



(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) 
1-0021204

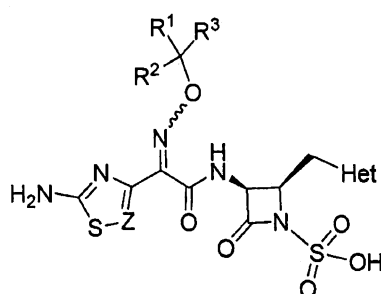
(51)⁷ **C07D 417/14**, 487/04, A61P 31/04,
A61K 31/427, 31/496, 31/4439, 31/454,
31/437

(13) **B**

-
- | | | | | | |
|------|---|------------|------------|---------------|------------|
| (21) | 1-2016-03912 | (22) | 23.03.2015 | | |
| (86) | PCT/US2015/022011 | 23.03.2015 | (87) | WO2015/148379 | 01.10.2015 |
| (30) | 61/969,735 | 24.03.2014 | US | | |
| | 62/088,304 | 05.12.2014 | US | | |
| (45) | 25.07.2019 | 376 | (43) | 27.03.2017 | 348 |
| (73) | NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland | | | | |
| (72) | AULAKH, Virender Singh (CA), CASAREZ, Anthony (US), LIN, Xiaodong (US),
LINDVALL, Mika (US), MCENROE, Glenn (US), MOSER, Heinz Ernst (US),
RECK, Folkert (DE), TJANDRA, Meiliana (ID), SIMMONS, Robert Lowel (US),
YIFRU, Aregahegn (CA), ZHU, Qingming (CN) | | | | |
| (74) | Công ty TNHH Ban Ca (BANCA) | | | | |
-

(54) **HỢP CHẤT HỮU CƠ MONOBACTAM, DƯỢC PHẨM VÀ TỔ HỢP DƯỢC CHỨA HỢP CHẤT NÀY**

(57) Sáng chế nói chung là liên quan đến các hợp chất có công thức (I),



(I)

được mô tả chi tiết trong bản mô tả và các muối dược dụng và các dạng bào chế dược dụng của chúng. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm và tổ hợp dược chứa chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất β -lactam, trong đó vòng lactam này là đơn vòng, và được phẩm và chế phẩm hỗn hợp được của chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sau một vài thập kỷ, tần suất kháng kháng sinh và sự liên kết của nó với các bệnh xâm nhiễm nghiêm trọng đã gia tăng với tốc độ đáng báo động. Tỷ lệ hiện hành đang gia tăng của việc kháng của các mầm bệnh từ bệnh viện đặc biệt gây lo ngại. Trong số hơn 2 triệu ca xâm nhiễm từ bệnh viện xảy ra mỗi năm tại Mỹ, 50% đến 60% do các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh gây ra. Tỷ lệ kháng cao với các chất kháng khuẩn thường được sử dụng này làm tăng tỷ lệ mắc, tỷ lệ tử vong, và các chi phí điều trị kèm theo các bệnh xâm nhiễm từ bệnh viện. Ở Mỹ, các bệnh xâm nhiễm từ bệnh viện được cho là góp phần hay gây ra hơn 77.000 ca tử vong mỗi năm và mỗi năm tiêu tốn xấp xỉ 5 đến 10 tỷ đô.

Những nguyên nhân chủ yếu dẫn đến tính kháng ở vi khuẩn Gram âm bao gồm các β -lactamaza (ESBL), serin carbapenemaza (KPC) và metallo- β -lactamaza (ví dụ, NDM-1) có phổ được mở rộng trong *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, và *Proteus mirabilis*, mức độ cao của tính kháng xephalosporin (AmpC) β -lactamaza thế hệ thứ ba của các loài *Enterobacter* và *Citrobacter freundii*, và các gen kháng nhiều được chất được quan sát thấy trong *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, và *Stenotrophomonas*. Vấn đề kháng lại chất kháng khuẩn được tổng hợp do sự tồn tại các chủng vi khuẩn kháng nhiều chất kháng khuẩn. Ví dụ, *Klebsiella pneumoniae* mang NDM-1 metallo- β -lactamaza thường mang các serin- β -lactamaza bổ sung cùng nằm trên plasmid mang NDM-1 này.

EP 0 093 376 A2 (1983-11-09) đề cập đến dẫn suất 1-sulfo-2-oxoazetidin and các chất trung gian để điều chế hợp chất này và phương pháp điều chế hợp chất này. Hợp chất có hoạt tính kháng vi sinh vật và hoạt tính ức chế β -lactamaza và có giá trị như là các thuốc cho người và động vật đã được thuần hóa.

Do đó, có nhu cầu đối với các chất kháng khuẩn mới, cụ thể là các hợp chất kháng khuẩn có hiệu quả kháng các vi sinh vật kháng thuốc hiện nay, hoặc ít có nguy cơ dẫn đến sự phát triển tính kháng mới của vi khuẩn. Sáng chế đề xuất những hợp chất này.

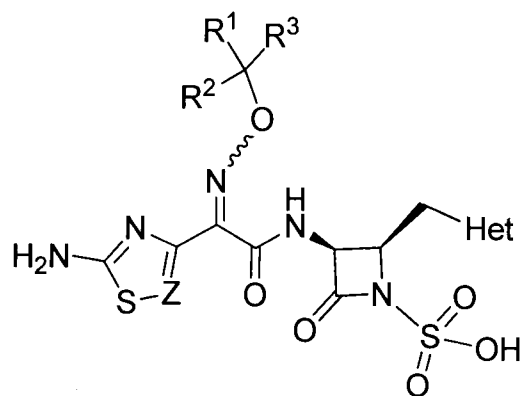
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các hợp chất, dược phẩm chứa hợp chất này, và phương pháp sử dụng các hợp chất và chế phẩm này để điều trị các bệnh nhân bị nhiễm khuẩn. Các hợp chất này là các monobactam, bao gồm vòng beta-lactam đơn vòng, và điển hình là hoạt động bằng cách ức chế các protein gắn kết penicillin (PBP), liên quan đến sinh tổng hợp các peptidoglycan cần có đối với thành tế bào vi khuẩn bình thường. Một số thành viên thuộc nhóm này bao gồm aztreonam và carumonam. Các hợp chất monobactam khác đã được mô tả trong EP0093376A2, WO2013/110643 và WO2012/073138. Các hợp chất này có hiệu quả chủ yếu là kháng vi khuẩn Gram âm.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các bệnh xâm nhiễm do Enterobacteriaceae, bao gồm *Salmonella*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, và *Citrobacter*, bao gồm các tác nhân gây bệnh chẳng hạn như *Klebsiella pneumoniae* sinh ra KPC ít nhạy cảm hơn với các monobactam trước đó như aztreonam, cũng như vi khuẩn không lên men, bao gồm *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Moraxella* và *Stenotrophomonas*.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các chất kháng sinh khác, và có thể kết hợp với các chất chẳng hạn như các chất ức chế beta-lactamaza làm tăng tiềm lực hoạt tính của hợp chất theo sáng chế chống lại các tác nhân gây bệnh cụ thể hoặc giảm tần suất hoặc mức độ kháng của vi khuẩn với hợp chất theo sáng chế chống lại các tác nhân gây bệnh cụ thể. Các chất ức chế beta-lactamaza thích hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm avibactam, tazobactam, sulbactam và axit clavulanic.

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



(I)

hoặc muối được dùng của nó,

trong đó :

Z là CR⁴ hoặc N;

R¹ là H hoặc C₁-C₄ alkyl;

R² được chọn từ nhóm bao gồm H, C₁-C₄ alkyl, và -COOH

hoặc R¹ và R² cùng với cacbon mà chúng được gắn vào để tạo thành vòng được chọn từ vòng C₃-C₆cycloalkyl và vòng dị vòng có 4-6 cạnh chứa lên đến hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng;

R³ được chọn từ H, -COOH, và -L¹-W-(CH₂)₀₋₂-X-R⁵;

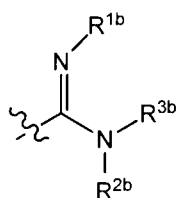
R⁴ là H hoặc halo;

mỗi L¹ độc lập là C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh;

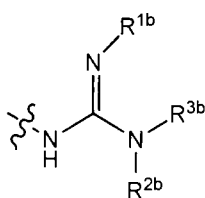
W là liên kết, O, NH hoặc S;

X là phenyl, hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh chứa 1-3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng; trong đó phenyl và heteroaryl có 5-6 cạnh này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C₁₋₄ alkyl, hydroxy, -CN, F, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) và -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

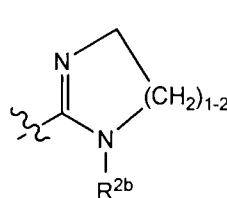
R⁵ được chọn từ



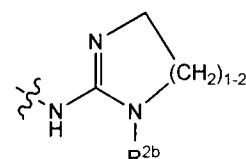
;



;



và



;

trong đó R^{1b}, R^{2b}, và R^{3b} độc lập là hydro, hydroxy, CN, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)alkoxy,

(C₃-C₆)xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa N, O hoặc S làm thành phần của vòng, trong đó mỗi (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₃-C₆)xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa N, O hoặc S làm thành phần của vòng có thể được thế bằng một, hai hoặc ba phần tử thế độc lập được chọn từ Y,

và trong đó R^{2b} và R^{3b} cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được liên kết có thể tùy ý tạo thành heteroxyclyl có 5 đến 7 cạnh ngoài ra còn bao gồm 0 hoặc 1 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl này tùy ý được thế bằng Y;

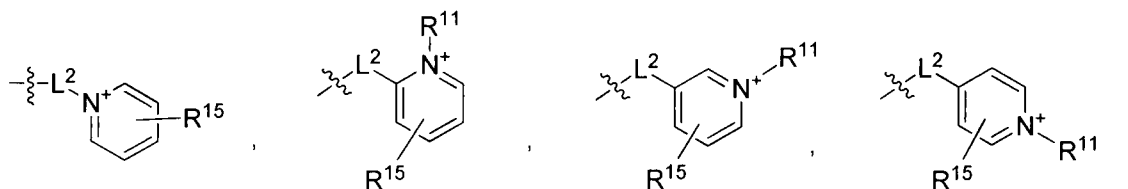
Y được chọn từ F, CN, -NH₂, Q, -L²-C(O)NR¹⁰-L²-Q, -L²-NR¹⁰-C(O)-L²-Q, -L²-OR¹⁰, -L²-N(R¹⁰)₂, -L²-N⁺(R¹¹)₃, -L²-NR¹⁰-C(O)R¹⁰, -L²-NR¹⁰-L²-N(R¹⁰)₂, -L²-O-C(O)OR¹⁰, -L²-O-C(O)-N(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(O)-N(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(O)-OR¹¹, -L²-C(=NR¹⁰)-N(R¹⁰)₂, -CON(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(=NR¹⁰)-N(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(=NR¹⁰)-R¹⁰, -L²-C(O)N(R¹⁰)₂, -L²-O-SO₃R¹⁰;

L² với mỗi lần xuất hiện độc lập là liên kết hoặc C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh, tùy ý được thế bằng NH₂, OH, hoặc F;

Het là vòng dị vòng no có 4-6 cạnh, trong đó vòng dị vòng này chứa 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng và được thế bằng oxo và tùy ý còn được thế bằng Y;

R¹⁰ và R¹² độc lập là H hoặc C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ OH, NH₂ hoặc Q;

Q được chọn từ -L²-N(R¹³)₂, -L²-N⁺(R¹⁴)₃, -L²-NR¹³-C(=NR¹³)-N(R¹³)₂, -L²-NR¹³-C(=NR¹³), -L²-NR¹³-L²-Cy, -L²-NR¹³-C(=NR¹³)-NR¹³-L²-Cy, -L²-NR¹³-C(=NR¹³)-L²-Cy, -L²-Cy-L²-R¹³, -L²-Cy-L²-N(R¹³)₂, -L²-NR¹³-SO₂-N(R¹³)₂, -L²-SO₂-N(R¹³)₂, -L²-NR¹³-SO₂-R¹³, -L²-NR¹³-L²-Ar, -L²-S-L²-Cy, -L²-NR¹³-(C=O)-O-R¹³,



mỗi Cy độc lập là xycloalkyl có 3-6 cạnh hoặc heteroxyclyl có 3-6 cạnh chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm thành phần vòng và tùy ý được ngưng tụ với vòng aryl hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh, trong đó mỗi Cy tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ halo, C₁₋₃ haloalkyl, R¹⁴, hydroxy, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) hoặc -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

Ar là phenyl, tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ halo, C₁₋₃ haloalkyl, R¹⁴, hydroxy, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) hoặc -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

R¹¹ với mỗi lần xuất hiện độc lập là C₁₋₄ alkyl;

và hai R¹⁰, hoặc hai R¹¹, hoặc hai R¹² trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, hydroxy, hoặc oxo;

R¹³ với mỗi lần xuất hiện độc lập là H hoặc C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) hoặc -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

R¹⁴ với mỗi lần xuất hiện độc lập là C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) hoặc -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

trong đó hai R¹³ hoặc hai R¹⁴ trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, hydroxy, amino hoặc oxo;

R¹⁵ là H, halo, C₁₋₄ alkyl, CN, hoặc -O(C₁₋₄ alkyl);

hoặc muối được dùng của nó;

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phương pháp ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn hoặc điều biến độc lực của sự nhiễm khuẩn.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị nhiễm vi khuẩn Gram âm, tùy ý kết hợp với chất mang dược dụng. Theo các phương án cụ thể, đối tượng này là động vật có vú và theo một số phương án, đối tượng này là người.

Vi khuẩn Gram âm có thể là chi được chọn từ *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria*, và *Stenotrophomonas*. Cụ thể là, nhiễm khuẩn do loài *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, hoặc *Acinetobacter* có thể điều trị được. Các loài vi khuẩn cụ thể đối với việc điều trị này bao gồm *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterobacter faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, các loài *Salmonella*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Acinetobacter baumannii*, cũng như

Bacteroides bivius, *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, và *Stenotrophomonas maltophilia*.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phương pháp dùng lượng có tác dụng ức chế của hợp chất có công thức (I) với vi khuẩn Gram âm lên men hoặc vi khuẩn Gram âm không lên men. Theo phương án cụ thể, hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phương pháp áp dụng lượng có tác dụng ức chế của hợp chất có công thức (I) với vi khuẩn Gram âm lên men hoặc vi khuẩn Gram âm không lên men này, vi khuẩn Gram âm là các loài *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Neisseria*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, và *Acinetobacter*. Các loài vi khuẩn cụ thể đối với phương pháp này bao gồm *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterobacter faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Neisseria meningitidis* và *Burkholderia cepacia*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, các loài *Salmonella*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Acinetobacter baumannii*, cũng như *Bacteroides bivius*, *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, và *Stenotrophomonas maltophilia*.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phương pháp áp dụng lượng có tác dụng ức chế của hợp chất có công thức (I) với vi khuẩn Gram âm, chẳng hạn như Enterobacteriaceae; theo một số phương án vi khuẩn Gram âm này được chọn từ nhóm bao gồm các loài *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, và *Acinetobacter*.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng có hiệu quả của hợp chất có công thức (I) kết hợp với chất mang dược dụng hoặc tá dược. ‘Lượng có hiệu quả’ được sử dụng ở đây đề cập đến lượng đủ để giảm độ nghiêm trọng hoặc các triệu chứng của việc xâm nhiễm, hoặc lượng có hiệu quả để giảm lượng vi khuẩn trong bệnh nhân.

Dược phẩm được đề xuất theo sáng chế chứa các hợp chất bất kỳ được mô tả ở đây và chất mang dược dụng. Theo một số phương án chế phẩm này chứa chất điều trị bổ sung hoặc chất ức chế beta lactamaza.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm hỗn hợp được chứa hợp chất theo sáng chế và chất điều trị bổ sung hoặc chất ức chế beta lactamaza hoặc tùy ý cả hai.

Sáng chế đề xuất các hợp chất mới, hợp chất để sử dụng trong các phương pháp mới để ức chế sự sống sót và tăng trưởng quần thể vi khuẩn Gram âm, và hợp chất để sử dụng trong các phương pháp và chế phẩm mới để điều trị nhiễm khuẩn ở các đối tượng là động vật có vú, cụ thể là ở đối tượng là người. Hợp chất được đề xuất ở đây có thể được bào chế thành dược phẩm và thuốc mà hữu ích trong các phương pháp ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn hoặc độ nghiêm trọng hoặc khoảng thời gian nhiễm khuẩn, hoặc để điều trị cho đối tượng bị nhiễm khuẩn mà dễ bị ức chế bằng hợp chất có công thức (I). Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất để sử dụng trong bào chế thuốc và dược phẩm, việc sử dụng để sử dụng trong việc ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn, và việc sử dụng để điều trị các chứng xâm nhiễm do vi khuẩn ở đối tượng cần được điều trị, ví dụ, đối tượng bị nhiễm vi khuẩn Gram âm hoặc có nguy cơ đặc biệt cao đối với việc xâm nhiễm này.

Các khía cạnh khác của sáng chế được bộc lộ ở đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Với mục đích diễn giải phần mô tả sáng chế, các định nghĩa sau áp dụng trừ phi được cụ thể hóa cụ thể hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh. Bất cứ khi nào thích hợp, các thuật ngữ được sử dụng ở dạng số ít cũng bao gồm dạng số nhiều và ngược lại.

Định nghĩa

Các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả có các ý nghĩa sau:

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” đề cập đến động vật. Theo các khía cạnh cụ thể, động vật này là động vật có vú. Đối tượng cũng đề cập đến, ví dụ, linh trưởng (ví dụ, con người), bò, cừu, dê, ngựa, chó, mèo, thỏ, chuột nhắt, chuột, cá, chim và tương tự. Theo các phương án cụ thể, đối tượng này là người.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “sự ức chế” hoặc “ức chế” đề cập đến giảm hoặc kìm hãm tình trạng, triệu chứng, hoặc rối loạn, hoặc bệnh đã biết, hoặc giảm đáng kể hoạt tính cơ bản của quy trình hoặc hoạt tính sinh học, hoặc khả năng sống sót, số lượng hoặc tốc độ tăng trưởng của quần thể vi khuẩn.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" rối loạn hoặc bệnh bất kỳ được đề cập trong một phương án, để làm thuyên giảm rối loạn hoặc bệnh (có nghĩa là, làm chậm hoặc kìm hãm hoặc giảm sự phát triển của bệnh này hoặc ít nhất một triệu chứng trong số các triệu chứng lâm sàng của nó). Theo phương án khác "điều trị" hoặc "việc điều trị" đề cập đến việc làm dịu hoặc làm thuyên giảm ít nhất một tham số về thể chất bao gồm các tham số thể chất mà có thể không có khả năng được bệnh nhân nhận rõ. Theo một phương án khác, "điều trị" hoặc "việc điều trị" đề cập đến việc điều biến rối loạn hoặc bệnh, có thể là về thể chất, (ví dụ, làm ổn định các triệu chứng có thể nhận rõ), về sinh lý, (ví dụ, làm ổn định tham số thể chất), hoặc cả hai. Theo một phương án khác, "điều trị" hoặc "việc điều trị" đề cập đến việc ngăn ngừa hoặc trì hoãn khởi phát hoặc phát triển hoặc diễn tiến của bệnh hoặc rối loạn.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ "một", "này" và các thuật ngữ tương tự được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế (đặc biệt là trong ngữ cảnh của yêu cầu bảo hộ) được hiểu là bao gồm cả số ít và số nhiều trừ phi bản mô tả đề cập điều ngược lại hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh.

Tất cả các phương pháp được mô tả ở đây có thể được tiến hành theo thứ tự thích hợp bất kỳ trừ phi bản mô tả đề cập điều ngược lại hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh. Sử dụng tất cả ví dụ hoặc ví dụ bất kỳ, ngôn ngữ ví dụ (ví dụ, "chẳng hạn như") cung cấp ở đây chỉ chủ định minh họa sáng chế rõ hơn và không đặt ra giới hạn cho phạm vi bảo hộ sáng chế được yêu cầu.

Thuật ngữ "chất kháng khuẩn" đề cập đến các chất được tổng hợp hoặc được biến đổi trong phòng thí nghiệm mà có hoạt tính diệt khuẩn hoặc kìm hãm sự phát triển của vi khuẩn. Chất "có hoạt tính" trong ngữ cảnh này sẽ ức chế sự tăng trưởng của *P. aeruginosa* và/hoặc vi khuẩn Gram âm khác. Thuật ngữ "ức chế tăng trưởng" chỉ ra rằng tốc độ tăng về số lượng quần thể của vi khuẩn cụ thể được giảm xuống. Do đó, thuật ngữ này bao gồm các tình huống trong đó quần thể vi khuẩn tăng nhưng ở tốc độ bị giảm xuống, cũng như các tình huống trong đó sự tăng trưởng của quần thể này bị dừng lại, cũng như các tình huống trong đó số vi khuẩn trong quần thể này bị giảm hoặc thậm chí quần thể này bị loại trừ.

"Tùy ý được thế" có nghĩa là nhóm được đề cập đến có thể được thế ở một hoặc nhiều vị trí bằng một hoặc bằng tổ hợp bất kỳ các gốc được liệt kê sau đây. Sự thế này liên quan đến việc thay thế nguyên tử hydro của nhóm không được thế bằng gốc khác;

do đó, số lượng các phân tử thế có thể được Thêm vào nhóm không được thế bất kỳ bằng với số nguyên tử hydro trên nhóm không được thế. Nếu không được cụ thể hóa điều ngược lại, ‘tùy ý được thế’ có nghĩa là lên đến ba nhóm phân tử thế không phải hydro có thể được Thêm vào.

"Halo" hoặc "halogen", khi được sử dụng ở đây, có thể là flo, clo, brom hoặc iot.

"C₁-C₆ alkyl", hoặc "C₁₋₆ alkyl" khi được sử dụng ở đây, biểu thị alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1-6 nguyên tử cacbon. Nếu số nguyên tử cacbon khác được cụ thể hóa, chẳng hạn như C₈ hoặc C₃, thì định nghĩa này theo đó được diễn giải theo, chẳng hạn như "C₁-C₄ alkyl" sẽ bao gồm metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl và tert-butyl.

"C₁-C₆ alkoxy", hoặc "C₁₋₆ alkoxy" khi được sử dụng ở đây, alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1-6 nguyên tử cacbon. Nếu số nguyên tử cacbon khác được cụ thể hóa, chẳng hạn như C₈ hoặc C₃, thì định nghĩa này theo đó được diễn giải theo, ví dụ, "C₁-C₄ alkoxy" sẽ đại diện cho metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy, isobutoxy, sec-butoxy và tert-butoxy.

"C₁-C₄-haloalkyl" hoặc "C₁₋₄ haloalkyl" khi được sử dụng ở đây, biểu thị alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1-4 nguyên tử cacbon, trong đó ít nhất một hydro được thay thế bằng halogen. Nếu số nguyên tử cacbon khác được cụ thể hóa, chẳng hạn như C₆ hoặc C₃, thì định nghĩa này theo đó được diễn giải theo, do đó "C₁-C₄-haloalkyl" sẽ đại diện cho metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, sec-butyl và tert-butyl có ít nhất một hydro được thế bằng halogen, chẳng hạn như: CF₃CF₂-, (CF₃)₂CH-, CH₃-CF₂-, CF₃CF₂-, CF₃, CF₂H-, CF₃CF₂CHCF₃ hoặc CF₃CF₂CF₂CF₂-.

"C₃-C₈-xycloalkyl" hoặc "C₃₋₈ xycloalkyl" khi được sử dụng ở đây đề cập đến vòng hydrocacbon đơn vòng no có 3 đến 8 nguyên tử cacbon. Ví dụ về các nhóm này bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl và xyclohexyl. Nếu số nguyên tử cacbon khác được cụ thể hóa, chẳng hạn như C₃-C₆, thì định nghĩa này theo đó được diễn giải theo.

"Heteroxyclyl 4 đến 8 cạnh", "heteroxyclyl 5 đến 6 cạnh", "heteroxyclyl 3 đến 10 cạnh", "heteroxyclyl 3 đến 14 cạnh", "heteroxyclyl 4 đến 14 cạnh" và "heteroxyclyl 5 đến 14 cạnh", đề cập đến, tương ứng là các vòng dị vòng có 4 đến 8 cạnh, 5 đến 6 cạnh, 3 đến 10 cạnh, 3 đến 14 cạnh, 4 đến 14 cạnh và 5 đến 14 cạnh

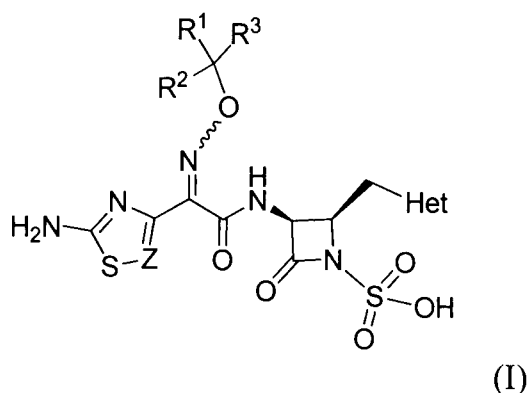
chứa 1 đến 7, 1 đến 5 hoặc 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm nitơ, oxy và lưu huỳnh, có thể là no, hoặc no một phần. “Dị vòng” có thể được sử dụng hoán đổi cho “heterocyclyl”. Nhóm dị vòng này có thể được gắn ở nguyên tử khác loại hoặc nguyên tử cacbon. Thuật ngữ “heterocyclyl” bao gồm các nhóm vòng đơn, các nhóm vòng ngưng tụ và các nhóm vòng tạo cầu. Ví dụ về heterocyclyl này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở pyrrolidin, piperidin, piperazin, oxazolidin, pyrrolidinon, morpholin, tetrahydrofuran, tetrahydrothiophen, tetrahydropyran, tetrahydropyran, 1,4-dioxan, 1,4-oxathian, 8-aza-bixyclo[3.2.1]octan, 3,8-diazabixyclo[3.2.1]octan, 3-oxa-8-aza-bixyclo[3.2.1]octan, 8-oxa-3-aza-bixyclo[3.2.1]octan, 2-oxa-5-aza-bixyclo[2.2.1]heptan, 2,5-diaza-bixyclo[2.2.1]heptan, azetidin, etylendioxo, octan và thiazolidin. Tốt hơn là, nhóm dị vòng hoặc nhóm heterocyclyl là nhóm đơn vòng no hoặc no một phần trừ phi được cụ thể hóa điều ngược lại, và chứa 5-7 nguyên tử vòng có đến hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng. Theo một số phương án, nhóm dị vòng còn bao gồm các hệ vòng hai vòng chứa 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại chẳng hạn như N, O hoặc S làm các thành phần của vòng và gồm hai vòng có 3, 4, 4, hoặc 6 được ngưng tụ, chẳng hạn như 3-azabixyclo[3.1.0]hexan, 8-aza-bixyclo[3.2.1]octan, 3,8-diazabixyclo[3.2.1]octan, 3-oxa-8-aza-bixyclo[3.2.1]octan, 8-oxa-3-aza-bixyclo[3.2.1]octan, 2-oxa-5-aza-bixyclo[2.2.1]heptan, 2,5-diaza-bixyclo[2.2.1]heptan.

"Heteroaryl" là vòng không no hoàn toàn (vòng thơm). Thuật ngữ "heteroaryl" đề cập đến hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng hoặc ba vòng, có 1 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S. Đặc trưng là, heteroaryl này là hệ vòng có 5-10 cạnh (ví dụ, vòng một vòng có 5-6 cạnh hoặc vòng hai vòng có 8-10 cạnh) hoặc hệ vòng có 5-6 cạnh. Trừ phi được cụ thể hóa điều ngược lại, heteroaryl tốt hơn là vòng có 5-6 cạnh được phân lập chứa lên đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng. Các nhóm heteroaryl đặc trưng bao gồm furan, isothiazol, thiadiazol, oxadiazol, indazol, indol, quinolin, 2- hoặc 3-thienyl; 2- hoặc 3-furyl; 2- hoặc 3-pyrolyl; 1-, 2-, 4-, hoặc 5-imidazolyl; 1, 3-, 4-, hoặc 5-pyrazolyl; 2-, 4-, hoặc 5-thiazolyl, 3-, 4-, hoặc 5-isothiazolyl, 2-, 4-, hoặc 5-oxazolyl, 3-, 4-, hoặc 5-isoxazolyl, 3- hoặc 5-(1,2,4-triazolyl), 4- hoặc 5-(1,2,3-triazolyl), tetrazolyl, triazin, pyrimidin, 2-, 3-, hoặc 4-pyridyl, 3- hoặc 4-pyridazinyl, 3-, 4-, hoặc 5-pyrazinyl, 2-pyrazinyl, và 2-, 4-, hoặc 5-pyrimidinyl.

Thuật ngữ “hydroxy” hoặc “hydroxyl” đề cập đến nhóm –OH, hoặc khi được sử dụng như một phần của tên gốc chẳng hạn như hydroxyalkyl, nó đề cập đến nhóm được gọi tên được thế bằng –OH.

Nhiều phương án khác theo sáng chế được mô tả ở đây. Sẽ được công nhận rằng các đặc điểm được cụ thể hóa trong mỗi phương án có thể được kết hợp với các đặc điểm được cụ thể hóa khác để đưa ra các phương án khác nữa. Các phương án được đánh số dưới đây là các đại diện cho một số khía cạnh của sáng chế.

1. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng của nó,

trong đó :

Z là CR⁴ hoặc N;

R¹ là H hoặc C₁-C₄ alkyl;

R² được chọn từ nhóm bao gồm H, C₁-C₄ alkyl, và -COOH

hoặc R¹ và R² cùng với cacbon mà chúng được gắn vào để tạo thành vòng được chọn từ vòng C₃-C₆ xycloalkyl và vòng dị vòng có 4-6 cạnh chứa lên đến hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng;

R³ được chọn từ H, -COOH, và -L¹-W-(CH₂)₀₋₂-X-R⁵;

R⁴ là H hoặc halo;

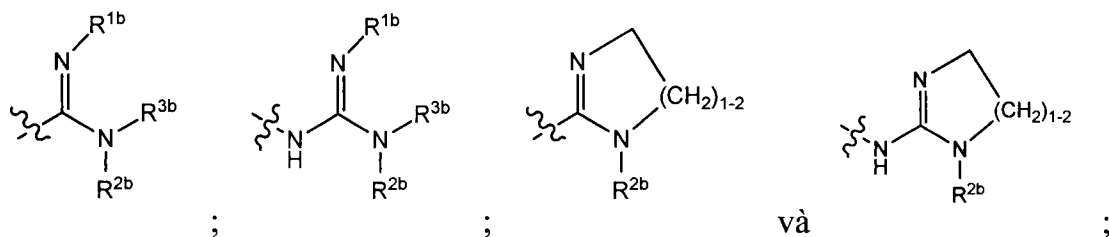
mỗi L¹ độc lập là C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh;

W là liên kết, O, NH hoặc S;

X là phenyl, hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh chứa 1-3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng; trong đó phenyl và heteroaryl có 5-6 cạnh này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C₁₋₄ alkyl,

hydroxy, -CN, F, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) và -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

R^5 được chọn từ



trong đó R^{1b}, R^{2b}, và R^{3b} độc lập là hydro, hydroxy, CN, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₃-C₆)xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa N, O hoặc S làm thành phần của vòng, trong đó mỗi (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₃-C₆)xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa N, O hoặc S làm thành phần của vòng có thể được thế bằng một, hai hoặc ba phần tử thế độc lập được chọn từ Y,

và trong đó R^{2b} và R^{3b} cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được liên kết có thể tùy ý tạo thành heterocyclyl có 5 đến 7 cạnh ngoài ra còn bao gồm 0 hoặc 1 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heterocyclyl này tùy ý được thế bằng Y;

Y được chọn từ F, CN, $-\text{NH}_2$, Q, $-\text{L}^2\text{-C(O)NR}^{10}\text{-L}^2\text{-Q}$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-C(O)-L}^2\text{-Q}$, $-\text{L}^2\text{-OR}^{10}$, $-\text{L}^2\text{-N(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-N}^+(\text{R}^{11})_3$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-C(O)R}^{10}$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-L}^2\text{-N(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-O-C(O)OR}^{10}$, $-\text{L}^2\text{-O-C(O)-N(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-C(O)-N(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-C(O)-OR}^{11}$, $-\text{L}^2\text{-C(=NR}^{10})\text{-N(R}^{10})_2$, $-\text{CON(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-C(=NR}^{10})\text{-N(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-NR}^{10}\text{-C(=NR}^{10})\text{-R}^{10}$, $-\text{L}^2\text{-C(O)N(R}^{10})_2$, $-\text{L}^2\text{-O-SO}_3\text{R}^{10}$;

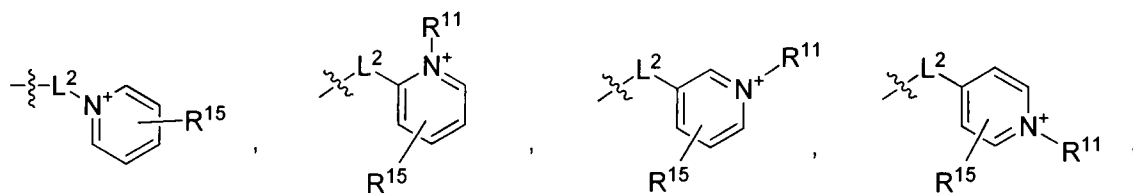
L² với mỗi lần xuất hiện độc lập là liên kết hoặc C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh, tùy ý được thế bằng NH₂, OH, hoặc F;

Het là vòng dị vòng no có 4-6 cạnh, trong đó vòng dị vòng này chứa 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng và được thể bằng oxo và tùy ý còn được thể bằng Y;

R^{10} và R^{12} độc lập là H hoặc C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ OH, NH_2 hoặc Q;

Q được chọn từ $-L^2-N(R^{13})_2$, $-L^2-N^+(R^{14})_3$, $-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-CR^{13}(=NR^{13})$, $-L^2-NR^{13}-L^2-Cy$, $-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-NR^{13}-L^2-Cy$, $-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-L^2-Cy$, $-L^2-Cy-L^2-R^{13}$, $-L^2-Cy-L^2-N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-SO_2-N(R^{13})_2$, $-L^2-SO_2-$

$N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-SO_2-R^{13}$, $-L^2-NR^{13}-L^2-Ar$, $-L^2-S-L^2-Cy$, $-L^2-NR^{13}-(C=O)-O-R^{13}$,



mỗi Cy độc lập là xycloalkyl có 3-6 cạnh hoặc heteroxyclyl có 3-6 cạnh chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm thành phần vòng và tùy ý được ngưng tụ với vòng aryl hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh, trong đó mỗi Cy tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ halo, C_{1-3} haloalkyl, R^{14} , hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

Ar là phenyl, tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ halo, C_{1-3} haloalkyl, R^{14} , hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

R^{11} với mỗi lần xuất hiện độc lập là C_{1-4} alkyl;

và hai R^{10} , hoặc hai R^{11} , hoặc hai R^{12} trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, hydroxy, hoặc oxo;

R^{13} với mỗi lần xuất hiện độc lập là H hoặc C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$; tùy ý, khi R^{13} là C_{1-4} alkyl nó có thể được thế bằng $-OR^{14}$, $-NHR^{14}$, hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

R^{14} với mỗi lần xuất hiện độc lập là C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

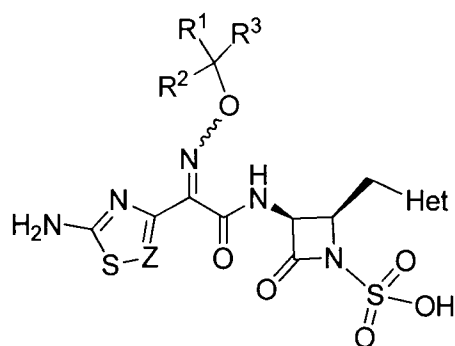
trong đó hai R^{13} hoặc hai R^{14} trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, hydroxy, amino hoặc oxo;

R^{15} là H, halo, C_{1-4} alkyl, CN, hoặc $-O(C_{1-4} \text{ alkyl})$;

hoặc muối được dụng của nó.

Được hiểu rằng mỗi hợp chất trong số các hợp chất trong bảng B, bao gồm các hợp chất của ví dụ 1-156, là một phương án theo sáng chế và được chủ định để nằm trong phạm vi của phương án 1.

2. Hợp chất có công thức (IA):



(IA)

hoặc muối được dụng của nó,

trong đó :

Z là CR⁴ hoặc N;

R¹ là H hoặc C₁-C₄ alkyl;

R² được chọn từ nhóm bao gồm H, C₁-C₄ alkyl, và -COOH

hoặc R¹ và R² cùng với cacbon mà chúng được gắn vào để tạo thành vòng được chọn từ vòng C₃-C₆xycloalkyl và vòng dị vòng có 4-6 cạnh chứa lên đến hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng;

R³ được chọn từ H, -COOH, và -L¹-W-(CH₂)₀₋₂-X-R⁵;

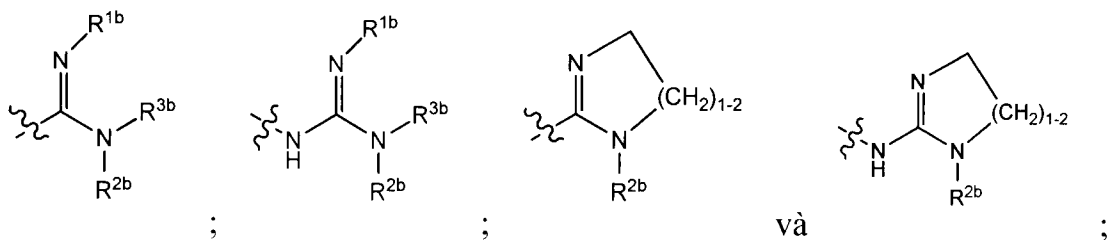
R⁴ là H hoặc halo;

mỗi L¹ độc lập là C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh;

W là liên kết, O, NH hoặc S;

X là phenyl, hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh chứa 1-3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng; trong đó phenyl và heteroaryl có 5-6 cạnh này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C₁₋₄ alkyl, hydroxy, -CN, F, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) và -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

R⁵ được chọn từ



trong đó R^{1b}, R^{2b}, và R^{3b} độc lập là hydro, hydroxy, CN, (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₃-C₆)xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh,

trong đó mỗi (C₁-C₄)alkyl, (C₁-C₄)alkoxy, (C₃-C₆)xycloalkyl, hoặc heteroxycyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh có thể được thế bằng một, hai hoặc ba phần tử thế độc lập được chọn từ Y,

và trong đó R^{2b} và R^{3b} cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được liên kết có thể tùy ý tạo thành heteroxycyl có 5 đến 7 cạnh ngoài ra còn bao gồm 0 hoặc 1 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxycyl này tùy ý được thế bằng Y;

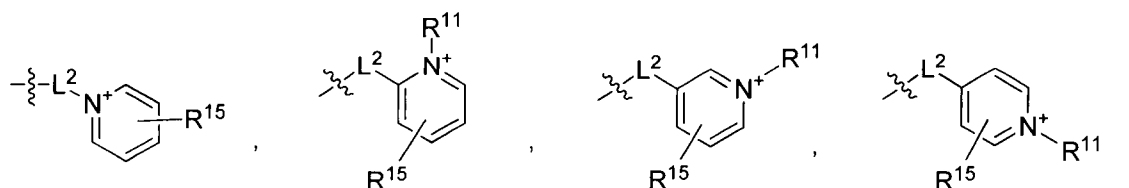
Y được chọn từ F, CN, -NH₂, Q, -L²-C(O)NR¹⁰-L²-Q, -L²-NR¹⁰-C(O)-L²-Q, -L²-OR¹⁰, -L²-N(R¹⁰)₂, -L²-N⁺(R¹¹)₃, -L²-NR¹⁰-C(O)R¹⁰, -L²-NR¹⁰-L²-N(R¹⁰)₂, -L²-O-C(O)OR¹⁰, -L²-O-C(O)-N(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(O)-N(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(O)-OR¹¹, -L²-C(=NR¹⁰)-N(R¹⁰)₂, -CON(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(=NR¹⁰)-N(R¹⁰)₂, -L²-NR¹⁰-C(=NR¹⁰)-R¹⁰, -L²-C(O)N(R¹⁰)₂, -L²-O-SO₃R¹⁰;

L² với mỗi lần xuất hiện độc lập là liên kết hoặc C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh;

Het là vòng dị vòng no có 4-6 cạnh, trong đó vòng dị vòng này chứa 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng và được thế bằng oxo và tùy ý còn được thế bằng Y;

R¹⁰ và R¹² độc lập là H hoặc C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng Q;

Q được chọn từ -L²-N(R¹³)₂, -L²-N⁺(R¹⁴)₃, -L²-NH-C(=NH)-NH₂, -L²-C(=NH)-NH₂,



R¹¹ với mỗi lần xuất hiện độc lập là C₁₋₄ alkyl;

và hai R¹⁰, hoặc hai R¹¹, hoặc hai R¹² trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, hydroxy, hoặc oxo;

R¹³ với mỗi lần xuất hiện độc lập là H hoặc C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) hoặc -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

R¹⁴ với mỗi lần xuất hiện độc lập là C₁₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C₁₋₄

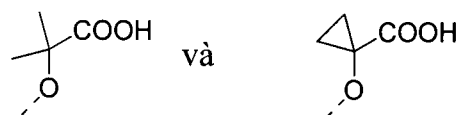
alkoxy, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{C}_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-\text{N}(\text{C}_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

trong đó hai R^{13} hoặc hai R^{14} trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, hydroxy, amino hoặc oxo;

R^{15} là H, halo, C_{1-4} alkyl, CN, hoặc $-\text{O}(\text{C}_{1-4} \text{ alkyl})$;

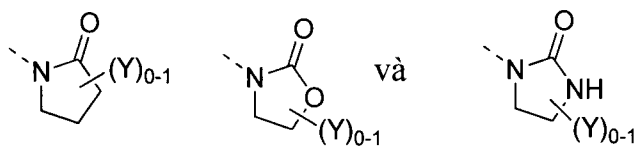
hoặc muối được dụng của nó.

