0,78 (m, 26H), 1,34 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,97 (s, 6H), 0,91 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 880,01 ($M+H$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl xyclobutan-1-carboxylic:

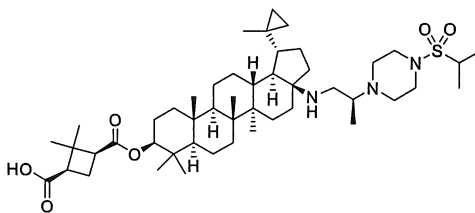


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-flopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,200 g, 0,227 mmol, 1,0 eq) trong metanol(2 ml) và THF (2 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (0,68 ml, 1,706 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 4,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được

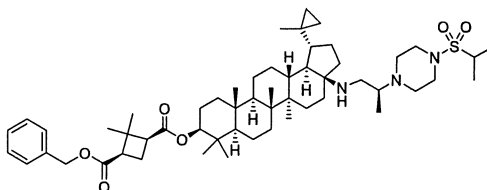
tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với DCM:hexan (tỷ lệ 1:9), kết tủa tạo thành được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,080 g, 44,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,64-4,40 (m, 3H), 3,30-2,98 (m, 9H), 2,80-2,50 (m, 5H), 2,20-0,78 (m, 26H), 1,35 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,88 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 790,02 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 11: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

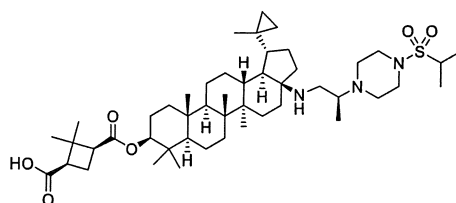


Dung dịch đã khuấy gồm (S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propan-1-ol (Chất trung gian 12, 0,547 g, 2,186 mmol, 1,5 eq) trong DCM (30 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,41 ml, 2,478 mmol, 1,7 eq). Sau 10 phút khuấy ở 0 °C, 2,6-Lutidin (0,28 ml, 2,478 mmol, 1,7 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 1-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl

(1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 1,0 g, 1,457 mmol, 1,0 eq) được hòa tan trong DCM (10 ml) và sau đó là triethylamin (0,6 ml, 4,372 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (150 ml) và được chiết bằng DCM (3x200 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml) và dung dịch muối (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong diclometan làm dung môi rửa giải. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô đặc dưới áp suất thấp để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,350 g, 26,3%) dưới dạng chất bán rắn màu vàng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,8$ Hz, 1H), 3,48-3,31 (m, 4H), 3,23-3,18 (m, 1H), 2,92-2,43 (m, 10H), 2,10-0,78 (m, 35H), 1,34 (s, 3H), 1,10 (s, 3H), 1,0 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 919,03 ($M+H$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metyl xyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetyl xyclobutan-1-carboxylic:

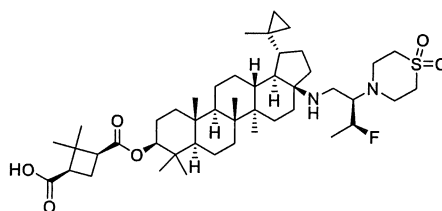


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((S)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)propyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metyl xyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,350 g, 0,381 mmol, 1,0 eq) trong metanol (3,5 ml) và THF (3,5 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,14 ml, 2,858 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay

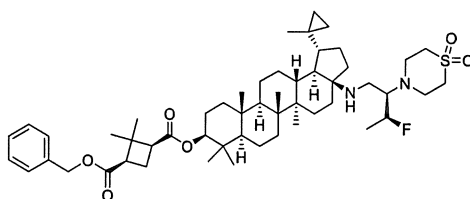
hoi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 4,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (3x150 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (150 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 6% trong diclometan làm dung môi rửa giải. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thu được được hòa tan trong DCM (2 ml), được xử lý bằng hexan (10 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 15 phút. Kết tủa tạo ra được thu lại bằng cách lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 70 mg, 22,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,47 (m, 1H), 3,50-3,30 (m, 4H), 3,25-3,15 (m, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,83-2,73 (m, 2H), 2,68-2,50 (m, 7H), 2,10-0,78 (m, 35H), 1,34 (s, 3H), 1,17 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,86 (s, 6H), 0,52-0,22 (m, 4H); ES-MS: m/z 829,01 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 12: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flobutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



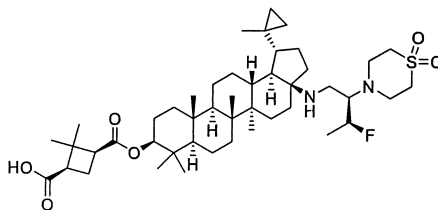
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flobutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 4-((2R,3S)-3-fluor-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 13, 0,590 g, 2,623 mmol, 2,0 eq) trong DCM (20 ml) ở 0 °C được bổ sung 2,6-Lutidin (0,45 ml, 3,933 mmol, 3,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút, tiếp đó anhydrit triflometansulfonic (0,567 ml, 3,277 mmol, 2,5 eq) được bổ sung và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 15 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR, 9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl) icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,9 g, 1,311 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (0,55 ml, 3,933 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được chiết bằng DCM (2x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng natri sulfat và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat 20% trong hexan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,3 g, 25,64%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,34 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 4,50-4,48 (m, 0,5H), 4,33-4,31 (m, 0,5H), 3,22-3,13 (m, 2H), 3,10-3,0 (m, 7H), 2,85-2,58 (m, 4H), 2,55-2,43 (m, 1H), 2,08-0,78 (m, 29H), 1,34 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,90 (s, 3H), 0,85 (s, 6H), 0,84 (s, 3H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 893,91 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flobutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:

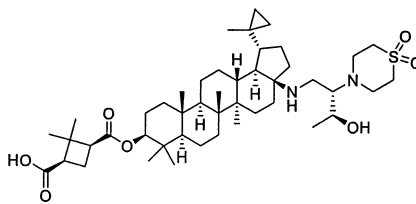


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flobutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-penta metyl-1-(1-

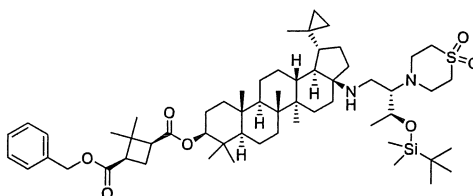
methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,3 g, 0,335 mmol, 1,0 eq) trong metanol (3 ml) và THF (3 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,0 ml, 2,518 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, được làm mát về 0 °C, pH được điều chỉnh đến 5,0 bằng HCl 1 N và được chiết bằng DCM (2x25 ml). Lốp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước, được sấy bằng natri sulfat và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol 2% trong diclometan làm dung môi rửa giải để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,13 g, 48,32%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,49-4,32 (m, 2H), 3,21-3,04 (m, 9H), 2,85-2,70 (m, 3H), 2,64-2,48 (m, 2H), 2,10-0,78 (m, 29H), 1,33 (s, 3H), 1,0 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,86 (s, 9H), 0,85 (s, 3H), 0,40-0,22 (m, 4H); ES-MS: m/z 803,82 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 13: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-penta methyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