Theo các phương án cụ thể của hợp chất có công thức (I) hoặc (IA), nhóm được



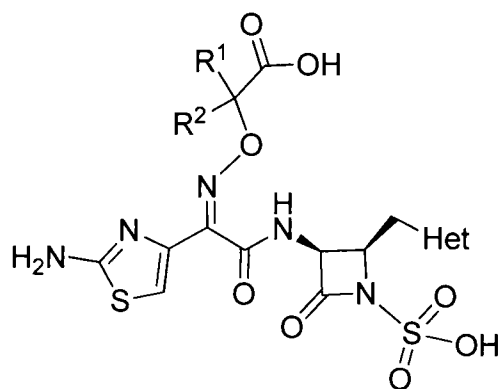
đại diện bằng $-\text{O}-\text{CR}^1\text{R}^2\text{R}^3$ được chọn từ

3. Hợp chất theo phương án 1 hoặc phương án 2, trong đó mỗi R^1 và R^2 là methyl và R^3 là $-\text{COOH}$.
4. Hợp chất theo phương án 1 hoặc phương án 2, trong đó R^1 và R^2 cùng với cacbon mà chúng được gắn vào tạo thành vòng xyclopropan và R^3 là $-\text{COOH}$.
5. Hợp chất theo phương án 1 hoặc phương án 2, trong đó R^1 và R^2 đều là H và R^3 là $-\text{COOH}$.
6. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên, trong đó Z là CH.
7. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1-6, trong đó Z là N.
8. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1-7, trong đó Het là vòng no được thế bằng oxo và còn tùy ý được thế bằng Y.
9. Hợp chất theo phương án 8, trong đó Het được chọn từ pyrrolidin-2-on, oxazolidin-2-on, và imidazolidin-2-on, và tùy ý được thế bằng Y. Theo các phương án cụ thể về các hợp chất này, Het được chọn từ:



, trong đó liên kết dạng nét đứt biểu thị điểm gắn của Het với phần còn lại của công thức (I) hoặc (IA), và $(Y)_{0-1}$ đại diện phần tử thế Y tùy ý có thể được gắn với vị trí hiện có bất kỳ trên vòng này.

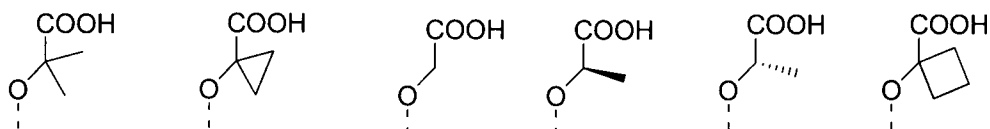
10. Hợp chất theo phương án 8, trong đó Het là oxazolidin-2-on và tùy ý được thế bằng $-L^2-N(R^{10})_2$ hoặc $L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})_2$
11. Hợp chất theo phương án 8, trong đó Het là oxazolidin-2-on được thế trên vị trí 5 bằng $-L^2-N(R^{10})_2$ hoặc $L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})_2$ ở cấu hình R
12. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên, có cấu trúc theo công thức (II):

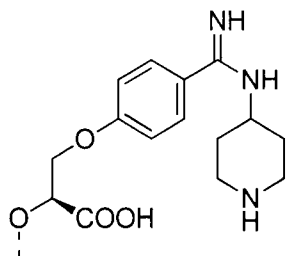


(II),

hoặc muối được dụng của nó.

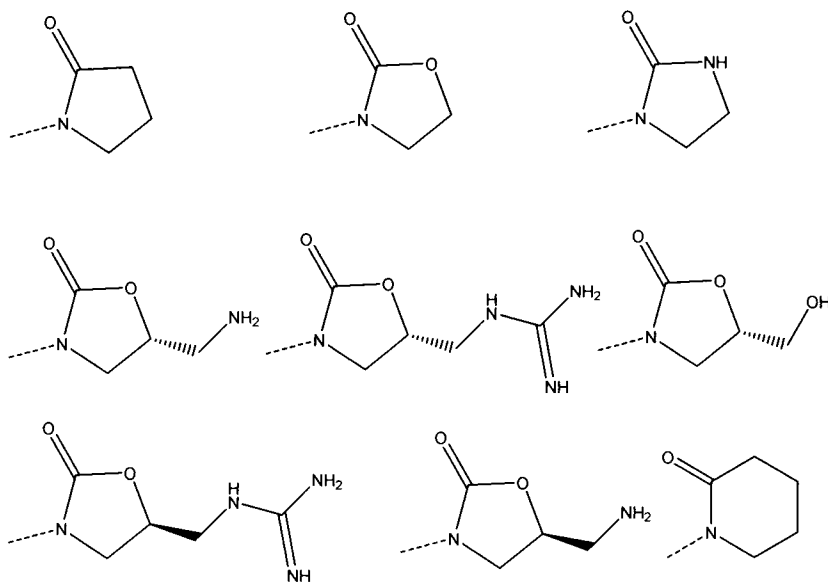
13. Hợp chất theo phương án 1 hoặc phương án 2, trong đó $---O-CR^1R^2R^3$ được chọn từ





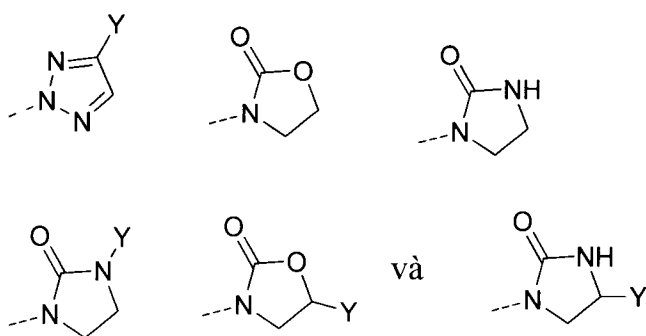
và

14. Hợp chất theo phương án 1 hoặc phương án 13, trong đó Het được chọn từ

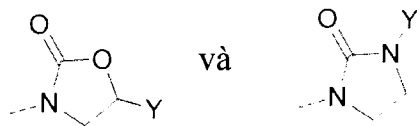


15. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1-10, trong đó L^2 là $-(CH_2)_{1-3}-$.

16. Hợp chất theo phương án 12 trong đó Het được chọn từ:



17. Hợp chất theo phương án 12, trong đó Het được chọn từ

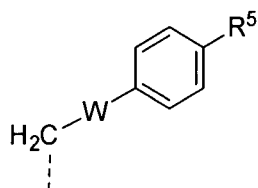


và

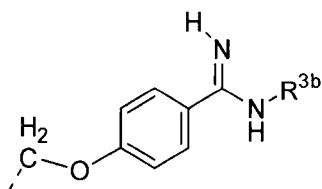
18. Hợp chất theo phương án 16, hoặc 17, trong đó Y được chọn từ Q, $-L^2-OR^{10}$, $-L^2-N(R^{10})_2$, $-L^2-N^+(R^{11})_3$, $-L^2-NR^{10}-C(O)R^{10}$, $-$, $-L^2-O-C(O)OR^{10}$, $-L^2-O-C(O)-N(R^{10})_2$, $-L^2-NR^{10}-C(O)-N(R^{10})_2$, $-L^2-C(=NR^{10})-N(R^{10})_2$, $-CON(R^{10})_2$, $-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})_2$, và $-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-R^{10}$.

Theo cách khác, hợp chất theo phương án 16 hoặc 17 trong đó Y có công thức $-L^2-NR^{10}-L^2-N(R^{10})_2$, ví dụ, Y có thể là một nhóm chẳng hạn như $-CH_2-NR^{10}-(CH_2)_{2-3}-N(R^{10})_2$; theo các phương án cụ thể về các hợp chất này, R^{10} là H.

19. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án 6-17, trong đó R^3 có công thức



20. Hợp chất theo phương án 19, trong đó R^3 là

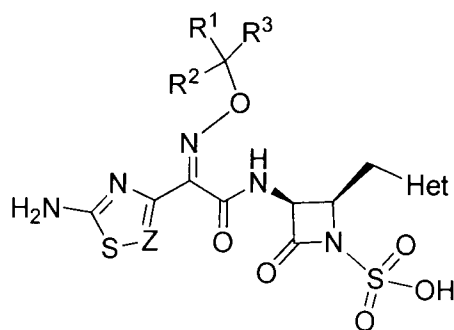


trong đó R^{3b} được chọn từ H, azetidin, pyrrolidin và piperidin.

21. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án trên, là muối được dùng.
22. Dược phẩm chứa hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên và ít nhất một tá dược được dùng.

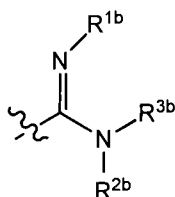
23. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số 1-20, hoặc dược phẩm theo phương án 22 để sử dụng trong phương pháp điều trị xâm nhiễm do vi khuẩn Gram âm.
24. Hợp chất hoặc dược phẩm theo phương án 23, trong đó bệnh nhiễm khuẩn là do các loài vi khuẩn *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Meningitidis*, *Morganella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Neisseria*, hoặc *Stenotrophomonas* gây ra.
25. Hợp chất hoặc dược phẩm theo phương án 23, trong đó nhiễm khuẩn là viêm phổi bệnh viện, xâm nhiễm trong khoang bụng, hoặc xâm nhiễm ống tiết niệu do các loài Enterobacteriaceae gây ra.
26. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1-20 để dùng làm thuốc.
27. Hợp chất để sử dụng theo phương án 26, trong đó thuốc này là chất kháng khuẩn.
28. Hợp chất để sử dụng theo phương án 26, trong đó chất kháng khuẩn này là để điều trị nhiễm khuẩn Gram âm do các loài *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria*, hoặc *Stenotrophomonas* gây ra.
29. Tổ hợp hợp dược, chứa hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1-20 và chất điều trị thứ hai.

Trong hợp chất có công thức (I) và các phương án khác nhau được mô tả ở đây, oxime tốt hơn là có cấu hình được biểu thị ở đây:

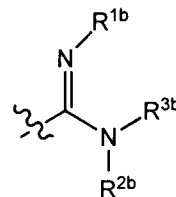


Trong một số trường hợp theo phương án bất kỳ trong số các phương án đã nêu, trừ phi được cụ thể hóa điều ngược lại, một trong số nhưng không đồng thời R^2 và R^3 là $-\text{COOH}$.

Trong đó R^3 theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên có công thức $-\text{L}^1-\text{W}-(\text{CH}_2)_{0-2}-\text{X}-\text{R}^5$, X có thể là phenyl. Theo một số phương án trong số các phương án này, L^1 is CH_2 . Theo các phương án này, W là O. Theo một số phương án trong số các phương án này, R^5 là nhóm có công thức



trong đó R^{1b} , R^{2b} và R^{3b} như được mô tả đối với phương án 1 nêu trên. Theo



một số phương án cụ thể trong số các phương án này, R^5 có công thức trong đó mỗi R^{1b} và R^{2b} là H, và R^{3b} có thể là H, hoặc nhóm dị vòng chẳng hạn như 4-piperidiny. Thích hợp là, trong các phương án này R^1 là H và R^2 là H hoặc COOH .

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất:

- Chế phẩm hỗn hợp được chứa (a) chất điều trị thứ nhất là hợp chất theo sáng chế, ví dụ, hợp chất có công thức (I) hoặc công thức phụ bất kỳ của nó được mô tả ở đây, và (b) chất điều trị thứ hai như được mô tả trên đây.
- Hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phương pháp như được xác định trên đây bao gồm đồng sử dụng, ví dụ, đồng thời hoặc tuần tự, lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế, ví dụ hợp chất có công thức (I) hoặc công thức phụ bất kỳ của nó được mô tả ở đây, và chất điều trị thứ hai như được mô tả trên đây.

Các thuật ngữ “đồng sử dụng” hoặc “sử dụng kết hợp” hoặc tương tự được sử dụng ở đây có nghĩa là bao hàm việc sử dụng của các chất điều trị được chọn cho một bệnh nhân, và được chủ định để bao gồm các phác đồ điều trị trong đó các

chất này không nhất thiết được sử dụng theo đường dùng giống nhau hoặc cùng một thời điểm. Những tổ hợp cố định cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Việc dùng chế phẩm hỗn hợp được theo sáng chế dẫn đến tác động có lợi, ví dụ, tác động điều trị hiệp đồng, so với liệu pháp đơn áp dụng chỉ một thành phần trong số các thành phần có hoạt tính được của nó.

Mỗi thành phần của chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể được sử dụng tách riêng, cùng nhau, hoặc theo tổ hợp bất kỳ của chúng.

Hợp chất theo sáng chế và chất bổ sung bất kỳ có thể được bào chế ở các dạng liều tách riêng. Ngoài ra, để tăng số lượng các dạng liều được dùng cho bệnh nhân, hợp chất theo sáng chế và chất bổ sung bất kỳ có thể được bào chế cùng nhau theo tổ hợp bất kỳ. Ví dụ, chất ức chế là hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế ở một dạng liều và chất bổ sung có thể được cùng bào chế trong dạng liều khác. Các dạng liều tách riêng bất kỳ có thể được sử dụng vào cùng thời điểm hoặc vào các thời điểm khác nhau.

Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế chứa chất bổ sung như được mô tả ở đây. Mỗi thành phần có thể có mặt trong các chế phẩm riêng, chế phẩm kết hợp riêng, hoặc trong một chế phẩm duy nhất.

Hợp chất theo sáng chế có thể được tổng hợp bằng các đường tổng hợp chung dưới đây, các ví dụ cụ thể về các đường tổng hợp này được mô tả chi tiết hơn trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế và các chất trung gian cũng có thể được chuyển hóa lẫn nhau theo các phương pháp thường là đã được biết đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này.

Nằm trong phạm vi của sáng chế, chỉ có nhóm có thể được loại bỏ dễ dàng mà không là thành phần của sản phẩm cuối mong muốn cụ thể của hợp chất theo sáng chế được chỉ định là "nhóm bảo vệ", trừ phi phần mô tả chỉ ra điều ngược lại. Việc bảo vệ các nhóm chức có chức năng bằng các nhóm bảo vệ này, bản thân các nhóm bảo vệ, và các phản ứng phân cắt của chúng đã được mô tả, ví dụ, trong các công trình tham khảo tiêu chuẩn, chẳng hạn như J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London và New York 1973, trong T. W. Greene và P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Tái bản lần thứ ba, Wiley, New York 1999, trong "The Peptides"; Volume 3 (biên tập viên: E. Gross và J.

Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, trong "Methoden der organischen Chemie" (Phương pháp của Hóa hữu cơ), Houben Weyl, tái bản lần thứ 4, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, trong H.-D. Jakubke và H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Axit amin, Peptit, Protein), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, và Basel 1982, và trong Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrat: Monosaccharide und Derivate" (Hóa học của các Hydrat cacbon: Monosacarit và các chất dẫn xuất), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Đặc tính của các nhóm bảo vệ là chúng có thể bị loại bỏ dễ dàng (có nghĩa là, không xuất hiện các phản ứng thứ cấp không mong muốn), ví dụ, bằng dung môi phân, phản ứng khử, quang phân hoặc theo cách khác trong các điều kiện sinh lý (ví dụ, bằng cách phân cắt bằng enzym).

Muối của hợp chất theo sáng chế có ít nhất một nhóm tạo muối có thể được điều chế theo phương thức đã biết với người có hiểu biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, muối của hợp chất theo sáng chế có các nhóm axit có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách Xử lý các hợp chất này bằng các hợp chất kim loại, chẳng hạn như các muối kim loại kiềm của các axit carboxylic hữu cơ thích hợp, ví dụ, muối natri của axit 2-ethylhexanoic, bằng các hợp chất kim loại kiềm hữu cơ hoặc hợp chất kim loại kiềm thổ, chẳng hạn như các hydroxit, carbonat hoặc hydro carbonat tương ứng, chẳng hạn như natri hoặc kali hydroxit, carbonat hoặc hydro carbonat, bằng các hợp chất canxi tương ứng hoặc bằng amoniac hoặc amin hữu cơ thích hợp, các lượng hóa tỷ lượng hoặc chỉ một lượng dư nhỏ chất tạo muối ưu tiên được sử dụng. Muối cộng axit của hợp chất theo sáng chế được tạo ra theo phương thức thông thường, ví dụ, bằng cách Xử lý hợp chất này bằng axit hoặc chất phản ứng trao đổi anion thích hợp. Muối nội của hợp chất theo sáng chế chứa các nhóm tạo muối axit và bazơ, ví dụ, nhóm không chứa carboxy và nhóm không chứa amino, có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách trung hòa muối, chẳng hạn như đưa muối cộng axit, tới điểm đẳng điện, ví dụ, bằng bazơ yếu, hoặc bằng cách Xử lý với các chất trao đổi ion.

Muối có thể được chuyển hóa thành các hợp chất tự do theo các phương pháp đã biết với người có hiểu biết trong lĩnh vực này. Muối kim loại và muối amoni có thể được chuyển hóa, ví dụ, bằng cách Xử lý với các axit, muối cộng axit thích hợp, ví dụ, bằng cách Xử lý với chất có tính bazơ thích hợp.

Hỗn hợp của các chất đồng phân có thể thu được theo sáng chế có thể được phân tách theo phương thức đã biết với người có hiểu biết trong lĩnh vực này thành các chất đồng phân riêng lẻ; chất đồng phân không đối quang có thể được phân tách, ví dụ, bằng cách phân bố giữa các hỗn hợp dung môi đa pha, đồng kết tinh hóa và/hoặc phân tách bằng sắc ký, ví dụ, qua silicagel hoặc bằng ví dụ, sắc ký lỏng áp suất trung bình qua cột pha đảo, và chất triệt quang có thể được phân tách, ví dụ, bằng cách tạo muối với chất tạo muối tinh khiết quang và phân tách hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cũng có thể thực hiện, ví dụ, bằng phương pháp kết tinh phân đoạn, hoặc bằng cách sắc ký qua vật liệu cột quang hoạt.

Chất trung gian và sản phẩm cuối có thể được điều chế và/hoặc tinh sạch theo các phương pháp tiêu chuẩn, ví dụ, sử dụng các phương pháp sắc ký, các phương pháp phân bố, (tái) kết tinh hóa, và tương tự.

Các điều kiện sau áp dụng chung cho mọi quy trình được đề cập trước và sau đây.

Tất cả các bước nêu trên có thể được thực hiện trong các điều kiện phản ứng đã biết với người có hiểu biết trong lĩnh vực này, bao gồm các điều kiện được đề cập một cách cụ thể, với sự vắng mặt hoặc, thông thường là, với sự có mặt của dung môi hoặc chất pha loãng, bao gồm, ví dụ, dung môi hoặc chất pha loãng mà trợ đối với các chất phản ứng được sử dụng và hòa tan chúng, với sự vắng mặt hoặc có mặt của chất xúc tác, chất ngưng tụ hoặc chất trung hòa, ví dụ, chất trao đổi ion, chẳng hạn như chất trao đổi cation, ví dụ, ở dạng H^+ , phụ thuộc vào bản chất của phản ứng và/hoặc của chất phản ứng ở nhiệt độ tăng, bình thường hoặc giảm, ví dụ ở khoảng nhiệt độ từ khoảng $-100^{\circ}C$ đến khoảng $190^{\circ}C$, bao gồm, ví dụ, từ xấp xỉ $-80^{\circ}C$ đến xấp xỉ $150^{\circ}C$, ví dụ, ở từ $-80^{\circ}C$ đến $-60^{\circ}C$, ở nhiệt độ phòng, ở từ -20 đến $40^{\circ}C$ hoặc ở nhiệt độ hồi lưu, dưới áp suất không khí hoặc trong mạch kín, trong đó xấp xỉ dưới áp suất, và/hoặc trong điều kiện khí trơ, ví dụ, dưới điều kiện khí argon hoặc khí nitơ.

Ở mọi giai đoạn của phản ứng, các hỗn hợp của các chất đồng phân mà được tạo ra có thể được phân tách thành các chất đồng phân riêng, ví dụ, chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh, hoặc thành hỗn hợp chất đồng phân mong muốn bất kỳ, ví dụ, chất triệt quang hoặc hỗn hợp chất đồng phân không đối quang.

Các dung môi mà từ những những dung môi này thích hợp cho phản ứng cụ thể bất kỳ có thể được chọn bao gồm các dung môi được đề cập cụ thể hoặc, ví dụ, nước, este, chẳng hạn như alkanoat ngắn của alkyl mạch ngắn, ví dụ, etyl axetat, etc, chẳng hạn như ete béo, ví dụ, dietyl ete, hoặc ete dạng vòng, ví dụ, tetrahydrofuran hoặc dioxan, hydrocacbon vòng thơm dạng lỏng, chẳng hạn như benzen hoặc toluen, ancol, chẳng hạn như metanol, etanol hoặc 1- hoặc 2-propanol, nitril, chẳng hạn như axetonitril, hydrocacbon halogen hóa, chẳng hạn như metylen clorua hoặc cloform, amit của axit, chẳng hạn như dimetylformamit hoặc dimetyl axetamit, bazơ, chẳng hạn như bazơ nitơ dị vòng, ví dụ, pyridin hoặc *N*-metylpyrrolidin-2-on, anhydrit của axit carboxylic, chẳng hạn như anhydrit của axit alkanoic bậc thấp, ví dụ, anhydrit của axit axetic, hydrocacbon mạch thẳng, mạch nhánh hoặc mạch vòng, chẳng hạn như xyclohexan, hexan hoặc isopentan, methyxcyclohexan, hoặc hỗn hợp của các dung môi, ví dụ, dung dịch chứa nước, trừ khi được chỉ định khác trong bản mô tả về quy trình này. Hỗn hợp dung môi này cũng có thể được sử dụng trong điều chế, ví dụ, bằng sắc ký hoặc phân bố.

Hợp chất theo sáng chế, bao gồm muối của nó, cũng có thể được thu ở dạng hydrat, hoặc tinh thể của nó có thể, ví dụ, bao gồm dung môi được sử dụng để kết tinh. Các dạng tinh thể khác có thể có mặt.

Tất cả các nguyên liệu ban đầu, đơn vị cấu trúc, chất phản ứng, axit, bazơ, chất khử nước, dung môi, và chất xúc tác được dùng để tổng hợp hợp chất theo sáng chế là có sẵn trên thị trường hoặc có thể được điều chế bởi các phương pháp tổng hợp hữu cơ đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ “chất đồng quang học” hoặc “chất đồng phân lập thể” đề cập đến cấu hình bất kỳ trong số các cấu hình đồng phân lập thể khác nhau mà có thể tồn tại đối với hợp chất cụ thể theo sáng chế và bao gồm các chất đồng phân dị hình. Phần tử thể được hiểu là có thể được gắn ở trung tâm bất đối của nguyên tử cacbon. Thuật ngữ “không đối xứng” đề cập đến các phân tử có tính chất không thể chồng khít lên ảnh gương của chúng, trong khi thuật ngữ “đối xứng” đề cập đến các phân tử có thể đặt chồng khít lên ảnh gương của chúng. Do đó, sáng chế bao gồm chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang hoặc chất triệt quang của hợp chất này. “Chất đồng phân đối ảnh” là cặp chất đồng phân lập thể mà là ảnh qua gương không chồng khít lên nhau. Hỗn hợp 1:1 của cặp chất đồng phân đối ảnh là hỗn hợp “chất triệt

quang”. Thuật ngữ này được sử dụng để chỉ định hỗn hợp chất triệt quang nếu thích hợp. "Chất đồng phân không đối quang" là các chất đồng phân lập thể mà có ít nhất hai nguyên tử không đối xứng, nhưng chúng không là ảnh qua gương của nhau. Hóa lập thể tuyệt đối được xác định theo hệ thống R-S Cahn- Ingold- Prelog. Nếu hợp chất là chất đồng phân đối ảnh tinh khiết hóa lập thể ở mỗi cacbon bất đối có thể được xác định bằng *R* hoặc *S*. Các hợp chất được phân tách mà có cấu hình tuyệt đối không xác định có thể được chỉ định là (+) hoặc (-) phụ thuộc vào hướng (quay phải hoặc quay trái) mà chúng quay mặt phẳng phân cực ánh sáng ở bước sóng vạch D của natri. Một số hợp chất cụ thể của các hợp chất được mô tả ở đây chứa một hoặc nhiều trung tâm hoặc trục không đối xứng và có thể do đó tạo ra chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và các dạng chất đồng phân lập thể có thể được xác định, về hóa lập thể tuyệt đối, là (*R*) hoặc (*S*).

Phụ thuộc vào việc lựa chọn nguyên liệu ban đầu và quy trình, hợp chất có thể có mặt ở dạng của một trong số các chất đồng phân có thể hoặc ở dạng hỗn hợp của chúng, ví dụ, ở dạng chất đồng phân tinh khiết quang, hoặc ở dạng hỗn hợp chất đồng phân, chẳng hạn như hỗn hợp chất triệt quang và chất đồng phân không đối quang, phụ thuộc vào số nguyên tử cacbon không đối xứng. Sáng chế được dự tính bao gồm tất cả các chất đồng phân có thể, bao gồm hỗn hợp các chất chất triệt quang, hỗn hợp chất đồng phân không đối quang và các dạng tinh khiết quang. Các chất đồng phân quang hoạt dạng (*R*) và (*S*) có thể được điều chế bằng cách sử dụng synthon không đối xứng hoặc chất phản ứng không đối xứng, hoặc được phân tách bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường. Nếu hợp chất chứa liên kết đôi, phần tử thể này có thể ở cấu hình E hoặc Z. Nếu hợp chất chứa xycloalkyl được thế hai lần, phần tử thể xycloalkyl này có thể có cấu hình cis hoặc trans. Tất cả các dạng chất hỗn biến cũng được dự tính được bao gồm.

Hỗn hợp chất đồng phân thu được bất kỳ có thể được phân tách trên cơ sở sự khác biệt hóa lý của các thành phần, thành chất đồng phân quang học hoặc chất đồng phân hình học, chất đồng phân không đối quang, chất triệt quang tinh khiết hoặc gần như tinh khiết, ví dụ, bằng sắc ký và/hoặc kết tinh phân đoạn.

Chất triệt quang của sản phẩm cuối hoặc chất trung gian thu được bất kỳ có thể được phân tách thành thể đối quang quang học bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, bằng cách phân tách muối đồng phân không đối quang của nó, thu được bằng axit hoặc

bazơ quang hoạt, và giải phóng hợp chất có tính axit hoặc bazơ quang hoạt. Cụ thể, vì vậy gốc bazơ có thể được sử dụng, để phân tách hợp chất theo sáng chế thành các thể đối quang quang học của nó, ví dụ, bằng kết tinh phân đoạn muối được tạo ra bởi axit quang hoạt, ví dụ, axit tartaric, axit di-O,O'-p-toluoyl tartaric, axit mandelic, axit malic hoặc axit camphor-10-sulfonic. Các sản phẩm chất triệt quang cũng có thể được phân tách bằng sắc ký không đối xứng, ví dụ, sắc ký lỏng áp suất cao (HPLC) sử dụng chất hấp phụ không đối xứng.

Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế, bao gồm muối của nó, cũng có thể được thu ở dạng hydrat của nó, hoặc chứa dung môi khác mà được sử dụng để kết tinh chúng. Hợp chất theo sáng chế có thể vốn có hoặc do thiết kế tạo ra các solvat với dung môi được dụng (bao gồm nước); do đó, sáng chế chủ định bao gồm cả dạng solvat hóa và không solvat hóa. Thuật ngữ "solvat" dùng để chỉ phức phân tử của hợp chất theo sáng chế (bao gồm muối được dụng của nó) với một hoặc nhiều phân tử dung môi. Các phân tử dung môi này là các phân tử dung môi thường được sử dụng trong lĩnh vực dược, mà được biết là không độc với người nhận, ví dụ, nước, etanol, và tương tự. Thuật ngữ "hydrat" dùng để chỉ phức phân tử trong đó phân tử dung môi là nước.

Hợp chất theo sáng chế, bao gồm muối, hydrat và solvat của nó, có thể vốn có hoặc do thiết kế tạo ra các dạng đa hình.

Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ "muối" hoặc "các muối" đề cập đến muối cộng axit hoặc bazơ của hợp chất theo sáng chế. "Muối" bao gồm cụ thể là "muối được dụng". Thuật ngữ "muối được dụng" đề cập đến muối mà giữ được tính chất và tính hiệu quả sinh học của hợp chất theo sáng chế và, đặc trưng là không có đặc tính sinh học không mong muốn hoặc đặc tính không mong muốn khác. Trong nhiều trường hợp, hợp chất theo sáng chế có khả năng tạo ra muối axit và/hoặc bazơ nhờ sự có mặt của nhóm amino và/hoặc carboxyl hoặc các nhóm tương tự.

Các muối cộng axit được dụng có thể được tạo ra bằng các axit vô cơ và axit hữu cơ, ví dụ, muối axetat, muối aspartat, muối benzoat, muối besylat, muối bromua/hydrobromua, muối bicarbonat/carbonat, muối bisulfat/sulfat, muối camphorsulfonat, muối clorua/hydroclorua, muối clotheophylonat, muối xitrat, muối etandisulfonat, muối fumarat, muối gluxepat, muối gluconat, muối glucuronat, muối hipurat, muối hydroiodua/iodua, muối isethionat, muối lactat, muối lactobionat, muối laurylsulfat, muối malat, muối maleat, muối malonat, muối mandelat, muối mesylat,

muối metylsulphat, muối naphtoat, muối napsylat, muối nicotinat, muối nitrat, muối octadecanoat, muối oleat, muối oxalat, muối palmitat, muối pamoat, muối phosphat/hydrophosphat/dihydrophosphat, muối polygalacturonat, muối propionat, muối stearat, muối succinat, muối sulfosalixylat, muối tartrat, muối tosylat và muối trifloaxetat.

Các axit vô cơ mà từ chúng có thể tạo dẫn xuất muối bao gồm, ví dụ, axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric, và tương tự.

Các axit hữu cơ mà từ chúng có thể được dẫn xuất muối bao gồm, ví dụ, axit axetic, axit propionic, axit glycolic, axit oxalic, axit maleic, axit malonic, axit succinic, axit fumaric, axit tartaric, axit xitric, axit benzoic, axit mandelic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit toluensulfonic, axit 1-hydroxy-2-naphtic và axit sulfosalixylic, và tương tự. Các muối cộng bazơ được dùng có thể được tạo ra bằng các bazơ vô cơ và hữu cơ.

Các bazơ vô cơ mà từ chúng có thể tạo dẫn xuất muối bao gồm, ví dụ, các muối amoni và các muối của kim loại ở cột I đến XII của bảng tuần hoàn. Theo các phương án cụ thể, các muối này được dẫn xuất từ natri, kali, amoni, canxi, magie, sắt, bạc, kẽm, và đồng; các muối đặc biệt thích hợp bao gồm các muối amoni, muối kali, muối natri, muối canxi và muối magie.

Các bazơ hữu cơ mà từ chúng các muối có thể được dẫn xuất bao gồm, ví dụ, các amin bậc một, bậc hai, và bậc ba, các amin được thể bao gồm các amin được thể có trong tự nhiên, các vòng amin, nhựa trao đổi ion, và tương tự. Một số amin hữu cơ bao gồm isopropylamin, benzathin, cholinat, dietanolamin, dietylamin, lysin, meglumin, piperazin và trometamin.

Muối được dùng theo sáng chế có thể được tổng hợp từ gốc có tính axit hoặc bazơ, theo các phương pháp hóa học thông thường. Thông thường, muối này có thể được điều chế bằng cách cho các dạng axit tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng tỷ lệ bazơ thích hợp (chẳng hạn như Na, Ca, Mg, hoặc K hydroxit, carbonat, bicarbonat hoặc tương tự), hoặc bằng cách cho các dạng bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng tỷ lệ axit thích hợp. Các phản ứng này thường được tiến hành trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn hợp của cả hai. Thông thường là, việc sử dụng môi trường không chứa nước như ete, etyl acetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril được mong muốn, nếu có thể thực hiện. Các danh sách

của muối thích hợp khác có thể được tìm thấy, ví dụ, trong “Remington's Pharmaceutical Sciences”, 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); và trong “Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use” của Stahl và Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Bất kỳ công thức nào được đưa ra ở đây cũng chủ định là đại diện cho các dạng không đánh dấu cũng như dạng đánh dấu đồng vị của các hợp chất này. Hợp chất đánh dấu đồng vị có cấu trúc được mô tả bởi các công thức cho trước ở đây ngoại trừ có một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có nguyên tử khối hoặc số khối đã chọn. Các ví dụ về đồng vị mà có thể được kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, flo, và clo, chẳng hạn như lần lượt là ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I . Sáng chế bao gồm nhiều hợp chất đánh dấu đồng vị được xác định ở đây, ví dụ, các hợp chất chứa đồng vị phóng xạ, chẳng hạn như ^3H và ^{14}C , hoặc các hợp chất chứa đồng vị không phóng xạ, chẳng hạn như có mặt ^2H và ^{13}C . Các hợp chất đánh dấu đồng vị này hữu ích trong các nghiên cứu chuyển hóa (với ^{14}C), nghiên cứu động học phản ứng (với, ví dụ, ^2H hoặc ^3H), các kỹ thuật hình ảnh hoặc phát hiện, chẳng hạn như chụp phát xạ positron (PET) hoặc chụp tính toán phát xạ photon đơn (SPECT) bao gồm các thử nghiệm phân bố cơ chất hoặc thuốc trong mô, hoặc trong trị xạ ở bệnh nhân. Cụ thể, ^{18}F hoặc hợp chất đánh dấu có thể là chất đặc biệt được mong muốn cho nghiên cứu PET hoặc SPECT. Hợp chất đánh dấu đồng vị có công thức (I) thông thường có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này hoặc bằng các quy trình tương tự với quy trình được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế và Điều chế và phần Sơ đồ được mô tả sau đây bằng cách thay thế chất phản ứng đánh dấu đồng vị thích hợp cho chất phản ứng không đánh dấu đồng vị được sử dụng trước đó.

Ngoài ra, thể bằng đồng vị nặng hơn, cụ thể là đơteri (có nghĩa là, ^2H hoặc D) có thể mang lại các lợi ích điều trị bệnh nhất định thu được từ độ bền chuyển hóa tốt hơn, ví dụ, chu kỳ bán rã *in vivo* tăng hoặc yêu cầu liều lượng giảm hoặc cải thiện chỉ số điều trị. Người ta hiểu rằng, đơteri theo khía cạnh này được coi như phần tử thế của hợp chất có công thức (I). Nồng độ của đồng vị nặng hơn này, cụ thể là đơteri, có thể được xác định bằng hệ số làm giàu đồng vị. Thuật ngữ “hệ số làm giàu đồng vị” được sử dụng ở đây tức là tỷ lệ giữa độ phong phú đồng vị với độ phong phú tự nhiên của

chất đồng vị cụ thể. Nếu phân tử thể trong hợp chất theo sáng chế được chỉ định là đơteri, hợp chất này có hệ số làm giàu đồng vị đối với mỗi nguyên tử đơteri được chỉ định ít nhất là 3500 (52,5% kết hợp đơteri với mỗi nguyên tử đơteri được chỉ định), ít nhất 4000 (60% kết hợp đơteri), ít nhất 4500 (67,5% kết hợp đơteri), ít nhất 5000 (75% kết hợp đơteri), ít nhất 5500 (82,5% kết hợp đơteri), ít nhất 6000 (90% kết hợp đơteri), ít nhất 6333,3 (95% kết hợp đơteri), ít nhất 6466,7 (97% kết hợp đơteri), ít nhất 6600 (99% kết hợp đơteri), hoặc ít nhất 6633,3 (99,5% kết hợp đơteri).

Solvat được dung phù hợp với sáng chế bao gồm các solvat mà trong đó dung môi kết tinh có thể được thay thế bằng dung môi đồng vị, ví dụ, D₂O, d₆-axeton, d₆-DMSO.

Hợp chất theo sáng chế chứa các nhóm có khả năng hoạt động như là chất cho và/hoặc chất nhận liên kết hydro có thể có khả năng tạo ra đồng tinh thể với các chất tạo đồng tinh thể thích hợp. Các đồng tinh thể này có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (I) bằng các quy trình tạo đồng tinh thể đã biết. Các quy trình này bao gồm nghiền, gia nhiệt, đồng thăng hoa, đồng nóng chảy, hoặc cho hợp chất theo sáng chế tiếp xúc trong dung dịch với chất tạo đồng tinh thể trong điều kiện kết tinh hóa và phân tách đồng tinh thể thu được từ các quy trình này. Chất tạo đồng tinh thể thích hợp bao gồm chất tạo đồng tinh thể được mô tả trong công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 2004/078163. Do đó, sáng chế còn đề xuất các đồng tinh thể chứa hợp chất theo sáng chế.

Tất cả các phương pháp mô tả ở đây có thể được thực hiện theo thứ tự thích hợp bất kỳ trừ phi được chỉ định khác ở đây hoặc mâu thuẫn rõ ràng với ngữ cảnh. Sử dụng tất cả ví dụ hoặc ví dụ bất kỳ, ngôn ngữ ví dụ (ví dụ, "chẳng hạn như") cung cấp ở đây chỉ chủ định minh họa sáng chế rõ hơn và không đặt ra giới hạn cho phạm vi bảo hộ sáng chế được yêu cầu bảo hộ.

Sáng chế mô tả các hợp chất, các dạng bào chế được chứa hợp chất này, và các phương pháp điều trị nhiễm khuẩn Gram âm. Cụ thể là, các hợp chất thích hợp sử dụng để điều trị các chứng xâm nhiễm do các vi khuẩn *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Meningitidis*, *Morganella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Neisseria*, hoặc *Stenotrophomonas* gây ra, bao gồm các loài được nêu tên ở đây.

Thể bằng các đồng vị nặng hơn chẳng hạn như đơteri, có nghĩa là, ²H, có thể

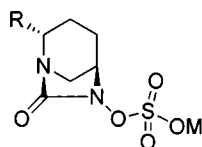
mang lại các lợi ích điều trị bệnh nhất định thu được từ độ bền chuyển hóa tốt hơn, ví dụ, chu kỳ bán rã *in vivo* tăng hoặc yêu cầu liều lượng giảm, và vì thế có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. Ví dụ, thể đơteri ở các liên kết hydrocacbon không thể trao đổi (ví dụ, C-H) có thể ức chế epime hóa và/hoặc oxi hóa chuyển hóa *in vivo*.