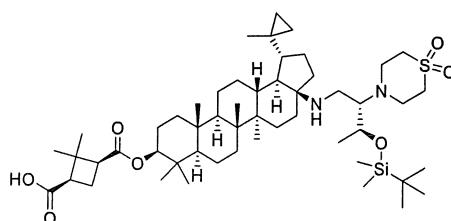
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b, 8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 4-((2S,3S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 14, 0,787 g, 2,33 mmol, 2,0 eq) trong DCM (16 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,31 ml, 1,86 mmol, 1,6 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. Tiếp đó, 2,6-Lutidin (0,21 ml, 1,86 mmol, 1,6 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, được khuấy trong khoảng 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,800 g, 1,166 mmol, 1,0 eq) và sau đó là triethylamin (0,48 ml, 3,498 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được dừng phản ứng bằng dung dịch natri bicacbonat trong nước và được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient ethyl axetat 20-30% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,400 g, 34%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,30 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,45 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 3,95-3,92 (m, 1H), 3,44-3,39 (m, 2H), 3,21-3,11 (m, 2H), 3,03-2,93 (m, 5H), 2,84-2,73 (m, 2H), 2,69-2,62 (m, 1H), 2,59-2,53 (m, 2H), 2,47-2,35 (m, 2H), 2,08-0,78 (m, 30H), 1,34 (s, 3H), 1,0 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,36-0,23 (m, 4H), 0,05 (s, 3H), 0,04 (s, 3H); ES-MS: m/z 1005,97 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

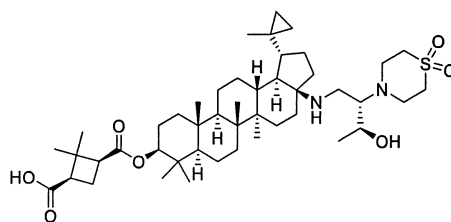
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)carbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,400 g, 0,397 mmol, 1,0 eq) trong metanol (4 ml) và THF (4 ml) được bổ sung dung dịch KOH 1,5 N (1,9 ml, 2,98 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 5 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 4,0 và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (50 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-6% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,200 g, 55%) dưới dạng chất rắn.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 4,49-4,44 (m, 1H), 4,0-3,92 (m, 1H), 3,40-3,22 (m, 4H), 3,04-2,90 (m, 5H), 2,80-2,70 (m, 3H), 2,60-2,50 (m, 3H), 2,32 (m, 1H), 2,10-0,78 (m, 36H), 1,33 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 6H), 0,40-0,20 (m, 4H), 0,04 (s, 3H), 0,03 (s, 3H); ES-MS: m/z 915,74 (M+H)⁺.

Bước 3: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)carbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:

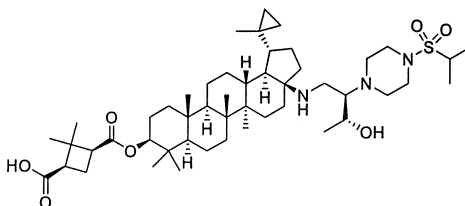


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)carbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic (bước 2, 0,200 g, 0,218 mmol, 1,0 eq) trong THF (2 ml) ở 0 °C được bổ sung TBAF (0,654 ml, 0,654 mmol, 3,0 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên

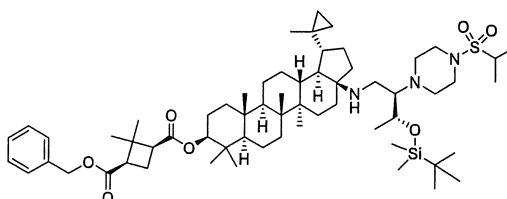
liệu ban đầu không hoàn tất, TBAF (1,526 ml, 1,526 mmol, 7,0 eq) lại được bổ sung ở 0 °C, được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (50 ml) và được chiết bằng DCM (3x30 ml). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (50 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với etyl axetat (1 ml) và hexan (10 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 10 phút, được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,080 g, 45,7%) dưới dạng chất rắn.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,46 (dd, $J = 11,7, 4,8$ Hz, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,42-3,32 (m, 2H), 3,18-3,0 (m, 7H), 2,80-2,50 (m, 7H), 2,08-0,78 (m, 27H), 1,36 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,85 (s, 6H), 0,35-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 801,73 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 14: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-hydroxy-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) carbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



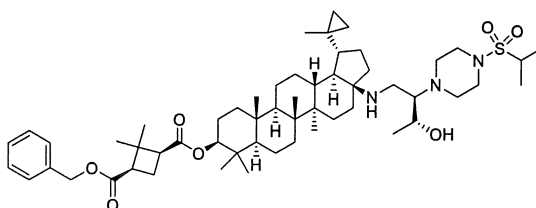
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm (2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butan-1-ol (Chất trung gian 15, 3,21 g, 8,16 mmol, 1,6 eq) trong DCM (50 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (1,45 ml, 8,67 mmol, 1,7 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong khoảng 10 phút. 2,6-Lutidin (0,65 ml, 8,67 mmol, 1,7 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong 15 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR, 11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 3,5 g, 5,10 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (2,13 ml, 15,3 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (100 ml), được kiểm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat trong nước và được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-2% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 2,0 g, 36,9%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{\text{AB}} = 12,6$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz, 1H), 4,01-3,98 (m, 1H), 3,30-3,15 (m, 5H), 2,90-2,32 (m, 10H), 2,08-1,48 (m, 13H), 1,47-1,13 (m, 24H), 1,07-0,78 (m, 31H), 0,38-0,18 (m, 4H), 0,04 (s, 3H), 0,03 (s, 3H); ES-MS: m/z 1063,68 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

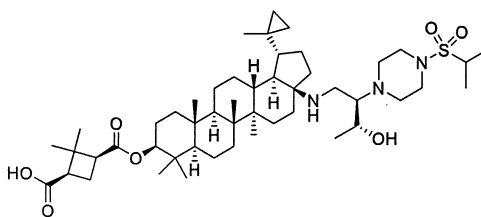
Bước 2: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-hydroxy-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 2,0 g, 1,88 mmol, 1,0 eq) trong THF (20 ml) ở 0 °C được bổ sung TBAF (7,52 ml, 7,52 mmol, 4,0 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (100 ml) và được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-4% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,500 g, 28%) dưới dạng chất rắn.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,36-7,31 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 10,8, 4,5$ Hz, 1H), 3,67-3,56 (m, 1H), 3,42-3,33 (m, 4H), 3,25-3,13 (m, 1H), 2,95-2,57 (m, 9H), 2,43-1,90 (m, 6H), 1,88-1,18 (m, 32H), 1,03-0,78 (m, 22H), 0,25-0,24 (m, 4H); ES-MS: m/z 948,93 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 3: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-hydroxy-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:

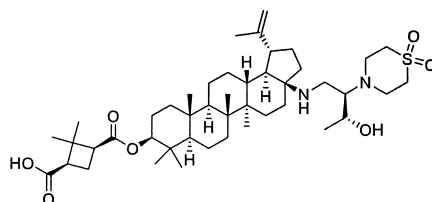


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-hydroxy-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 2, 0,500 g, 0,527 mmol, 1,0 eq) trong THF (5 ml) và metanol (5 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 1,5 N (2,63 ml, 3,954 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp

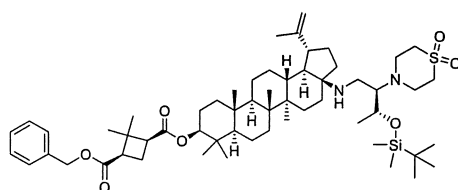
phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp. Cặn được pha loãng với nước (20 ml), được làm mát về 0 °C, được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 4,0 và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (50 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-10% trong diclometan. Hợp chất thu được được xử lý bằng DCM (5 ml) và hexan (40 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 15 phút và dung môi được gạn. Tiếp đó, DCM (5 ml) và hexan (20 ml) được bổ sung, được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 15 phút, kết tủa tạo thành được lọc và được sấy trong điều kiện chân không trong 2 giờ để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,180 g, 40%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,46 (dd, $J = 11,7, 4,8$ Hz, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,35 (m, 4H), 3,23-3,14 (m, 1H), 2,92-2,88 (m, 2H), 2,79-2,74 (m, 4H), 2,61-2,51 (m, 4H), 2,10-1,2 (m, 35H), 1,10-0,78 (m, 24H), 0,34-0,25 (m, 4H); ES-MS: m/z 858,82 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 15: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-penta metyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



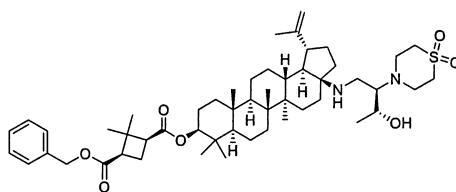
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b, 8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 4-((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 8, 4,14 g, 12,27 mmol, 1,5 eq) trong DCM (80 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (2,33 ml, 13,9 mmol, 1,7 eq) và được khuấy trong khoảng 10 phút. 2,6-Lutidin (1,6 ml, 13,9 mmol, 1,7 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 15 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR, 11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 16, 5,5 g, 8,18 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (3,42 ml, 24,54 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ và được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Dung dịch natri bicacbonat trong nước được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được chiết bằng DCM (3x100 ml). Lóp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 4,0 g, 49,3%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

¹HNMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,36-7,30 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,69 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,43 (dd, $J = 11,7, 4,5$ Hz, 1H), 4,03-3,98 (m, 1H), 3,47-3,37 (m, 2H), 3,30-3,18 (m, 2H), 3,10-2,94 (m, 5H), 2,85-2,40 (m, 7H), 2,07-1,98 (m, 2H), 1,93-0,75 (m, 25H), 1,68 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,07 (s, 6H); ES-MS: m/z 991,93 (M+H)⁺.

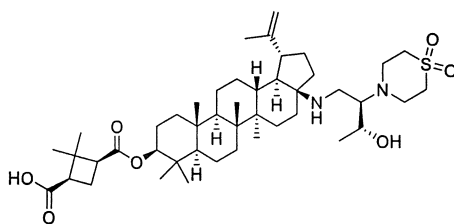
Bước 2: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethyl xyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 4,0 g, 4,034 mmol, 1,0 eq) trong THF (60 ml) ở 0 °C được bổ sung TBAF (20,17 ml, 20,17 mmol, 5,0 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (50 ml) và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (2x50 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong DCM để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 2,0 g, 56,6%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,69 (s, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,45-4,40 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,45-3,35 (m, 2H), 3,13-3,03 (m, 7H), 2,85-2,73 (m, 2H), 2,70-2,58 (m, 2H), 2,57-2,42 (m, 3H), 2,07-1,98 (m, 2H), 1,90-0,75 (m, 25H), 1,68 (s, 3H), 1,34 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,96 (s, 6H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H); ES-MS: m/z 877,84 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 3: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:

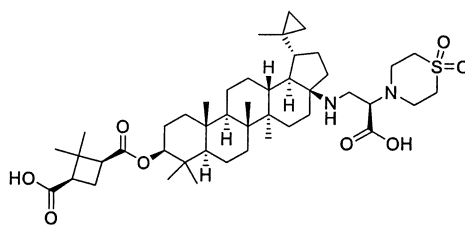


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 2, 2,0 g, 2,279 mmol, 1,0 eq) trong THF (12 ml) và metanol (12 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 1,5 N (12 ml, 17,09 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên

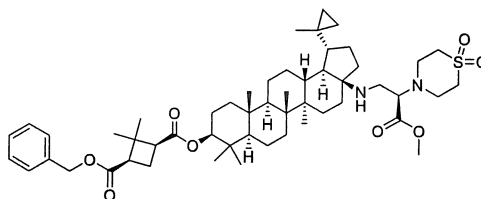
liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (20 ml), được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 4,0 và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (20 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 4-8% trong DCM. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với cloroform (5 ml) và hexan (20 ml), được khuấy trong khoảng 10 phút và gạn. Quy trình được lặp lại hai lần, sản phẩm cuối cùng được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,800 g, 44,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,69 (s, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,50-4,45 (m, 1H), 3,83-3,74 (m, 1H), 3,40-3,07 (m, 9H), 2,80-2,49 (m, 7H), 2,07-0,77 (m, 27H), 1,68 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,10 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,85 (s, 6H); ES-MS: m/z 787,60 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 16: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-carboxy-2-(1,1-dioxithiomorpholin)etyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic:



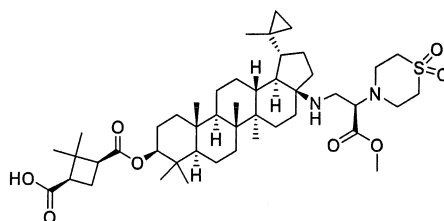
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-methoxy-3-oxopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimethylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm methyl (R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxypropanoat (Chất trung gian 5, 0,34 g, 1,457 mmol, 1,25 eq) trong diclometan (16 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,27 ml, 1,632 mmol, 1,4 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong 10 phút, tiếp đó 2,6-lutidin (0,19 ml, 1,667 mmol, 1,43 eq) được bổ sung và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR, 9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl) icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,8 g, 1,166 mmol, 1,0 eq) và sau đó là trietylamin (0,23 ml, 1,667 mmol, 1,43 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được thay đổi đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 4 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được kiểm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa và được chiết bằng diclometan (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (20 ml), được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,680 g, 64,7%) dưới dạng chất rắn.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 11,1, 4,5$ Hz 1H), 3,70 (s, 3H), 3,42-3,35 (m, 1H), 3,35-3,25 (m, 1H), 3,15-2,94 (m, 7H), 2,85-2,57 (m, 5H), 2,08-1,0 (m, 28H), 1,0-0,78 (m, 22H), 0,38-0,20 (m, 4H).

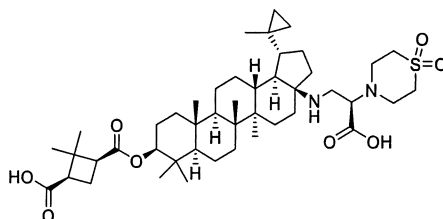
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-metoxi-3-oxopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:



Huyền dịch gồm Pd/C (500 mg) 10% trong etyl axetat (7 ml) và metanol (7 ml) được bổ sung 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-metoxo-3-oxopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 0,35 g, 0,386 mmol, 1,0 eq) và amoni format (0,121 g, 1,933 mmol, 5,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm xe-lit và được rửa bằng metanol 5% trong DCM (100 ml). Dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất thấp và cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 5-10% trong DCM với một giọt axit axetic. Chất rắn thu được được xử lý bằng etyl axetat (2 ml) và hexan (8 ml) và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Kết tủa tạo ra được thu lại bằng cách lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 40 mg, 12,69%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,47-4,45 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,42-3,35 (m, 1H), 3,28 (m, 1H), 3,15-3,02 (m, 4H), 2,98 (m, 3H), 2,85-2,75 (m, 2H), 2,65-2,52 (m, 3H), 2,10-1,18 (m, 25H), 1,10-0,78 (m, 25H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: m/z 815,88 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước-3: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-carboxy-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)etyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:

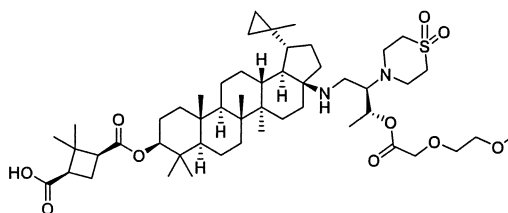


Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-metoxo-3-oxopropyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (0,3 g, 0,33 mmol, 1,0 eq) trong metanol (3 ml) và THF (3 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (1,0 ml, 2,48 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở

nhệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (10 ml), được làm mát về 0 °C, được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 2,0 và được chiết bằng DCM (3x25 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (20 ml), được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng một giọt axit axetic trong metanol 10% trong DCM làm dung môi rửa giải. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với etyl axetat (20 ml), được gia nhiệt hồi lưu trong khoảng 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm mát về nhiệt độ phòng, chất rắn được lọc, được rửa bằng etyl axetat (5 ml) và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 50 mg, 18,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

¹HNMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ ppm 4,38-4,32 (m, 1H), 3,08-2,93 (m, 8H), 2,82-2,68 (m, 4H), 2,37-2,23 (m, 2H), 2,0-0,78 (m, 26H), 1,27 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,91 (s, 6H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,4-0,18 (m, 4H); ESI-MS: m/z 823,55 (M+Na)⁺.