Hợp chất theo sáng chế được đánh dấu đồng vị, tức là hợp chất có công thức (I), có thể thường được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết với người có hiểu biết trong lĩnh vực này hoặc bằng các quy trình tương tự với quy trình được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế và Điều chế kèm theo bằng cách sử dụng chất phản ứng đánh dấu đồng vị tương ứng thay thế cho chất phản ứng không đánh dấu đồng vị đã sử dụng trước đó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong phương pháp điều trị đối tượng bị nhiễm vi khuẩn Gram âm, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần được điều trị dùng lượng có hiệu quả kháng khuẩn của hợp chất theo sáng chế, ví dụ, hợp chất có công thức (I) hoặc muối của nó với chất mang được dụng.

Hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích trong việc điều trị các bệnh nhân mắc hoặc dễ có nguy cơ mắc bệnh viêm phổi, bệnh nhiễm trùng máu, bệnh xơ nang, bị thương, bệnh tiểu đường bàn chân phức tạp hoặc bệnh nhiễm trùng đường tiết niệu phức tạp và các bệnh truyền qua đường tình dục do tác nhân gây bệnh Gram âm gây ra. Hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích để điều trị các tình trạng do các loài *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Neisseria*, hoặc *Stenotrophomonas* gây ra. Cụ thể là, nhiễm khuẩn do loài *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, hoặc *Acinetobacter* có thể điều trị được bằng các phương pháp theo sáng chế. Các loài vi khuẩn cụ thể đối với việc điều trị này bao gồm *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Enterobacter faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, các loài *Salmonella*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Acinetobacter baumannii*, cũng như *Bacteroides bivius*, *Bacteroides fragilis*, *Burkholderia cepacia*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, và *Stenotrophomonas maltophilia*.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với các chất khác, ví dụ, chất kháng sinh bổ sung có hoặc không có công thức (I), để điều trị nhiễm khuẩn ở đối tượng, hoặc hợp chất tăng cường hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất theo sáng chế, bao gồm các chất làm tăng tiềm lực chẳng hạn như các chất ức chế beta-lactamaza (BLI). Các BLI thích hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế, bao gồm hợp chất có công thức (I) và các chi phụ (subgenera) của nó, bao gồm avibactam, axit clavulanic, sulbactam, tazobactam, và các hợp chất khác có công thức



trong đó M là H hoặc cation được định, và R là CN, $-C(O)NR^1R^2$, hoặc nhóm heteroaryl hoặc nhóm dị vòng có 5-6 cạnh được thế. Các amit thích hợp bao gồm các amit có R^1 là H hoặc C_{1-4} alkyl, và R^2 là nhóm C_{1-4} alkyl tùy ý được thế, nhóm C_{1-4} alkoxy tùy ý được thế, nhóm C_{1-4} alkylamino tùy ý được thế, nhóm C_{5-6} heterocyclic tùy ý được thế, hoặc $-NH-C(O)-R^3$, trong đó R^3 là nhóm C_{1-4} alkyl tùy ý được thế, nhóm C_{1-4} alkoxy tùy ý được thế, nhóm C_{1-4} alkylamino tùy ý được thế, nhóm C_{5-6} heterocyclic tùy ý được thế. Mỗi nhóm heteroaryl hoặc nhóm dị vòng trong các hợp chất này chứa 1-2 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng, và mỗi nhóm tùy ý được thế có thể được thế bằng 1-2 nhóm được chọn từ CN, halo, -OH, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, C_{1-4} alkylamino, di(C_{1-4} alkyl)amino, $-COO(C_{1-4}$ alkyl), và các nhóm dị vòng có 5-6 cạnh. Các hợp chất thích hợp có các công thức này được mô tả trong WO2008/039420, WO2009/091856, WO2013/122888, WO2010/126820, WO2009/091856, WO2013/038330, US2013/0225554, WO2013149121, WO2013149136, WO2014141132 và WO2014/033560.

Bằng thuật ngữ “tổ hợp”, có nghĩa là tổ hợp được cố định trong một dạng đơn vị liều, hoặc bộ kit hoặc các hướng dẫn cho việc sử dụng kết hợp trong đó hợp chất theo sáng chế và chất cùng cấp của tổ hợp có thể được sử dụng độc lập cùng lúc hoặc tách riêng theo các khoảng thời gian mà đặc biệt là cho phép các chất cùng cấp của tổ hợp này biểu thị tính hợp tác, ví dụ, hiệp đồng, tác động, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất các hợp chất theo sáng chế trong chế phẩm hỗn hợp được với chất điều trị thứ hai. Theo một số phương án, chất điều trị thứ hai này là chất kháng khuẩn. Các ví dụ không giới hạn về chất kháng khuẩn để sử dụng trong các chế phẩm hỗn hợp được theo sáng chế có thể được chọn từ các nhóm sau:

(1) Các macrolid (phân tử vòng lớn có nhiều nhóm định chức) hoặc các ketolit chẳng hạn như erythromycin, azithromycin, clarithromycin, và telithromycin;

(2) Các beta-lactam bao gồm các penicilin chẳng hạn như peniciling, penicilin V, methicilin, oxacilin, cloxacilin, dicloxacilin, nafcilin, ampicilin, amoxicilin, carbenicilin, ticarcilin, mezlocilin, piperacilin, azlocilin, temoxilin, xephalosporin chẳng hạn như xephalothin, xephapirin, cephradine, xephaloridin, cefazolin, xefamandol, xefuroxime, xephalexin, xefprozil, xefaclor, loracarbef, xefoxitin, xefinetazol, xefotaxime, xeftizoxime, xeftriaxon, xefoperazon, xeftazidime, xefixime, xefpodoxime, xeftibuten, xefdinir, xefpirome, xefepim, và các carbapenem chẳng hạn như doripenem, imipenem, meropenem và PZ-601;

(3) Các glycopeptit chẳng hạn như vancomycin và teicoplanin;

(4) Các quinolon chẳng hạn như axit nalidixic, axit oxolinic, norfloxacin, pefloxacin, enoxacin, ofloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin, temafloxacin, lomefloxacin, fleroxacin, grepafloxacin, sparfloxacin, trovafloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin, sitafloxacin, ganefloxacin, gemifloxacin và pazufloxacin;

(5) Các sulfonamid kháng khuẩn và các sulphanilamid kháng khuẩn, bao gồm các axit para-aminobenzoic, sulfadiazin, sulfisoxazol, sulfamethoxazol và sulfathalidin;

(6) Các aminoglycosit chẳng hạn như streptomycin, neomycin, kanamycin, paromycin, gentamixin, tobramycin, amikacin, netilmixin, spectinomycin, sisomixin, dibekalin và isepamixin;

(7) Các tetracyclin chẳng hạn như tetracyclin, chlortetracyclin, demeclocyclin, minocyclin, oxytetracyclin, methacyclin, doxycyclin, tigecyclin;

(8) Các rifamycin chẳng hạn như rifampixin (còn được gọi là rifampin), rifapentin, rifabutin, bezoxazinorifamycin và rifaximin;

(9) Các lincosamid chẳng hạn như lincomycin và clindamycin;

(10) Các streptogramin chẳng hạn như quinupristin và daflopristin;

- (11) Các oxazolidinon chẳng hạn như linezolid hoặc tedizolid;
- (12) Polymyxin, colistin và colymyxin;
- (13) Trimethoprim và baxitrxin;
- (14) Các chất ức chế bơm đẩy;
- (15) Chất ức chế beta-lactamaza, bao gồm avibactam và các chất tương tự của nó, và các chất ức chế beta-lactamaza được mô tả trên đây.

Chất kháng khuẩn thứ hai có thể được dùng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế trong đó chất kháng khuẩn thứ hai được sử dụng trước, đồng thời, hoặc sau hợp chất hoặc các hợp chất theo sáng chế. Khi việc sử dụng đồng thời hợp chất theo sáng chế với chất thứ hai được mong muốn và đường dùng là giống nhau, thì hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế với chất thứ hai trong cùng một dạng liều dùng. Ví dụ về dạng liều dùng chứa hợp chất theo sáng chế và chất thứ hai là dùng trong tĩnh mạch. Ví dụ khác là dùng trong cơ dung dịch chứa hợp chất theo sáng chế và chất thứ hai.

Các hợp chất và chế phẩm được mô tả ở đây có thể được sử dụng hoặc dùng kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị mà hoạt động như là các chất điều biến miễn dịch, ví dụ, chất hoạt hóa phân tử đồng kích thích, hoặc chất ức chế phân tử ức chế miễn dịch, hoặc vaccin. Protein chết theo chương trình 1 (PD-1) là phân tử ức chế thuộc họ CD28/CTLA4 được mở rộng của các chất điều hòa tế bào T (Okazaki et al. (2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J. Immunol.* 170:711-8). PD-1 được biểu hiện trên các tế bào T, tế bào B và bạch cầu đơn nhân được hoạt hóa. PD-1 là protein ức chế miễn dịch mà điều hòa âm các tín hiệu TCR (Ishida, Y. et al. (1992) *EMBO J.* 11:3887-3895; Blank, C. et al. (Epub 2006Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56 (5):739-745), và được điều hòa tăng lên trong các chứng xâm nhiễm mạn tính. Tương tác giữa PD-1 và PD-L1 có thể hoạt động như một điểm kiểm soát miễn dịch, mà có thể dẫn đến, ví dụ, giảm việc thâm nhập của tế bào lympho, giảm tăng sinh do trung gian thụ thể tế bào T, và/hoặc việc lẫn trốn hệ miễn dịch của các tế bào bị xâm nhiễm hoặc các tế bào ung thư (Dong et al. (2003) *J.mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). Kim hãm miễn dịch có thể nghịch đảo bằng cách ức chế tương tác cục bộ của PD-1 với PD-L1 hoặc PD-L2; tác động này cũng là phụ trợ khi tương tác của PD-1 với PD-L2 bị phong bế (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66). Có thể đạt được

việc điều biến miễn dịch bằng cách gắn kết với protein ức chế miễn dịch (ví dụ, PD-1) hoặc với các protein gắn kết điều biến protein ức chế này (ví dụ, PD-L1, PD-L2).

Theo một phương án, các liệu pháp kết hợp theo sáng chế bao gồm chất điều biến miễn dịch là chất ức chế hoặc chất đối vận của phân tử ức chế phân tử điểm kiểm soát miễn dịch. Theo phương án khác, chất điều biến miễn dịch gắn với protein có bản chất ức chế phân tử điểm kiểm tra ức chế miễn dịch này. Khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất kháng khuẩn, các chất điều biến miễn dịch này có thể tăng cường đáp ứng kháng vi sinh vật, và do đó tăng cường hiệu quả so với việc điều trị bằng một mình chất kháng khuẩn này.

Thuật ngữ "các điểm kiểm soát miễn dịch" đề cập đến một nhóm phân tử trên bề mặt tế bào của các tế bào T CD4 và tế bào T CD8. Các phân tử này có thể phục vụ hiệu quả như bộ phận "phanh hãm" để điều biến giảm hoặc ức chế đáp ứng miễn dịch thích nghi. Các phân tử điểm kiểm soát miễn dịch bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phân tử chết theo chương trình 1 (PD-1), kháng nguyên tế bào lympho T 4 gây độc tế bào (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40, và LAG3, ức chế trực tiếp các tế bào miễn dịch. Các chất điều trị về miễn dịch có thể hoạt động như các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch hữu ích trong các phương pháp theo sáng chế, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất ức chế PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 và/hoặc TGFR beta. Sự ức chế phân tử chất ức chế có thể được tiến hành bằng cách ức chế ở mức độ ADN, ARN hoặc protein. Theo một số phương án, Axit nucleic ức chế (ví dụ, dsRNA, siRNA hoặc shRNA), có thể được sử dụng để ức chế sự biểu hiện của phân tử chất ức chế. Theo phương án khác, chất ức chế tín hiệu ức chế này là polypeptit, ví dụ, phối tử tan, hoặc kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn với phân tử chất ức chế.

Bằng "cách kết hợp với", người ta không chủ định để đề cập đến các chất trị liệu hoặc các chất điều trị phải được dùng cùng lúc và/hoặc được bào chế để vận chuyển cùng nhau, mặc dù các phương pháp vận chuyển này nằm trong phạm vi đã được mô tả ở đây. Chất điều biến miễn dịch có thể được dùng cùng lúc với, trước, hoặc sau một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế, và tùy ý một hoặc nhiều chất trị liệu hoặc chất điều trị khác. Các chất điều trị trong sự kết hợp này có thể được sử dụng theo thứ tự bất kỳ. Nói chung, mỗi chất sẽ được sử dụng ở liều và/hoặc theo lịch trình thời gian đã được xác định cho chất đó. Người ta còn mong đợi rằng các chất điều trị

được sử dụng trong sự kết hợp này có thể được sử dụng cùng trong chế phẩm duy nhất hoặc được sử dụng tách riêng trong các chế phẩm khác nhau. Nói chung, người ta mong đợi rằng mỗi chất điều trị trong số các chất điều trị được sử dụng trong sự kết hợp này ở các nồng độ mà không lớn hơn các nồng độ khi chỉ sử dụng mình chất đó. Theo một số phương án, các nồng độ được sử dụng trong sự kết hợp này sẽ thấp hơn nồng độ khi chỉ sử dụng mình chất đó.

Theo các phương án nhất định, các hợp chất kháng khuẩn được mô tả ở đây được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất điều biến miễn dịch mà là các chất ức chế PD-1, PD-L1 và/hoặc PD-L2. Mỗi chất ức chế này có thể là kháng thể, mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chất bám dính miễn dịch, protein dung hợp, hoặc oligopeptit. Các ví dụ về các chất điều biến miễn dịch này đã được biết trong lĩnh vực này.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là kháng thể kháng PD-1 được chọn từ MDX-1106, Merck 3475 hoặc CT- 011.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là chất bám dính miễn dịch (ví dụ, chất bám dính miễn dịch chứa phần gắn kết PD-1 hoặc phần ngoại bào của PD-L1 hoặc PD-L2 được dung hợp với vùng cố định (ví dụ, vùng Fc của trình tự globulin miễn dịch).

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là chất ức chế PD-1 chẳng hạn như AMP-224.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là chất ức chế PD-L1 chẳng hạn như kháng thể kháng PD-L1.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là chất đối vận gắn kết kháng PD-L1 được chọn từ YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, hoặc MDX-1105. MDX-1105, còn được biết đến là BMS-936559, là kháng thể kháng PD-L1 được mô tả trong WO2007/005874. Kháng thể YW243.55.S70 là chất kháng PD-L1 được mô tả trong WO 2010/077634.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là nivolumab (CAS Số đăng kiểm: 946414-94-4). Các tên khác của nivolumab bao gồm MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538, hoặc BMS-936558. Nivolumab là kháng thể đơn dòng IgG4 đầy đủ của người phong bế đặc hiệu PD-1. Nivolumab (dòng 5C4) và các kháng thể đơn

dòng của người khác gắn đặc hiệu với PD-1 được mô tả trong US 8,008,449, EP2161336 và WO2006/121168.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là kháng thể kháng PD-1 Pembrolizumab. Pembrolizumab (còn được đề cập đến là Lambrolizumab, MK-3475, MK03475, SCH-900475 hoặc KEYTRUDA®; Merck) kháng thể đơn dòng IgG4 được làm giống như của người gắn với PD-1. Pembrolizumab và các kháng thể kháng PD-1 được làm giống như của người khác được mô tả trong Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134–44, US 8,354,509, WO2009/114335, và WO2013/079174.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là Pidilizumab (CT-011; Cure Tech), kháng thể đơn dòng IgG1k được làm giống như của người gắn với PD1. Pidilizumab và các kháng thể đơn dòng kháng PD-1 được làm giống như của người khác được mô tả trong WO2009/101611.

Các kháng thể kháng PD1 khác hữu ích làm các chất điều biến miễn dịch để dùng trong các phương pháp được bộc lộ ở đây bao gồm AMP 514 (Amplimmune), và các kháng thể kháng PD1 được bộc lộ trong US 8,609,089, US 2010028330, và/hoặc US 20120114649. Theo một số phương án, kháng thể kháng PD-L1 là MSB0010718C.MSB0010718C (còn được đề cập đến là A09-246-2; Merck Serono) là kháng thể đơn dòng gắn với PD-L1.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là MDPL3280A (Genentech/Roche), kháng thể đơn dòng IgG1 được tối ưu hóa Fc của người gắn với PD-L1. MDPL3280A và các kháng thể đơn dòng của người khác với PD-L1 được mô tả trong patent Mỹ số: 7,943,743 và công bố patent Mỹ số: 20120039906. Các chất kháng gắn kết PD-L1 khác hữu ích làm các chất điều biến miễn dịch đối với phương pháp theo sáng chế bao gồm YW243,55.S70 (xem WO2010/077634), MDX-1105 (còn được đề cập đến là BMS-936559), và các chất kháng gắn kết PD-L1 được bộc lộ trong WO2007/005874.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; ví dụ, được bộc lộ trong WO2010/027827 và WO2011/066342), là thụ thể tan dung hợp Fc PD-L2 phong bế tương tác giữa PD1 và B7-H1.

Theo một số phương án, chất điều biến miễn dịch này là kháng thể kháng LAG-3 chẳng hạn như BMS-986016. BMS-986016 (còn được đề cập đến là BMS986016) là

kháng thể đơn dòng gắn kết với LAG-3. BMS-986016 và các kháng thể kháng LAG-3 được làm giống như của người khác được mô tả trong US 2011/0150892, WO2010/019570, và WO2014/008218.

Theo các phương án cụ thể, các liệu pháp điều trị kết hợp được bộc lộ ở đây bao gồm chất điều biến phân tử đồng kích thích hoặc phân tử ức chế, ví dụ, thụ thể hoặc phối tử đồng ức chế.

Theo một phương án, chất điều biến đồng kích thích, ví dụ, chất chủ vận, của phân tử đồng kích thích được chọn từ chất chủ vận (ví dụ, kháng thể chủ vận hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, hoặc thể dung hợp tan) phối tử OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 hoặc CD83.

Theo phương án khác, các liệu pháp điều trị kết hợp được bộc lộ ở đây bao gồm chất điều biến miễn dịch là phân tử đồng kích thích, ví dụ, chất chủ vận kèm theo tín hiệu dương tính bao gồm miền đồng kích thích của CD28, CD27, ICOS và/hoặc GITR.

Các chất chủ vận GITR minh họa bao gồm, ví dụ, các protein dung hợp GITR và các kháng thể kháng GITR (ví dụ, các kháng thể kháng GITR hóa trị hai), chẳng hạn như, protein dung hợp GITR đã được mô tả trong patent Mỹ số: 6,111,090, patent Châu Âu số: 090505B1, U.S patent số: 8,586,023, các công bố PCT số: WO 2010/003118 và 2011/090754, hoặc kháng thể kháng GITR đã được mô tả, ví dụ, trong patent Mỹ số: 7,025,962, patent Châu Âu số: 1947183B1, patent Mỹ Số: 7,812,135, patent Mỹ số: 8,388,967, patent Mỹ số: 8,591,886, patent Châu Âu số: EP 1866339, công bố PCT số: WO 2011/028683, công bố PCT số: WO 2013/039954, công bố PCT số: WO2005/007190, công bố PCT số: WO 2007/133822, công bố PCT số: WO2005/055808, công bố PCT số: WO 99/40196, công bố PCT số: WO 2001/03720, công bố PCT số: WO99/20758, công bố PCT số: WO2006/083289, công bố PCT số: WO 2005/115451, patent Mỹ số: 7,618,632, và công bố PCT số: WO 2011/051726.

Theo một phương án, chất điều biến miễn dịch được sử dụng là phối tử tan (ví dụ, CTLA-4-Ig), hoặc kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn với PD-L1, PD-L2 hoặc CTLA4. Ví dụ, phân tử kháng thể kháng PD-1 này có thể được sử dụng kết hợp với

kháng thể kháng CTLA-4, ví dụ, ipilimumab. Các kháng thể kháng CTLA4 điển hình bao gồm Tremelimumab (kháng thể đơn dòng IgG2 có sẵn từ Pfizer, trước đây được biết là ticilimumab, CP-675,206); và Ipilimumab (kháng thể CTLA-4, còn được biết đến là MDX-010, CAS số 477202-00-9).

Theo một phương án, phân tử kháng thể kháng PD-1 được dùng sau khi điều trị bằng hợp chất theo sáng chế như được mô tả ở đây.

Theo phương án khác, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được dùng kết hợp với kháng thể kháng LAG-3 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Theo phương án khác, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng TIM-3 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Theo các phương án khác, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng LAG-3 và kháng thể kháng TIM-3, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Sự kết hợp các kháng thể được trích dẫn ở đây có thể được dùng riêng, ví dụ, là các kháng thể tách riêng, hoặc được liên kết, ví dụ, là phân tử kháng thể có hai vị trí đặc hiệu hoặc ba vị trí đặc hiệu. Theo một phương án, phân tử kháng thể có hai vị trí đặc hiệu bao gồm phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 và phân tử kháng thể kháng TIM-3 hoặc phân tử kháng thể kháng LAG-3, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được dùng. Theo các phương án nhất định, việc kết hợp các kháng thể được trích dẫn ở đây được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, ví dụ, bệnh ung thư như được mô tả ở đây (ví dụ, khối u rắn). Hiệu quả của các sự kết hợp nêu trên có thể được thử nghiệm trên các mô hình động vật đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, các mô hình động vật để khảo nghiệm tác động hiệp đồng của kháng thể kháng PD-1 và kháng thể kháng LAG-3 đã được mô tả, ví dụ, trong Woo et al. (2012) *Cancer Res.* 72 (4):917-27).

Các chất điều biến miễn dịch minh họa mà có thể được sử dụng trong các liệu pháp điều trị kết hợp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, afutuzumab (có sẵn từ Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomit (CC-5013, Revlimid®); thalidomit (Thalomid®), actimid (CC4047); và các xytokin, ví dụ, IL-21 hoặc IRX-2 (hỗn hợp của các xytokin của người bao gồm intolokine 1, intolokine 2, và intolokine γ , CAS 951209-71-5, có sẵn từ IRX Therapeutics).

Các liệu minh họa của các chất điều biến miễn dịch này có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế kháng khuẩn bao gồm liều lượng của kháng

thể kháng PD-1 ở khoảng 1 đến 10mg/kg, ví dụ, 3mg/kg, và liều lượng của kháng thể kháng CTLA-4, ví dụ, ipilimumab, ở khoảng 3mg/kg.

Các ví dụ về các phương án các hợp chất kháng khuẩn theo sáng chế để sử dụng kết hợp với chất điều biến miễn dịch trong phương pháp bao gồm các phương án trong đó các phương pháp này là:

i. Phương pháp để điều trị xâm nhiễm do vi khuẩn ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng dùng hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở đây, và chất điều biến miễn dịch.

ii. Phương pháp theo phương án i, trong đó chất điều biến miễn dịch này là chất hoạt hóa phân tử đồng ứng chế hoặc chất ức chế phân tử điểm kiểm soát miễn dịch.

iii. Phương pháp theo phương án i hoặc ii, trong đó chất hoạt hóa phân tử đồng ứng chế này chất chủ vận của một hoặc nhiều trong số các phối tử OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 và CD83.

iv. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-iii nêu trên, trong đó chất ức chế phân tử điểm kiểm soát miễn dịch được chọn từ PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 và TGFR beta.

v. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-iii, trong đó chất ức chế phân tử điểm kiểm soát miễn dịch được chọn từ chất ức chế PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3 hoặc CTLA4, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

vi. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-v, trong đó chất ức chế phân tử điểm kiểm soát miễn dịch là phối tử tan hoặc kháng thể tan hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn với phân tử điểm kiểm soát miễn dịch này.

vii. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-vi, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ IgG1 hoặc IgG4 (ví dụ, IgG1 hoặc IgG4 của người).

viii. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-vii, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó được biến đổi, ví dụ, bị đột biến, để tăng hoặc giảm một hoặc nhiều trong số các chức năng: gắn kết thụ thể Fc, glycosyl hóa kháng thể, số gốc xystein, chức năng tế bào tác động hoặc, hoặc chức năng bổ thể.

ix. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-viii, trong đó phân tử kháng thể này là phân tử kháng thể có hai vị trí đặc hiệu hoặc có nhiều vị trí đặc hiệu mà có tính đặc hiệu gắn kết thứ nhất với PD-1 hoặc PD-L1 và có tính đặc hiệu gắn kết thứ hai với TIM-3, LAG-3, hoặc PD-L2.

x. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-ix, trong đó chất điều biến miễn dịch này là kháng thể kháng PD-1 được chọn từ Nivolumab, Pembrolizumab hoặc Pidilizumab.

xi. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-x, trong đó chất điều biến miễn dịch này là kháng thể kháng PD-L1 được chọn từ YW243,55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, hoặc MDX-1105.

xii. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-x, trong đó chất điều biến miễn dịch này là phân tử kháng thể kháng LAG-3.

xiii. Phương pháp theo phương án xii, trong đó phân tử kháng thể kháng LAG-3 này là BMS-986016.

xiv. Phương pháp theo phương án bất kỳ trong số các phương án i-x, trong đó chất điều biến miễn dịch này là phân tử kháng thể kháng PD-1 được dùng bằng cách tiêm (ví dụ, dưới da hoặc trong tĩnh mạch) ở liều khoảng 1 đến 30mg/kg, ví dụ, khoảng 5 đến 25mg/kg, khoảng 10 đến 20mg/kg, khoảng 1 đến 5mg/kg, hoặc khoảng 3mg/kg., ví dụ, một lần/tuần đến một lần/ 2, 3, hoặc 4 tuần.

xv. Phương pháp theo phương án xiv, trong đó phân tử kháng thể kháng PD-1 này được sử dụng ở liều từ khoảng 10 đến 20mg/kg cách tuần.

xvi. Phương pháp theo phương án xv, trong đó phân tử kháng thể kháng PD-1 này, ví dụ, nivolumab, được sử dụng trong tĩnh mạch ở liều từ khoảng 1mg/kg đến 3mg/kg, ví dụ, khoảng 1mg/kg, 2mg/kg hoặc 3mg/kg, mỗi 2 tuần.

xvii. Phương pháp theo phương án xv, trong đó phân tử kháng thể kháng PD-1 này, ví dụ, nivolumab, được sử dụng trong tĩnh mạch ở liều khoảng 2mg/kg ở các khoảng thời gian là 3 tuần.

Thuật ngữ “lượng có hiệu quả” của hợp chất là lượng cần thiết hoặc lượng đủ để phòng hoặc điều trị nhiễm khuẩn và/hoặc bệnh hoặc tình trạng được mô tả ở đây. Theo một ví dụ, lượng có hiệu quả của hợp chất là lượng đủ để điều trị nhiễm khuẩn ở đối tượng. Theo ví dụ khác, lượng có hiệu quả của hợp chất là lượng đủ để Xử lý

nhiễm khuẩn, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở *Pseudomonas aeruginosa* và tương tự ở đối tượng. Lượng có hiệu quả có thể thay đổi phụ thuộc vào các yếu tố sau chẳng hạn như kích thước và trọng lượng của đối tượng, loại bệnh, hoặc hợp chất cụ thể theo sáng chế. Ví dụ, việc lựa chọn hợp chất theo sáng chế có thể ảnh hưởng những thành phần cấu thành nên “lượng có hiệu quả”. Người có hiểu biết trong lĩnh vực này sẽ có khả năng nghiên cứu các yếu tố ở đây và xác định lượng có hiệu quả của hợp chất theo sáng chế không cần thí nghiệm quá mức.

Phác đồ dùng có thể ảnh hưởng những thành phần cấu thành nên lượng có hiệu quả. Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng cho đối tượng trước hoặc sau khi khởi phát nhiễm khuẩn. Điển hình là, hợp chất này được dùng cho đối tượng đã được chẩn đoán là bị nhiễm khuẩn và có nhu cầu được điều trị. Ngoài ra, một số liều dùng được phân chia, cũng như các liều dùng được sắp xếp xem kẽ, có thể được dùng hàng ngày hoặc theo tuần tự, hoặc liều này có thể được truyền liên tục, hoặc có thể là tiêm một lần toàn bộ liều. Ngoài ra, các liều dùng của hợp chất theo sáng chế có thể được giảm tương ứng tỷ lệ hoặc tăng tương ứng tỷ lệ như được chỉ định bởi nhu cầu cấp thiết của tình trạng phòng bệnh hoặc tình trạng điều trị. Điển hình là, hợp chất theo sáng chế sẽ được dùng qua một liệu trình dài ít nhất là 5 ngày, phổ biến hơn là ít nhất là 7 ngày hoặc ít nhất là 10 ngày hoặc ít nhất là 14 ngày.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong điều trị các trạng thái, rối loạn hoặc bệnh như được mô tả ở đây, hoặc để sản xuất được phẩm để dùng trong điều trị các bệnh này. Sáng chế đề xuất các hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong điều trị các bệnh này hoặc trong dạng bào chế được có các hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong điều trị các bệnh này.

Thuật ngữ “dược phẩm” bao gồm các dạng bào chế thích hợp để sử dụng cho động vật có vú, ví dụ, con người. Khi các hợp chất theo sáng chế được dùng làm dược chất cho động vật có vú, ví dụ, con người, chúng có thể được đưa ra ở dạng vốn có hoặc dạng dược phẩm chứa, ví dụ, 0,1% đến 99,5% (tốt hơn là, 0,5% đến 90%) thành phần có hoạt tính kết hợp với chất mang dược dụng.

Cụm từ “chất mang dược dụng” đã được nhìn nhận trong lĩnh vực này và bao gồm chất dẫn thuốc, chế phẩm hoặc nguyên liệu dược dụng, thích hợp cho việc dùng các hợp chất theo sáng chế cho Mỗi chất mang phải được “chấp nhận được” theo nghĩa tương thích với các thành phần khác của dạng bào chế và không có hại với bệnh

nhân. Một số ví dụ về các nguyên liệu có thể làm chất mang được dụng bao gồm: các loại đường, chẳng hạn như lactoza, glucoza và sucroza; tinh bột, chẳng hạn như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; xenluloza, và các dẫn xuất của nó, chẳng hạn như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; nhựa tragacac bột; mạch nha; gelatin; hoạt thạch; các chất trợ, chẳng hạn như bơ từ quả ca cao và sáp dùng trong thuốc đạn; các loại dầu, chẳng hạn như dầu đậu phộng, dầu hạt bông, dầu cây rum, dầu mè, dầu ô liu, dầu ngô và dầu đậu nành; các glycol, chẳng hạn như propylen glycol; các polyol, chẳng hạn như glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol; các este, chẳng hạn như etyl oleat và etyl laurat; aga; các chất đệm, chẳng hạn như magie hydroxit và nhôm hydroxit; axit alginic; pyrogen-không chứa nước; dung dịch nước muối đẳng điện; dung dịch Ringer; etanol; các dung dịch đệm phosphat; và các chất tương thích không độc khác được sử dụng trong các dạng bào chế được. Theo một số phương án, chất mang được dụng được khử trùng trước khi kết hợp với hợp chất theo sáng chế.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án được đánh số và ít nhất một chất mang hoặc tá dược dụng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm theo sáng chế chứa hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án được đánh số và ít nhất hai chất mang được dụng hoặc tá dược.

Chất thẩm ước, chất tạo nhũ tương và chất bôi trơn, chẳng hạn như natri lauryl sulfat và magie stearat, cũng như chất tạo màu, chất giải phóng, chất phủ, chất tạo ngọt, chất tạo vị và chất tạo hương, chất bảo quản và chất chống oxi hóa cũng có thể có mặt trong chế phẩm này.

Các ví dụ về chất chống oxi hóa được dụng bao gồm: các chất chống oxi hóa tan trong nước, chẳng hạn như axit ascorbic, cystein hydroclorua, natri bisulfat, natri metabisulfat, natri sulfat và tương tự; các chất chống oxi hóa tan trong dầu, chẳng hạn như ascorbyl palmitat, butylated hydroxyanisol (BHA), hydroxytoluen được butyl hóa (BHT), lexitin, propyl galat, α -tocopherol, và tương tự; và các chất tạo chelat kim loại, chẳng hạn như axit citric, etylendiamin của axit tetraaxetic (EDTA), sorbitol, axit tartaric, axit phosphoric, và tương tự.

Các dạng bào chế theo sáng chế bao gồm các dạng bào chế thích hợp để sử dụng qua đường miệng, mũi, hít, tại chỗ, qua da, trong khoang, dưới lưỡi, trực tràng,

âm đạo và/hoặc ngoài đường tiêu hóa. Điển hình là, hợp chất theo sáng chế sẽ được dùng qua tĩnh mạch, ở dạng dung dịch thường là đẳng trương, chẳng hạn dung dịch glucoza hoặc dung dịch nước muối. Các dạng bào chế này có thể có mặt thuận lợi ở dạng liều đơn vị và có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược phẩm. Lượng của thành phần hoạt tính có thể kết hợp với nguyên liệu chất mang để tạo ra dạng liều dùng đơn sẽ thường là lượng hợp chất tạo ra tác động điều trị. Nói chung, trên tổng số 100%, lượng này sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 1% đến khoảng 99% của thành phần hoạt tính, tốt hơn là từ khoảng 5% đến khoảng 70%, tốt nhất là từ khoảng 10% đến khoảng 30%.

Các phương pháp tạo ra các dạng bào chế hoặc chế phẩm này bao gồm bước kết hợp hợp chất theo sáng chế và chất mang thành hỗn hợp và, tùy ý, một hoặc nhiều thành phần kèm theo. Nói chung, các dạng bào chế này được tạo ra bằng cách kết hợp đồng nhất và mật thiết hợp chất theo sáng chế và chất mang lỏng thành hỗn hợp, hoặc chất mang rắn được phân chia nhỏ, hoặc cả hai, và sau đó, nếu cần, tạo hình sản phẩm.

Các dạng bào chế theo sáng chế thích hợp dùng theo đường miệng có thể ở dạng viên nang, viên con nhộng, viên nén tròn, viên nén dài, viên ngậm (sử dụng nền được Thêm hương vị, thường là sucroza và gôm acacia hoặc nhựa tragacant), bột, hạt nhỏ, hoặc ở dạng dung dịch hoặc huyền phù trong chất lỏng chứa nước hoặc chất lỏng không chứa nước, hoặc ở dạng nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc dạng nhũ tương lỏng nước trong dầu, hoặc ở dạng sirô hoặc cồn ngọt, hoặc dạng viên ngậm (pastille) (sử dụng bazơ trơ, chẳng hạn như gelatin và glycerin, hoặc sucroza và acacia) và/hoặc ở dạng nước súc miệng và tương tự, mỗi dạng bào chế chứa lượng định trước của hợp chất theo sáng chế ở dạng thành phần hoạt tính. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng ở dạng bolus, thuốc bột trộn đường (electuary) hoặc bột nhào.

Ở các dạng liều rắn theo sáng chế để dùng qua đường miệng (viên nang, viên nén dài, viên nén tròn, viên bọc đường (dragee), bột, hạt nhỏ và tương tự), thành phần có hoạt tính được trộn với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, chẳng hạn như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat, và/hoặc chất mang bất kỳ trong số các chất sau: chất độn hoặc chất kéo dài, chẳng hạn như các loại tinh bột, lactoza, sucroza, glucoza, manitol, và/hoặc axit silicic; chất kết dính, chẳng hạn như, ví dụ, carboxymethylxenluloza, alginat, gelatin, polyvinyl pyrrolidon, sucroza và/hoặc acacia; các chất gây ẩm, chẳng hạn như glyxerol; các chất phân tán, chẳng hạn như aga-aga,

canxi carbonat, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột tapioca, axit alginic, các silicat cụ thể, và natri carbonat; các chất kìm hãm dung dịch, chẳng hạn như parafin; các chất tăng cường hấp thu, chẳng hạn như các hợp chất amoni bậc bốn; các chất thẩm ướt, chẳng hạn như, ví dụ, xetanol và glyxerol monostearat; các chất hấp phụ, chẳng hạn như kaolin và đất sét bentonit; chất bôi trơn, như hoạt thạch, canxi stearat, magie stearat, các polyetylen glycol rắn, natri lauryl sulfat, và các hỗn hợp của chúng; và các chất tạo màu. Trong trường hợp viên nang, viên nén dài và viên nén tròn, dược phẩm cũng có thể chứa các chất đệm. Các chế phẩm rắn của các loại tương tự cũng có thể được sử dụng làm chất làm đầy viên nang genlatin được nạp đầy cứng và viên nang cứng hoặc mềm được nạp đầy genlatin sử dụng các chất trợ như lactoza hoặc các loại đường sữa, cũng như các polyetylen glycol có khối lượng phân tử cao và tương tự.

Viên nén có thể được tạo ra bằng cách nén hoặc đúc, tùy ý với một hoặc nhiều thành phần kèm theo. Các viên nén được nén có thể được tạo ra bằng cách sử dụng chất kết dính (ví dụ, gelatin hoặc hydroxypropylmetyl xenluloza), chất bôi trơn, chất pha loãng trợ, chất bảo quản, chất gây rã (ví dụ, natri tinh bột glycolat hoặc natri carboxymetyl xenluloza liên kết chéo), chất có hoạt tính bề mặt hoặc chất phân tán. Các viên nén đúc khuôn có thể được tạo ra bằng cách đúc khuôn hỗn hợp chứa hợp chất bột hóa trong máy thích hợp được duy trì độ ẩm bằng chất pha loãng trợ.

Viên nén, và các dạng liều rắn khác của dược phẩm theo sáng chế, chẳng hạn như viên bọc đường, viên nang, viên nén tròn và hạt có vỏ, có thể tùy ý thu được hoặc bào chế với lớp vỏ và lớp phủ, chẳng hạn như bao tan trong ruột và các lớp bao đã được biết rõ trong lĩnh vực bào chế dược phẩm. Chúng cũng có thể được bào chế để cung cấp sự giải phóng thành phần hoạt tính chậm hoặc được kiểm soát bằng cách sử dụng, ví dụ, hydroxypropylmetyl xenluloza theo nhiều tỷ lệ khác nhau để cung cấp profile (tập hợp các đặc tính) giải phóng mong muốn, các chất tạo mạng lưới polyme, liposom và/hoặc vi cầu khác. Chúng có thể được khử trùng bằng cách, ví dụ, lọc qua màng lọc giữ lại vi khuẩn, hoặc bằng cách kết hợp các chất khử trùng ở dạng chế phẩm rắn vô trùng mà có thể được hòa tan được trong nước vô trùng, hoặc một số môi trường vô trùng có thể tiêm có thể tiêm được ngay trước khi sử dụng. Các chế phẩm này cũng có thể tùy ý chứa các chất cản sáng và có thể của chế phẩm mà chúng chỉ giải phóng các thành phần hoạt tính, hoặc tốt hơn là, trong phần cụ thể của ống dạ dày-ruột, tùy ý, theo phương thức trì hoãn. Các ví dụ về chế phẩm nhúng có thể được sử

dụng bao gồm sáp và các chất được polyme hóa. Thành phần hoạt tính này cũng có thể ở dạng vi nang, nếu thích hợp, với một hoặc nhiều chất trợ đã được mô tả trên đây.

Các dạng liều lỏng để dùng qua đường miệng của hợp chất theo sáng chế bao gồm nhũ tương, vi nhũ tương, si-rô và cồn ngọt được dụng. Ngoài thành phần hoạt tính, các dạng liều lỏng này có thể chứa chất pha loãng trợ thường được sử dụng trong lĩnh vực này, chẳng hạn như, ví dụ, nước hoặc các dung môi, chất hòa tan, chất tạo nhũ tương khác, chẳng hạn như etanol, rượu isopropyl, etylcarbonat, etylaxetat, rượu benzyl, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dầu (cụ thể là, dầu hạt bông, dầu lạc, dầu ngô, dầu mầm, dầu ô liu, dầu thầu dầu và dầu mè), glyxerol, rượu tetrahydrofuryl, polyetylen glycol và este axit béo của sorbitan, và các hỗn hợp của chúng.