Ví dụ 17: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-(2-(2-metoxymethoxy)acetoxymethyl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)carbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic:

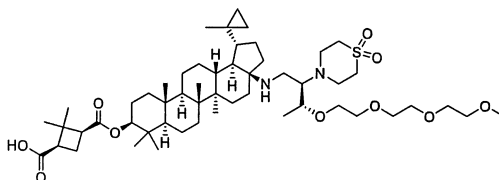


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-cyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy) carbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic (Ví dụ 8, 0,400 g, 0,499 mmol, 1,0 eq) trong DCM (10 ml) được bổ sung DMAP (0,030 g, 0,24 mmol, 0,5 eq), EDC.HCl (0,430 g, 2,24 mmol, 4,5 eq) và 2-(2-metoxymethoxy)axit axetic (Chất trung gian 17, 0,167 g, 1,24 mmol, 2,5 eq, bước 2). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu

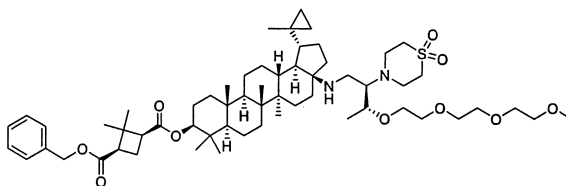
bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (10 ml) và được chiết bằng DCM (3x20 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (20 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-4% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với cloform (2 ml) và hexan (8 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút, được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,100 g, 21,8%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 5,15-5,09 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,16 (s, 2H), 3,73-3,71 (m, 2H), 3,62-3,58 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,27-3,19 (m, 4H), 3,0-2,95 (m, 5H), 2,85-2,73 (m, 2H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,50-2,35 (m, 2H), 2,08-2,0 (m, 2H), 1,90-0,78 (m, 27H), 1,36 (s, 3H), 1,09 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,87 (s, 3H), 0,38-0,25 (m, 4H); ES-MS: m/z 917,95 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 18: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



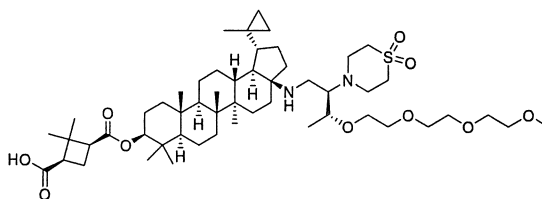
Bước 1: Tổng hợp 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat:



Dung dịch đã khuấy gồm 4-((12R,13R)-14-hydroxy-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 18, 0,775 g, 2,099 mmol, 1,6 eq) trong DCM (20 ml) ở 0 °C được bổ sung anhydrit triflometansulfonic (0,39 ml, 2,361 mmol, 1,8 eq). Sau khi khuấy trong 10 phút ở 0 °C, 2,6-Lutidin (0,3 ml, 2,623 mmol, 2,0 eq) được bổ sung và được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 10 phút. 1-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 3-benzyl (1S,3R)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (Chất trung gian 1, 0,900 g, 1,311 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (0,5 ml, 3,935 mmol, 3,0 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml), được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (100 ml), nước và dung dịch muối. Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,0 g, 73,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 7,35 (m, 5H), 5,15, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,6$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 10,5, 4,2$ Hz, 1H), 3,67-3,65 (m, 4H), 3,64-3,61 (m, 6H), 3,60-3,58 (m, 1H), 3,57-3,52 (m, 3H), 3,45-3,40 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 3,36-3,27 (m, 1H), 3,23-3,10 (m, 1H), 3,09-3,06 (m, 1H), 3,05-2,92 (m, 6H), 2,83-2,64 (m, 3H), 2,60-2,54 (m, 3H), 2,10-0,78 (m, 27H), 1,34 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,40-0,19 (m, 4H); ES-MS: m/z 1038,95 (M+H)⁺.

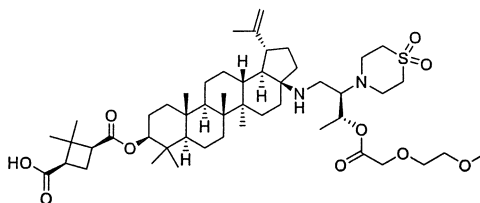
Bước 2: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxitthiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxitthiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-metylxcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 1, 1,0 g, 0,963 mmol, 1,0 eq) trong THF (10 ml) và metanol (10 ml) ở 0 °C được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (2,89 ml, 7,229 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được làm mát về 0 °C, được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 4,0 và được chiết bằng DCM (2x100 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (100 ml), được sấy bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-7% trong DCM để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,050 g, 5,47%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 4,46 (dd, *J* = 11,4, 4,8 Hz, 1H), 3,65-3,50 (m, 14H), 3,42-3,32 (m, 5H), 3,18-3,10 (m, 2H), 3,05-2,95 (m, 6H), 2,82-2,72 (m, 3H), 2,70-2,50 (m, 3H), 2,08-0,76 (m, 27H), 1,36 (s, 3H), 1,07 (s, 3H), 1,02 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,91 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,40-0,20 (m, 4H); ES-MS: *m/z* 947,99 (M+H)⁺.

Ví dụ 19: Bào chế axit (1R,3S)-3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-(2-(2-metoxyetoxy)axetoxetyl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:

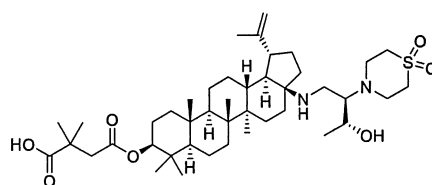


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-

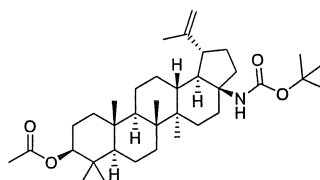
carboxylic (Ví dụ-15, 0,650 g, 0,825 mmol, 1,0 eq) trong DCM (13 ml) được bổ sung 2-(2-metoxymethoxy)axit axetic (Chất trung gian 17, 0,276 g, 2,06 mmol, 2,5 eq), DMAP (0,050 g, 0,41 mmol, 0,5 eq) và EDC.HCl (0,711 g, 3,71 mmol, 4,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (50 ml) và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (50 ml), được sấy bằng natri sulfate, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-6% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với ethyl axetat (5 ml) và hexan (50 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút, được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,480 g, 64%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 5,14-5,09 (m, 1H), 4,68 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,53-4,48 (m, 1H), 4,17 (s, 2H), 3,75-3,68 (m, 2H), 3,62-3,57 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,33-2,85 (m, 9H), 2,81-2,40 (m, 5H), 2,05-0,77 (m, 26H), 1,68 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,24 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H), 1,12 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,85 (s, 3H); ES-MS: m/z 904,04 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 20: Bào chế axit 4-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)-2,2-dimetyl-4-oxobutanoic:



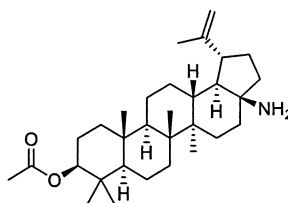
Bước 1: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((tert-butoxycarbonyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat:



Dung dịch đã khuấy gồm tert-butyl ((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)carbamate (được bào chế như được mô tả trong WO 2017/149518 A2, 12 g, 22,734 mmol, 1,0 eq) trong THF (120 ml) ở 0 °C được bổ sung triethylamin (9,5 ml, 68,203 mmol, 3,0 eq), DMAP (0,333 g, 2,728 mmol, 0,12 eq) và anhydrit axetic (3 ml, 31,828 mmol, 1,4 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với etyl axetat (200 ml) và được rửa bằng nước (2x200 ml). Lốp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được xử lý bằng n-hexan (100 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ, được lọc và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 12 g, 93%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,71 (s, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,47 (dd, $J = 9,9, 4,5$ Hz, 1H), 4,34 (s, 1H), 2,58-2,30 (m, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,02-0,77 (m, 22H), 1,68 (s, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,01 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H); ES-MS: m/z 570,39 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 2: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat:

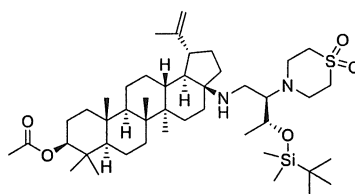


Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((tert-butoxycarbonyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (bước 1, 12 g, 21,057 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-dioxan (24 ml) được bổ sung HCl 4 N trong 1,4-dioxan (24 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất thấp và được kiềm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa. Chất rắn thu được được lọc và được rửa bằng

nước. Chất rắn được hòa tan trong DCM, được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Chất rắn tiếp tục được tinh chế bằng cách nghiền nhỏ với n-Hexan (100 ml), được lọc, được rửa bằng hexan và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 7 g, 70,7%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,71 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,47 (dd, $J = 9,0, 5,4$ Hz, 1H), 2,57-2,48 (m, 1H), 2,04 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,66-0,77 (m, 24H), 1,04 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H); ES-MS: m/z 470,44 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 3: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat:

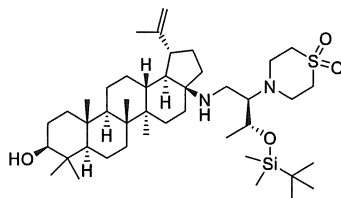


Dung dịch đã khuấy gồm 4-(((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxybutan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian-8, 8,5 g, 25,326 mmol, 1,7 eq) trong DCM (70 ml) ở 0 °C được bổ sung 2,6-Lutidin (3,8 ml, 32,775 mmol, 2,2 eq). Sau 10 phút khuấy ở 0 °C, triflometan sulfonic anhydrit (5 ml, 29,795 mmol, 2,0 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 20 phút. (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (bước 2, 7 g, 14,897 mmol, 1,0 eq) và triethylamin (7,27 ml, 52,142 mmol, 3,5 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (200 ml), được rửa bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa (100 ml) và nước (100 ml). Lốp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 0-ethyl axetat 10% trong hexan gradient. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với n-hexan, được lọc và được sấy trong điều kiện

chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 7,0 g, 59%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,68 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,49-4,44 (m, 1H), 4,08-4,0 (m, 1H), 3,44-3,39 (m, 2H), 3,28-3,22 (m, 2H), 3,06-3,01 (m, 4H), 2,60-2,40 (m, 4H), 2,04 (s, 3H), 1,93-0,76 (m, 27H), 1,68 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,07 (s, 6H); ES-MS: m/z 789,67 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

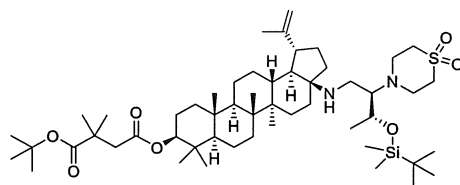
Bước 4: Tổng hợp 4-((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)amin)butan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:



Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (bước 3, 7,0 g, 8,868 mmol, 1,0 eq) trong metanol (70 ml) và THF (70 ml) được bổ sung dung dịch KOH 1 N (53,2 ml, 53,212 mmol, 6,0 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất thấp, DCM (400 ml) được bổ sung và được rửa bằng nước (200 ml). Lốp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-30% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 6,0 g, 91%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,69 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,04-3,99 (m, 1H), 3,44-3,39 (m, 2H), 3,28-3,16 (m, 3H), 3,07-2,96 (m, 4H), 2,61-2,40 (m, 4H), 1,97-0,66 (m, 27H), 1,68 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,82 (s, 3H), 0,75 (s, 3H), 0,07 (s, 6H); ES-MS: m/z 747,74 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

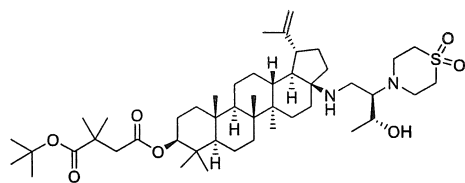
Bước 5: Tổng hợp 1-(tert-butyl) 4-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 2,2-dimethylsuccinat:



Dung dịch đã khuấy gồm 4-((2R,3R)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-1-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)amin)butan-2-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 4, 1 g, 1,338 mmol, 1,0 eq) trong DCM (20 ml) được bổ sung EDC.HCl (0,897 g, 4,683 mmol, 3,5 eq), DMAP (0,081 g, 0,669 mmol, 0,5 eq) và axit 4-(tert-butoxy)-3,3-dimetyl-4-oxobutanoic (được bào chế như được mô tả trong WO 2013/020245, 0,676 g, 3,345 mmol, 2,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml) và được rửa bằng nước (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 0-30% trong hexan gradient để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1 g, 80,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,68 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,48 (dd, $J = 10,5$, 6,0 Hz, 1H), 4,02-3,99 (m, 1H), 3,47-3,39 (m, 2H), 3,27-3,22 (m, 2H), 3,0 (m, 4H), 2,62-2,40 (m, 4H), 2,53 (s, 2H), 1,97-0,75 (m, 33H), 1,68 (s, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,04 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,87 (s, 9H), 0,84 (s, 6H), 0,82 (s, 3H), 0,07 (s, 6H); ES-MS: m/z 932,06 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

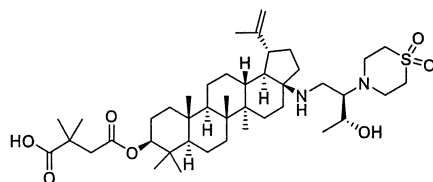
Bước 6: Tổng hợp 1-(tert-butyl) 4-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxithiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 2,2-dimethylsuccinat:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-(tert-butyl) 4-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 2,2-dimethylsuccinat (bước 1, 1 g, 1,073 mmol, 1,0 eq) trong THF (10 ml) được bổ sung TBAF (4,29 ml, 4,294 mmol, 4,0 eq, 1,0M trong THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với etyl axetat (100 ml) và được rửa bằng nước (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-4% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,800 g, 91,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,68 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,48 (dd, $J = 10,2, 6,0$ Hz, 1H), 3,73-3,68 (m, 1H), 3,42-3,37 (m, 2H), 3,18-3,05 (m, 6H), 2,65-2,45 (m, 6H), 1,96-0,76 (m, 24H), 1,68 (s, 3H), 1,43 (s, 9H), 1,26 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,23 (s, 3H), 1,22 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,84 (s, 6H), 0,82 (s, 3H); ES-MS: m/z 818,12 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước 7: Tổng hợp axit 4-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)-2,2-dimetyl-4-oxobutanoic:

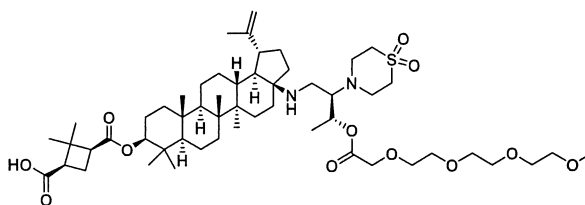


Dung dịch đã khuấy gồm 1-(tert-butyl) 4-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-

yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) 2,2-dimetylsucxinat (bước 2, 0,800 g, 0,978 mmol, 1,0 eq) trong 1,4-doxan (2 ml) được bổ sung HCl 4 N trong 1,4-dioxan (2 ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được hòa tan trong DCM (100 ml) và được rửa bằng nước (100 ml). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách tái kết tinh với DCM: hexan (1:5, 10 ml). Hỗn hợp được làm mát, được lọc, được rửa bằng hexan và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,500 g, 67%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,69 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,49-4,44 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,42-3,37 (m, 2H), 3,20-3,05 (m, 6H), 2,70-2,48 (m, 6H), 1,95-0,75 (m, 33H), 1,67 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,80 (s, 3H); ES-MS: m/z 762,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 21: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((15R,16R)-16-(1,1-dioxitthiomorpholin)-15-metyl-13-oxo-2,5,8,11,14-pentaoxaheptadecan-17-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:

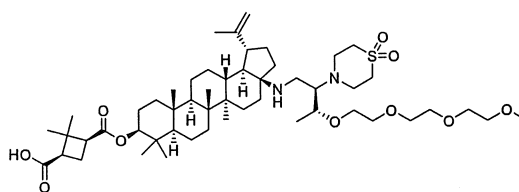


Dung dịch đã khuấy gồm axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic (Ví dụ 15, 0,350 g, 0,444 mmol, 1,0 eq) trong DCM (5 ml) được bổ sung EDC.HCl (0,383 g, 2,000 mmol, 4,5 eq), DMAP (0,027 g, 0,222 mmol, 0,5 eq) và axit 2,5,8,11-tetraoxatridecan-13-oic (0,247 g, 1,111 mmol, 2,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được

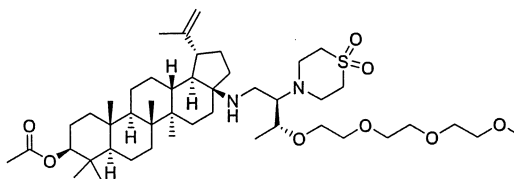
khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100 ml), được rửa bằng HCl 1 N (50 ml) và nước (100 ml). Lóp hữu cơ được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan. Hợp chất thu được tiếp tục được tinh chế bằng cách xử lý với MTBE: Hexan (1:8; 18 ml), được lọc, được rửa bằng n-Hexan và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 60 mg, 13,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 5,13-5,08 (m, 1H), 4,68 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,53-4,48 (m, 1H), 4,23-4,17 (m, 2H), 3,78-3,63 (m, 10H), 3,57-3,54 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,30-2,86 (m, 8H), 2,82-2,73 (m, 2H), 2,63-2,32 (m, 6H), 2,10-0,78 (m, 27H), 1,68 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,85 (s, 3H).

Ví dụ 22: Bào chế axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic:



Bước 1: Tổng hợp (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-((((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat:

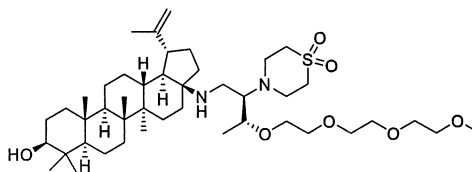


Dung dịch đã khuấy gồm 4-((12R,13R)-14-hydroxy-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (Chất trung gian 18, 0,849 g, 2,298 mmol, 1,8 eq) trong DCM (20 ml) ở 0 °C được bổ sung 2,6-Lutidin (0,32 ml, 2,79 mmol, 2,2 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở cùng nhiệt độ trong khoảng 10 phút, anhydrit triflic (0,43 ml, 2,54 mmol, 2,0 eq) được bổ sung và được khuấy ở 0 °C trong khoảng 15 phút.

(1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-amin-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (Ví dụ 20-bước 2, 0,600 g, 1,277 mmol, 1,0 eq) và trietylamin (0,56 ml, 4,06 mmol, 3,5 eq) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, được khuấy ở 0 °C trong 1 giờ và được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được kiểm hóa bằng dung dịch natri bicacbonat trong nước và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lóp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (30 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Mẻ 500 mg khác với cùng quy trình thí nghiệm được kết hợp và được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient etyl axetat 40-50% trong hexan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,0 g, 95,33%) dưới dạng chất rắn.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ ppm 4,69 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,49-4,44 (m, 1H), 3,66-3,53 (m, 13H), 3,45-3,35 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,07-2,97 (m, 6H), 2,04 (s, 3H), 1,90-0,77 (m, 31H), 1,68 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,85 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H).

Bước 2: Tổng hợp 4-((12R,13R)-14-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)amin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit:

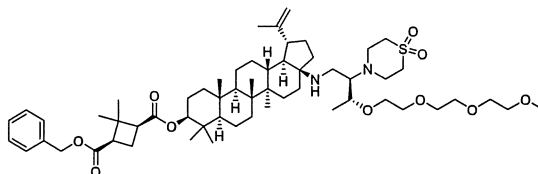


Dung dịch đã khuấy gồm (1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxitthiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl axetat (bước 1, 1,0 g, 1,217 mmol, 1,0 eq) trong metanol (10

ml) và THF (10 ml) được bổ sung dung dịch KOH 2,5 N (3,57 ml, 9,13 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (40 ml) và được trung hòa bằng dung dịch HCl 1 N và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (30 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,500 g, 52,74) dưới dạng chất rắn màu trắng ngà.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,69 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 3,66-3,53 (m, 14H), 3,38 (s, 3H), 3,30-3,0 (m, 8H), 2,58-2,56 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 2,0-0,75 (m, 44H), 1,67 (s, 3H).

Bước 3: Tổng hợp 1-benzyl 3-((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxyclobutan-1,3-dicarboxylat:

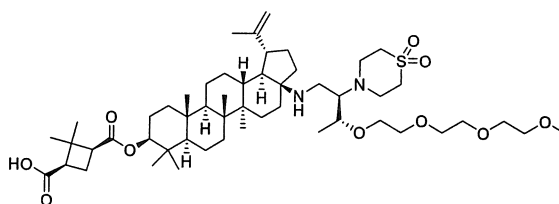


Dung dịch đã khuấy gồm 4-((12R,13R)-14-(((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-9-hydroxy-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-3aH-xyclopenta[a]chrysen-3a-yl)amin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-13-yl)thiomorpholin 1,1-dioxit (bước 2, 0,500 g, 0,641 mmol, 1,0 eq) trong DCM (20 ml) được bổ sung axit (1S,3R)-3-((benzyloxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxyclobutan-1-carboxylic (được bào chế theo quy trình được mô tả trong WO2011/007230A2, 0,505 g, 1,925 mmol, 3,0 eq) và sau đó là EDC.HCl (0,733 g, 3,846 mmol, 6,0 eq) và DMAP (0,070 g, 0,577 mmol, 0,9 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (30 ml) và được chiết bằng DCM (3x30 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (30 ml), được sấy bằng

natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-3% trong diclometan để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,060 g, 22,8%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 7,34 (m, 5H), 5,14, 5,09 (ABq, $J_{AB} = 12,3$ Hz, 2H), 4,69 (s, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,46-4,40 (m, 1H), 4,06-4,0 (m, 1H), 3,78-3,52 (m, 13H), 3,37 (s, 5H), 3,07-2,97 (m, 6H), 2,84-2,52 (m, 5H), 2,42-2,38 (m, 1H), 2,08-0,77 (m, 31H), 1,68 (s, 3H), 1,33 (s, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 0,84 (s, 3H), 0,83 (s, 3H).