Bên cạnh các chất pha loãng trợ, chế phẩm dùng qua đường miệng cũng có thể bao gồm các tá dược chẳng hạn như chất thấm ướt, chất tạo huyền phù và chất tạo nhũ tương, chất tạo ngọt, chất tạo hương vị, chất tạo màu, chất tạo mùi hương và chất bảo quản.

Huyền phù, ngoài các hợp chất có hoạt tính, có thể chứa các chất tạo huyền phù như, ví dụ, các rượu isostearyl etoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol và các este sorbitan, xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, aga-aga và tragacant, và các hỗn hợp của chúng.

Các dạng bào chế của dược phẩm theo sáng chế để dùng qua đường âm đạo hoặc qua đường tiêu hóa có thể có ở dạng thuốc đạn, có thể được bào chế bằng cách trộn một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế với một hoặc nhiều chất trợ hoặc chất mang không gây kích ứng bao gồm, ví dụ, bơ từ hạt ca cao, polyetylen glycol, sáp dùng trong thuốc đạn hoặc salixylat, và là chất rắn ở nhiệt độ phòng, nhưng là chất lỏng ở nhiệt độ cơ thể và, do đó, sẽ chảy ra trong khoang âm đạo hoặc khoang trực tràng và giải phóng chất có hoạt tính.

Các dạng bào chế của dược phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng qua đường âm đạo bao gồm chế phẩm vòng tránh thai, tampon, các loại kem, gel, bột nhão, bột hoặc chế phẩm xịt chứa các chất mang này đã được biết rõ trong lĩnh vực này là thích hợp.

Các dạng liều dùng để sử dụng qua da hoặc tại chỗ của hợp chất theo sáng chế bao gồm bột, phun, thuốc mỡ, bột nhão, kem, dung dịch lotion, gel, dung dịch, bột

nhão và dạng hít. Hợp chất có hoạt tính có thể được trộn trong các điều kiện tiệt trùng với chất mang được dụng, và với chất bảo quản chất đậm, hoặc chất đẩy bất kỳ có thể được yêu cầu.

Thuốc mỡ, bột nhão, kem và gel có thể chứa, ngoài hợp chất theo sáng chế, các chất trợ, chẳng hạn như chất béo từ thực vật và động vật, dầu, sáp, parafin, tinh bột, tragacant, các chất dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, axit silicic, hoạt thạch và kẽm oxit, hoặc các hỗn hợp của chúng.

Chất bột và dạng xịt có thể bao gồm, ngoài hợp chất theo sáng chế, các chất trợ chẳng hạn như lactoza, hoạt thạch, axit silicic, nhôm hydroxit, canxi silicat và bột polyamit, hoặc các hỗn hợp của các chất này. Dạng xịt có thể chứa dụng cụ đẩy thích hợp bổ sung, chẳng hạn như cloflohydrocarbon và hydrocarbon không được thể dạng hơi, chẳng hạn như butan và propan.

Miếng dán qua da có lợi ích bổ sung của việc mang lại sự vận chuyển có kiểm soát hợp chất theo sáng chế đến cơ thể. Các dạng liều này có thể được tạo ra bằng cách hòa tan hoặc phân tán hợp chất này trong môi trường thích hợp. Các chất tăng cường hấp thu cũng có thể được sử dụng để tăng dòng khuếch tán hợp chất qua da. Tốc độ dòng khuếch tán này có thể được kiểm soát bằng cách tạo ra màng kiểm soát tốc độ hoặc phân tán hợp chất có hoạt tính trong chất nền polyme hoặc gel.

Các dạng bào chế dùng cho mắt, thuốc mỡ mắt, bột, dung dịch và tương tự, cũng được chủ định thuộc phạm vi sáng chế các dạng bào chế dùng cho mắt, thuốc mỡ mắt, bột, và các dạng bào chế tương tự, cũng đã được dự tính thuộc phạm vi sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng theo đường tiêu hóa chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều dung dịch, dịch phân tán, huyền phù, hoặc nhũ tương, hoặc chất bột khử trùng chứa nước hoặc không chứa nước đẳng trương được dụng mà có thể được hoàn nguyên thành thể phân tán hoặc dung dịch dùng cho tiêm vô trùng trước khi sử dụng, có thể chứa chất chống oxi hóa, dung dịch đậm, bacteriostat (chất kìm hãm vi khuẩn), chất tan mà khiến dạng bào chế này đẳng trương với máu của người nhận đã định hoặc các chất làm đặc hoặc chất tạo huyền phù.

Các ví dụ về chất mang chứa nước và chất mang không chứa nước thích hợp mà có thể được sử dụng trong các dược phẩm theo sáng chế bao gồm nước, etanol, polyol (chẳng hạn như glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, và tương tự), và

các hỗn hợp thích hợp của chúng, dầu thực vật, chẳng hạn như dầu ô-liu, và este hữu cơ dùng cho tiêm, chẳng hạn như etyl oleat. Trạng thái lỏng thích hợp có thể được duy trì, ví dụ, bằng cách sử dụng các nguyên liệu phù, chẳng hạn như lexitin, bằng cách duy trì kích thước hạt được yêu cầu trong trường hợp các chất phân tán, và bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt.

Các chế phẩm này cũng có thể chứa tá dược chẳng hạn như chất bảo quản, chất thẩm ướt, chất tạo nhũ tương và chất phân tán. Việc ngăn ngừa hoạt động của vi sinh vật có thể được đảm bảo bằng cách đưa vào nhiều loại chất kháng nấm và kháng khuẩn khác nhau, ví dụ, paraben, clobutanol, axit phenol sorbic, và tương tự. Nó cũng có thể được mong muốn để bao gồm chất đẳng trương, chẳng hạn như đường, natri clorua, và tương tự trong chế phẩm này. Ngoài ra, sự hấp thu kéo dài của dạng dược phẩm dùng cho tiêm có thể được mang lại nhờ việc đưa vào các chất trì hoãn hấp thu chẳng hạn như nhôm monostearat và gelatin.

Trong một số trường hợp, để kéo dài tác động của dược chất, người ta có thể mong muốn làm chậm sự hấp thu dược chất bằng việc tiêm trong cơ hoặc tiêm dưới da. Điều này có thể đạt được bằng cách sử dụng huyền phù lỏng của nguyên liệu vô định hình hoặc nguyên liệu tinh thể có độ tan trong nước thấp. Tốc độ hấp thu của dược chất sau đó phụ thuộc vào tốc độ phân rã của nó, theo đó có thể phụ thuộc vào kích thước tinh thể và dạng tinh thể. Ngoài ra, hấp thu trì hoãn của dạng dược chất được sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể đạt được bằng cách hòa tan hoặc tạo huyền phù dược chất này trong chất dẫn thuốc dạng dầu.

Các dạng dùng để chứa dạng bào chế dùng cho tiêm được tạo ra bằng cách hình thành các mạng lưới vi bao nang của các hợp chất quan tâm trong các polyme có thể được phân hủy sinh học chẳng hạn như polylactit-polyglycolit. Phụ thuộc vào tỷ lệ giữa dược chất và polyme, và bản chất của polyme cụ thể được sử dụng, tốc độ giải phóng dược chất có thể được kiểm soát. Các ví dụ về các polyme có thể được phân hủy sinh học khác bao gồm poly(orthoeste) và poly(anhydrit). Các dạng dùng để chứa dạng bào chế dùng cho tiêm cũng được tạo ra bằng cách giữ dược chất trong liposome hoặc vi nhũ tương mà tương thích với mô cơ thể.

Các dạng bào chế theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, tại chỗ, hoặc qua đường tiêu hóa. Chúng đương nhiên ở các dạng thích hợp với mỗi đường dùng. Ví dụ, chúng được sử dụng ở dạng viên nén hoặc viên nang,

bằng cách tiêm, hít, dung dịch nhỏ mắt, thuốc mỡ, thuốc đạn, v.v, dùng bằng cách tiêm, truyền hoặc bằng cách hít; dùng tại chỗ bằng dung dịch nhỏ hoặc thuốc mỡ; và qua đường tiêu hóa bằng thuốc đạn. Sử dụng trong tĩnh mạch được ưu tiên.

Các thuật ngữ “sử dụng ngoài được tiêu hóa” và “được sử dụng ngoài đường tiêu hóa” như được sử dụng ở đây có nghĩa là các chế độ sử dụng không phải sử dụng qua đường tiêu hóa và sử dụng tại chỗ, thường là bằng cách tiêm, và bao gồm, không chỉ giới hạn ở, tiêm và truyền trong tĩnh mạch, trong cơ, trong động mạch, trong vỏ, trong bao, trong ổ mắt, trong khoang tim, trong da, trong màng bụng, qua khí quản, dưới da, dưới lớp cutin, trong cung động mạch, dưới bao, dưới khí quản, trong dây sống thần kinh và trong xương ức.

Các thuật ngữ “sử dụng cho hệ tuần hoàn”, “được sử dụng cho hệ tuần hoàn” “sử dụng cho vùng ngoại vi” và “được sử dụng cho vùng ngoại vi” như được sử dụng ở đây có nghĩa là việc sử dụng hợp chất, dược chất hoặc nguyên liệu không trực tiếp vào hệ thần kinh trung ương, sao cho nó đi vào hệ tuần hoàn của bệnh nhân và, do đó, đối tượng chuyển hóa, và các quy trình tương tự khác, ví dụ sử dụng dưới da.

Các hợp chất này có thể được sử dụng cho người và các động vật khác để điều trị bằng đường dùng thích hợp bất kỳ, bao gồm qua đường miệng, qua mũi, như là, phun, trong đường tiêu hóa, trong âm đạo, ngoài đường tiêu hóa, trong khoang dưới nhện và dùng tại chỗ, như ở dạng bột, thuốc mỡ hoặc dạng nhỏ giọt, bao gồm dùng trong khoang và dùng dưới lưỡi.

Bất kể đường dùng nào được chọn, các hợp chất theo sáng chế, có thể được sử dụng ở dạng được hydrat hóa, và/hoặc dược phẩm theo sáng chế, được bào chế thành các dạng liều dùng được dùng bằng các phương pháp thông thường đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này.

Nồng độ liều thực tế của thành phần hoạt tính trong dược phẩm theo sáng chế có thể được thay đổi để thu được lượng thành phần hoạt tính có hiệu quả để đạt được đáp ứng điều trị mong muốn với bệnh nhân, chế phẩm, chế độ áp dụng cụ thể, mà không gây độc với bệnh nhân.

Nồng độ liều được chọn sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể theo sáng chế được sử dụng, hoặc este, muối hoặc amit của nó, đường dùng, thời gian dùng, tốc độ thanh thải hợp chất cụ thể được sử dụng, khoảng thời gian điều trị, các dược chất khác, hợp chất và/hoặc các nguyên liệu được

sử dụng kết hợp với hợp chất cụ thể được sử dụng, tuổi, giới tính, trọng lượng, tình trạng, sức khỏe chung và tiền sử bệnh án của bệnh nhân được điều trị, và như các yếu tố tương tự đã biết rõ trong lĩnh vực y học.

Nói chung, liều hàng ngày thích hợp của hợp chất theo sáng chế sẽ là lượng của hợp chất mà là liều có hiệu quả để tạo ra tác động điều trị. Liều hiệu quả này thường sẽ phụ thuộc vào các yếu tố được mô tả trên đây. Thông thường, các liều dưới da và liều trong tĩnh mạch của các hợp chất theo sáng chế cho bệnh nhân, khi được sử dụng để các tác động kháng khuẩn được biểu thị, sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 150mg/kilogram trọng lượng cơ thể/ngày, tốt hơn là từ khoảng 15 đến khoảng 115mg/kg/ngày, và tốt hơn nữa là từ khoảng 20 đến khoảng 85mg/kg/ngày. Lượng có hiệu quả là lượng điều trị nhiễm khuẩn.

Nếu mong muốn, liều hàng ngày có hiệu quả của hợp chất có hoạt tính có thể được sử dụng ở dạng hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc nhiều liều nhỏ hơn được sử dụng tách rời ở các khoảng thích hợp trong ngày, tùy ý, ở các dạng liều đơn vị, hoặc ở dạng truyền liên tục.

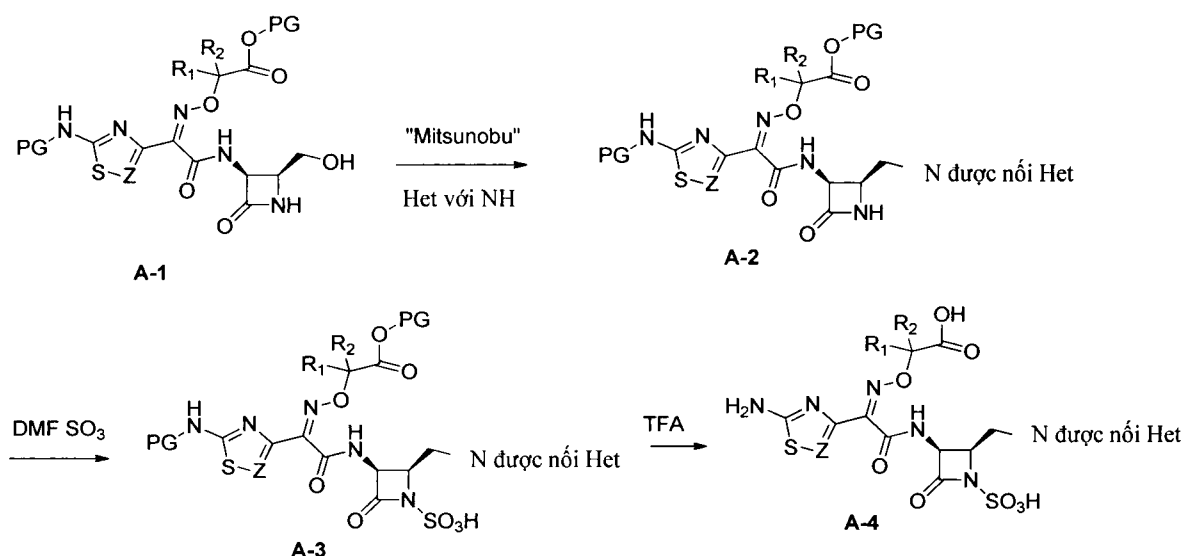
Nếu có trường hợp hợp chất theo sáng chế được sử dụng một mình, tốt hơn nếu người sử dụng hợp chất này ở dạng dược phẩm.

Các hợp chất như được xác định trong các phương án được tổng hợp bằng các đường tổng hợp chung dưới đây, các ví dụ cụ thể được mô tả chi tiết hơn trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế

Sơ đồ tổng hợp chung

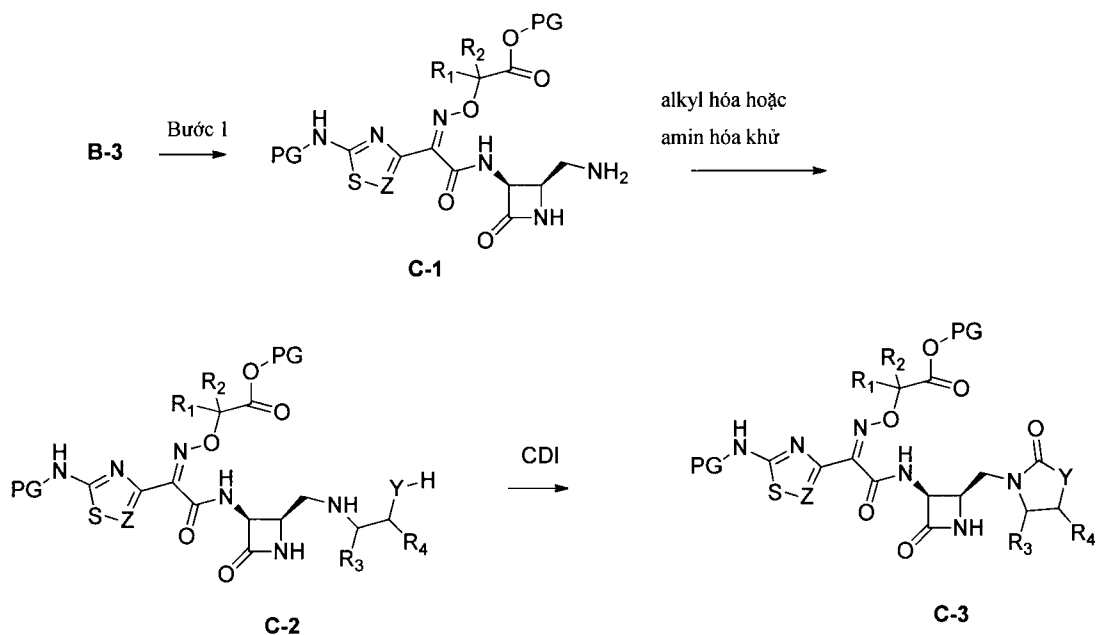
Một phương pháp để tổng hợp các hợp chất có công thức (I) được mô tả trong Sơ đồ A. Có thể chuyển hóa rượu A-1 thành A-2 theo quy trình “Mitsunobu”, với điều kiện chất dị vòng này có tính axit đủ để tiến hành phản ứng Mitsunobu. Bước sulfonyl hóa A-2 tạo ra A-3, có thể được loại bỏ bảo vệ bằng TFA hoặc axit formic để thu được A-4.

Sơ đồ A



Các chất trung gian dị vòng của A-2 cũng có thể thu được như được tóm tắt trong Sơ đồ C, bằng phản ứng alkyl hóa amin, chẳng hạn như C-1. Các chất phản ứng alkyl hóa thích hợp bao gồm các alkyl halogenua hoặc epoxit. Phản ứng alkyl hóa C-1 cũng có thể được đem lại bằng sự amin hóa khử bằng aldehyt được bảo vệ và có chức năng thích hợp. Phản ứng vòng hóa C-2 có thể được đem lại bằng cách sử dụng chất carbonyl hóa tương tự CDI. Ví dụ về nhóm Y trong các hợp chất này bao gồm oxy hoặc NR^5 , ví dụ, NH.

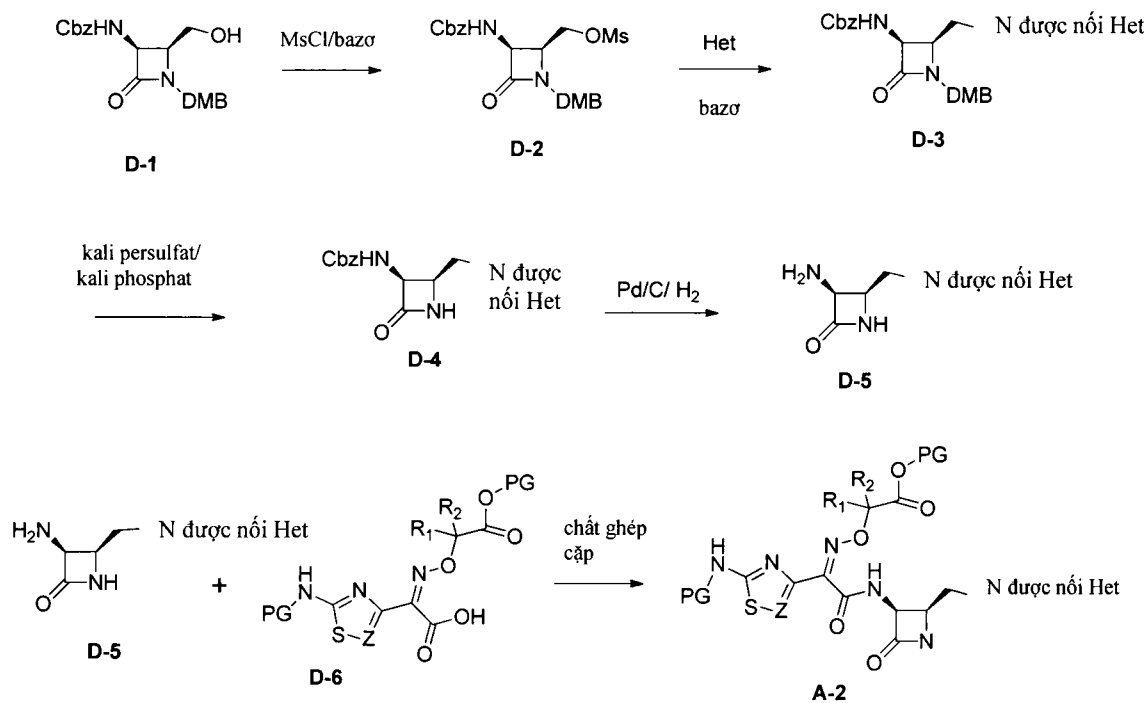
Sơ đồ C



Các amin C-2 có chức năng thu được theo cách khác từ B-1 bằng việc alkyl hóa bằng amin có chức năng. Dị vòng lactam có thể thu được theo cách tương tự bằng việc alkyl hóa C-1 bằng các este của axit carboxylic được brominat hóa, sau đó vòng hóa có xúc tác bazơ.

Dị vòng có thể được đưa vào để tạo ra chất trung gian A-2, bằng việc thế nhóm dôi chuyển trong azetidi không có chất trung gian thích hợp được bảo vệ. Các chất bảo vệ thích hợp bao gồm Cbz đối với amin và DMB đối với azetidi không có. Việc loại bỏ bảo vệ của nhóm Cbz sau đó axyl hóa bằng các axit D-6 được bảo vệ và có chức năng thích hợp tạo ra A-2, như được tóm tắt trong sơ đồ D.

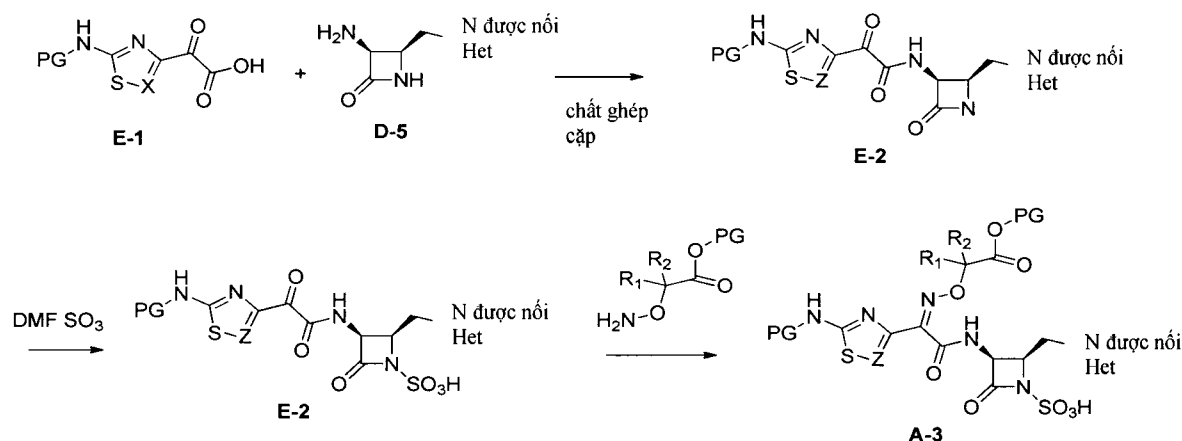
Sơ đồ D



Các chất trung gian được bảo vệ chẳng hạn như D-1 cũng được sử dụng để đưa vào phản ứng dị vòng trong các điều kiện Mitsunobu, như được tóm tắt trong Sơ đồ A. D-1 cũng được chuyển hóa thành azit tương ứng, mà được sử dụng cho phản ứng “hóa học click” để đưa các 1,2,3 triazol được nối ở vị trí 1 vào phản ứng theo trình tự giống như được tóm tắt trong Sơ đồ B. D-1 cũng có thể được sử dụng để tạo ra các chất dẫn xuất amin có chức năng mà có thể được chuyển hóa thành các dị vòng, như được mô tả trong sơ đồ C.

Các chất trung gian của loại A-3 cũng có thể được lắp ghép bằng trình tự được tóm tắt trong Sơ đồ E, trong đó gốc oxime được đưa vào sau bước ghép cặp.

Sơ đồ E



Hợp chất có công thức (I) được điều chế từ các hợp chất thông thường có sẵn bằng cách sử dụng các quy trình và sơ đồ chung này đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này cùng với các phương pháp và ví dụ được đưa ra ở đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế còn được minh họa bằng các ví dụ sau, không thể được hiểu là sự giới hạn khác. Các thử nghiệm được sử dụng trong tất cả các ví dụ này đã được chấp nhận về tính hiệu quả trong các thử nghiệm này là sự dự đoán trước về tính hiệu quả ở các đối tượng.

Những điều kiện chung

Phổ khối thu được từ các hệ thống LC-MS, SFC-MS, hoặc GC-MS sử dụng các phương pháp ion hóa va chạm điện tử (electron), ion hóa hóa học, ion hóa phun điện tử từ nhiều thiết bị có cấu hình sau: hệ thống Waters ACQUITY UPLC và được trang bị hệ thống ZQ 2000 hoặc hệ thống SQD MS trong đó (M+1) đề cập đến phân tử ion được proton hóa của các tiểu phân hóa học (chemical species), (M+) đề cập đến amoni cation không được proton hóa, (M+Na) đề cập đến ion được kết hợp với natri và (M-1) đề cập đến ion phân tử được loại bỏ proton của tiểu phân hóa học.

Quang phổ NMR được chạy trên các máy đo quang phổ Bruker AVANCE 500MHz hoặc Varian 400MHz NMR sử dụng ICON-NMR, dưới chương trình kiểm soát TopSpin. Quang phổ được đo ở 298K, trừ khi được đề cập khác, và được tham chiếu tương ứng với were referenced relative to the cộng hưởng dung môi.

Thiết bị đo

Các phương pháp MS: Sử dụng hệ thống Agilent 1100 HPLC với máy đo khối phổ Agilent 6110

Phương pháp 2m_có tính axit:

Cột	Kinetex C18 50 x 2,1mm, 2,6µm
Nhiệt độ cột	50°C
Chất rửa giải	A: H ₂ O, B: axetonitril, cả hai chứa TFA 0,1%
Lưu lượng	1,2ml/phút
Gradient	2% đến 88% B trong 1,30 phút, 0,15 phút 95% B

Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực:

Cột	Kinetex C18 50 x 2,1mm, 2,6µm
Nhiệt độ cột	50°C
Chất rửa giải	A: H ₂ O, B: axetonitril, cả hai chứa TFA 0,1%
Lưu lượng	1,2ml/phút
Gradient	1% đến 30% B trong 1,30 phút, 0,15 phút 98% B

Các từ viết tắt:

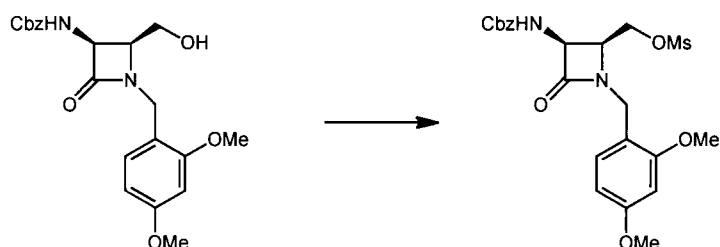
ACN	axetonitril
aq	chứa nước
app	apparent
ATP	adenosin 5'-triphosphat
BINAP	chất triệt quang 2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl
Boc	butyl carboxy bậc ba
br	rộng
brs	đỉnh đơn rộng
BSA	albumin huyết thanh bò

CDI	1,1'-carbonyldiimidazol
d	đỉnh đôi
dd	đỉnh đôi của đỉnh đôi
DCM	diclometan
DCE	1,2-dicloetan
DIAD	diisopropylazodicarboxylat
DIPEA	diisopropyletylamin
DME	1,4-dimetoxyetan
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamit
DMSO	dimetylsulfoxit
EDTA	etylendiamin của axit tetraaxetic
ESI	ion hóa phun điện tử
EtOAc	etylaxetat
g	gam
h	giờ
HATU	1-[bis(dimetylamino)metylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxid hexaflophosphat
HBTU	1-[bis(dimetylamino)metylen]-1 <i>H</i> -benzotriazoliumhexaflophosphat (1-) 3-oxit
HCl	axit clo hydric
HOBt	1-hydroxybenzotriazol
HPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cao
LCMS	sắc ký lỏng và khối phổ
m	đỉnh đa
<i>m</i> -CPBA	axit 3-cloperbenzoic
MeOH	metanol

MS	khối phổ
mg	milligam
min	phút
mL	mililit
mmol	milimol
m/z	tỷ lệ giữa khối lượng và điện tích
NMR	cộng hưởng từ hạt nhân
p	đỉnh năm
$\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$	phức 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen- paladi(II)diclorua diclometan
PPh_3	triphenylphosphin
ppm	một phần triệu
PyBOP	benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphonium hexaflophosphat
q	đỉnh bốn
rac	chất triệt quang
rt	nhiệt độ phòng
R_t	thời gian lưu
s	đỉnh đơn
satd	bão hòa
t	đỉnh ba
TBAF	tetrabutylamoniflorua
TBME	metyl <i>tert</i> -butyl ete
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
Tris·HCl	aminotris(hydroxymetyl)metan hydroclorua

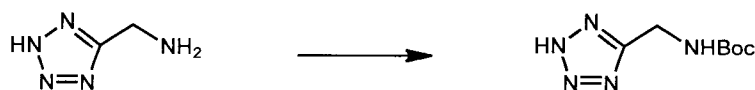
Điều chế các chất trung gian

Chất trung gian A: ((2*S*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl metansulfonat.



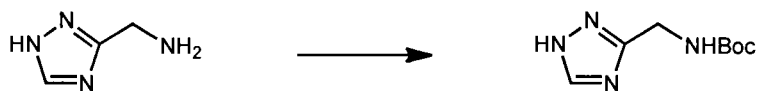
Thêm MsCl (1,15ml, 14,75mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (5,37g, 13,41mmol) và TEA (3,72ml, 26,8mmol) trong DCM ở 0°C. Sau khi khuấy ở 0°C trong 1 giờ, pha loãng nó bằng nước/DCM và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được đưa vào trong toluen và cô đặc (2x), để thu hợp chất tiêu đề ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. Nó được sử dụng luôn trong các phản ứng tiếp theo. LCMS: R_t = 0,86 min, m/z = 479,2 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Chất trung gian B: *tert*-butyl ((2H-tetrazol-5-yl)methyl)carbamate.



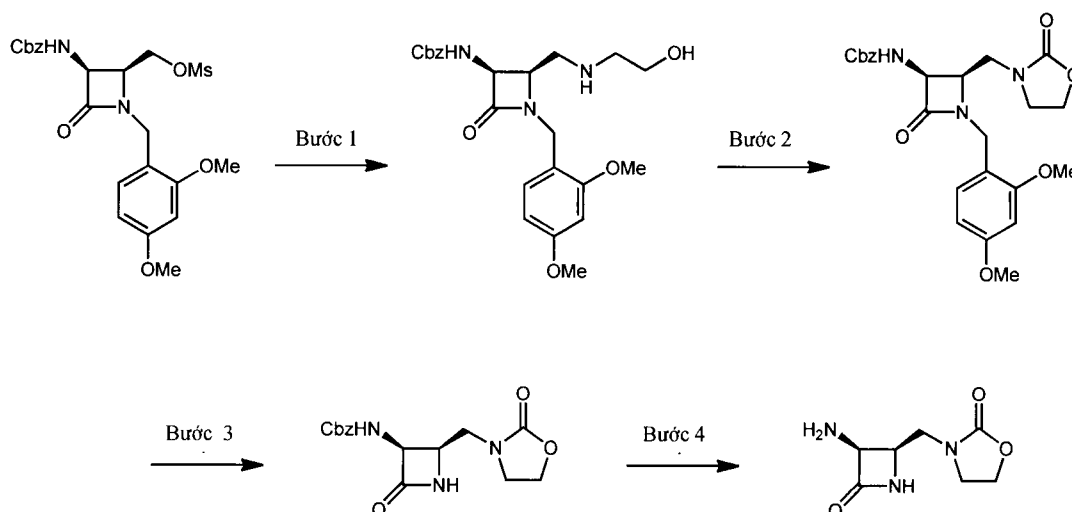
Thêm NaOH (4N, 4,42ml, 17,70mmol) vào bình được nạp (2H-tetrazol-5-yl)methylamin (1,67g, 16,85mmol), Boc anhydrit (3,86g, 17,70mmol) và nước (16,85ml). Khuấy huyền phù thu được ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ sau đó làm lạnh xuống 0°C, ngay sau đó Thêm HCl (1N) cho đến độ pH = 4-5. Thu kết tủa bằng cách lọc và làm lạnh phần phân ước gốc xuống 0°C và tái axit hóa bằng HCl (1N) cho đến độ pH = 4-5. Thu kết tủa được tạo thành tiếp sau và kết hợp với mẻ thứ nhất, rửa lô sản phẩm bằng Heptan để thu hợp chất tiêu đề (2,74g, 82%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,38 min, m/z = 200,2 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Chất trung gian C: *tert*-butyl ((1H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)carbamate.



Thêm NaOH (4N, 1,137ml, 4,5mmol) vào dung dịch chứa 2H-[1,2,4]triazol-3-yl-metylaminhydroclorua (583mg, 4,33mmol) và Boc-anhydrit (993mg, 4,5mmol) trong nước (5,78ml). Sau khi khuấy trong 48 giờ thu kết tủa màu trắng bằng cách lọc. Tạo huyền phù chất rắn trong Heptan, siêu âm sau đó lọc, rửa bánh lọc bằng Heptan. LCMS: $R_t = 0,41$ min, $m/z = 199,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m có tính axit.

Chất trung gian D: 3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)oxazolidin-2-on.



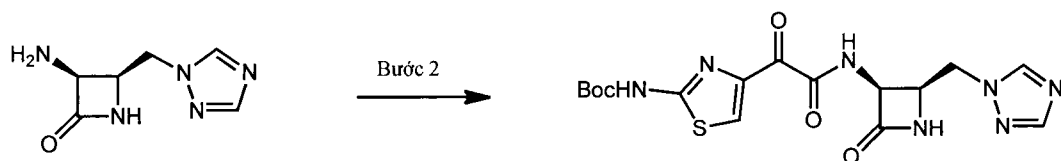
Bước 1: Benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(((2-hydroxyethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm etanolamin (8,13ml, 134mmol), sau đó Thêm DIPEA (7,0ml, 40mmol) vào dung dịch chứa ((2*S*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl metansulfonat (6,43g, 13,4mmol) trong axetonitril (44,8ml). Gia nhiệt dung dịch đến 80°C trong 20 giờ, ngay sau đó giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng EtOAc, rửa bằng nước, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (4,47g, 75%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 0,60$ min, $m/z = 444,2$ ($M+1$).

Bước 2: Benzyl ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)carbamate. Thêm CDI (4,90g, 30,2mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(((2-hydroxyethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (4,47g, 10,08mmol) trong chloroform (50ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút cô đặc nó trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%), để thu hợp chất tiêu đề (3,84g, 81%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,76$ min, $m/z = 470,1$ ($M+1$).

Bước 3: Benzyl ((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 2 sử dụng benzyl ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)carbamate (3,84g, 8,18mmol), $K_2S_2O_8$ (3,10g, 11,5mmol) và K_2HPO_4 (1,852g, 10,6mmol) trong ACN:nước (2:1, 136ml) trong khi gia nhiệt trong 40 phút ở 90°C. Bổ sung Thêm $K_2S_2O_8$ (663g, 2,45mmol) và K_2HPO_4 (370mg, 2,13mmol) và gia nhiệt trong 3 giờ nữa. Bổ sung thêm $K_2S_2O_8$ (332mg, 1,23mmol) và K_2HPO_4 (185mg, 1,06mmol), và gia nhiệt trong 2 giờ nữa, ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước muối/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 . Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100% sau đó MeOH-DCM, 10%) để thu hợp chất tiêu đề (1,61g, 62%) ở dạng bột màu be. LCMS: $R_t = 0,51$ min, $m/z = 320,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit.

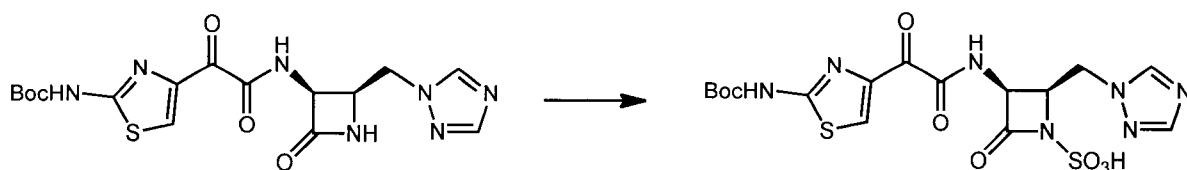
Bước 4: 3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)oxazolidin-2-on. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng benzyl ((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)carbamate (96mg, 0,30mmol) và Pd/C 10% Degussa loại 101 (10%, 64mg) trong EtOH:MeOH (4:1, 1,5ml) trong 1 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: $R_t = 0,11$ min, $m/z = 186,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Chất trung gian E: *tert*-butyl (4-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoacetyl)thiazol-2-yl)carbamate.



Thêm DIPEA (2,91ml, 16,7mmol) vào huyền phù đặc của axit 2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoacetic (2,72g, 9,99mmol) và HATU (3,80, 10,0mmol) trong DCM:DMF (3:1, 33,3ml) ở 0°C. Thêm dung dịch chứa (3*S*,4*R*)-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on (1,39g, 8,33mmol) trong DCM:DMF (1:1, 32ml), sau đó Thêm dung dịch rửa DMF (3ml). Sau khi khuấy trong 48 giờ pha loãng dung dịch tới màu bằng EtOAc (150ml)/nước muối (140ml) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (70ml). Tái chiết dịch rửa lớp nước muối bằng EtOAc. Sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%), để thu hợp chất tiêu đề (2,38g, 68%) ở dạng chất rắn màu đỏ. LCMS: R_t = 0,59 min, m/z = 422,0 (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,85 (s, 1H), 9,70 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 8,52 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 5,28 (ddd, *J* = 9,3, 5,2, 1,5 Hz, 1H), 4,45 (dd, *J* = 14,2, 5,3 Hz, 1H), 4,36 (dd, *J* = 14,1, 7,6 Hz, 1H), 4,18 (dt, *J* = 7,6, 5,3 Hz, 1H), 1,47 (s, 9H).

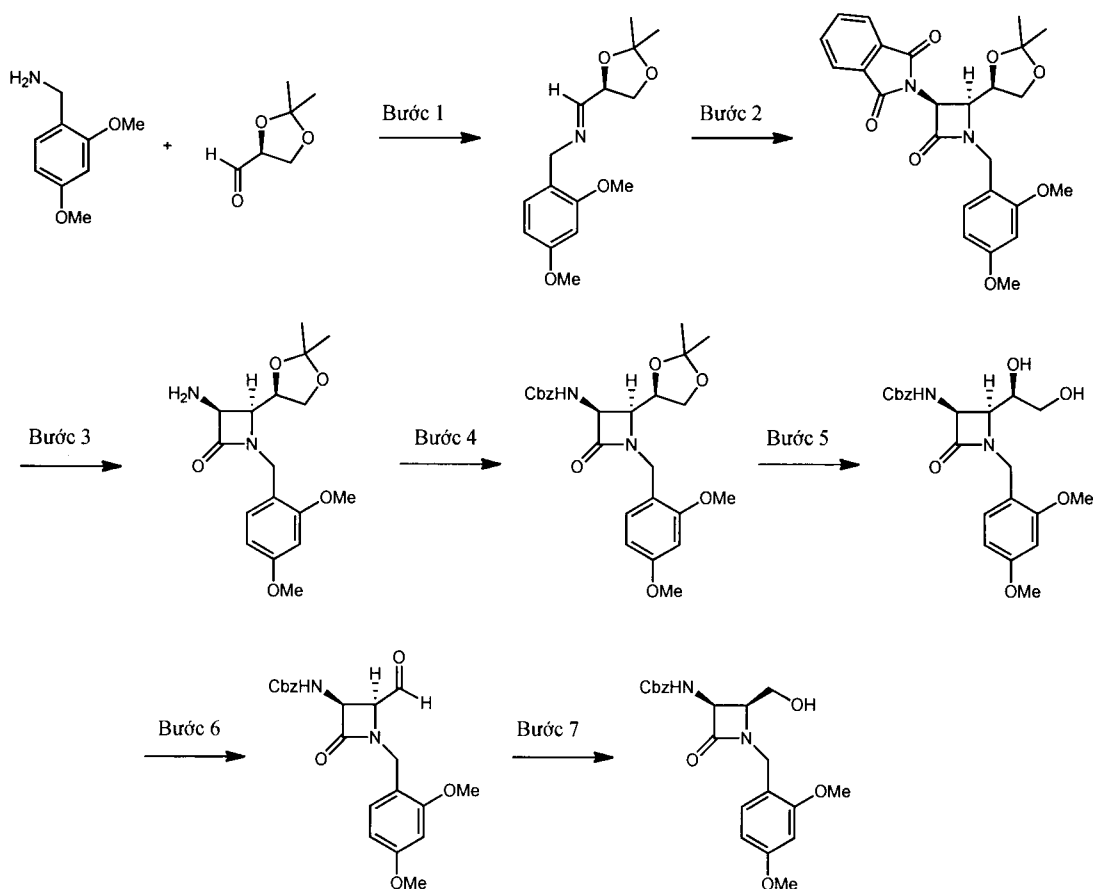
Chất trung gian F: axit (2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-(2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoaxetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic



Thêm SO₃·DMF (367mg, 2,40mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl (4-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoaxetyl)thiazol-2-yl)carbamate (200mg, 0,475mmol) trong DMF (4,75ml) ở 0°C. Sau 16 giờ khuấy, cô đặc nó trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 0-50%), để thu hợp chất tiêu đề (110mg, 46%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS:

$R_t = 0,54$ min, $m/z = 501,9$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 11,87 (s, 1H), 9,75 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 5,25 (dd, $J = 9,1, 5,4$ Hz, 1H), 4,75 (dd, $J = 14,3, 4,9$ Hz, 1H), 4,61 (dd, $J = 14,4, 7,6$ Hz, 1H), 4,43 (dt, $J = 7,6, 5,2$ Hz, 1H), 1,49 (s, 9H).

Chất trung gian G: Benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate



Bước 1: (*R,E*)-1-(2,4-dimethoxyphenyl)-N-((2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)metylen)metanamin. Điều chế theo quy trình đã được mô tả bởi Hubschwerlen, C. và Schmid, G. *Helv. Chim. Acta* 1983, 66, 2206-2209 với sự bổ sung MgSO_4 . Thêm 2,4-dimethoxybenzylamin (193g, 1,154mol) vào huyền phù của (S)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-carbaldehyt (Carbosynth LLC, 346g, 43% trong DCM, 1,143mol) và MgSO_4 (278g) trong DCM (1,5L) ở 0°C trong suốt thời gian là 20 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, lọc sản phẩm, rửa bánh lọc bằng DCM (2 x 250ml). Dung dịch phân ước gốc được sử dụng trực tiếp trong bước 2.

Bước 2: 2-((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((*R*)-2,2-dimetyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)isoindolin-1,3-dion. Điều chế theo quy trình đã được mô tả bởi Hubschwerlen, C. và Schmid, G. *Helv. Chim. Acta* 1983, 66, 2206-2209. Sau khi Thêm TEA (322ml, 2,31mol) vào dung dịch phân ước gốc từ bước 1, nó được giảm nhiệt xuống 0°C, sau đó Thêm lượng bổ sung của dung dịch chứa 2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)axetylclorua (284,3g, 1,272mol) trong DCM (1l) qua khoảng thời gian 30 phút. Làm ấm hỗn hợp đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 16 giờ nữa, ngay sau đó, rửa hỗn hợp này bằng nước (2 x 1L), NaHCO₃ bão hòa (aq, 1L), nước muối (1L), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (631g, định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. ¹H NMR của mẫu được tinh chế này (EtOAc-Heptan, 40-60%) khớp hoàn toàn với dữ liệu đã được đưa ra trong các tài liệu chuyên ngành.

Bước 3: (3*S*,4*S*)-3-amino-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-((*R*)-2,2-dimetyl-1,3-dioxolan-4-yl)azetidin-2-on. Thêm hydrazin hydrat (235ml, 50-60%, ~4mol) trong suốt thời gian là 20 phút vào dung dịch chứa 2-((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((*R*)-2,2-dimetyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)isoindolin-1,3-dion thô (631g, 1,143mol, chuyển hóa định lượng giả định từ bước 2) trong EtOH (8,2l). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến hồi lưu trong 3 giờ, giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng, lọc, rửa bằng EtOH và cô đặc trong chân không. Tạo huyền phù đặc phần thu được trong EtOAc (4l), lọc và rửa bằng nước (2 x 1l).

Bước 4: Benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((*R*)-2,2-dimetyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat. Thêm từng giọt NaHCO₃ bão hòa (aq, 2,05l), sau đó Thêm benzyl cloroform (205ml, 1,43mol), qua 1 giờ vào dung dịch hữu cơ thô từ bước 3 (EtOAc, 4l), làm lạnh xuống 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng EtOAc (2 x 50ml). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Xử lý sản phẩm thô bằng MeOH (2l), lọc và rửa bằng MeOH (2 x 200ml) để thu hợp chất tiêu đề tinh khiết (155g) ở dạng chất rắn màu trắng. Giảm nhiệt phần phân ước gốc xuống -20°C trong 12 giờ và thu kết tủa thu được bằng cách lọc, thu được Thêm hợp chất tiêu đề (90g) với hiệu suất kết hợp 45% qua 4 bước. LCMS: *m/z* = 471,1 (*M*+1).

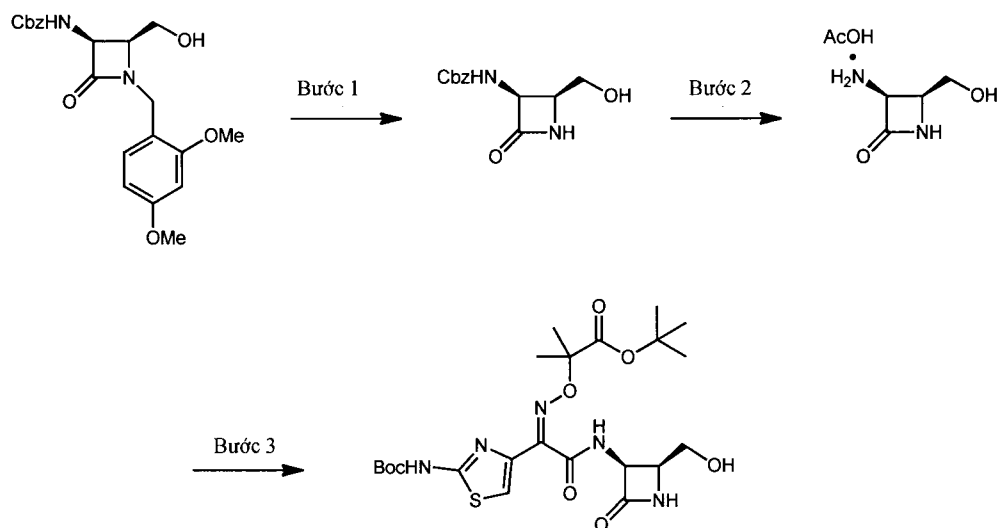
Bước 5: Benzyl ((2*S*,3*S*)-2-((*R*)-1,2-dihydroxyetyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm dung dịch chứa TsOH•H₂O (43,6g, 0,229mol) trong nước (0,75l) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((*R*)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (267g, 0,567mol) trong THF (3l). Gia nhiệt dung dịch hai lớp đến 70°C trong 16 giờ sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng, trung hòa đến độ pH = 7 bằng NaHCO₃ bão hòa (aq) và cô đặc trong chân không. Lọc hỗn hợp thu được, rửa bằng nước và sấy để thu hợp chất tiêu đề (240g, 98%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: *m/z* = 431,1 (*M*+1).

Bước 6: Benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-formyl-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm dung dịch chứa natri periodat (132g, 0,617mol) trong nước (1,125l) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-2-((*R*)-1,2-dihydroxyetyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (240g, 0,557mol) trong EtOAc (4,5l). Thêm dung dịch chứa natri periodat (132g, 0,617mol) trong nước (1,125l) và gia nhiệt dung dịch hai lớp đến 50°C trong 2 giờ, ngay sau đó giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (500ml) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (218g, 98%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: *m/z* = 399,0 (*M*+1). ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,32 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 8,19 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,39-7,23 (m, 5H), 7,16 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,53 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,47 (dd, *J* = 8,3, 2,4 Hz, 1H), 5,00-4,96 (m, 2H), 4,90 (dd, *J* = 8,5, 5,8 Hz, 1H), 4,38 (d, *J* = 14,5 Hz, 1H), 4,29 (d, *J* = 14,5 Hz, 1H), 4,05 (dd, *J* = 5,9, 3,3 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,70 (s, 3H).

Bước 7: Benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm từng phần natri borohydrua (41,3g, 1,09mol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-formyl-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (218g, 0,546mol) trong hỗn hợp của DCM:MeOH (4:1, 2,25l) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp thu được ở 0°C trong 2 giờ, ngay sau đó làm ngừng phản ứng bằng nước lạnh (1l) trong 30 phút và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM (3 x 200ml) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (208g, 95%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: *m/z* = 401,2 (*M*+1); ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7,37-7,29 (m, 5H), 7,21-7,18 (m, 1H), 6,46-6,49 (m, 2H), 5,82 (bd, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,18-5,08 (m, 3H),

4,45 (d, $J = 14,4$ Hz, 1H), 4,28 (d, $J = 14,4$ Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,76-3,72 (m, 1H), 3,63-3,52 (m, 2H), 1,87 (dd, $J = 9,6, 4,0$ Hz, 1H).

Chất trung gian H: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat



Bước 1: Benzyl ((2*S*,3*S*)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Được điều chế theo Mastalerz et al. *J. Med. Chem*, 1988, 31, 1190. Thêm kali persulfat (243g, 0,899mol) sau đó Thêm dung dịch chứa dikaliphosphat (147,4g, 0,846mol) trong nước (2l) vào dung dịch của chất trung gian G (208g, 0,529mol) trong ACN (4l). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C trong 4 giờ, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng và cô đặc trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (1L, 2 x 200ml) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hexan, 50-100%), để thu hợp chất tiêu đề (86g, 65%) ở dạng chất rắn màu trắng. Dữ liệu phân tích là một sự trùng khớp hoàn toàn với dữ liệu đã được đưa ra trong các tài liệu chuyên ngành.

Bước 2: (2*S*,3*S*)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-amonixetat. Thêm Pd trên C (10% ướt, 2,5g) sau đó Thêm AcOH (11,4ml, 200mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (25g, 100mmol) trong MeOH (350ml). Loại bỏ khí và tái nạp khí của hỗn hợp bằng H₂ (3x), đưa áp suất cuối tới 50 psi. Khuấy nó ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, sau đó gạn, lọc qua xelit và cô đặc trong

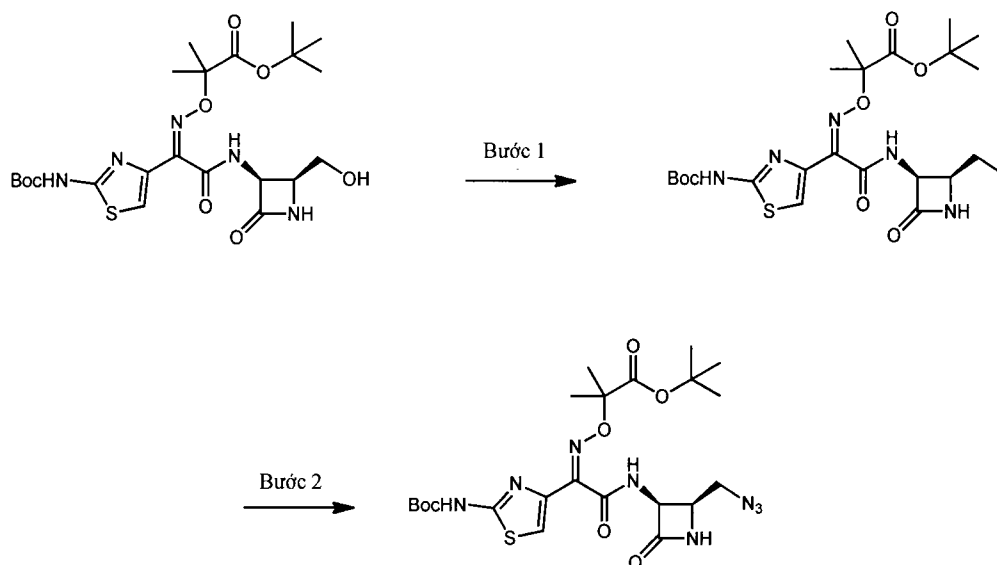
chân không, thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (22g) ở dạng chất dầu màu vàng nhạt, được sử dụng trực tiếp trong bước 3.

Bước 3: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm dung dịch chứa (2*S*,3*S*)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-amoniacetat (22g, 100mmol, định lượng giả thiết từ bước 2) trong DMF (100ml), sau đó Thêm DIPEA (52,2ml, 300mmol) vào dung dịch chứa (*Z*)-*tert*-butyl 2-(((2-(benzo[d]thiazol-2-ylthio)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (85g, 116,4mmol) trong DMF (200ml) ở 0°C. Làm ấm hỗn hợp đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 16 giờ nữa, ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hexan, 25-100%), thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (44g, 83%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $m/z = 526,1$ (M-1); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 8,94 (s, 1H), 8,02 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,43 (dd, $J = 7,4, 4,7$ Hz, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,02 (dd, $J = 8,6, 4,3$ Hz, 1H), 3,86 (m, 2H), 1,56 (s, 3H), 1,55 (s, 3H), 1,52 (s, 9H), 1,44 (9H, s).

Chất trung gian I: (*Z*)-*tert*-butyl 2-(((2-(benzo[d]thiazol-2-ylthio)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat

Thêm triphenylphosphin (44,3g, 168,8mmol), sau đó Thêm từng giọt TEA (22,7ml, 163mmol) vào huyền phù của axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (50g, 116,4mmol) và 2,2'-dibenzothiazolyl disulfua (54,2g, 163mmol) trong DCM (1l). Sau khi khuấy trong 16 giờ, cô đặc hỗn hợp và được sử dụng trực tiếp trong việc điều chế chất trung gianH. LCMS: $m/z = 579,0$ (M+1).

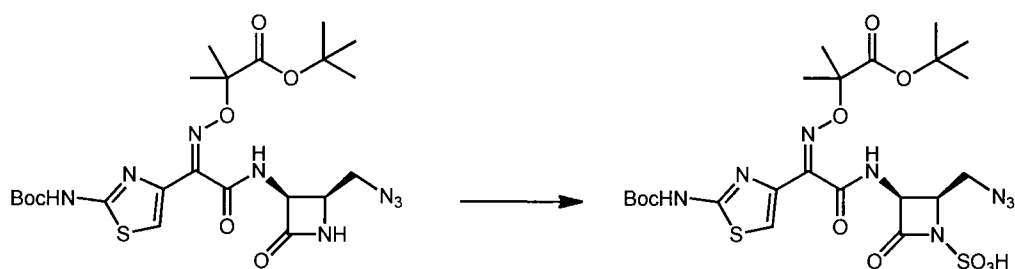
Chất trung gian J: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(azidometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat



Bước 1: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(iodomethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm từng phần iotua (42,3g, 166,8mmol) vào dung dịch của chất trung gian H (44,0g, 83,4mmol), triphenylphosphin (43,7g, 166,8mmol) và imidazol (11,4g, 166,8mmol) trong DCM trong thời gian 5 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ pha loãng nó bằng DCM (300ml), rửa bằng Na₂S₂O₃ bão hòa (aq, 200ml), nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký cột (EtOAc-Hexan, 25-75%), để thu hợp chất tiêu đề (33g, 62%) ở dạng chất rắn màu vàng. LCMS: *m/z* = 638.0 (M-1). Dữ liệu ¹H NMR là sự trùng khớp chính xác với dữ liệu đã được mô tả trong WO2012073138 (A1).

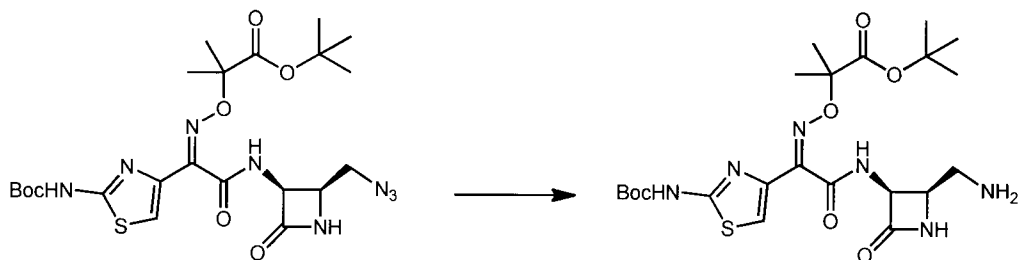
Bước 2: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(azidomethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm TEA (10,5ml, 75,2mmol), sau đó Thêm tetrabutylamoniazit (13,9g, 48,9mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(iodomethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (24,0g, 37,6mmol) trong THF (200ml) ở 0°C. Làm ấm hỗn hợp đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 16 giờ nữa, ngay sau đó rót nó vào trong nước-đá (200ml) và chiết bằng EtOAc (3 x 100ml). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel, để thu hợp chất tiêu đề (17,0g, 82%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: *m/z* = 551,0 (M-1). Dữ liệu ¹H NMR là sự trùng khớp chính xác với dữ liệu đã được mô tả trong WO2012073138 (A1).

Chất trung gian K: axit (2R,3S)-2-(azidometyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic



Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (1,38g, 9,05mmol) vào dung dịch của chất trung gian J (500mg, 0,905mmol) trong DMF (8ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, pha loãng nó bằng EtOAc (50ml) và rửa bằng nước, sau đó Thêm nước muối cho đến độ pH = 7. Sấy lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (500mg, 87%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $m/z = 629,85$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 11,85 (s, 1H), 9,10 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 8,63 (s, 1H), 7,27 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 6,55 (s, 1H), 5,37 – 5,13 (m, 1H), 3,83 – 3,54 (m, 2H), 1,46 – 1,41 (m, 4H), 1,43 – 1,35 (m, 7H).

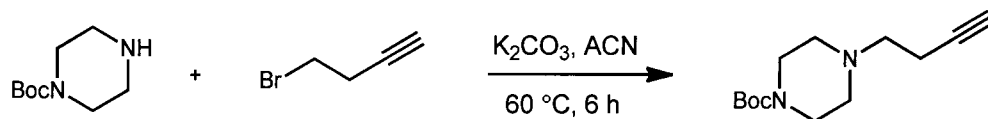
Chất trung gian L: *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(aminometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat



Thêm Pd trên C (10%, ướt, 2,0g) vào dung dịch của chất trung gian J (17,0g, 30,8mmol) trong EtOH (300ml). Thêm Pd trên C (10%, ướt, 2,0g) trong áp suất nitơ. Loại bỏ khí và tái nạp khí của hỗn hợp bằng H_2 (3x), đưa áp suất cuối tới 50 psi.

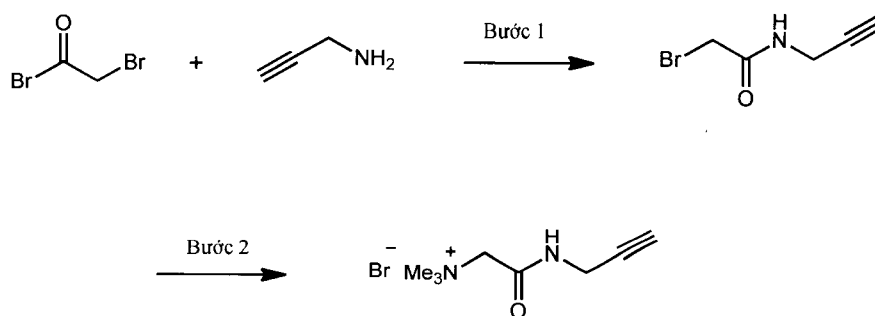
Khuấy nó ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, sau đó gạn, lọc qua xelit và cô đặc trong chân không, thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (15,5g, 96%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $m/z = 527,1$ (M-1). Dữ liệu ^1H NMR là sự trùng khớp chính xác với dữ liệu đã được mô tả trong WO2012073138 (A1).

Chất trung gian M: *tert*-butyl 4-(but-3-yn-1-yl)piperazin-1-carboxylat



Thêm K_2CO_3 (0,55g, 4,02mmol), sau đó Thêm 4-bromo-1-butyne (0,39g, 2,95mmol) vào dung dịch chứa 1-Boc-piperazin (0,5g, 2,68mmol) trong axetonitril (2,5ml). Gia nhiệt hỗn hợp ở 60°C trong 6 giờ, để nhiệt độ về nhiệt độ phòng, pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc (2 x 15ml). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong áp suất chân không để thu hợp chất tiêu đề (0,55g, 86%); LCMS: $m/z = 239,10$ (M+1). Phương pháp 2minLowp.

Chất trung gian N: *N,N,N*-trimetyl-2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)etanaminibromua

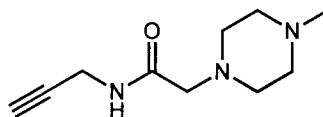


Bước 1: 2-bromo-*N*-(prop-2-yn-1-yl)axetamit. Thêm từng giọt dung dịch chứa propargylamin (0,57g, 10,34mmol) trong DCM (10ml) vào dung dịch chứa bromoaxetyl bromua (2,1g, 10,34mmol) và trietylamin (1,5ml, 10,34mmol) trong DCM (20ml) làm lạnh xuống 0°C , qua khoảng thời gian 5 phút, duy trì việc khuấy trong suốt thời gian Thêm này. Khuấy hỗn hợp ở 0°C trong 2 giờ, ngay sau đó, lọc chất rắn và cô đặc dịch lọc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký cột (60-120 silica

được rây, 50% EtOAc: Hexan), để thu hợp chất tiêu đề (1,3g, 72%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt; LCMS: $m/z = 176,2$ ($M+1$); $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3) δ 6,68 (brs, 1H), 4,09 (dd, $J = 5,4, 2,6$ Hz, 2H), 3,90 (s, 2H), 2,28 (t, $J = 2,6$ Hz, 1H).

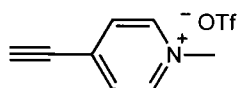
Bước 2: *N,N,N*-trimetyl-2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)etanaminibromua. Thêm trimetylamin (30% trong MeOH, 5ml) vào dung dịch chứa 2-bromo-*N*-(prop-2-yn-1-yl)axetamit (0,6g, 3,4mmol) trong axetonitril (5ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ và cô đặc trong chân không. Nghiền nhỏ phần thu được bằng ete, thu được hợp chất tiêu đề (780mg, 97%); LCMS: $m/z = 155,1$ ($M+1$); $^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,03 (t, $J = 5,3$ Hz, 1H), 4,17 (s, 2H), 3,95 (dd, $J = 5,4, 2,6$ Hz, 2H), 3,23 (s, 9H), 2,09 (s, 1H).

Chất trung gian O: 2-(4-metylpiperazin-1-yl)-*N*-(prop-2-yn-1-yl)axetamit



Thêm từng giọt *N*-metyl piperazin (0,66ml, 5,96mmol) vào dung dịch chứa 2-bromo-*N*-(prop-2-yn-1-yl)axetamit (0,7g, 3,98mmol) trong DCM (10ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, pha loãng bằng DCM và rửa bằng nước và nước muối. Sấy lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Nghiền nhỏ sản phẩm thô bằng ete-pentan, thu hợp chất tiêu đề (0,38g, 49%); LCMS: $m/z = 196,15$ ($M+1$); $^1\text{H NMR}$ (300MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,06 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 3,86 (dd, $J = 5,9, 2,5$ Hz, 2H), 3,07 (t, $J = 2,5$ Hz, 1H), 2,91 (s, 2H), 2,47 – 2,25 (m, 8H), 2,15 (s, 3H).

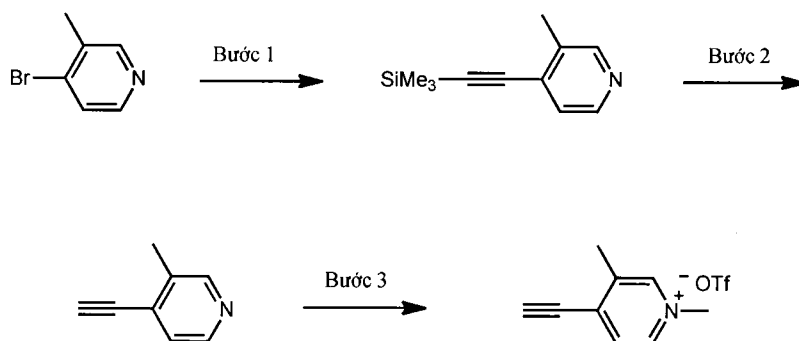
Chất trung gian P: 4-etynyl-1-metylpýridin-1-ium triflometansulfonat



Điều chế theo Rubinsztajn et al. *Tetrahedron Lett*, 1992, 33, 14, 1821-1824. Thêm từ từ dung dịch NaHCO_3 (aq, satd, 10ml) vào huyền phù của 4-etynylpyridinhydroclorua (500mg, 3,58mmol) trong DCM (50ml) ở 0°C . Sau khi

khuấy trong 5 phút, phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng DCM (2 x 10ml). Sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 , cô đặc trong chân không và đưa vào chân không cao trong 10 phút. Hòa tan sản phẩm thô trong DCM (10ml), làm lạnh xuống 0°C và Thêm từng giọt methyltriylat (450 μl , 3,94mmol). Sau khi khuấy trong 30 phút ở 0°C , Thêm ete và thu và sấy khô tua, để thu hợp chất tiêu đề (870mg, 91%) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt. Các dữ liệu phân tích đồng nhất với các giá trị được đưa ra trong các tài liệu chuyên ngành.

Chất trung gian Q: 4-etylnyl-1,3-dimethylpyridin-1-ium triflometansulfonat



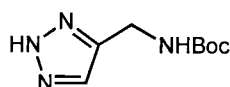
Bước 1: 3-metyl-4-((trimetylsilyl)etylnyl)pyridin. Thêm đồng iotua (450mg, 2,40mmol) và trietylamin (20,0mL, 143,9mmol) vào dung dịch chứa 4-bromo-3-methylpyridinhydroclorua (5,0g, 24,0mmol) trong THF (loại khí, 80ml). Sau khi loại khí trong 15 phút, Thêm paladi tetrakis triphenylphosphin (830mg, 0,72mmol) và trimetylsilylaxetylen (6,10ml, 43,16mmol). Gia nhiệt hỗn hợp ở 50°C trong 16 giờ sau đó làm mát đến nhiệt độ phòng và lọc. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hexan, 10%) để thu hợp chất tiêu đề (3,95g, 87%) ở dạng dầu tối màu nhưng trong.

Bước 2: 4-etylnyl-3-metylpyridin. Điều chế theo phương pháp đã được mô tả trong WO2013/028590. Thêm TBAF (1M trong THF, 40ml, 40mmol) vào dung dịch chứa 4-etylnyl-3-metylpyridin (3,79g, 20mmol) trong THF (50ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hexan, 20-40%) để thu hợp chất tiêu đề (1,70g, 72%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt.

Bước 3: 4-etylnyl-1,3-dimetylpyridin-1-ium triflometansulfonat

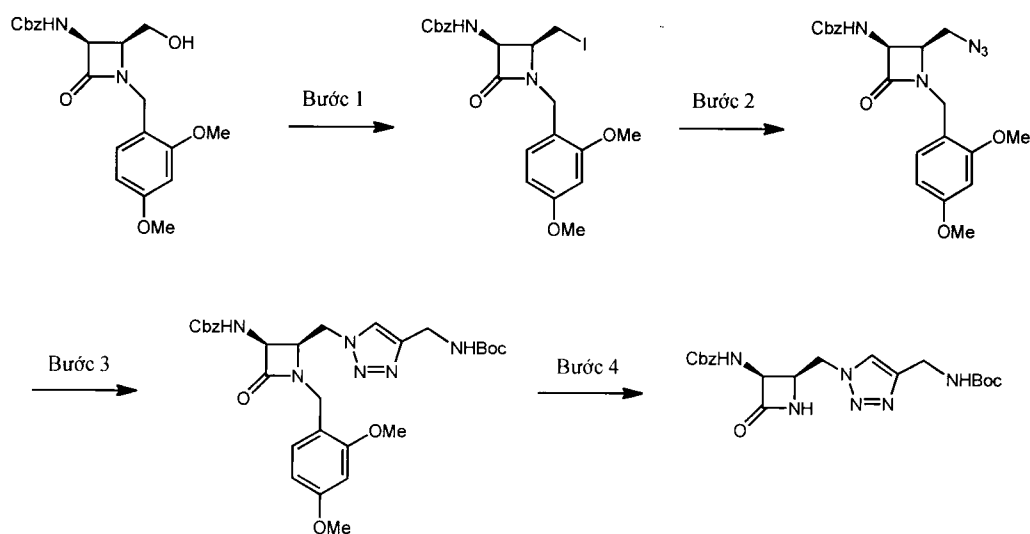
Điều chế theo Rubinsztajn et al. *Tetrahedron Lett*, 1992, 33, 14, 1821-1824. Thêm từng giọt metyltriflat (450 μ l, 3,94mmol) vào dung dịch chứa 4-etylnyl-3-metylpyridin (420mg, 3,58mmol) trong DCM (10ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 30 phút ở 0°C, Thêm ete và thu và sấy khô tua, để thu hợp chất tiêu đề (863mg, 86%) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

Chất trung gian R: *tert*-butyl ((2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamat



Thêm trimetylsilylazit(2,0ml, 15,2mmol) và CuI (95mg, 0,50mmol) vào dung dịch chứa *N*-Boc-propargyl amin (1,60g, 10,3mmol) trong hỗn hợp của DMF:MeOH (4:1, 10ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 100°C trong 16 giờ, ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel, để thu hợp chất tiêu đề (2,0g, 99%) ở dạng dầu màu vàng sáng; LCMS: m/z = 196,9 (M-1) .

Chất trung gian S:



Bước 1: Benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-(iodometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm từng phần iotua (19g, 75mmol) qua khoảng thời gian 10 phút vào dung dịch của chất trung gian G (10g, 25mmol), triphenylphosphin (19,6g, 75mmol)

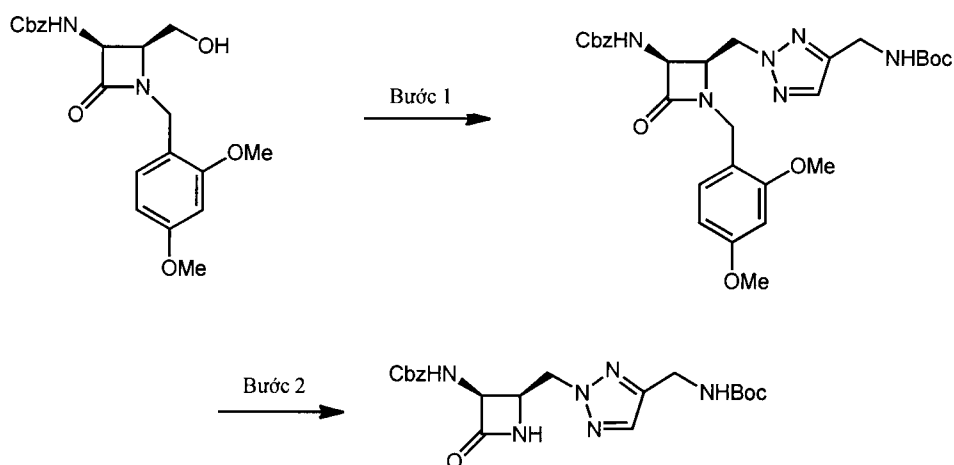
và imidazol (5,1g, 75mmol) trong DCM (150ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, rửa nó bằng dung dịch Na₂S₂O₃ bão hòa (aq), nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ khan cô đặc trong chân không. Tạo huyền phù sản phẩm thô trong EtOAc (150ml) và khuấy trong 16 giờ, ngay sau đó, lọc sản phẩm, sau đó rửa bằng axeton và MeOH, để thu hợp chất tiêu đề (9,8g, 77%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: m/z = 510,8 (M+1).

Bước 2: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-(azidometyl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm TEA (2,73g, 19,6mmol), sau đó Thêm dung dịch chứa tetrabutylamoniazit (3,62g, 12,7mmol) trong THF vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-(iodometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (5,00g, 9,80mmol) trong THF (100ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, lọc sản phẩm và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2%), để thu hợp chất tiêu đề (3,4g, 81%) ở dạng chất rắn màu trắng.

Bước 3: Thêm DMSO: nước: *tert*-butanol (1: 1: 1, 6ml), *tert*-butyl but-3-yn-1-ylcarbamate (2,19g, 14,1mmol), CuSO₄ (56mg, 0,35mmol) và natri L-ascorbat (2,01mg, 10,6mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-(azidometyl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (3,00g, 7,06mmol) trong DCM (6ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, cô đặc một phần hỗn hợp và Thêm nước, ngay sau đó thu chất rắn bằng cách lọc. Huyền phù hóa bánh lọc trong DCM, lọc và cô đặc dịch lọc, thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Bước 4: Thêm kali persulfat (3,82g, 14,1mmol), sau đó Thêm dung dịch chứa dikaliphosphat (3,08g, 17,7mmol) trong nước (25ml) vào dung dịch chứa sản phẩm từ bước 3 (7,06mmol) trong ACN (50ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C trong 4 giờ, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng, lọc và cô đặc trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Chiết dịch lọc bằng EtOAc và cô đặc trong chân không. Rửa sản phẩm thô bằng Hexan và Axeton, để thu hợp chất tiêu đề (1,72g, 57% qua hai bước) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: m/z = 431,1 (M+1).

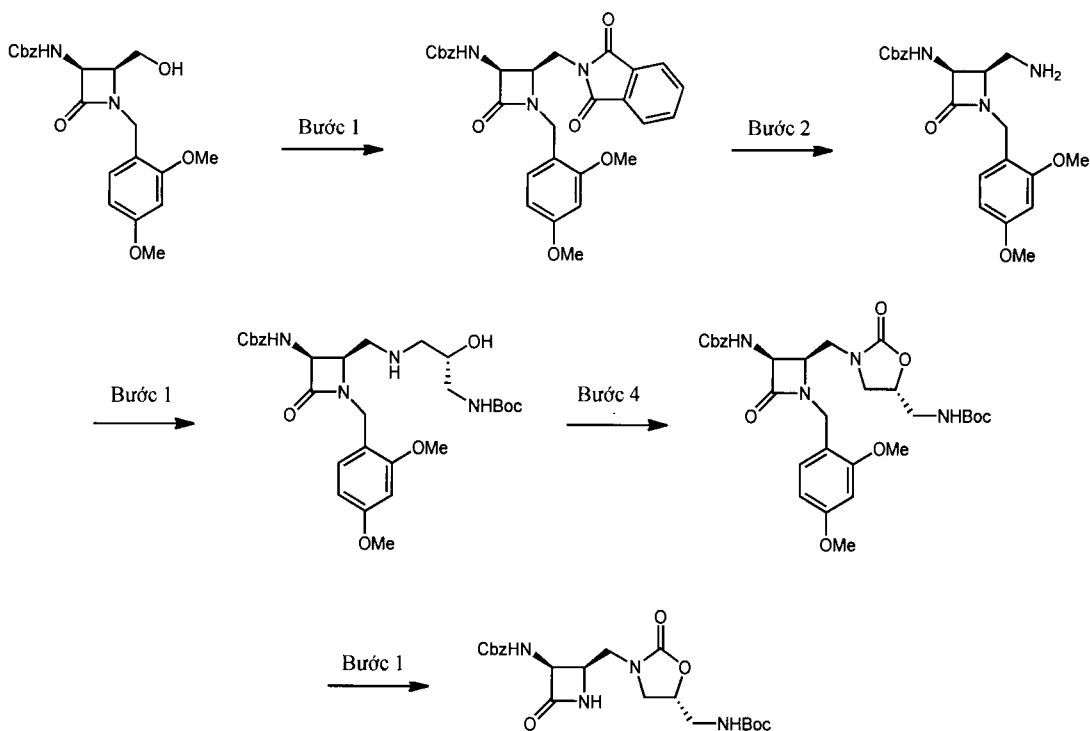
Chất trung gian T



Bước 1: Thực hiện theo quy trình chung đối với phản ứng Mitsunobu. Thêm *tert*-butyl ((2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamate (2,97mg, 15,0mmol), triphenylphosphin (3,93mg, 15,0mmol) và DIAD (3,0ml, 15mmol) trong THF (100ml) vào dung dịch của chất trung gian G (5,00g, 12,5mmol). Tinh chế qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-5%), để thu hợp chất tiêu đề (12,6g, tạp nhiễm bởi triphenylphosphinoxit) ở dạng bột màu trắng.

Bước 2: **Thêm** dung dịch chứa kali persulfat (6,76g, 25,0mmol) và dikaliphosphat (5,44g, 31,2mmol) trong nước (75ml) vào dung dịch chứa sản phẩm từ bước 1 (12,5mmol) trong ACN (150ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C trong 4 giờ, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc. Cô đặc lớp hữu cơ trong chân không và tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel, để thu hợp chất tiêu đề (2,23g, 41% qua hai bước) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 428,9$ (M-1).

Chất trung gian U:



Bước 1: Benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thực hiện theo quy trình chung đối với phản ứng Mitsunobu sử dụng chất trung gian G (5,00g, 12,5mmol), phthalimit (1,83g, 12,5mmol), triphenylphosphin (3,93g, 15,0mmol), DIAD (3,03g, 15,0mmol) và THF (150ml). Sau khi khuấy trong 16 giờ, lọc kết tủa được tạo thành, thu hợp chất tiêu đề (5,67g, 85%) ở dạng chất rắn màu trắng.

Bước 2: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-(aminomethyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm hydrazin hydrat (1,50g, 25,0mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (4,40g, 8,31mmol) trong DCM:MeOH (5:1, 60ml). Sau khi khuấy trong 16 giờ, lọc bỏ kết tủa và cô đặc dịch lọc, thu hợp chất tiêu đề (định lượng) ở dạng chất rắn màu trắng.

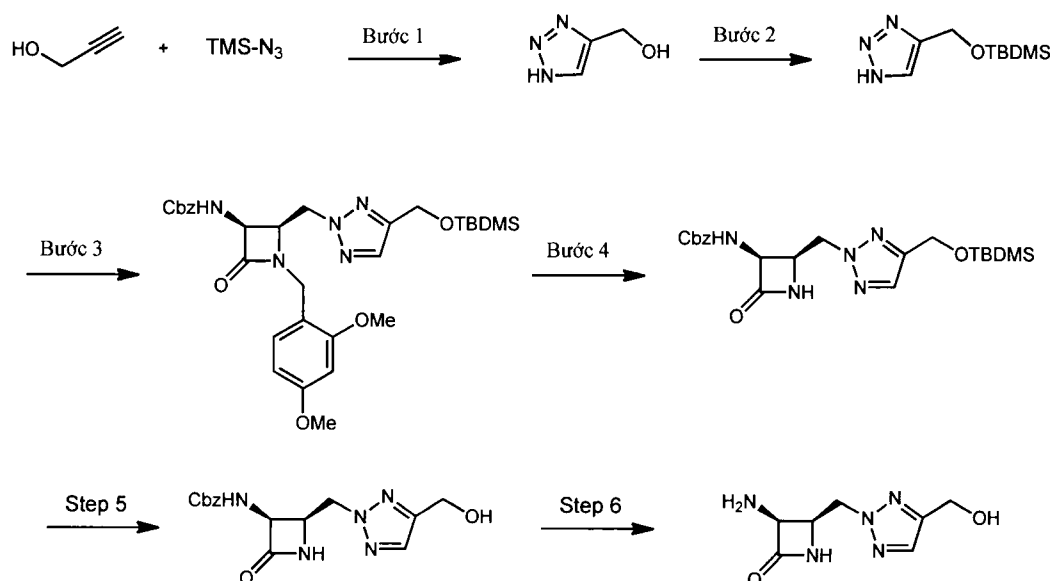
Bước 3: Thêm (*R*)-*tert*-butyl (oxiran-2-ylmethyl)carbamate vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-(aminomethyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (8,31mmol) trong DCM:MeOH (13:1, 43ml). Sau khi khuấy trong 16 giờ cô đặc nó trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-10%), để thu hợp chất tiêu đề (2,2g, 46%) ở dạng bột màu trắng.