Bước 4: Tổng hợp axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimetylxcyclobutan-1-carboxylic:



Dung dịch đã khuấy gồm 1-benzyl 3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxithiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl) (1R,3S)-2,2-dimetylxcyclobutan-1,3-dicarboxylat (bước 3, 0,200 g, 0,195 mmol, 1,0 eq) trong THF (2 ml) và metanol (2 ml) được bổ sung dung dịch KOH 1,5 N (0,97 ml, 1,46 mmol, 7,5 eq). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 ngày. TLC cho biết nguyên liệu bắt đầu đã hoàn tất và sản phẩm mong muốn được quan sát. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi dưới áp suất thấp, được pha loãng với nước (10 ml), được axit hóa bằng HCl 1 N đến pH 4-5 và được chiết bằng DCM (3x50 ml). Lớp hữu cơ hỗn hợp được rửa bằng nước (30 ml), được sấy bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất thấp. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient metanol 0-5% trong diclometan. Hợp chất thu được được xử lý bằng etyl axetat (2 ml) và hexan (8 ml), được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, dung môi được gạn và quy trình được lặp lại hai

lần, sản phẩm cuối cùng được lọc, được rửa bằng hexan (2 ml) và được sấy trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (hiệu suất 0,060 g, 32,96%) dưới dạng chất rắn.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ ppm 4,68 (s, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,54 (m, 1H), 3,80-3,52 (m, 12H), 3,37 (s, 3H), 3,27-2,32 (m, 16H), 2,03-0,77 (m, 25H), 1,68 (s, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,18 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,87 (s, 6H), 0,83 (s, 3H); ES-MS: m/z 933,94 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Hoạt tính sinh học

Các hợp chất theo sáng chế được kiểm tra hoạt tính kháng virus theo các quy trình thông thường được biết rõ bởi người có trình độ trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, các quy trình sau đây có thể được sử dụng để kiểm tra các hợp chất. Các quy trình này chỉ nhằm mục đích minh họa và không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 23: Đánh giá hoạt tính kháng virus của các hợp chất chống lại HIV-1 chủng 92HT599 trong tế bào MT2:

Tế bào MT2 được gây nhiễm HIV-1 chủng 92HT599 (10 TCID₅₀/30.000 tế bào). Các tế bào đã gây nhiễm được đưa lên đĩa vi thể ở nồng độ ~ 30.000 tế bào/giếng trong đĩa 96 giếng. Hợp chất cần kiểm tra được thêm vào đĩa vi thể ở định dạng xác định với nồng độ cuối cùng của DMSO (chất dẫn thuốc) không quá 1%. Quá trình ủ được thực hiện trong tủ ấm CO₂ trong ~ 96 giờ để gây nhiễm virus. Vào cuối giai đoạn ủ, một phần mẫu từ mỗi giếng được lấy để ước tính p24. Định lượng p24 là chỉ số cho hoạt động kháng virus của hợp chất. Phần trăm ức chế được tính toán có tham chiếu đến các giá trị đối chứng (đối chứng chất dẫn thuốc). Quá trình tính p24 được thực hiện bằng cách sử dụng bộ công cụ khoa học sinh học nâng cao Advance biosciences theo quy trình được hướng dẫn chi tiết bởi cung cấp.

Đối với xét nghiệm liên kết huyết thanh, trong đó “A” đề cập đến giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10 nM, “B” đề cập đến giá trị IC₅₀ trong khoảng 10,01-20 nM và “C” đề cập đến giá trị IC₅₀ lớn hơn 20 nM. Các giá trị IC₅₀ (nM) được trình bày trên Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1:

Ví dụ số	IC ₅₀ (nM)	Ví dụ số	IC ₅₀ (nM)
1	C	11	A
2	A	12	C
3	C	13	A
4	B	14	A
5	A	15	A
6	A	16	B
7	A	17	A
8	A	18	A
9	A	19	A
10	A	20	A

Ví dụ 24: Đánh giá hoạt tính kháng virus của các hợp chất chống lại các chủng pNL4-3/WT & V7A trong tế bào MT4:

Tế bào MT4 được chuyển nhiễm cùng với Plasmid HIV-1 (pNL4-3-WT & V7A) (Tế bào được ủ với số lượng TCID₅₀ cần thiết của HIV-1 trong 1,5 giờ ở 37°C). Sau khi gây nhiễm, các tế bào đã gây nhiễm được đưa lên đĩa vi thể ở nồng độ 3×10^4 tế bào/giếng trong đĩa 96 giếng. Hợp chất cần kiểm tra được thêm vào đĩa kiểm tra ở định dạng xác định với nồng độ cuối cùng của DMSO không quá 1%. Quá trình ủ được thực hiện trong tủ ấm CO₂ trong 4 ngày để gây nhiễm virus. Vào cuối giai đoạn ủ, một phần mẫu từ mỗi giếng được lấy để ước tính p24. Quá trình tính p24 được thực hiện bằng cách sử dụng bộ công cụ Advance biosciences theo quy trình được hướng dẫn chi tiết bởi cung cấp.

Đối với xét nghiệm pNL4-3 WT, các hợp chất được chọn thể hiện IC₅₀ trong đó “A” đề cập đến giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 10 nM, “B” đề cập đến giá trị IC₅₀ trong khoảng 10,01-50 nM và “C” đề cập đến giá trị IC₅₀ lớn hơn 50 nM;

Đối với xét nghiệm pNL4-3 V7A, các hợp chất được chọn thể hiện IC₅₀ trong đó “A” đề cập đến giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 1-50 nM, “B” đề cập đến giá trị IC₅₀ trong khoảng 50,01-100 nM và “C” đề cập đến giá trị IC₅₀ lớn hơn 100 nM. Các giá trị IC₅₀ (nM) được trình bày trên Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2:

Ví dụ số	pNL4-3 WT IC ₅₀	pNL4-3 V7A IC ₅₀	Ví dụ số	pNL4-3 WT IC ₅₀	pNL4-3 V7A IC ₅₀
1	C	C	11	A	A
2	A	A	12	B	C
3	C	C	13	A	A
4	C	C	14	A	A
5	A	A	15	A	A
6	B	A	16	C	C
7	A	A	17	A	A
8	A	A	18	A	A
9	B	B	19	A	A
10	A	A	20	A	A

Tài liệu tham khảo:

1. Antiviral methods và protocols (Eds: D Kinchington và R. F. Schinazi) Humana Press Inc., 2000.
2. HIV protocols (Eds: N. L. Michael và J. H. Kim) Humana Press Inc, 1999.
3. DAIDS Virology manual from HIV laboratories, Publication NIH-97-3838, 1997.
4. Xét nghiệm bắt giữ kháng nguyên HIV-1 p24, xét nghiệm miễn dịch enzym để phát hiện Virut gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV-1) p24 trong môi trường nuôi cấy mô - Advanced bio science laboratories, Inc kit procedure.

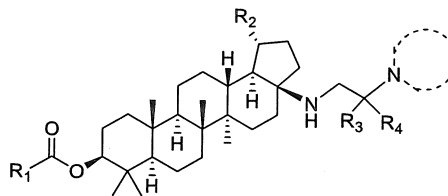
Mặc dù sáng chế được mô tả có tham chiếu đến các phương án thực hiện cụ thể, nhưng cần hiểu rằng các phương án thực hiện chỉ nhằm minh họa cho các nguyên tắc và ứng dụng của sáng chế. Do đó, nhiều sửa đổi có thể được thực hiện đối với các phương án

thực hiện minh họa và các cách sắp xếp khác có thể được suy ra mà không rời khỏi tinh thần và phạm vi của sáng chế.