Bước 4: Thêm CDI (1,12g, 6,92mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm từ bước 3 (2,20g, 3,85mmol) trong DCM (100ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ, cô

đặc dung dịch trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 1-5%) để thu hợp chất tiêu đề (2,10g, 91%) ở dạng bột màu trắng.

Bước 5: Thêm dung dịch chứa kali persulfat (1,89g, 7,02mmol) và dikaliphosphat (1,52g, 8,75mmol) trong nước (20ml) vào dung dịch chứa sản phẩm từ bước 4 (2,10g, 3,51mmol) trong ACN (40ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C trong 4 giờ sau đó làm mát đến nhiệt độ phòng và lọc. Cô đặc dịch lọc, chiết bằng EtOAc và cô đặc lớp hữu cơ. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-5%), để thu hợp chất tiêu đề (660mg, 42%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $m/z = 449,09$ (M+1).

Chất trung gian V:



Bước 1: (1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol. Thêm CuI (1,9g, 10mmol) và trimethylsilyl azit (34,6g, 300mmol) vào dung dịch chứa propargyl alcohol (11,2g, 200mmol) trong DMF (160ml) và MeOH (40ml). Sau khi gia nhiệt đến 100°C trong 16 giờ, làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng và lọc qua xelit. Cô đặc dịch lọc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). Sử dụng luôn hợp chất thô trong bước tiếp theo.

Bước 2: 4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-1H-1,2,3-triazol. Thêm từng phần imidazol (20,4g, 300mmol) sau đó Thêm TBDMS-Cl (33,3g, 220mmol) ở dạng chất rắn vào dung dịch chứa (1H-1,2,3-triazol-4-yl)methanol (30g, 200mmol) trong

DCM (160ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit, và cô đặc dịch lọc trong chân không. Hòa tan phần thu được trong EtOAc (500ml) và rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄, và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hexan, 5-30%) để thu hợp chất tiêu đề (30,2g, 71%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Bước 3: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm từ từ DIAD (0,57g, 2,81mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (0,94g, 2,34mmol), 4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol (0,5g, 2,34mmol), và PPh₃ (0,74g, 2,81mmol) trong THF (20ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hexan, 20-30%) để thu hợp chất tiêu đề (1,25g, 89%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: *m/z* = 594,3 (M-1).

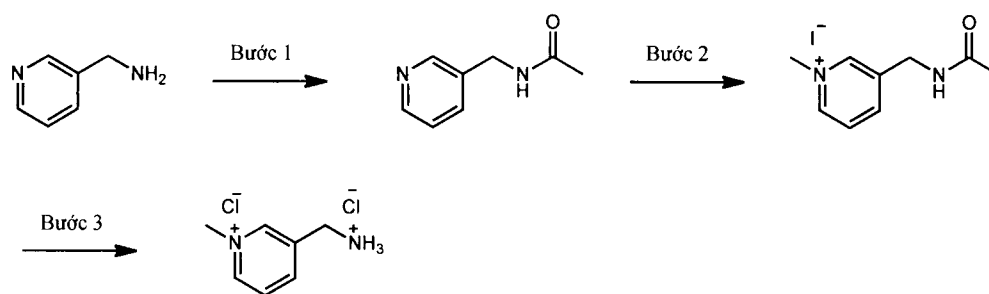
Bước 4: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm K₂S₂O₈ (0,73g, 2,7mmol), sau đó Thêm dung dịch chứa K₂HPO₄ (0,84g, 4,8mmol) trong nước (10ml) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (1,25g, 2,1mmol) trong CH₃CN (20ml), sau khi khuấy ở 90°C trong 1 giờ, bổ sung Thêm K₂S₂O₈ (0,23g, 0,84mmol). Sau khi gia nhiệt ở 90°C trong 2 giờ nữa, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Chiết phần thu được bằng EtOAc (2 x 30ml). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 1-3%) để thu hợp chất tiêu đề (0,44g, 47%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: *m/z* = 446,2 (M+1).

Bước 5: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hydroxymethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm từ từ TBAF (1M trong THF, 26,6ml, 26,6mmol) qua khoảng thời gian 15 phút vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (10,8g, 24,4mmol) trong THF (100ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1,5 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua

sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 1-5%) để thu hợp chất tiêu đề (6,8g, 85%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $m/z = 330,0$ ($M+1$).

Bước 6: (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((4-(hydroxymetyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)azetidin-2-on. Thêm Pd/C (10%, 0,51g, 4,65mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hydroxymetyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (1,54g, 4,65mmol) trong EtOH (50ml) và EtOH (25ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit, và cô đặc dịch lọc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). Sản phẩm thô được sử dụng luôn trong bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,12$ min, $m/z = 198,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Chất trung gian W: 3-(amoniometyl)-1-metylpyridin-1-ium clorua



Bước 1: *N*-(pyridin-3-ylmetyl)axetamit

Điều chế theo Plater et al. *Org. Biomol. Chem*, 2009, 7, 1633. Thêm anhydrit axetic (10,47ml, 111mmol) vào dung dịch chứa pyridin-3-ylmetanamin (9,42ml, 92mmol) trong nước (103ml) ở 10°C, khuấy ở tốc độ sao cho nhiệt độ bên trong không tăng trên 25°C. Sau khi khuấy Thêm 18 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không sau đó làm đồng bay hơi với toluen (3x) để thu hợp chất tiêu đề (14,22g, định lượng) ở dạng dầu trong. LCMS: $R_t = 0,12$ min, $m/z = 151,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_c có tính axit. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8,49 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H) 7,65 (dd, $J = 7,8, 1,6$ Hz, 1H) 7,30-7,24- (m, 1 H) 6,59-6,49 (m, 1 H) 4,43 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H) 2,02 (s, 3H).

Bước 2: 3-(axetamidometyl)-1-metylpyridin-1-ium iotua

Thêm metyliotua (8,10ml, 129mmol) vào dung dịch chứa *N*-(pyridin-3-ylmetyl)axetamit (13,89g, 92mmol) trong DCM ở 0°C. Gạn bỏ mỡ được làm mát sau 10 phút và khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 19 giờ, ngay sau đó, cô đặc nó

trong chân không và sử dụng làm nguyên liệu thô trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,18$ min, $m/z = 164,9$ (M^+) Phương pháp 2m_có tính axit. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8,91-8,87 (m, 2H) 8,58 (brs, 1H) 8,42 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) 8,09 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H) 4,43 (d, $J = 5,9$ Hz, 2H) 4,35 (s, 3H) 1,92 (s, 3H)

Bước 3: 3-(amoniometyl)-1-metylpyridin-1-ium clorua

Gia nhiệt huyền phù của 3-(axetamidometyl)-1-metylpyridin-1-ium iotua (26,9g, 92mmol) trong HCl (6N, 307ml, 1,84mol) đến 100°C trong 3 giờ. Cô đặc dung dịch trong áp suất giảm (nhiệt độ của bể là 80°C). Rắn hóa đầu màu đỏ thu được qua đêm và nghiền nhỏ bằng MeOH và lọc để thu hợp chất tiêu đề (8,76g, 49%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. Cô đặc dịch lọc đến đầu màu đỏ, sau khi làm dừng trong 4 ngày, thu chất rắn được tạo thành và rửa bằng MeOH lạnh, thu được mẻ thứ hai (6,5g, 36%). LCMS: $R_t = 0,11$ min, $m/z = 123,0$ (M^+) Phương pháp 2m_có tính axit. 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,18 (s, 1H) 9,03 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H) 8,66 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H) 8,45 (brs, 3H) 8,24 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H) 4,38 (s, 3H) 4,30 (s, 2H).

Các chất trung gian nêu trên, và các hợp chất tương tự được tạo ra bằng các phương pháp tương tự này, có thể được sử dụng để điều chế hợp chất có công thức (I) bằng các sơ đồ tổng hợp được đề xuất ở đây. Các ví dụ dưới đây minh họa việc tổng hợp các chất có công thức (I) được chọn và đề xuất các phương pháp có thể được thay đổi để tổng hợp các hợp chất có công thức (I) khác.

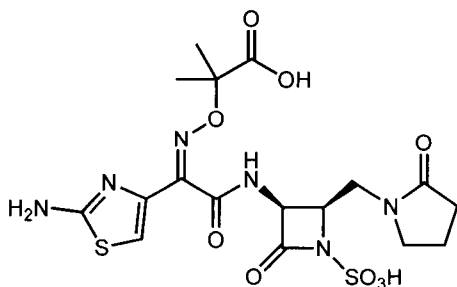
Ví dụ 1. Axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Gia nhiệt dung dịch chứa Chất trung gian L (100mg, 0,190mmol), metyl-4-bromobutyrat (25 μ L, 0,194mmol) và TEA (27 μ L, 0,194mmol) trong DMF (1,3ml) đến 70°C trong 16 giờ trong khi khuấy, ngay sau đó nhiệt sau đó đã tăng lên đến 90°C. Sau 6 giờ gia nhiệt bổ sung pha loãng nó

bằng HCl (1N) và EtOAc. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng dung dịch LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh sạch sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 50-100% sau đó MeOH-EtOAc, 0-7%), thu hợp chất tiêu đề (21mg, 18%) ở dạng bột. LCMS: R_t = 0,88 min, m/z = 595,4 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 2: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (43mg, 0,072mmol) trong DMF (725μl) bằng SO₃•DMF (111mg, 0,725mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó pha loãng bằng EtOAc và rót vào trong dung dịch (5% aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (55mg) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,77 min, m/z = 675,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}. Nó được sử dụng trong bước 3 không cần tinh chế Thêm.

Bước 3: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic (55mg, 0,072mmol), DCM (720μl) và TFA (333μl, 4,32mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH,

19x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (6mg, 16%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,35min, m/z = 519,0 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,17 (s, 1H), 5,46 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 4,71-4,64 (m, 1H), 3,92 (dd, J = 14,7, 8,7 Hz, 1H), 3,71-3,55 (m, 2H), 3,49 (dd, J = 14,7, 4,1 Hz, 1H), 2,42 (td, J = 8,0, 4,8 Hz, 2H), 2,08 (p, J = 7,6Hz, 2H), 1,55 (s, 3H), 1,54 (s, 3H).

Ví dụ 2: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)etyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Gia nhiệt ở 80°C dung dịch của chất trung gian L (500mg, 0,949mmol) và (2-bromoetoxy)(*tert*-butyl)dimetylsilan (204 μ l, 0,949mmol) trong ACN (3,2ml) trong thiết bị vi sóng trong 30 phút sau đó giữ ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Tái gia nhiệt nó đến 100°C trong 45 phút trong thiết bị vi sóng sau đó giữ ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, ngay sau đó, pha loãng nó bằng EtOAc và rửa bằng natri carbonat (2M, aq), sấy qua natri sulfat và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100% sau đó MeOH-DCM, 10%) để thu hợp chất tiêu đề (111mg, 17%). LCMS: R_t = 1,03 min, m/z = 685,4 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8,17 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 6,30 (br s, 1H) 5,57-5,50 (m, 1H) 4,09-4,01 (m, 1H) 3,77-3,61 (m, 3H) 3,09 (dd, J = 12,6, 3,7 Hz, 1H) 2,87-2,71 (m, 3H) 1,56 (s, 6H) 1,53 (s, 9H) 1,44 (s, 9H) 0,86 (s, 9H) 0,03 (s, 3H), 0,03 (s, 3H).

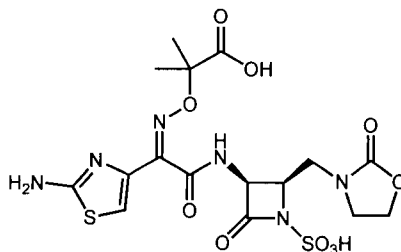
Bước 2: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-hydroxyetyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Điều chế theo Seki et al. *Synlett*, 1995, 609-611. Thêm amonifloruahydroflorua (37,0mg, 0,648mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)etyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (111mg, 0,162mmol) trong DMF:NMP

(2,7:1, 1,62ml). Sau khi khuấy trong 65 giờ, pha loãng dung dịch bằng nước và chiết bằng EtOAc. Sấy lớp hữu cơ qua natri sulfat và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (92mg, 99%). Nguyên liệu thô này được sử dụng trực tiếp trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,76$ min, m/z 571,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Điều chế theo PCT Int. Appl. 2011061760. Xử lý dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-hydroxyetyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (92mg, 0,161mmol) trong clorofom (806μl) bằng CDI (131mg, 0,806mmol), sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%), thu hợp chất tiêu đề (91mg, 95%) ở dạng dầu màu cam. LCMS: $R_t = 0,86$ min, $m/z = 597,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit (3*S*,4*R*)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (91mg, 0,153mmol) trong DMF (Thể tích: 763μl) bằng SO₃•DMF (234mg, 1,525mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước muối (3x), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, thu hợp chất tiêu đề (100mg, 97%) ở dạng dầu màu cam. LCMS: $R_t = 0,78$ min, $m/z = 677,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic (100mg, 0,148mmol), DCM (1,5ml) và TFA (569μl, 7,39mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (10mg, 12%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,32 min, m/z = 521.0 (M+1). Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,33 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 5,22 (dd, *J* = 8,8, 5,7 Hz, 1H), 4,23-4,11 (m, 3H), 3,75-3,62 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,60-3,51 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,34 (dd, *J* = 14,6, 5,5 Hz, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,40 (s, 3H).

Ví dụ 3: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)etyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetylidene)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Xử lý dung dịch của chất trung gian L (650mg, 1,234mmol) và (9H-fluoren-9-yl)metyl (2-oxoetyl)carbamate (365mg, 1,234mmol) trong DCE (12,3ml) bằng natri triaxetoxyborohydrua (1,377g, 6,17mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ, làm ngừng nó bằng NaHCO₃ bão hòa (aq) và chiết bằng EtOAc. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%), để thu hợp chất tiêu đề (435mg, 45%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 1,00 min, m/z = 792,3 (M+1) Phương pháp

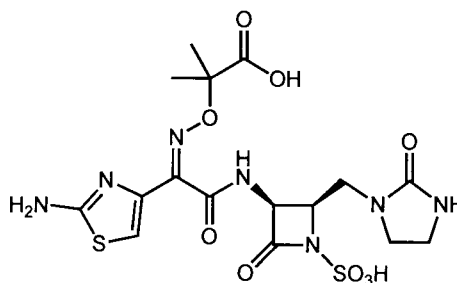
2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,11 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,35 (s, 1H), 7,89 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,67 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,41 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 7,32 (td, $J = 7,4, 1,2$ Hz, 2H), 7,27 (s, 1H), 7,19 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 5,20 (dd, $J = 9,1, 5,0$ Hz, 1H), 4,30 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H), 4,24-4,17 (m, 1H), 3,76 (ddd, $J = 8,8, 5,3, 3,7$ Hz, 1H), 3,11-2,97 (m, 2H), 2,76 (dd, $J = 12,5, 3,7$ Hz, 1H), 2,63-2,52 (m, 3H), 1,45 (s, 9H), 1,42 (s, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,38 (s, 9H).

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Xử lý dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-(((9H-fluoren-9-yl)metoxy)carbonyl)amino)ethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (435mg, 0,549mmol) trong DMF (2,75ml) bằng piperidin (1,1ml, 11mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ pha loãng nó bằng toluen và cô đặc (3x). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (238mg, 64%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,68$ min, $m/z = 570,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,12 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 8,38 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 5,17 (dd, $J = 8,3, 4,9$ Hz, 1H), 3,76 (dt, $J = 8,7, 4,7$ Hz, 1H), 2,81-2,51 (m, 6H), 1,44 (s, 9H), 1,41 (s, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,38 (s, 9H).

Bước 3: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm CDI (98mg, 0,604mmol), sau đó Thêm TEA (105 μ l, 0,756mmol) vào dung dịch of *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (100mg, 0,151mmol) trong clorofom (756 μ l). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (73mg, 81%) ở dạng chất rắn màu trắng. Nó được sử dụng làm nguyên liệu thô trong bước 4. LCMS: $R_t = 0,70$ min, $m/z = 596,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit (3S,4R)-3-(((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (73mg, 0,123mmol) trong DMF (613 μ l) bằng SO₃•DMF (94mg,0,613mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước muối (3x), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (99mg) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,74 min, m/z = 676,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 5: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-(((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic (99mg,0,147mmol), DCM (1,47ml) và TFA (566 μ l, 7,35mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (4,8mg) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,31min, m/z = 520,0 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,25 (dd, *J* = 9,0, 5,0 Hz, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,21 (dd, *J* = 9,0, 5,8 Hz, 1H), 4,06-4,00 (m, 1H), 3,65 (dd, *J* = 14,5, 4,7 Hz, 1H), 3,33-3,30 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,25 (dd, *J* = 14,5, 6,9 Hz, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,17 (ddd, *J* = 16,7, 8,6, 6,7 Hz, 2H), 1,43 (s, 3H), 1,42 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 4: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: Nạp chất trung gian A (1,50g, 3,13mmol), chất trung gian B (1,108g, 4,70mmol), K_2CO_3 (1,733g, 12,54mmol), NaI (564mg, 3,76mmol) và DMF (10ml) vào bình áp suất dung tích 75ml sau đó gia nhiệt đến 70°C cùng với khuấy. Sau 3 giờ, bổ sung Thêm chất trung gian B (1,108g, 4,70mmol), K_2CO_3 (1,733g, 12,54mmol) và NaI (394mg, 2,63mmol) và tiếp tục gia nhiệt. Sau tổng thời gian gia nhiệt là 8 giờ giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng EtOAc/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (3x), sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Kết hợp phần thu được với mẫu khác có cùng quy mô và quy trình và tinh chế qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 0-30%), thu được chất đồng phân 2H-tetrazol (2,15g, 60%) và chất đồng phân 1H-tetrazol (443mg, 12%) ở dạng chất rắn màu trắng. A-LCMS: $R_t = 0,97$ min, $m/z = 582,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; B-LCMS: $R_t = 0,93$ min, $m/z = 582,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Được điều chế theo Mastalerz et al. *J. Med. Chem.*, 1988, 31, 1190. Thêm $K_2S_2O_8$ (1,40g, 5,18mmol), sau đó Thêm K_2HPO_4 (837mg, 4,81mmol) vào dung dịch chứa chất đồng phân 2H-tetrazol (2,15g, 3,70mmol) từ bước 1 trong ACN:nước (2:1, 61,5ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C trong 1,5 giờ, ngay sau đó, bổ sung Thêm $K_2S_2O_8$ (300mg, 1,11mmol) và K_2HPO_4 (167mg, 0,961mmol). Sau 3,5 giờ gia nhiệt bổ sung ở 90°C, pha loãng nó bằng ACN và cô đặc trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (5x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 50%), để thu hợp chất tiêu đề (785mg, 49%). LCMS: $R_t = 0,77$ min, $m/z = 432,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; 1H NMR (500MHz, $ACN-d_3$) δ 7,49-7,30 (m, 5H), 6,76 (br s, 1H), 6,55-6,41 (m, 1H), 5,85 (brs, 1H), 5,03-5,21 (m, 3H), 4,88-4,71 (m, 2H), 4,52-4,43 (m, 3H), 4,39-4,24 (m, 1H), 1,50-1,35 (m, 9H).

Bước 3: *tert*-butyl ((2-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2H-tetrazol-5-yl)metyl)carbamate. Điều chế theo quy trình được mô tả trong Malmström et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012, 22, 5293. Dung dịch chứa hợp chất từ bước 2

(785mg, 1,819mmol) trong EtOAc:MeOH (5:1, 65ml) được xả khí và nạp đầy lại bằng agon (2x) sau đó Thêm lượng bổ sung của Pd trên C (10%, 581mg). Xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H₂ (3x). Sau khi khuấy 21 giờ, lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH, cô đặc trong chân không, cho vào toluen và tái cô đặc(3x). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: R_t = 0,37 min, m/z = 298,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat.

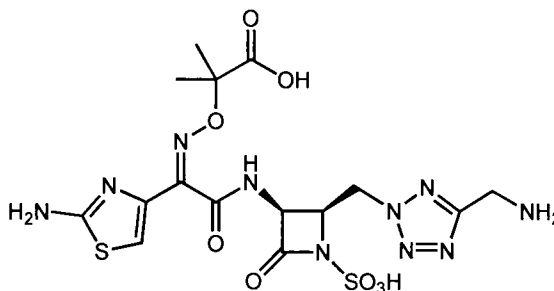
Thêm DIPEA (953μl, 5,46mmol), sau đó Thêm HATU (830mg, 2,18mmol) vào dung dịch chứa axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (938mg, 2,18mmol) trong DCM:DMF (5:1, 8,5ml) ở 0°C. Thêm dung dịch chứa *tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-tetrazol-5-yl)methyl)carbamate (541mg, 1,82mmol) trong DCM:DMF (5:1, 8,5ml) vào dung dịch thu được. Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ sau đó cô đặc trong chân không, hòa tan trong EtOAc và rửa bằng nước muối. Chiết lớp nước bằng EtOAc và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (3x), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 30-50%), để thu hợp chất tiêu đề (897mg, 70%) ở dạng chất rắn màu tím. LCMS: R_t = 1,01 phút, m/z = 709,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic.

Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (200mg, 0,282mmol) trong DMF (2ml) bằng SO₃•DMF (432mg, 2,82mmol). Dung dịch màu tím ngay lập tức trở thành màu xanh lục. Sau 20 phút khuấy, bổ sung Thêm SO₃•DMF (432mg, 2,82mmol). Sau 20 phút bổ sung, bổ sung

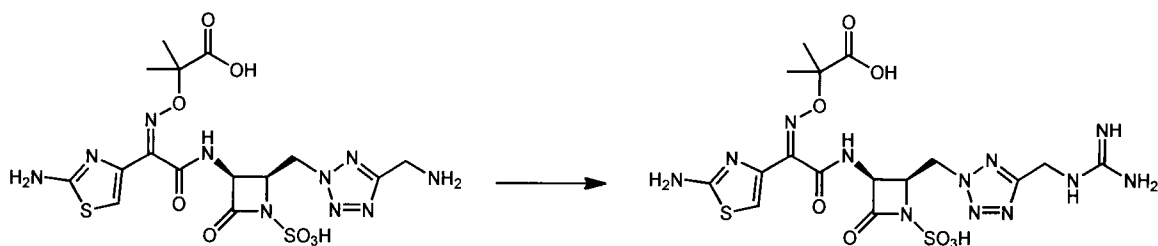
Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (432mg, 2,82mmol). Sau 20 phútpha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (185mg, 83%). LCMS: $R_t = 0,91$ min, $m/z = 789,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (185mg, 0,234mmol), DCM (2,34ml) và TFA (1,08ml, 14,06mmol) trong 1,5 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (55,5mg, 45%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,30$ min, $m/z = 533,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,34 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 8,55 (br s, 3H), 7,34 (br s, 2H), 6,73 (s, 1H), 5,37 (dd, $J = 8,7, 5,5$ Hz, 1H), 5,19-5,13 (m, 1H), 5,01-4,94 (m, 1H), 4,62-4,57 (m, 1H), 4,43-4,37 (m, 2H), 1,38 (s, 3H) 1,34 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 5: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-(guanidinometyl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm DIPEA (26,2μl, 0,150mmol) vào dung dịch chứa axit 2-((((Z)-2-((((2R,3S)-2-((5-(aminomethyl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethylidene)amino)oxy)-2-methylpropanoic (20mg, 0,038mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (11,6mg, 0,079mmol) trong DMF (376μl). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ cô đặc dung dịch trong chân không. Thêm toluen và tái cô đặc hỗn hợp này (3x). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (11mg, 45%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 575,2$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ7,49-7,04 (m, 5H), 6,74 (br s, 1H), 5,26 (br s, 1H), 5,14-5,07 (m, 1H), 4,98-4,90 (m, 1H), 4,65 (br s, 2H), 4,59-4,52 (m, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 6: axit 2-((((Z)-2-((((2R,3S)-2-((5-(aminomethyl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethylidene)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

Bước 1: Điều chế theo phương thức tương tự với Ví dụ 4, bước 2 sử dụng chất đồng phân 1H-tetrazol thích hợp thu được trong Bước 1 trong ví dụ 4 (442mg, 0,760mmol), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (288mg, 1,064mmol) và K_2HPO_4 (172mg, 0,988mmol) trong ACN:nước (2:1, 12,6ml) ở 90°C trong 1,5 giờ. Bổ sung Thêm $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (62mg, 0,228mmol) và K_2HPO_4 (42mg, 0,198mmol) và gia nhiệt nó trong 3,5 giờ nữa sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng ACN và cô đặc trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (5x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 . Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 50%), để thu hợp

chất tiêu đề (179mg, 54%). LCMS: $R_t = 0,72$ min, $m/z = 432,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: *tert*-butyl ((1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3, sử dụng sản phẩm của Bước 1 (179mg, 0,415mmol) và Pd trên C (10%, 132mg) trong EtOAc:MeOH (10:1, 13,8ml) trong 21 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: $R_t = 0,37$ min, $m/z = 298,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

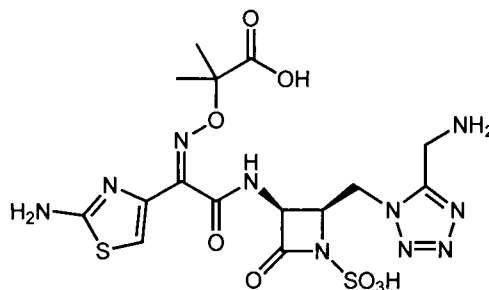
Bước 3: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-tetrazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (214mg, 0,498mmol), DIPEA (953μl, 5,46mmol) và HATU (830mg, 2,18mmol) trong DCM:DMF (5:1, 3,6ml) ở 0°C, sau đó Thêm dung dịch chứa *tert*-butyl ((1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-tetrazol-5-yl)methyl)carbamate (123mg, 0,415mmol) trong DCM:DMF (4,3:1, 3,7ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ nó được đưa vào quy trình điều chế giống hệt sau đó tinh chế qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM), để thu hợp chất tiêu đề (174mg, 59%) ở dạng chất rắn màu tím nhạt. LCMS: $R_t = 1,03$ min, $m/z = 709,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit (2*R*,3*S*)-3-(((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-tetrazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 4 sử dụng *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-tetrazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (100mg, 0,141mmol) và SO₃•DMF (216mg, 1,41mmol) trong DMF (1,4ml) trong 20 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó tiến hành tương tự để thu hợp chất tiêu đề (100mg, 89%). LCMS: $R_t = 0,91$ min, $m/z = 789,1$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (100mg, 0,126mmol), DCM (1,26ml) và TFA (584μl, 7,58mmol) trong 1,5 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (18,7mg, 28%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 533,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ9,21 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,28 (s, 2H), 6,79 (s, 1H), 5,35 (dd, $J = 8,8, 5,8$ Hz, 1H), 4,79-4,61 (m, 2H), 4,59-4,53 (m, 1H), 4,47-4,35 (m, 2H), 1,36 (br s, 6H).

Ví dụ tham khảo 7: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-metyl-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1, hợp chất 1: Benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((5-metyl-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate.

Bước 1.Hợp chất 2: Benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 1 sử dụng chất trung gianA (1,0g, 2,1mmol), 5-metyl-2H-tetrazol (527mg, 6,27mmol), K_2CO_3 (1,44g, 10,5mmol), NaI (470mg, 3,13mmol) trong DMF (10ml) ở 70°C trong 4 giờ. Không có

sự bổ sung chất phản ứng nào khác là cần thiết. Sau khi giảm nhiệt đến nhiệt độ phòng pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM), để thu hợp chất tiêu đề 1 (680mg, 70%) và hợp chất tiêu đề 2 (221mg, 23%) ở dạng các chất rắn. 1-LCMS: R_t = 0,87 min, m/z = 467,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; 2-LCMS: R_t = 0,80 min, m/z = 467,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((5-metyl-2*H*-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 2 sử dụng benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((5-metyl-2*H*-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (202mg, 0,433mmol), K₂S₂O₈ (164mg, 0,606mmol) và K₂HPO₄ (98mg, 0,563mmol) trong ACN:nước (2:1, 7,4ml) ở 90°C trong 1,5 giờ. Bổ sung Thêm K₂S₂O₈ (35mg, 0,13mmol) và K₂HPO₄ (20mg, 0,11mmol) và gia nhiệt trong khoảng thời gian bổ sung là 30 phút, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng sau đó cô đặc trong chân không. Pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%), để thu hợp chất tiêu đề (111mg, 81%). LCMS: R_t = 0,58 min, m/z = 317,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7,43-7,30 (m, 5H), 6,34 (br s, 1H), 6,01 (br s, 1H), 5,28-5,21 (m, 1H), 5,20-5,12 (m, 3H), 4,92 (dd, *J* = 14,3, 3,9 Hz, 1H), 4,68 (dd, *J* = 14,2, 7,9 Hz, 1H), 4,48-4,27 (m, 2H), 2,53 (s, 3H).

Bước 3: (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((5-metyl-2*H*-tetrazol-2-yl)metyl)azetidin-2-on. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((5-metyl-2*H*-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (111mg, 0,351mmol) và Pd trên C (10%, 50mg) trong EtOAc:MeOH (5:1, 7,0ml) trong 3 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: R_t = 0,14 min, m/z = 183,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metyl-2*H*-tetrazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (130mg, 0,302mmol), DIPEA (158μl, 0,906mmol) và HATU (138mg, 0,362mmol) trong

DCM:DMF (2:1, 3,0ml) ở 0°C, sau đó Thêm dung dịch chứa (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((5-methyl-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)azetidin-2-on(55mg, 0,30mmol) trong DCM:DMF (2:1, 3,0ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, cô đặc nó trong chân không, hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước sau đó nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM), để thu hợp chất tiêu đề (179mg, 99%) ở dạng chất rắn. LCMS: R_t = 0,93 min, m/z = 594,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-methyl-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 4 sử dụng *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-methyl-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (179mg, 0,302mmol) và SO₃•DMF (462mg, 3,02mmol) trong DMF (3,0ml) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: R_t = 0,80 min, m/z = 674,1 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-methyl-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic. Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-methyl-2*H*-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (203mg, 0,302mmol), DCM (3,0ml) và TFA (1,39ml, 18,1mmol) trong 2 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (37mg, 24%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,35 min, m/z = 518,1 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,03 (s, 1H), 5,37 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 5,08-4,97 (m, 1H), 4,90-4,80 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 1,32 (s, 3H), 1,31 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 8: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: Benzyl ((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 2 sử dụng benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (221mg, 0,474mmol), K₂S₂O₈ (179mg, 0,663mmol) và K₂HPO₄ (107mg, 0,616mmol) trong ACN:nước (2:1, 7,9ml) ở 90°C trong 1,5 giờ. Bổ sung Thêm K₂S₂O₈ (38,4mg, 0,142mmol) và K₂HPO₄ (21,5mg, 0,123mmol) và gia nhiệt trong khoảng thời gian bổ sung là 30 phút, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng sau đó cô đặc trong chân không. Pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%), để thu hợp chất tiêu đề (97mg, 65%). LCMS: R_t = 1,00 min, m/z = 317,3 (M+1) Phương pháp 2m₊ có tính axit.

Bước 2: (3S,4R)-3-amino-4-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)azetidin-2-on.

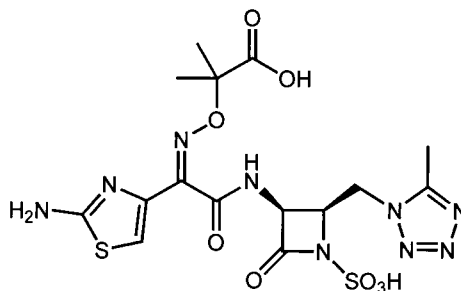
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng benzyl ((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (97mg, 0,31mmol) và Pd trên C (10%, 50mg) trong EtOH:MeOH (5:1, 3,0ml) trong 3 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: R_t = 0,11 min, m/z = 183,2 (M+1) Phương pháp 2m₊ có tính axit.

Bước 3: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng axit (Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (130mg, 0,302mmol), DIPEA (158μl, 0,906mmol) và HATU (115mg, 0,302mmol) trong DCM:DMF (2:1, 3,0ml) ở 0°C, sau đó Thêm dung dịch chứa (3S,4R)-3-amino-4-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)azetidin-2-on (55mg, 0,30mmol) trong DCM:DMF (2:1, 3,0ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, cô đặc nó trong chân không, hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước sau đó nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Aceton-DCM), để thu hợp

chất tiêu đề (133mg, 74%) ở dạng chất rắn. LCMS: $R_t = 0,92$ min, $m/z = 594,2$ ($M+1$)
Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 4 sử dụng *tert*-butyl 2-(((Z)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (133mg, 0,224mmol) và $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (343mg, 2,24mmol) trong DMF (2,24ml) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: $R_t = 0,85$ min, $m/z = 674,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-metyl-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (151mg, 0,224mmol), DCM (2,24ml) và TFA (1,04ml, 13,45mmol) trong 2 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (14,4mg, 11%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,55$ min, $m/z = 518,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,04 (s, 1H), 5,37 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 4,83-4,77 (m, 1H), 4,76-

4,54 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi dung môi), 2,48 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,33 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 9: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: benzyl ((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Nạp chất trung gianA (250mg, 0,522mmol), 1,2,4-triazol (54mg, 0,784mmol), K₂CO₃ (215mg, 1,56mmol), NaI (94mg, 0,63mmol) và DMF (2ml) vào ống vi sóng thể tích 20mlsau đó gia nhiệt đến 70°C cùng với khuấy. Sau 4 giờ, bổ sung Thêm 1,2,4-triazol (54mg, 0,784mmol), K₂CO₃ (215mg, 1,56mmol) và NaI (94mg, 0,63mmol) và tiếp tục gia nhiệt. Sau tổng thời gian gia nhiệt là 7 giờ, giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng DCM/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Thêm toluen và cô đặc nó trong chân không (nhiệt độ mẻ là 40°C). Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-Heptan, 50%) để thu hợp chất tiêu đề (156mg, 66%). LCMS: Rt = 0,77 min, m/z = 452,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 2: Benzyl ((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 2 sử dụng benzyl ((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (101mg, 0,224mmol), K₂S₂O₈ (85mg, 0,313mmol) và K₂HPO₄ (50,7mg, 0,291mmol) trong ACN:nước (2:1, 61,5ml) trong khi gia nhiệt trong 2 giờ ở 90°C. Bổ sung Thêm K₂S₂O₈ (18,1mg, 0,067mmol) và K₂HPO₄ (10,1mg, 0,058mmol) và gia nhiệt tiếp trong 1,5 giờ. Bổ sung Thêm K₂S₂O₈ (18,1mg, 0,067mmol) và K₂HPO₄ (10,1mg, 0,058mmol) và gia nhiệt tiếp trong 1 giờ. Pha loãng nó bằng ACN và cô đặc trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước/DCM sau đó bổ sung EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (5x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 10%) để thu hợp chất tiêu đề (38mg, 56%). LCMS: Rt = 0,50 min, m/z = 302,2 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}; ¹H NMR (500MHz, ACN-d₃)

δ 8,17 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,49-7,31 (m, 4H), 6,82-6,74 (m, 1H), 6,67 (br s, 1H), 5,18-5,01 (m, 3H), 4,49-4,42 (m, 1H), 4,37-4,30 (m, 1H), 4,21 (q, $J = 5,4$ Hz, 1H).

Bước 3: (3*S*,4*R*)-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on. Thêm Pd đen (6,7mg,0,063mmol), sau đó Thêm axit formic (339 μ l, 8,83mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (38mg,0,126mmol) trong MeOH (5ml). Sau 1 giờ khuấy, lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH, và cô đặc dịch lọc trong chân không. Đông khô dung dịch và nguyên liệu thô được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,14$ min, $m/z = 168,1$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

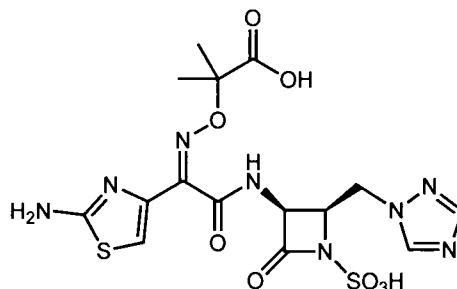
Bước 4: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm DIPEA (88 μ L, 0,504mmol), sau đó Thêm HATU (72mg,0,190mmol) vào huyền phù đặc của axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (81mg, 0,19mmol) trong DCM (800 μ L) ở 0°C. Thêm một vài giọt DMF để đồng nhất hỗn hợp này. Thêm dung dịch chứa (3*S*,4*R*)-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on (21mg, 0,126mmol) trong DCM (1ml) vào dung dịch thu được. Sau khi khuấy 1,5 giờ, pha loãng nó bằng nước/DCM và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (47mg, 65%). LCMS: $R_t = 0,88$ min, $m/z = 579,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic.

Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (44mg, 0,076mmol) trong DMF (760 μ L) bằng SO₃•DMF (116mg, 0,760mmol). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề

(định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 0,81$ min, $m/z = 659,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (50,1mg, 0,076mmol), DCM (760 μ l) và TFA (351 μ l, 4,56mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (14,8mg, 34%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 503,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 9,39 (d, $J = 8,83$ Hz, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 5,28 (dd, $J = 8,8, 5,4$ Hz, 1H), 4,74-4,64 (m, 1H), 4,58 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,32 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 1,37 (s, 3H) 1,41 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 10: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((3-(aminometyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: Tạo huyền phù đặc ((2S,3S)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl metansulfonat (3,10g, 6,48mmol), *tert*-butyl ((1H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl)carbammat (1,926g, 9,72mmol), K_2CO_3 (1,35g, 9,72mmol) và NaI (1,165g, 7,78mmol) trong DMF (20ml) và gia nhiệt đến 70°C cùng với khuấy. Sau 3 giờ, bổ sung Thêm *tert*-butyl ((1H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl)carbammat

(1,926g, 9,72mmol), K_2CO_3 (1,35g, 9,72mmol) và NaI (777mg, 8,10mmol) và gia nhiệt trong khoảng thời gian bổ sung là 4 giờ, ngay sau đó, pha loãng nó bằng EtOAc/nước và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (3x), sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-Heptan, 0-70%) để thu chất đồng phân được thể ở vị trí 3 (1,16g, 31%) cùng với chất đồng phân được thể ở vị trí 5 (375mg, 10%). A-LCMS: $R_t = 0,87$ min, $m/z = 581,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; B-LCMS: $R_t = 0,94$ min, $m/z = 581,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; B- 1H NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ 7,86 (s, 1H), 7,44-7,31 (m, 4H), 7,29 (s, 3H), 6,90 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,49-6,37 (m, 2H), 5,25-5,04 (m, 3H), 4,54-4,43 (m, 2H), 4,43-4,22 (m, 3H), 4,13 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 3,90-3,71 (m, 7H), 1,36-1,51 (m, 9H).

Bước 2: Điều chế theo phương thức tương tự với Ví dụ 4, bước 2 sử dụng chất đồng phân được thể ở vị trí 3 từ bước 1 (1,16g, 2,00mmol), $K_2S_2O_8$ (756mg, 2,80mmol) và K_2HPO_4 (452mg, 2,60mmol) trong ACN:nước (2:1, 33,3ml) trong khi gia nhiệt trong 1,5 giờ ở $90^\circ C$. Bổ sung Thêm $K_2S_2O_8$ (162mg, 0,599mmol) và K_2HPO_4 (90mg, 0,52mmol) và gia nhiệt Thêm trong 3,5 giờ, ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (5x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 . Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (416mg, 48%). LCMS: $R_t = 0,71$ min, $m/z = 431,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; 1H NMR (500MHz, $ACN-d_3$) δ 8,08 (s, 1H), 7,49-7,25 (m, 5H), 6,82-6,60 (m, 2H), 5,81-5,62 (m, 1H), 5,21-5,03 (m, 3H), 4,48-4,07 (m, 6H), 1,46-1,33 (m, 9H).