Tất cả các công bố và đơn sáng chế được trích dẫn trong phần mô tả được đều được sử dụng dưới dạng tham khảo.

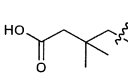
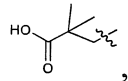
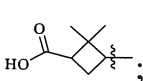
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I)



công thức (I)

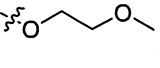
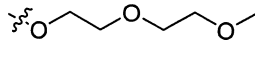
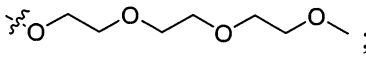
trong đó,

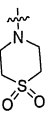
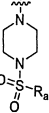
R_1 được chọn từ nhóm bao gồm , , hoặc ;

R_2 được chọn từ C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl được thể tùy ý, hoặc C_3 - C_8 xycloalkyl được thể tùy ý; trong đó nhóm thể tùy ý là C_1 - C_6 alkyl;

R_3 là hydro;

R_4 được chọn từ C_1 - C_6 alkyl được thể tùy ý, hoặc $-C(O)OR_a$; trong đó C_1 - C_6 alkyl là etyl và nhóm thể tùy ý được chọn từ halo, hydroxy, alkoxy, hoặc $-OC(O)CH_2$ alkoxy;

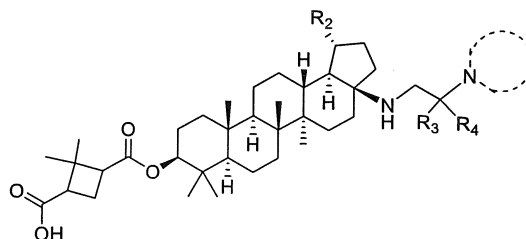
trong đó “alkoxy” là hydrocacbon thẳng hoặc phân nhánh với gốc oxy bao gồm các nguyên tử cacbon và hydro, chứa liên kết bão hòa hoặc không bão hòa, có từ một đến tám nguyên tử cacbon, và được gắn qua nguyên tử oxy với phần còn lại của phân tử bằng một liên kết đơn; và một trong các nguyên tử hydro trong nhóm alkoxy có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy để tăng thêm chiều dài chuỗi alkoxy với một nhóm được chọn từ metyloxy, etyloxy, isopropoxy, n-propyloxy, t-butyloxy, 1-metyletyloxy (isopropoxy), n-butyloxy, n-pentyloxy, 1,1-dimetyletyloxy (t-butyloxy), , , hoặc ;

vòng  là , hoặc ; và

R_a là hydro, hoặc C_1 - C_6 alkyl hoặc

muối được dụng, đồng phân lập thể được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức (IA):



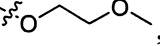
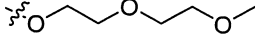
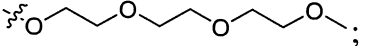
công thức (IA)

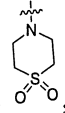
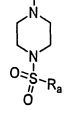
trong đó,

R_2 là , , hoặc ;

R_3 là hydro;

R_4 được chọn từ nhóm bao gồm C_1 - C_6 alkyl được thể tùy ý, hoặc $-C(O)OR_a$; trong đó C_1 - C_6 alkyl là ethyl và nhóm thể tùy ý được chọn từ halo, hydroxy, alkoxy, hoặc $-OC(O)CH_2$ alkoxy;

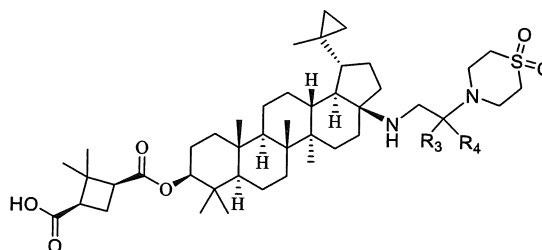
trong đó “alkoxy” là chuỗi hydrocacbon thẳng hoặc phân nhánh với gốc oxy bao gồm các nguyên tử cacbon và hydro, chứa liên kết bão hòa hoặc không bão hòa, có từ một đến tám nguyên tử cacbon, và được gắn qua nguyên tử oxy với phần còn lại của phân tử bằng một liên kết đơn; và một trong các nguyên tử hydro trong nhóm alkoxy có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy để tăng thêm chiều dài chuỗi alkoxy với một nhóm được chọn từ metyloxy, etyloxy, isopropoxy, n-propyloxy, t-butyloxy, 1-metyletyloxy (isopropyloxy), n-butyloxy, n-pentyloxy, 1,1-dimetyletyloxy (t-butyloxy), , , hoặc ;

vòng  là , hoặc ; và

R_a là hydro, hoặc C_1 - C_6 alkyl, hoặc

muối được dụng, đồng phân lập thể được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức (IB):



công thức (IB)

trong đó,

R_3 là hydro;

R_4 được chọn từ C_1 - C_6 alkyl được thể tùy ý, hoặc $-C(O)OR_a$; trong đó C_1 - C_6 alkyl là etyl và nhóm thể tùy ý được chọn từ halo, hydroxy, alkoxy, hoặc $-OC(O)CH_2$ alkoxy;

trong đó “alkoxy” là chuỗi hydrocacbon thẳng hoặc phân nhánh với gốc oxy bao gồm các nguyên tử cacbon và hydro, chứa liên kết bão hòa hoặc không bão hòa, có từ một đến tám nguyên tử cacbon, và được gắn qua nguyên tử oxy với phần còn lại của phân tử bằng một liên kết đơn; và một trong các nguyên tử hydro trong nhóm alkoxy có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy để tăng thêm chiều dài chuỗi alkoxy với một nhóm được chọn từ metyloxy, etyloxy, isopropoxy, n-propyloxy, t-butyloxy, 1-metyletyloxy (isopropyloxy), n-butyloxy, n-pentyloxy, 1,1-dimetyletyloxy (t-butyloxy), $\text{---}O\text{---}CH_2CH_2O\text{---}$, $\text{---}O\text{---}CH_2CH_2OCH_2CH_2O\text{---}$, hoặc $\text{---}O\text{---}CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2O\text{---}$; và

R_a là hydro, hoặc C_1 - C_6 alkyl, hoặc

muối được dụng, đồng phân lập thể được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng.

4. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-

methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-flobutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2S,3S)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-3-hydroxy-2-(4-(isopropylsulfonyl)piperazin-1-yl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((R)-2-carboxy-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)etyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-(2-(2-metoxyetoxy)acetoxyl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentamethyl-1-(1-methylxyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylxyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxitthiomorpholin)-12-methyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-

5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(1-methylcyclopropyl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-(2-(2-metoxyetoxy)acetoxyl)butyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic,

axit 4-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((2R,3R)-2-(1,1-dioxitthiomorpholin)-3-hydroxybutyl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)-2,2-dimethyl-4-oxobutanoic,

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((15R,16R)-16-(1,1-dioxitthiomorpholin)-15-metyl-13-oxo-2,5,8,11,14-pentaoxaheptadecan-17-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro -1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic, và

axit (1R,3S)-3-((((1R,3aS,5aR,5bR,7aR,9S,11aR,11bR,13aR,13bR)-3a-(((12R,13R)-13-(1,1-dioxitthiomorpholin)-12-metyl-2,5,8,11-tetraoxatetradecan-14-yl)amin)-5a,5b,8,8,11a-pentametyl-1-(prop-1-en-2-yl)icosahydro-1H-xyclopenta[a]chrysen-9-yl)oxy)cacbonyl)-2,2-dimethylcyclobutan-1-carboxylic, hoặc

muối được dụng, đồng phân lập thể được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng.

5. Được phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ 1-4 và ít nhất một tá được dụng.

6. Được phẩm theo điểm 5, trong đó tá được dụng là chất mang hoặc chất pha loãng.