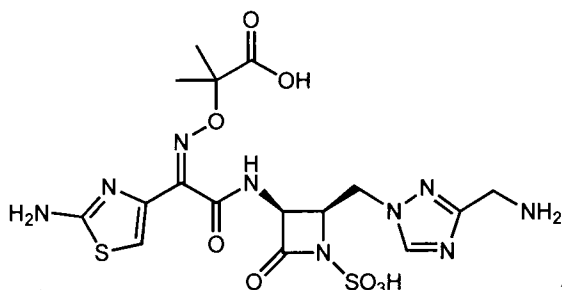
Bước 3: *tert*-butyl ((1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)carbamate. Điều chế theo quy trình được mô tả trong Malmström et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 2012, 22, 5293. Dung dịch chứa sản phẩm của Bước 2 (416mg, 0,966mmol) trong EtOAc:MeOH (5:1, 32,2ml) được xả khí và nạp đầy lại bằng argon (2x) sau đó Thêm lượng bổ sung của Pd trên C (10%, 103mg). Xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H_2 (3x). Sau khi khuấy 21 giờ, Thêm MeOH (282 μ l). Sau khi khuấy Thêm 4 giờ, lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH, cô đặc trong chân không, cho vào trong toluen và tái cô đặc (3x). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: $R_t = 0,33$ min, $m/z = 297,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat.

Thêm DIPEA (505μL, 2,89mmol) sau đó Thêm HATU (440mg, 1,16mmol) vào huyền phù đặc của axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (47mg, 0,109mmol) trong DCM:DMF (12:1, 6,5ml) ở 0°C. Thêm dung dịch chứa *tert*-butyl ((1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)carbamate (286mg, 0,964mmol) trong DCM:DMF (14:1, 7,5ml) vào dung dịch thu được. Sau 1 giờ khuấy, pha loãng nó bằng nước/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (3x), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 70%) để thu hợp chất tiêu đề (428mg, 63%). LCMS: R_t = 0,99 min, m/z = 708,2 (M+1) Phương pháp 2m₊ có tính axit.

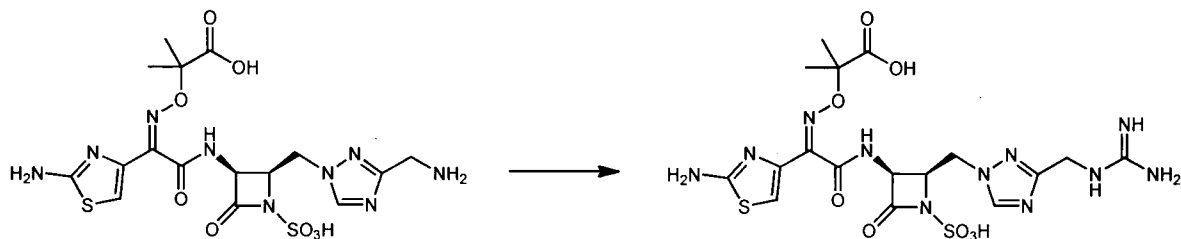
Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (200mg, 0,283mmol) trong DMF (2,0ml) bằng SO₃•DMF (433mg, 2,83mmol). Sau 20 phút khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả thiết) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,91 min, m/z = 788,4 (M+1) Phương pháp 2m₊ có tính axit.

Bước 6: axit 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-(aminomethyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((3-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (223mg, 0,283mmol), DCM (2,89ml) và TFA (1,31ml, 16,98mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC, thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (99mg, 65%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 532,2$ (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,45 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,39 (br s, 3H), 7,32 (s, 2H), 6,74 (s, 1H), 5,23 (dd, $J = 8,5, 5,7$ Hz, 1H), 4,76-4,65 (m, 1H), 4,62-4,5 (m, 1H), 4,32-4,27 (m, 1H), 4,16-4,08 (m, 2H), 1,36 (s, 3H) 1,43 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 11: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((3-(guanidinomethyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Thêm DIPEA (33μl, 0,188mmol) vào dung dịch axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((3-(aminomethyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic (25mg, 0,047mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (10,9mg, 0,099mmol) trong DMF (470μl). Sau

khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Thêm toluen và tái cô đặc hỗn hợp này (3x). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (16mg, 52%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,31 min, m/z = 574,3 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 9,45 (br s, 1H), 8,47 (s, 1H), 7,86 (br s, 1H), 7,31 (br s, 3H), 6,74 (br s, 1H), 6,55 (s, 1H), 5,22 (br s, 1H), 4,69-4,59 (m, 1H), 4,60-4,50 (m, 1H), 4,45-4,36 (m, 2H), 4,34-4,26 (m, 1H), 1,35 (s, 3H) 1,41 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 12: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: Điều chế theo phương thức tương tự với Ví dụ 4, bước 2 sử dụng chất đồng phân được thể ở vị trí 5 từ bước 1 trong Ví dụ 10 (361mg, 0,622mmol), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (235mg, 0,870mmol) và K_2HPO_4 (115mg, 0,808mmol) trong ACN:nước (2:1, 10,4ml) trong khi gia nhiệt trong 1,5 giờ ở 90°C. Bổ sung Thêm $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (50mg, 0,187mmol) và K_2HPO_4 (23mg, 0,162mmol) và gia nhiệt Thêm trong 3,5 giờ, ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (5x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 . Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (155mg, 58%). LCMS: R_t = 0,71 min, m/z = 431,2 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

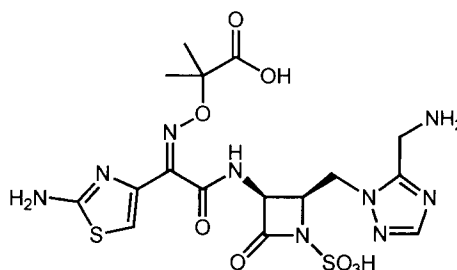
Bước 2: *tert*-butyl ((1-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl)metyl)carbamate. Được điều chế theo ví dụ 7, bước 3. Dung dịch chứa sản phẩm của bước 1 (134mg, 0,311mmol) trong EtOAc:MeOH (5:1, 10,4ml) được xả khí và nạp đầy lại bằng argon (2x) sau đó Thêm lượng bổ sung của Pd trên C (10%, 33mg). Xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H_2 (3x). Sau khi khuấy 21 giờ Thêm MeOH (282 μ l). Sau khi khuấy Thêm 4 giờ, lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH, cô đặc trong chân không, cho vào trong toluen và tái cô đặc (3x). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: R_t = 0,38 min, m/z = 297,2 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 3: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat.

Thêm DIPEA (163μL, 0,933mmol), sau đó Thêm HATU (142mg, 0,373mmol) vào huyền phù đặc của axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (160mg, 0,373mmol) trong DCM:DMF (30:1, 3,1ml) ở 0°C. Thêm dung dịch chứa *tert*-butyl (((1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)methyl)carbamate (92mg, 0,311mmol) trong DCM:DMF (30:1, 3,1ml) vào dung dịch thu được. Sau 1 giờ khuấy, cô đặc nó trong chân không và cho vào trong EtOAc/nước muối. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (3x), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM, 70%) để thu hợp chất tiêu đề (128mg, 58%). LCMS: R_t = 0,97 min, m/z = 708,2 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

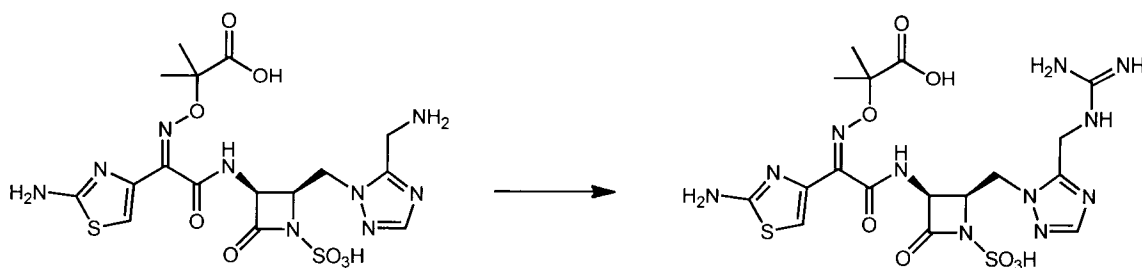
Bước 4: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. *Tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (128mg, 0,181mmol) trong DMF (1,3ml) Xử lý bằng SO₃•DMF (277mg, 1,81mmol). Sau 20 phút khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả thiết) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,90 min, m/z = 788,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 5: axit 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-(aminomethyl)-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (143mg, 0,181mmol), DCM (1,81ml) và TFA (837μl, 10,9mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (60mg, 62%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,28 min, m/z = 532,2 (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit; ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ9,23 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 8,40 (br s, 3H), 8,06 (s, 1H), 7,59-7,27 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 5,37 (dd, *J* = 9,0, 5,5 Hz, 1H), 4,61-4,51 (m, 1H), 4,49-4,34 (m, 3H), 4,25 (dd, *J* = 15,3, 5,8 Hz, 1H), 1,37 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 13: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-(guanidinometyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm DIPEA (33μl, 0,188mmol) vào dung dịch axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic (25mg, 0,047mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (10,9mg, 0,099mmol) trong DMF (470μl). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ cô đặc dung dịch trong chân không. Thêm

toluen và tái cô đặc hỗn hợp này (3x). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (13mg, 42%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,29 min, m/z = 574,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 7,96-7,78 (m, 1H), 7,41-6,96 (m, 5H), 6,80-6,71 (m, 1H), 6,55 (s, 1H), 5,42-5,32 (m, 1H), 4,75-4,63 (m, 1H), 4,62-4,42 (m, 1H), 4,39-4,28 (m, 1H), 1,38 (s, 3H) 1,34 (s, 3H).

Ví dụ 14: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

Bước 1: Benzyl ((3S,4R)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)azetidin-3-yl)carbamate. Tạo huyền phù đặc((2S,3S)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl metansulfonat (860mg, 1,80mmol), pyridin-2 (1H)-on(855mg, 8,99mmol), K_2CO_3 (1,74g, 12,6mmol) và NaI (746mg, 4,49mmol) trong DMF (6,9ml) và gia nhiệt đến 80°C cùng với khuấy. Sau 4 giờ, giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng EtOAc và rửa bằng nước muối. Sấy lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (304mg, 35%). LCMS: R_t = 0,79 min, m/z = 478,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7,39-7,28 (m, 6H), 7,07 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 6,93-6,85 (m, 1H), 6,55 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,35 (dd, J = 8,2, 2,4 Hz, 1H), 6,10-6,02 (m, 1H), 5,87 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,93 (br s, 1H), 4,63 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 4,27-4,10 (m, 1H), 3,97 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 3,88 (d, J = 14,5 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,76 (s, 3H).

Bước 2: Benzyl ((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)azetidin-3-yl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 2 sử dụng benzyl ((3S,4R)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)azetidin-3-yl)carbamate (361mg, 0,622mmol), $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (225mg, 0,833mmol) và K_2HPO_4 (135mg, 0,773mmol) trong ACN:nước (2:1, 9,9ml) trong khi gia nhiệt trong 1,5 giờ ở 90°C. Bổ sung Thêm $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (45mg, 0,17mmol) và K_2HPO_4 (26,9mg, 0,155mmol) và gia nhiệt

trong 30 phút nữa, ngay sau đó, cô đặc, tái hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 , và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%) để thu hợp chất tiêu đề (157mg, 81%). LCMS: $R_t = 0,56$ min, $m/z = 328,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3. Hợp chất 1:1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)pyridin-2 (1*H*)-on.

Bước 3. Hợp chất 2:1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)piperidin-2-on. Được điều chế theo ví dụ 7, bước 3. Dung dịch chứa benzyl ((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2*H*)-yl)metyl)azetidin-3-yl)carbamate (157mg, 0,480mmol) trong EtOH:MeOH (5:1, 4,8ml) được xả khí và nạp đầy lại bằng agon (2x) sau đó Thêm lượng bổ sung của Pd trên C (10%, 33mg). Xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H_2 (3x). Sau 3 giờ khuấy, lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau.

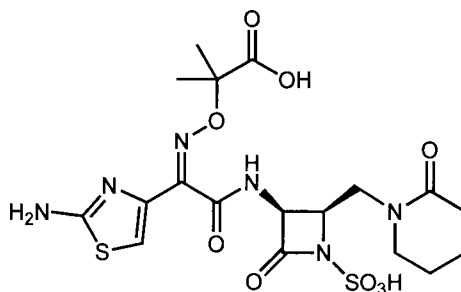
Bước 4. Hợp chất 1: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2*H*)-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat.

Bước 4. Hợp chất 2: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat.

Thêm DIPEA (73 μL , 0,42mmol), sau đó Thêm HATU (63,7mg, 0,168mmol) vào huyền phù đặc của axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (60mg, 0,14mmol) trong DCM:DMF (1:1, 1,4ml) ở 0°C. Sau 20 phút, Thêm dung dịch hỗn hợp chứa 1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)pyridin-2 (1*H*)-on và 1-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)piperidin-2-on (90mg, ~0,46mmol) trong DCM (200 μl) vào dung dịch thu được. Sau 1 giờ khuấy, cô đặc nó trong chân không và cho vào trong EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Aceton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề1 (54mg) và hợp chất tiêu đề2 (30mg). 1-LCMS: $R_t = 0,88$ min, $m/z = 605,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; 2-LCMS: $R_t = 0,90$ min, $m/z = 609,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

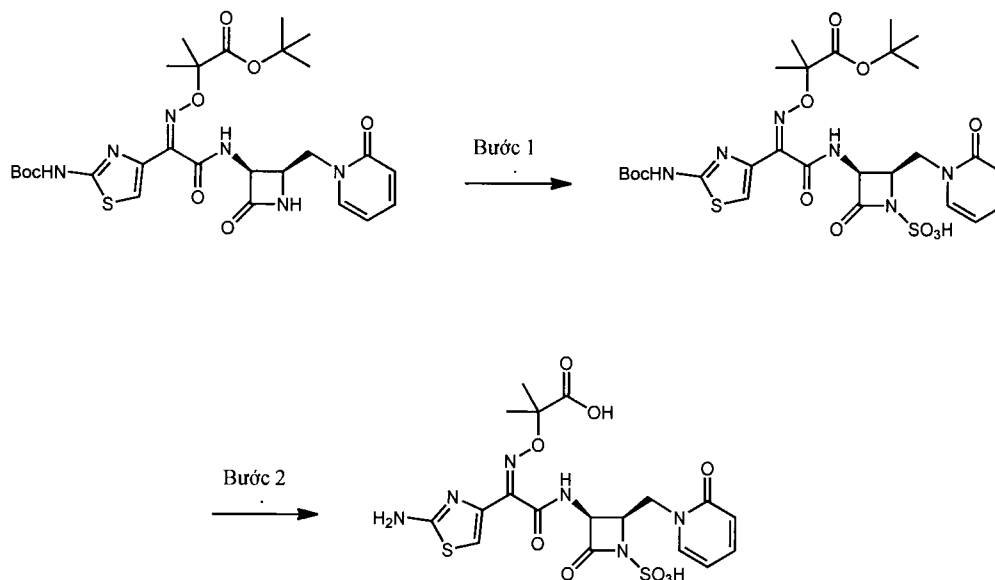
Bước 5: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (30mg, 0,049mmol) trong DMF (493 μ l) bằng SO₃•DMF (151mg, 0,986mmol). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả thiết) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: Rt = 0,78 min, m/z = 689,1 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxopiperidin-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic (34mg, 0,049mmol), DCM (494 μ l) và TFA (228 μ l, 2,96mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (5,2mg, 17%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,63 min, m/z = 533,1 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,02 (s, 1H), 5,27 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 4,59-4,48 (m, 1H), 3,61 (d, J = 4,7 Hz, 2H), 3,48-3,37 (m, 1H), 3,32 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 2,34-2,13 (m, 2H), 1,78-1,57 (m, 4H), 1,39 (br s, 6H).

Ví dụ tham khảo 15: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Bước 1: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (54mg, 0,089mmol) trong DMF (893μl) bằng SO₃·DMF (205mg, 1,34mmol). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: Rt = 0,76 min, m/z = 685,1 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 2: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic. Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxopyridin-1 (2H)-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic (61mg, 0,089mmol), DCM (891μl) và TFA (412μl, 5,35mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (9,6mg, 19%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t =

0,57 min, $m/z = 529,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,59 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 7,56-7,48 (m, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,39 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H), 5,30 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,47 (dd, $J = 14,5, 2,7$ Hz, 1H), 4,07 (dd, $J = 14,5, 8,6$ Hz, 1H), 1,37 (s, 3H), 1,36 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 16: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

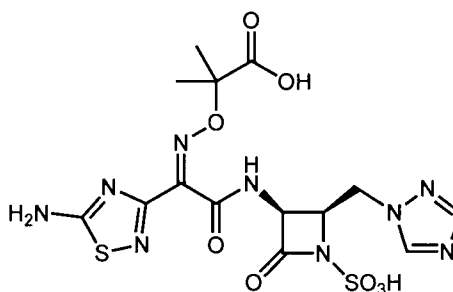
Bước 1: (3S,4R)-4-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-3-aminoazetidin-2-on. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng benzyl ((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (250mg, 0,830mmol) và Pd trên C (10%, 125mg) trong EtOH:MeOH (4:1, 8,3ml) trong 3 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: $R_t = 0,13$ min, $m/z = 168,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm DIPEA (157 μ L, 0,897mmol), sau đó Thêm HATU (136mg, 0,359mmol) vào huyền phù đặc của axit (Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl)axetic (129mg, 0,299mmol) trong DCM:DMF (1:1, 3ml) ở 0°C. Sau 20 phút, Thêm dung dịch chứa (3S,4R)-4-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-3-aminoazetidin-2-on (50mg, 0,299mmol) trong DCM vào dung dịch thu được. Sau 2 giờ khuấy, cô đặc nó trong chân không và cho vào trong EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (100mg, 58%). LCMS: $R_t = 0,82$ min, $m/z = 580,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-3-(((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-

methylpropanoat (100mg, 0,173mmol) trong DMF (1,7ml) bằng $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (396mg, 2,59mmol). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 0,74$ min, $m/z = 660,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(5-((tert-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (114mg, 0,173mmol), DCM (1,7ml) và TFA (800 μ l, 10,4mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (46mg, 46%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,42$ min, $m/z = 504,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,42 (d, $J = 8,6\text{Hz}$, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,21 (br s, 2H), 8,10 (s, 1H), 5,22 (dd, $J = 8,6, 5,5$ Hz, 1H), 4,67-4,58 (m, 1H), 4,56-4,47 (m, 1H), 4,28 (q, $J = 5,5$ Hz, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

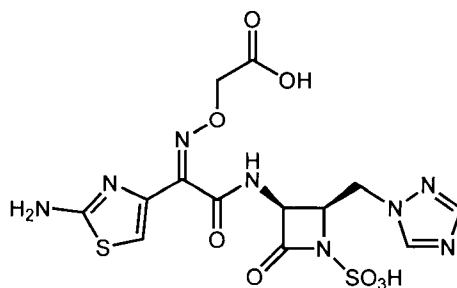
Ví dụ tham khảo 17: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)axetic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)axetat. Thêm DIPEA (141 μ L, 0,808mmol), sau đó Thêm

HATU (113mg, 0,296mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((2-(tert-butoxy)-2-oxoetoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (108mg, 0,269mmol) trong DCM (2,7ml) ở 0°C. Sau 20 phút, Thêm dung dịch chứa (3S,4R)-4-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on (50mg, 0,299mmol) trong DCM vào dung dịch thu được. Sau 1 giờ khuấy, pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (106mg, 72%). LCMS: R_t = 0,78 min, m/z = 551,2 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 2: axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-((2-(tert-butoxy)-2-oxoetoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)axetat (100mg, 0,182mmol) trong DMF (1,8ml) bằng SO₃•DMF (278mg, 1,82mmol). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước đá lạnh, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,71 min, m/z = 631,1 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 3: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)axetic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-((2-(tert-butoxy)-2-oxoetoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (97mg, 0,154mmol), DCM (1,54ml) và TFA (711μl, 9,23mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều

biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (22,7mg, 22%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,28$ min, $m/z = 475,0$ (M+1). Phương pháp 2m_{có} tính axit; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,50 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,25 (dd, $J = 9,0, 5,9$ Hz, 1H), 4,69-4,49 (m, 4H), 4,36 (dt, $J = 7,4, 4,9$ Hz, 1H).

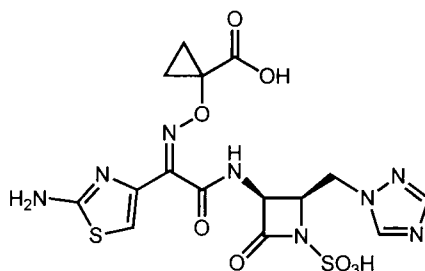
Ví dụ tham khảo 18: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (146 μ L, 0,837mmol), sau đó Thêm HATU (127mg, 0,335mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (được điều chế theo Yamawaki et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 15, 6716-6732)(150mg, 0,279mmol) trong DCM:DMF (1:1, 2,8ml) ở 0°C. Sau 20 phút, Thêm dung dịch chứa (3S,4R)-4-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on (51mg, 0,31mmol) trong DCM vào dung dịch thu được. Sau 1 giờ khuấy, pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (147mg, 77%). LCMS: $R_t = 0,98$ min, $m/z = 687,1$ (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 2: axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (147mg, 0,214mmol) trong DMF (2,14ml) bằng $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (328mg, 2,14mmol). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước đá lạnh, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân

không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 0,89$ min, $m/z = 767,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (164mg, 0,214mmol), DCM (2,14ml) và TFA (989μl, 12,8mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (50mg, 41%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,29$ min, $m/z = 501,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,31 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,09 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,26 (dd, $J = 9,0, 5,5$ Hz, 1H), 4,67 (dd, $J = 14,5, 4,3$ Hz, 1H), 4,49-4,39 (m, 1H), 4,33 (ddd, $J = 7,4, 5,5, 4,3$ Hz, 1H), 1,34-1,27 (m, 4H).

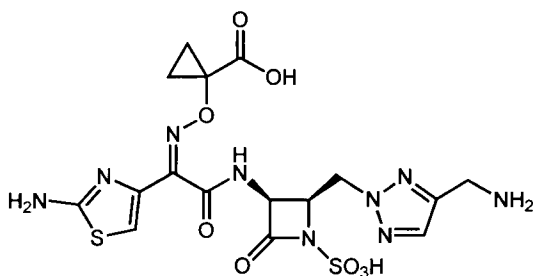
Ví dụ tham khảo 19: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.

Bước 1: *tert*-butyl ((2-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng chất trung gian T (1,20g, 2,79mmol) và Pd trên C (10%, 830mg) trong EtOAc:MeOH (5:1, 24ml) trong 19 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau. LCMS: $R_t = 0,41$ min, $m/z = 297,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (1,22ml, 6,98mmol) và HATU (1,11g, 2,93mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (được điều chế theo Yamawaki et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 15, 6716-6732) (1,50g, 2,79mmol) trong DCM (15ml) ở 0°C. Sau khi làm ấm đến nhiệt độ phòng, dung dịch chứa *tert*-butyl ((2-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (827mg, 2,79mmol) trong DCM:DMF (1,7:1, 12,7ml). Sau 1 giờ khuấy, pha loãng nó bằng DCM và rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-90%), để thu hợp chất tiêu đề (1,92g, 84%) ở dạng dầu màu tím. LCMS: R_t = 1,08 min, m/z = 816,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

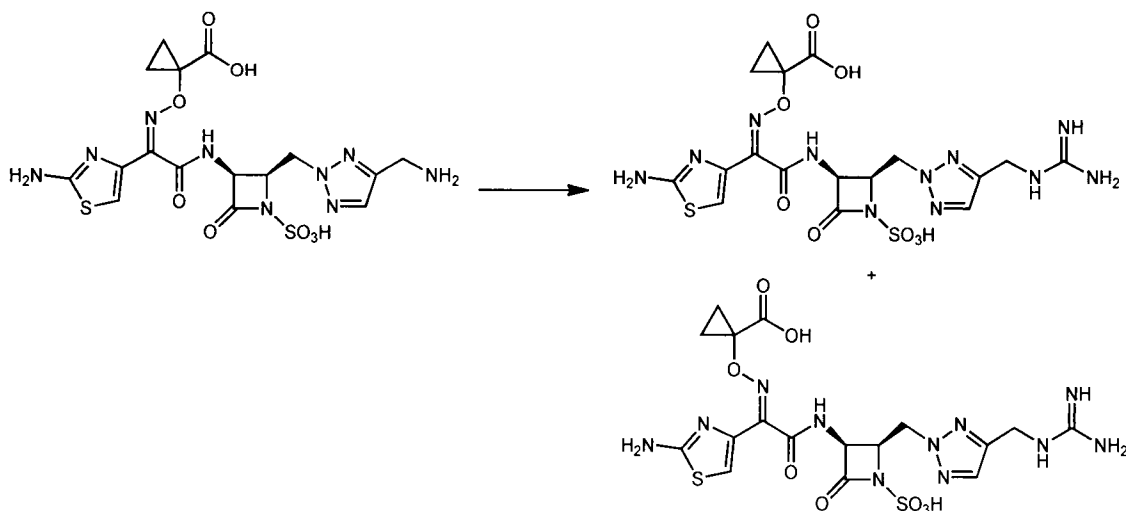
Bước 3: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý benzhydryl 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (1,92g, 2,35mmol) trong DMF (20ml) bằng SO₃•DMF (3,60g, 23,5mmol). Sau 30 phút khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (1,98g, 94%) ở dạng bột màu tím. LCMS: R_t = 0,99 min, m/z = 896,4 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminomethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-xylopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xy)clopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (1,98g, 2,21mmol), DCM (18,4ml) và TFA (10,2ml, 133mmol). Tinh chế một nửa sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (300mg, ca 50%) ở dạng chất bột màu trắng nhạt. LCMS: R_t = 0,29 min, m/z = 530,1 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,69 (s, 1H), 7,04 (br s, 1H), 5,43 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 4,93-4,78 (m, 2H), 4,74-4,67 (m, 1H), 4,22-4,12 (m, 2H), 1,36-1,20 (m, 2H), 1,20-1,00 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 20: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(guanidinometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-xyclopropanecarboxylic.



Thêm pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (322mg, 2,20mmol) và DIPEA (1,54ml, 8,80mmol) vào dung dịch chứa axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-xyclopropanecarboxylic (582mg, 1,10mmol) trong DMF (12ml) ở 0°C. Sau 16 giờ khuấy, ở nhiệt độ phòng, pha loãng dung dịch bằng toluen (60mL), khiến dầu đặc được phân tách. Chiết lớp bề trên và tinh chế phần dầu còn lại bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5µm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (240mg, 37%) ở dạng chất bột màu trắng nhạt. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 572,2$ (M+H) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,59 (s, 1H), 6,99 (br s, 1H), 5,43 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 4,91-4,75 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,70 (dd, $J = 8,2, 6,3$ Hz, 1H), 4,41-4,34 (m, 2H), 1,20 (br s, 2H), 1,05 (br s, 2H). Cũng thu được chất đồng phân dạng *E*. LCMS: $R_t = 0,33$ min, $m/z = 572,2$ (M+H) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,58 (s, 1H), 7,46 (br. s., 1H), 5,45 (br. s., 1H), 4,84 (s, 3H), 4,37 (s, 2H), 1,33-1,08 (m, 4H)..

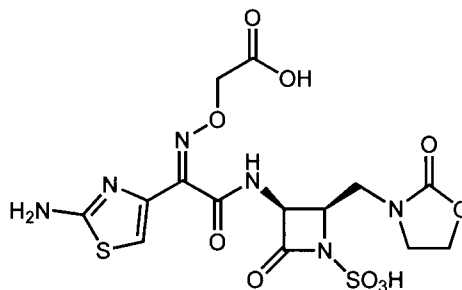
Ví dụ 21: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)axetic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)axetat. Thêm DIPEA (131µL, 0,747mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((2-(*tert*-butoxy)-2-oxoetoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (100mg, 0,249mmol), Chất trung gianD (51mg, 0,27mmol) và HATU (123mg, 0,324mmol) trong DMF (1,25ml). Sau 4 giờ khuấy, pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (0-10% MeOH-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (118mg, 83%). LCMS: $R_t = 0,81$ min, $m/z = 569,1$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((2-(*tert*-butoxy)-2-oxoetoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-

butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)axetat (118mg, 0,208mmol) trong DMF (2,14ml) bằng SO₃•DMF (159mg, 1,04mmol). Sau 30 phút khuấy, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối nước đá, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: Rt = 0,72 min, m/z = 649,1 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 3: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)axetic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3*S*,4*R*)-3-(((*Z*)-2-((2-(*tert*-butoxy)-2-oxoethoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic (135mg, 0,208mmol), DCM (1,04ml) và TFA (801μl, 10,4mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (25mg, 23%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,25 min, m/z = 493,0 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit; ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ9,41 (d, *J*= 9,1 Hz, 1H) 6,86 (s, 1H) 5,24 (dd, *J*= 9,0, 5,8 Hz, 1H) 4,62 (s, 2H) 4,20-4,11 (m, 3H) 3,72-3,63 (m, 2H) 3,40-3,31 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước).

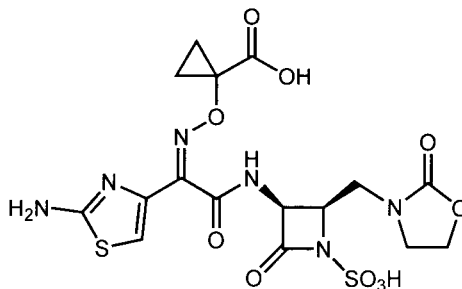
Ví dụ 22: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-

yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (832μl, 4,77mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (854mg, 1,59mmol), Chất trung gian D (324mg, 1,75mmol) và HATU (785mg, 2,07mmol) trong DMF (7,9ml). Sau 1 giờ khuấy, rót nó vào trong nước và chiết bằng EtOAc. Thêm nước muối vào lớp nước, và chiết tiếp bằng EtOAc (3x). Sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (0-10% MeOH-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (1,09g, 97%) ở dạng bột màu be. LCMS: R_t = 0,97 min, m/z = 705,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 2: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic. Xử lý benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (1,00g, 1,42mmol) trong DMF (7,0ml) ở 0°C bằng SO₃•DMF (448mg, 2,84mmol). Sau 2 giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, rót dung dịch vào trong nước muối nước đá và chiết bằng EtOAc (3x). Sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,90 min, m/z = 785,2 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 3: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic (1,10g, 1,40mmol), DCM (7,0ml) và TFA (5,39ml, 70,0mmol). Bổ sung Thêm TFA (3,24ml, 42,0mmol) sau 1 giờ ở nhiệt độ phòng và pha loãng dung dịch bằng DCM và cô đặc trong chân không sau 30 phút tiếp theo. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (178mg, 23%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,30 min, m/z = 518,9 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,27 (d, J = 9,0 Hz, 1H) 6,92 (s, 1H) 5,23 (dd, J = 9,1, 5,7 Hz, 1H) 4,12-4,23 (m, 3H) 3,72-3,62 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước) 3,61-3,52 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước) 3,26 (dd, J = 14,5, 5,9 Hz, 1H) 1,36 (s, 4H). ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,23 (s, 1H), 5,48 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 4,71-4,65 (m, 1H), 4,44 (t, J = 8,2 Hz, 2H), 3,89-3,73 (m, 3H), 3,54 (dd, J = 14,9, 4,9 Hz, 1H), 1,65-1,56 (m, 2H), 1,56-1,46 (m, 2H).

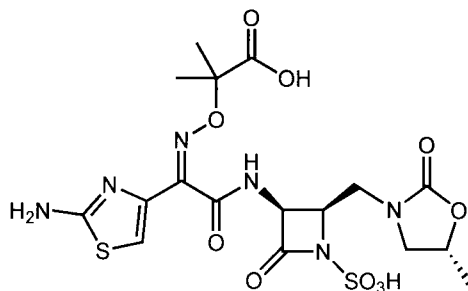
Ví dụ tham khảo 23: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-methyl-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-2-hydroxypropyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Khuấy dung dịch của chất trung gian L (500mg, 0,949mmol) và (*R*)-propylenoxit (996 μ l, 14,2mmol) trong DCM (1,9ml) ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ ngay sau đó quan sát thấy kết tủa. Bổ sung Thêm (*R*)-propylenoxit (332 μ l, 4,75mmol). Sau 3 giờ bổ sung, bổ sung Thêm (*R*)-propylenoxit (500 μ l, 7,14mmol). Sau 24 giờ khuấy tiếp theo, cô đặc nó trong chân không và tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (185mg, 33%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,82 min, m/z = 585,2 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-metyl-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm CDI (257mg, 1,58mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-2-hydroxypropyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (185mg, 0,316mmol) trong clorofom (3,16ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 phútpha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel(Axeton-DCM, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (81mg, 42%). LCMS: R_t = 0,92 min, m/z = 611,2 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

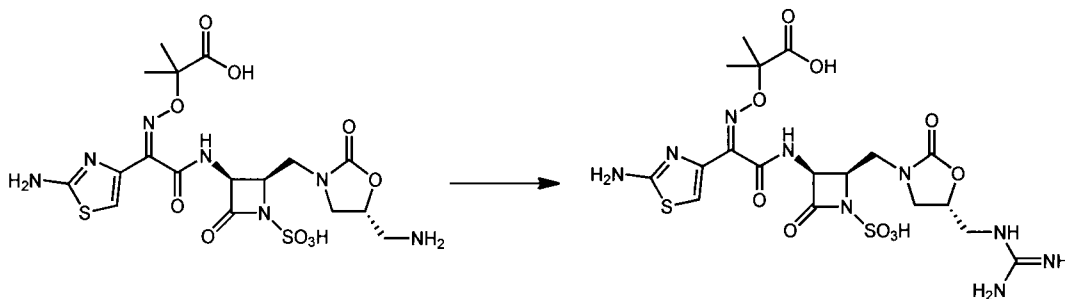
Bước 3: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((*R*)-5-metyl-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-metyl-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (81mg, 0,133mmol) trong DMF (1,33ml) bằng SO₃•DMF (203mg, 1,33mmol). Sau 20 phút khuấy ở nhiệt độ phòng, pha loãng dung dịch bằng EtOAc/nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn. LCMS: R_t = 0,84 min, m/z = 691.0 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 4: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-metyl-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((R)-5-metyl-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (92mg, 0,133mmol), DCM (1,33ml) và TFA (615μl, 7,98mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (18,6mg, 23%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,39$ min, $m/z = 535,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ9,29 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 5,22 (dd, $J = 8,8, 5,7$ Hz, 1H), 4,5 (dt, $J = 13,5, 6,5$ Hz, 1H), 4,15 (q, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,72-3,63 (m, 2H), 3,34-3,27 (m, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,28 (d, $J = 6,3$ Hz, 3H).

Ví dụ 24: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(guanidinometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm DIPEA (38,3μl, 0,219mmol) vào dung dịch chứa axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(aminometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic (30,1mg, 0,055mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (16,1mg, 0,110mmol) trong DMF (548μl). Sau 5 giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, cô đặc dung dịch trong chân không và tinh chế bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (17,5mg, 49%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,30$ min, $m/z = 592,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; 1H NMR (400MHz, D_2O) δ6,97 (s, 1H), 5,31 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 4,74 (dtd, $J = 9,3, 5,9, 3,2$ Hz, 1H), 4,5 (ddd, $J = 9,2, 5,9, 3,1$ Hz, 1H),

3,86 (t, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,66 (dd, $J = 15,0,9,5$ Hz, 1H), 3,53 (dd, $J = 15,5, 3,2$ Hz, 1H), 3,47-3,34 (m, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,37 (s, 3H).

Ví dụ 25: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(aminometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-xyclopropanecarboxylic.

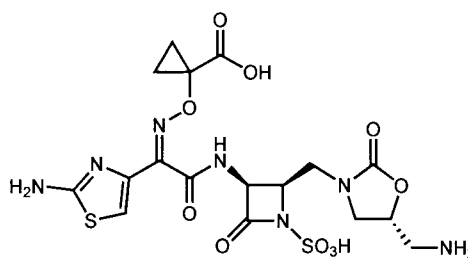
Bước 1: *tert*-butyl (((R)-3-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2-oxooxazolidin-5-yl)metyl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 3 sử dụng chất trung gian U (1,16g, 2,28mmol) và Pd trên C (10%, 246mg) trong EtOH:MeOH (5:1, 3ml) trong 19 giờ. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước sau.

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylate. Thêm DIPEA (1,0ml, 5,72mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (1,29g, 2,28mmol) và HATU (909mg, 2,39mmol) trong DMF:DCM (3:1, 9,0ml) ở 0°C. Sau 15 phút khuấy ở 0°C, Thêm *tert*-butyl (((R)-3-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2-oxooxazolidin-5-yl)metyl)carbamate (715mg, 2,28mmol) ở dạng dung dịch trong DMF:DCM (1:1, 9ml), tiếp theo, rửa bằng DMF (1,5ml). Sau 1,2 giờ ở nhiệt độ phòng pha loãng nó bằng EtOAc và rửa bằng LiCl (5% aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), NaHCO₃ (aq satd), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 5-90%) để thu hợp chất tiêu đề (1,357g, 72%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 1,04$ min, $m/z = 834,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 3: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((R)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-

butoxycarbonyl)amino)-thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (1,357g, 1,627mmol) trong DMF (8,1ml) ở 0°C bằng $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (748mg, 4,88mmol). Sau 2 giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, pha loãng dung dịch bằng EtOAc/LiCl (5% aq) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn. LCMS: $R_t = 0,96$ min, $m/z = 914,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

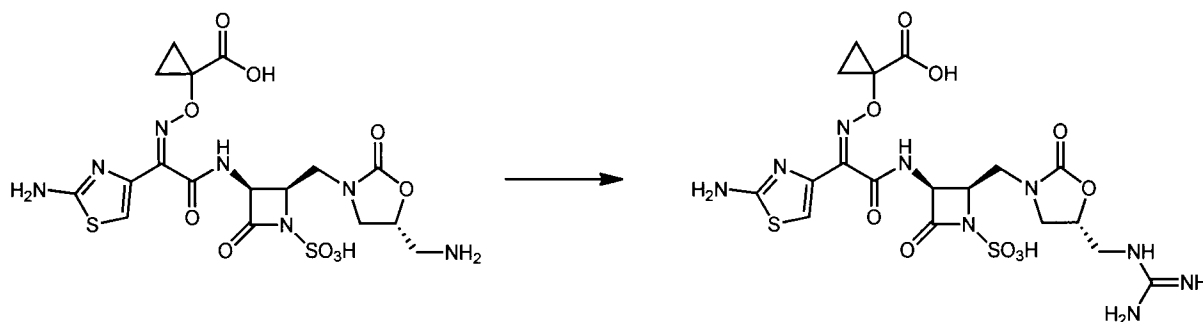
Bước 4: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(aminometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-xyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-(((R)-5-((tert-butoxycarbonyl)amino)-metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (725mg, 0,794mmol), DCM (8,0ml) và TFA (3,7ml, 48,0mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (231mg, 52%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,41$ min, $m/z = 548,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,18 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 8,00 (t, $J = 5,8$ Hz, 3H), 6,83 (s, 1H), 5,22 (dd, $J = 8,8, 5,9$ Hz, 1H), 4,68 (tdd, $J = 9,0, 5,8, 3,4$ Hz, 1H), 4,24 (ddd, $J = 9,3, 5,9, 3,6$ Hz, 1H), 3,75 (t, $J = 8,8$ Hz, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,61 (dd, $J = 8,7, 5,8$ Hz, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,41 (dd, $J = 14,7, 9,0$ Hz, 1H), 3,30 (dd, $J = 14,7, 3,7$ Hz, 1H), 3,25-3,05 (m, 2H), 1,40-1,27 (m, 4H), ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,18 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 5,45 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,02-4,93 (m, 1H), 4,70 (ddd, $J = 9,2, 5,8, 3,7$ Hz, 1H), 4,04 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,78 (dd, $J = 15,0, 9,0$ Hz, 1H), 3,60-3,56 (m, 1H), 3,54

(dd, $J = 11,3, 3,6$ Hz, 1H), 3,40 (s, 1H), 3,38 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 1,57-1,49 (m, 2H), 1,49-1,40 (m, 2H).

Ví dụ 26: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(guanidinometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-xyclopropan-carboxylic.



Thêm DIPEA (1,20mL, 8,06mmol) vào dung dịch chứa axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(aminometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xyclopropan-carboxylic (0,795mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (234,8mg, 1,602mmol) trong DMF (7,0ml). Sau 19 giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, cô đặc dung dịch trong chân không và tinh chế bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (177mg, 37%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,47$ min, $m/z = 590,1$ (M+H) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực;; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,15 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 7,62 (br s, 1H), 7,24 (s, 3H), 6,81 (s, 1H), 5,23 (dd, $J = 8,9, 5,9$ Hz, 1H), 4,60-4,51 (m, 1H), 4,23 (ddd, $J = 9,0, 5,8, 3,7$ Hz, 1H), 3,70 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 3,52 (dd, $J = 8,8, 5,4$ Hz, 1H), 3,49-3,44 (m, 1H), 3,43-3,34 (m, 3H), 1,38-1,24 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 27: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((4-(aminometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xyclopropan-carboxylic.

Bước 1: *tert*-butyl ((1-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbammat. Thêm chất trung gianS (1,11g, 2,58mmol) tất cả trong

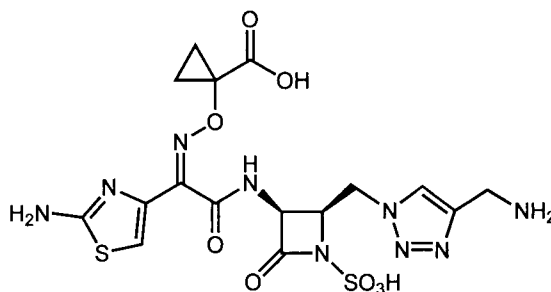
một lần vào huyền phù của paladit trên cacbon (823mg, 0,774mmol) trong EtOAc/MeOH (5:1, 16,8ml). Xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H₂ (3x). Sau khi khuấy trong 19 giờ pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc, lọc qua xelit, rửa bằng MeOH-EtOAc (20%, 100mL x3) và cô đặc trong chân không, thu được hợp chất tiêu đề ở dạng thô (730mg) ở dạng chất bột màu trắng nhạt. LCMS: R_t = 0,37 min, m/z = 297,0 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (1,08ml, 6,16mmol) sau đó Thêm HATU (0,984g, 2,59mmol) vào huyền phù đặc của axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetic (1,32g, 2,46mmol) trong DCM (12mL) ở 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng và Thêm *tert*-butyl ((1-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (0,73g, 2,5mmol) ở dạng dung dịch trong DCM:DMF(1,7:1, 9,6mL). Sau khi khuấy trong 1,3 giờ, quan sát thấy sự thay đổi màu sắc từ vàng sang tím đậm, ngay sau đó, pha loãng nó bằng DCM, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua natri sulfat và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-90%), để thu hợp chất tiêu đề (1,62g, 81%) ở dạng bột màu tím. LCMS: R_t = 1,05 min, m/z = 816,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm phức SO₃•DMF (2,97g, 19,4mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat (1,58g, 1,94mmol) trong DMF (15ml). Sau khi khuấy 45 phút, pha loãng nó bằng EtOAc (120ml), nước muối (80ml), nước (40mL) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2 x 20ml) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề

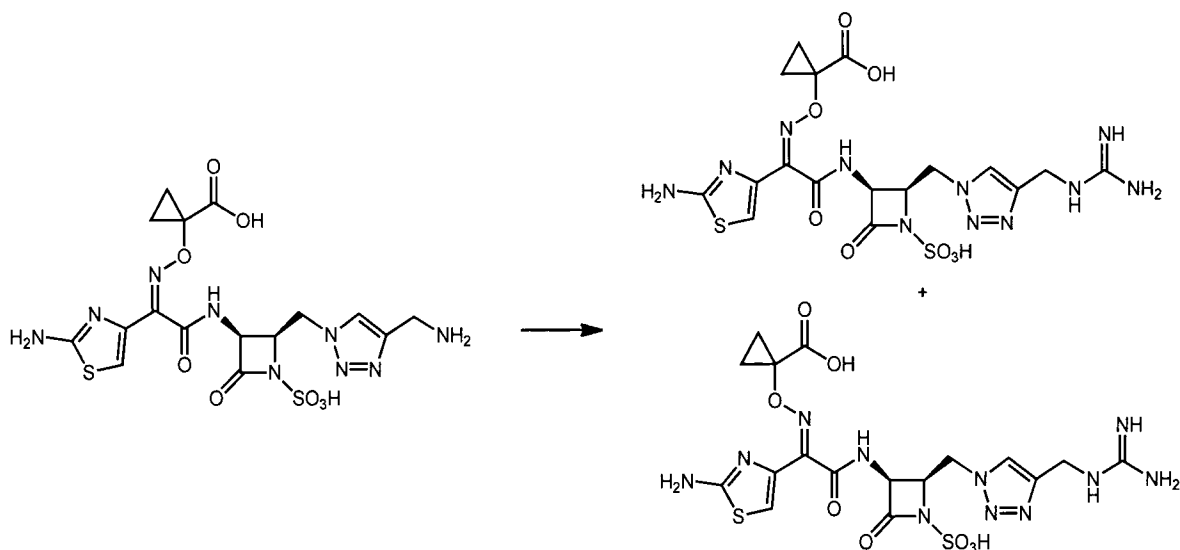
(định lượng giả định) ở dạng bột màu tím. LCMS: $R_t = 0,96$ min, $m/z = 896,4$ ($M+1$)
 Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-xyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (1,74g, 1,94mmol), DCM (19,4ml) và TFA (8,95ml, 116mmol). Sau 3 giờ ở nhiệt độ phòng, nó được giảm nhiệt xuống 0°C và bổ sung Thêm TFA (200 μl , 2,6mmol), ngay sau đó làm ấm nó đến nhiệt độ phòng. Sau 1 giờ nữa ở nhiệt độ phòng, nó được giảm nhiệt xuống 0°C và bổ sung Thêm TFA (200 μl , 2,6mmol), làm ấm lại đến nhiệt độ phòng. Sau khi Thêm 1 giờ ở nhiệt độ phòng, pha loãng nó bằng DCM và cô đặc trong chân không. Tinh chế một nửa sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (140mg, ca 23%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,27$ min, $m/z = 530,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 8,07 (s, 1H), 7,08-6,99 (m, 1H) 5,42-5,31 (m, 1H), 4,88-4,74 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 4,74-4,68 (m, 1H), 4,20 (s, 2H), 1,36-1,23 (m, 2H), 1,23-1,07 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 28: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(guanidinometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-xyclopropanecarboxylic.



Thêm DIPEA (1,48ml, 8,45mmol) vào dung dịch chứa axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2 oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropan-carboxylic (559mg, 1,06mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhydroclorua (310mg, 2,12mmol) trong DMF (12ml). Sau khi khuấy 16 giờ, ở nhiệt độ phòng, pha loãng dung dịch bằng toluen (20mL), khiến dầu đặc được phân tách. Chiết lớp bề trên và tinh chế phần dầu còn lại bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (240mg, 39%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,28 min, m/z = 572,0 (M+H) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 8,09 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 5,52 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 4,97 (dd, J = 14,1, 5,5 Hz, 1H), 4,91 (q, J = 5,5 Hz, 1H), 4,84-4,76 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 4,5 (s, 2H), 1,49-1,36 (m, 2H), 1,34-1,23 (m, 2H).. Cũng thu được chất đồng phân dạng *E*. LCMS: R_t = 0,32 min, m/z = 572,0 (M+H) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,37 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,13 (s, 2H), 6,50 (s, 1H), 5,18 (dd, J = 9,6, 5,3 Hz, 1H), 4,97 (d, J = 13,5 Hz, 1H), 4,76-4,58 (m, 1H), 4,52 (dd, J = 16,11, 7,70 Hz, 1H), 4,26-4,05 (m, 2H), 1,86-2,08 (m, 1 H), 1,34-1,07 (m, 6 H).

Ví dụ tham khảo 29: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)propanoic.

Bước 1: (R)-*tert*-butyl 2-clopropanoat. Được điều chế theo Wright et al. *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 7345. Nạpmagie sulfat (4,21g, 35,0mmol) và DCM (43,8ml) vào bình thủy tinh dung tích 500ml. Thêm từng giọt axit sulfuric (486μl, 8,75mmol) vào huyền phù này, cùng với khuấy mạnh. Sau khi khuấy 15 phút, Thêm axit (R)-2-clopropanoic (950mg, 8,75mmol), sau đó Thêm *tert*-butanol (4,20ml, 43,8mmol). Bình này được hàn kín và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 19 giờ, ngay sau đó, Thêm cẩn thận natri bicarbonat (aq satd, 100mL), đến điểm tất cả các chất rắn được hòa tan. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng DCM (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không (nhiệt độ của bể là 20°C, 50mBar) để thu hợp chất tiêu đề (1,36g, 94%) ở dạng dầu màu hồng nhạt. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) δ 4,29 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H) 1,65 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H) 1,49 (s, 9H).

Bước 2: (S)-*tert*-butyl 2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy)propanoat. Được điều chế theo Yamawaki et al. *Bioorg. Med. Chem*, 2007, 15, 6716. Thêm (R)-*tert*-butyl 2-clopropanoat (522mg, 3,17mmol) vào huyền phù đặc của *N*-hydroxyphtalimit (517mg, 3,17mmol) và kalicarbonat (657mg, 4,76mmol) trong DMF (4,5ml). Bổ sung Thêm DMF (4,5ml), sau khi nhìn thấy huyền phù đặc. Sau khi khuấy trong 5 ngày, pha loãng nó bằng EtOAc và rót vào trong dung dịch LiCl (5% aq, 90ml). Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-50%), để thu hợp chất tiêu đề (348mg, 38%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,89 min, *m/z* = 314,0 (M+23) Phương pháp 2m_{có tính axit}; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7,87-7,81 (m, 2H), 7,75 (dd, *J* = 5,5, 3,1Hz, 2H), 4,79 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,61 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

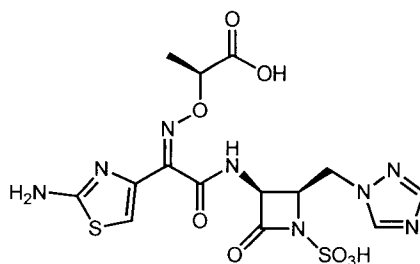
Bước 3: (S)-*tert*-butyl 2-(aminooxy)propanoat. Thêm metyl hydrazin (13,5μl, 0,252mmol) vào dung dịch chứa (S)-*tert*-butyl 2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy)propanoat (73,3mg, 0,252mmol) trong DCM (Volume: 500μl) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 3 giờ ở 0°C, lọc bỏ chất rắn và cô đặc dịch lọc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng dầu trong.

Bước 4: (S)-*tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-propanoat. Thêm dung dịch chứa (S)-*tert*-butyl 2-(aminooxy)propanoat (24mg, 0,15mmol) trong DCM (300μl) vào dung dịch chứa chất

trung gianE (62,2mg, 0,148mmol) trong MeOH (1ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 6 ngày, Thêm axit axetic (8,5µl, 0,15mmol). Sau 4 ngày, bổ sung Thêm axit axetic (8,5µl, 0,15mmol). Sau 24 giờ tiếp theo, cô đặc một phần trong chân không, sau đó pha loãng bằng EtOAc/nước. Phân tách các lớp và rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-10%), để thu hợp chất tiêu đề (20,2mg, 24%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,81 min, m/z = 565,1 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 5: axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((S)-1-(tert-butoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (54,8mg, 0,358mmol) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)propanoat (20,2mg, 0,036mmol) trong DMF (400µl). Sau khi khuấy 2,5 giờ, pha loãng nó bằng EtOAc/LiCl (5% aq) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,74 min, m/z = 645,3 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 6: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)propanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((S)-1-(tert-butoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (23mg, 0,036mmol), DCM (357µl) và TFA (165µl, 2,14mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm,

5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (7,9mg, 36%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,40$ min, $m/z = 489,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 8,69 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 5,54 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,96-4,67 (m, giả thiết 4H; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 1,44 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H).

Ví dụ tham khảo 30: axit (R)-2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)propanoic.

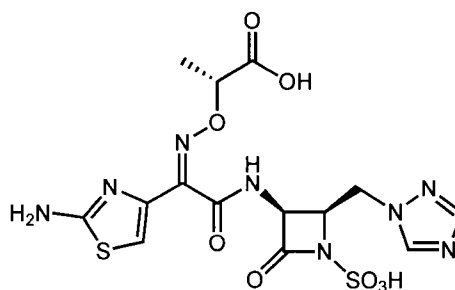
Bước 1: (S)-tert-butyl 2-clopropanoat. Điều chế theo Wright et al. *Tetrahedron Lett*, 1997, 38, 7345. Nạp magie sulfat (21,7g, 181mmol) và DCM (182ml) vào bình thủy tinh dung tích 500ml. Thêm từng giọt axit sulfuric (2,5ml, 45mmol) vào huyền phù này, cùng với khuấy mạnh. Sau khi khuấy 15 phút, Thêm axit (S)-2-clopropanoic (5,0g, 45mmol), sau đó Thêm tert-butanol (21,6ml, 226mmol). Hàn kín bình này và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 19 giờ, ngay sau đó, nó được giảm nhiệt xuống 0°C và Thêm từ từ natri bicarbonat (aq satd, 350ml), đến điểm tất cả các chất rắn được hòa tan. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng DCM (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không (nhiệt độ của bể là 20°C, 50mBar) để thu hợp chất tiêu đề (7,64g, 96%) ở dạng dầu màu vàng sáng (độ tinh sạch 93%). Dữ liệu ^1H NMR trùng khớp hoàn toàn với chất đồng phân đối ảnh được điều chế trước đó.

Bước 2: (R)-tert-butyl 2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy)propanoat. Thêm (S)-tert-butyl 2-clopropanoat (4,30g, 24,3mmol) vào huyền phù đặc của N-hydroxyphtalimit (3,71g, 22,1mmol) và kalicarbonat (4,58g, 33,1mmol) trong DMF (55ml). Sau khi khuấy 72 giờ, gia nhiệt huyền phù đặc đến 40°C trong khoảng thời gian bổ sung là 16 giờ, ở thời điểm này, pha loãng nó bằng EtOAc/LiCl (5% aq) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (5,45g, 85%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: $R_t = 0,88$ min, $m/z = 313,9$ (M+23) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: (*R*)-*tert*-butyl 2-(aminooxy)propanoat. Thêm methyl hydrazin (12,8μl, 0,239mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl 2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy)propanoat (69,6mg, 0,239mmol) trong DCM (478μl) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 3 giờ ở 0°C, lọc bỏ chất rắn và cô đặc dịch lọc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng dầu trong.

Bước 4: axit (2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((*Z*)-2-(((*R*)-1-(*tert*-butoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl 2-(aminooxy)propanoat (38,5mg, 0,239mmol) trong DCM:MeOH (2:1, 600μL) sau đó Thêm dung dịch rửa DCM (400μl) vào dung dịch chứa chất trung gian F (110mg, 0,219mmol) trong MeOH (2ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 16 giờ, cô đặc một phần trong chân không sau đó pha loãng bằng EtOAc/nước và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,74 min, m/z = 645,3 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 5: axit (*R*)-2-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)propanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((*Z*)-2-(((*R*)-1-(*tert*-butoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (141mg, 0,219mmol), DCM (2,19ml) và TFA (1,0ml, 13mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (35,5mg, 29%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,42 min,

$m/z = 489,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 8,58 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 5,41 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,81-4,52 (m, giả thiết 4H; bị che khuất một phần bởi đỉnh dung môi), 1,29 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H).

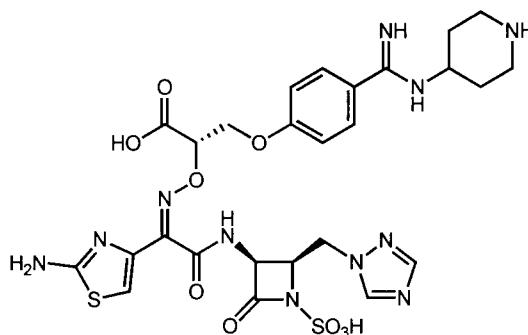
Ví dụ tham khảo 31: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-(piperidin-4-yl)carbamidoyl)-phenoxy)propanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 4-(4-((S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)piperidin-1-carboxylat. Thêm DIPEA (44,8 μ l, 0,256mmol) vào dung dịch chứa axit(S,Z)-2-(((1-(benzhydryloxy)-3-(4-(N-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)carbamidoyl)phenoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (Được điều chế theo WO2013110643, 72mg, 0,085mmol), (3S,4R)-4-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on (15,7mg, 0,094mmol) và HATU (42,2mg, 0,111mmol) trong DMF (854 μ l). Sau khi khuấy trong 3 giờ pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, NaHCO_3 (aq satd), nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (82mg, 87%) ở dạng lớp mỏng màu ô-liu. LCMS: $R_t = 0,97$ min, $m/z = 992,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 2: axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((S)-1-(benzhydryloxy)-3-(4-(N-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)carbamidoyl)phenoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 4-(4-((S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)piperidin-1-carboxylat (99mg, 0,10mmol) trong DMF (500 μ l) bằng $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (45,9mg, 0,299mmol). Sau khi khuấy trong 40 phút, bổ sung Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (45,9mg, 0,299mmol). Sau 1,3 giờ, bổ sung Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (45,9mg, 0,299mmol). Sau khi khuấy Thêm trong 30 phút, rót dung dịch vào trong nước muối nước đá và chiết bằng EtOAc. Phân tách các lớp và sấy lớp

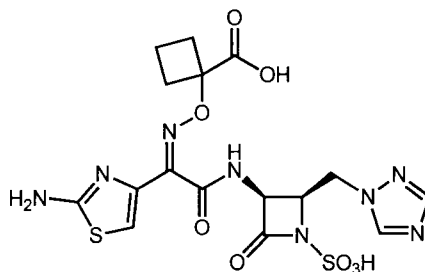
hữu cơ qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: $R_t = 0,97$ min, $m/z = 1073,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-(piperidin-4-yl)carbamimidoyl)-phenoxy)propanoic.



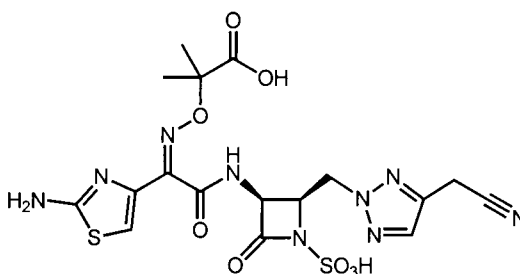
Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((S)-1-(benzhydryloxy)-3-(4-(N-(1-(tert-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)carbamimidoyl)phenoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (0,085mmol), DCM (850 μ l) và TFA (327 μ l, 4,25mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (12mg, 17%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,41$ min, $m/z = 706,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,55 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H) 9,40 (br s, 1H) 9,01 (br s, 1H) 8,53-8,71 (m, 1H) 8,41 (s, 1H) 7,92 (s, 1H) 7,67 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H) 7,21 (br s, 2H) 7,03 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H) 6,76 (s, 1H) 5,17-5,24 (m, 1H) 4,94 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H) 4,46-4,53 (m, 2H) 4,37-4,45 (m, 1H) 4,25-4,32 (m, 1H) 3,88 (br s, 1H) 3,39 (br s, 4H) 2,92 (t, $J = 11,5$ Hz, 2H) 2,05-2,14 (m, 2H) 1,79 (d, $J = 11,0$ Hz, 2H).

Ví dụ tham khảo 32: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxycyclobutanecarboxylic.



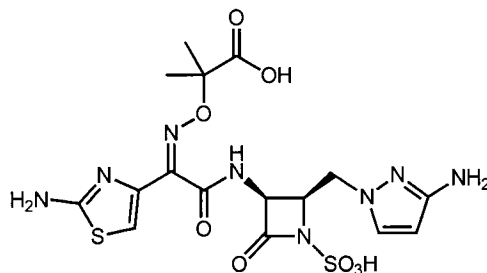
LCMS: $R_t = 0,58$ min, $m/z = 515,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 8,75 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 5,56 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,95-4,85 (m, 2H), 4,86-4,82 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 4,78-4,70 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 2,61-2,46 (m, 2H), 2,38-2,27 (m, 2H), 2,00-1,89 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 33: axit 2-(((Z)-((1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(xyanometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



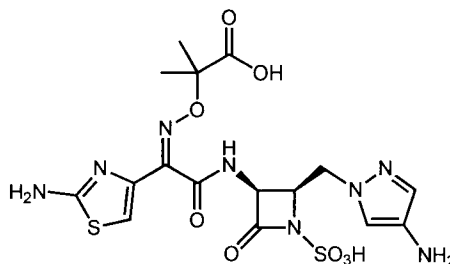
LCMS: $R_t = 0,57$ min, $m/z = 542,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,19 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 5,43-5,23 (m, 1H), 4,93-4,84 (m, 1H), 4,76-4,67 (m, 1H), 4,47 (ddd, $J = 8,71, 5,4, 3,5$ Hz, 1H), 4,07 (d, $J = 1,6$ Hz, 2H), 1,35 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 34: axit 2-(((Z)-((2-(((2R,3S)-2-((3-amino-1H-pyrazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



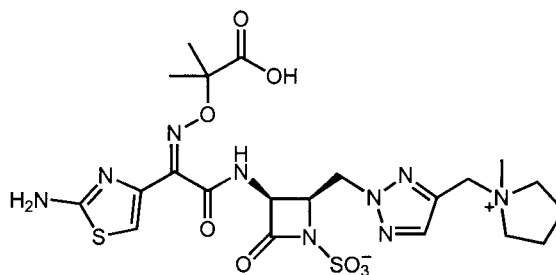
LCMS: $R_t = 0,50$ min, $m/z = 517,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,54 (d, $J = 2,5\text{Hz}$, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,00 (d, $J = 2,4\text{Hz}$, 1H), 5,40 (d, $J = 5,8\text{Hz}$, 1H), 4,69 (q, $J = 5,5\text{Hz}$, 1H), 4,43 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 2H), 1,31 (d, $J = 1,8\text{Hz}$, 6H).

Ví dụ tham khảo 35: axit 2-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-amino-1*H*-pyrazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



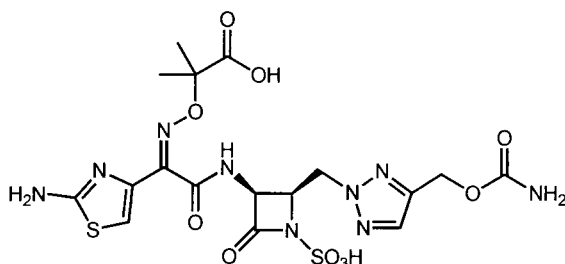
LCMS: $R_t = 0,39$ min, $m/z = 517,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,86 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 5,35 (d, $J = 5,9\text{Hz}$, 1H), 4,72-4,67 (m, 1H), 4,54-4,49 (m, 2H), 1,28 (s, 3H), 1,27 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 36: (2*R*,3*S*)-3-(((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-((4-((1-methylpyrrolidin-1-ium-1-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.



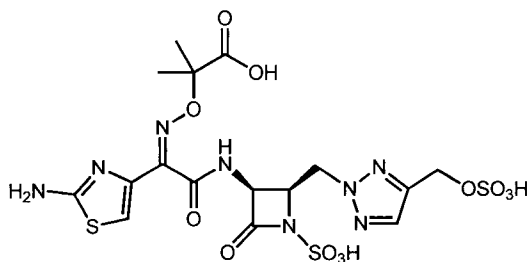
LCMS: $R_t = 0,55$ min, $m/z = 600,3$ (M^+) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 12,50 (s, 1H), 9,34 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,27 (s, 2H), 6,72 (s, 1H), 5,33 (dd, $J = 8,6, 5,6$ Hz, 1H), 4,82 (dd, $J = 15,1, 9,2$ Hz, 1H), 4,69-4,53 (m, 4H), 3,60-3,50 (m, 2H), 3,46-3,33 (m, 2H), 2,95 (s, 3H), 2,14-2,00 (m, 4H), 1,35 (s, 3H), 1,29 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 37: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((carbamoyloxy)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



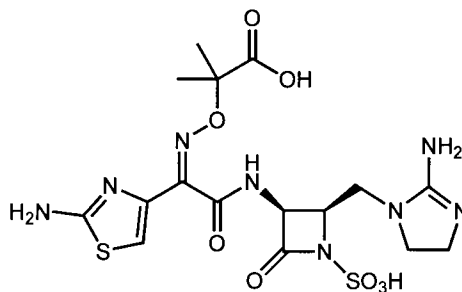
LCMS: $R_t = 0,53$ min, $m/z = 576,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 6,59 (br s, 2H), 5,31 (dd, $J = 9,2, 5,4$ Hz, 1H), 4,94 (s, 2H), 4,91 (dd, $J = 14,3, 3,2$ Hz, 1H), 4,72 (dd, $J = 14,2, 9,0$ Hz, 1H), 4,42 (ddd, $J = 8,8, 5,5, 3,1$ Hz, 1H), 1,38 (s, 3H), 1,37 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 38: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-1-sulfo-4-((4-((sulfooxy)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



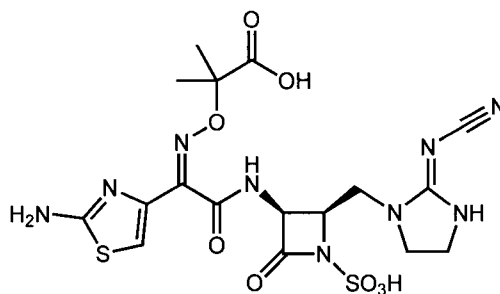
LCMS: $R_t = 0,43$ min, $m/z = 612,9$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,71 (s, 1H), 6,96-7,11 (m, 1H), 5,40 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 4,98 (s, 2H), 4,93-4,65 (m 3H giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 1,34 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 39: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((2-amino-4,5-dihydro-1H-imidazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



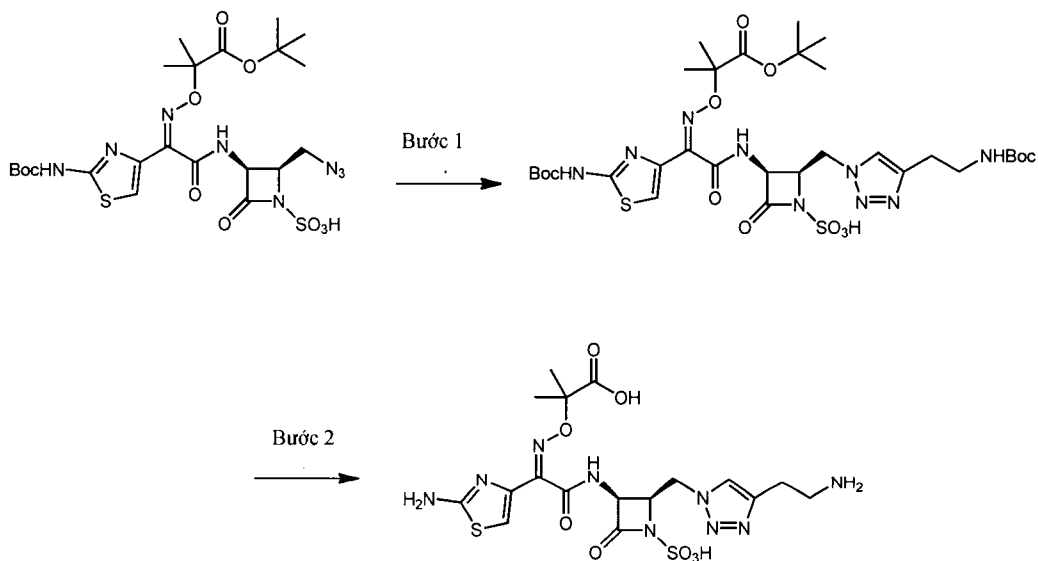
LCMS: $R_t = 0,30$ min, $m/z = 520,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,63 (br s, 1H) 9,12 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H) 7,74 (d, $J = 15,3$ Hz, 3H) 7,31-7,49 (m, 2H) 6,77 (s, 1H) 5,22 (dd, $J = 8,5, 5,8$ Hz, 1H) 4,24 (dt, $J = 7,1, 5,3$ Hz, 1H) 3,76-3,85 (m, 1H) 3,59-3,73 (m, 2H) 3,43-3,55 (m, 3H) 1,43 (s, 3H) 1,41, (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 40: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((E)-2-(xyanoimino)imidazolidin-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



LCMS: $R_t = 0,33$ min, $m/z = 544.0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,29 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H) 7,74 (br s, 1H) 6,85 (s, 1H) 5,20 (dd, $J = 8,8, 5,7$ Hz, 1H) 4,10-4,17 (m, 1H) 3,72-3,81 (m, 1H) 3,62 (dd, $J = 14,7, 6,8$ Hz, 1H) 3,48-3,56 (m, 1H) 3,31-3,42 (m, 3H) 1,43 (s, 3H) 1,41, (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 41: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(2-aminoethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic



Bước 1: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm CuSO_4 (13mg, 0,079mmol) và natri L-ascorbat (32mg, 0,16mmol) vào hỗn hợp của chất trung gian K (100mg, 0,158mmol) và *tert*-butyl but-3-yn-1-ylcarbamate (54mg, 0,32mmol) trong DMSO: nước: *tert*-butanol (1: 1: 1, 3ml). Sau khi khuấy qua đêm, pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc và nước. Phân tách các lớp và

chiết lớp nước bằng bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Rửa phần thu được bằng diethyl ete/pentan, thu hợp chất tiêu đề (80mg, 63%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 799,8$ (M-1).

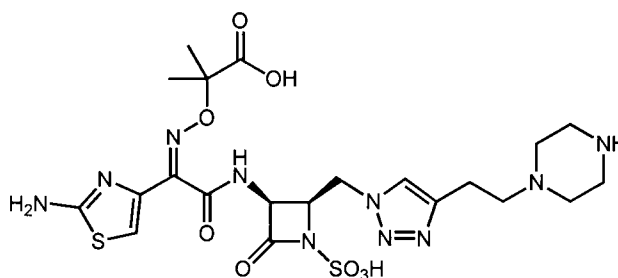
Bước 2: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(2-aminoethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic. Thêm TFA: DCM (1:1, 4,2ml), sau đó Thêm triethylsilan (65 μ l, 0,411mmol) vào dung dịch chứa axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)etyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (110mg, 0,137mmol) trong DCM (1,4ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 30 phút và làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng. Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc nó trong chân không và nghiền nhỏ bằng MTBE:Heptan (1:2) ngay sau đó, quan sát thấy chất rắn. Tinh chế chất rắn thô này bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (cột C18, hệ thống dung môi axetonitril: nước với chất điều biến axit formic 0,1%) để thu hợp chất tiêu đề (5mg, 7%); LCMS: $m/z = 543,9$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, $\text{MeOH}-d_4$) δ 8,06 (s, 1H), 6,95 (s, 1H), 5,44 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 4,66 (q, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,95-4,83 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi nước), 3,29-3,24 (m, 2H), 3,07 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 1,54 (s, 3H), 1,52 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 42: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-(2-(piperazin-1-yl)etyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic

Bước 1: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(2-(4-(tert-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)etyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm CuSO_4 (2,5mg, 0,016mmol) và natri L-ascorbat (5mg, 0,15mmol) vào dung dịch của chất trung gian K (90mg, 0,142mmol) và *tert*-butyl 4-(but-3-yn-1-yl)piperazin-1-carboxylat (34mg, 0,14mmol) trong hỗn hợp của DMSO:nước: *tert*-butanol (1:1:1, 2,16ml). Sau khi khuấy qua đêm pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc và

nước. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Rửa phần thu được bằng diethyl ete/pentan, thu hợp chất tiêu đề (120mg, sản phẩm thô); LCMS: $m/z = 871,4$ ($M+1$).

Bước 2: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-(2-(piperazin-1-yl)etyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic

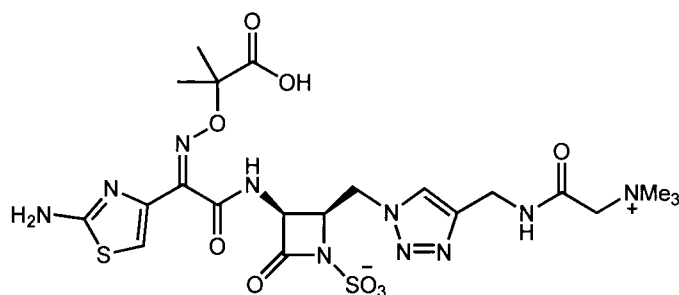


Thêm TFA: DCM (1:1, 4,2ml), sau đó Thêm triethylsilan (65 μ l, 0,411mmol) vào dung dịch chứa axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(2-(4-(tert-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)etyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (120mg, 0,138mmol) trong DCM (1,4ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 30 phút và làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng. Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc nó trong chân không và nghiền nhỏ bằng MTBE: Heptan (1:2) ngay sau đó quan sát thấy chất rắn. Tinh chế chất rắn thô này bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (cột C18, hệ thống dung môi axetonitril: nước với chất điều biến axit formic 0,1%) để thu hợp chất tiêu đề (9,3mg, 11%); LCMS: m/z = 612,8 (M-1); ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,67 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,30 (s, 2H), 6,66 (s, 1H), 5,27 (dd, J = 8,8, 5,5 Hz, 1H), 4,82 (dd, J = 14,7, 4,0 Hz, 1H), 4,68 (dd, J = 14,7, 6,6 Hz, 1H), 4,24 (td, J = 5,9, 4,2 Hz, 1H), 3,10 (t, J = 5,2 Hz, 4H), 2,76 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,64-2,54 (m, 6H), 1,37 (s, 3H), 1,30 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 43: (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-oxo-4-((4-((2-(trimetylamonio)axetamido)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonat.

Bước 1: 2-(((1-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-yl)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)amino)-*N,N,N*-trimetyl-2-oxoetanamonibromua. Thêm CuSO₄ (2,5mg, 0,016mmol) và natri L-ascorbat (5mg, 0,15mmol) vào dung dịch của chất trung gian K(100mg, 0,158mmol) và *N,N,N*-trimetyl-2-oxo-2-(prop-2-yn-1-ylamino)etanamonibromua (50mg, 0,212mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 3ml). Khuấy hỗn hợp qua đêm và làm ngừng phản ứng bằng nước đá lạnh, ngay sau đó, lọc chất rắn thu được và sấy trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề ở dạng sản phẩm thô (50mg, 40%); LCMS: $m/z = 784,85$ (M-1).

Bước 2: (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-oxo-4-((4-((2-(trimetylamonio)axetamido)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)azetidin-1-sulfonat.

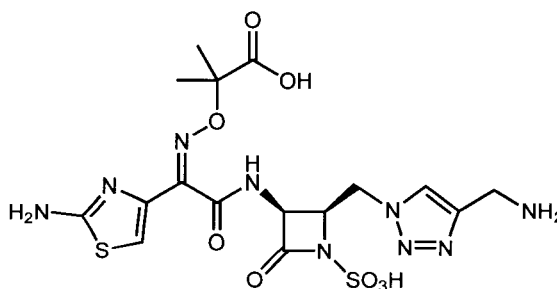


Thêm TFA: DCM (1:1, 1,92ml), sau đó Thêm triethylsilan (31μl, 0,19mmol) vào huyền phù đặc của 2-(((1-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-yl)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)amino)-*N,N,N*-trimetyl-2-oxoetanaminibromua (50mg, 0,0635mmol) trong DCM (640μl) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 30 phút và làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng. Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc nó trong chân không và nghiền nhỏ bằng MTBE:Heptan (1:2) ngay sau đó quan sát thấy chất rắn. Tinh chế chất rắn thô này bằng HPLC, thu sản phẩm pha đảo (cột C18, hệ thống dung môi axetonitril: nước với chất điều biến axit formic 0,1%) để thu hợp chất tiêu đề (11mg, 27%). LCMS: $m/z = 630,9$ (M-1); ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,40 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 9,06 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,32 (s, 2H), 6,71 (s, 1H), 5,28 (dd, *J* = 8,6, 5,5 Hz, 1H), 4,89-4,64 (m, 2H), 4,38 (t, *J* = 5,1 Hz, 2H), 4,22 (q, *J* = 5,3 Hz, 1H), 4,08 (s, 2H), 3,22 (s, 9H), 1,33 (s, 3H), 1,26 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 44: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm *N*-Boc-propargyl amin (50mg, 0,321mmol), CuSO₄ (13mg, 0,079mmol) và natri L-ascorbat (48mg, 0,237mmol) vào dung dịch của chất trung gian K (100mg, 0,158mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 1,5ml) ở 0°C. Đưa dần dần hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 3 giờ. Sau đó pha loãng nó bằng EtOAc và nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ sau đó cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (120mg, 96%); LCMS: *m/z* = 787,95 (M+1).

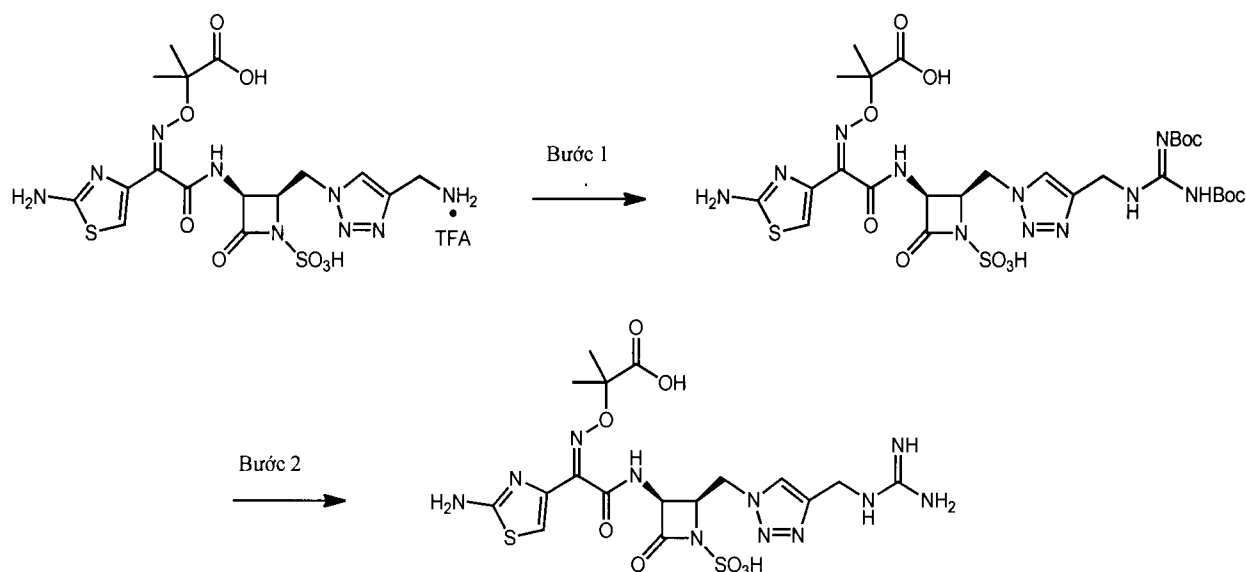
Bước 2: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm TFA: DCM (1:1, 4,5ml), sau đó Thêm triethylsilan (72μl, 0,45mmol) vào huyền phù đặc của axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (120mg, 0,15mmol) trong DCM (1,5ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 30 phút và làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng. Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc nó trong chân không và nghiền nhỏ bằng MTBE: Heptan (1:2) ngay sau đó quan sát thấy

chất rắn. Tinh chế chất rắn thô này bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo(cột C18, hệ thống dung môi axetonitril: nước với chất điều biến axit formic 0,1%) để thu hợp chất tiêu đề (11,3mg, 14%).LCMS: $m/z = 528,9$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,47 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,30 (s, 2H), 6,75 (s, 1H), 5,27 (dd, $J = 8,6, 5,6$ Hz, 1H), 4,82 (qd, $J = 14,9, 5,0$ Hz, 2H), 4,23 (q, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,09 (s,2H), 1,37 (s, 3H), 1,32 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 45: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(guanidinometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Bước 1: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((2,3-bis(tert-butoxycarbonyl)guanidino)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic. Thêm DIPEA (100 μ l, 0,610mmol), sau đó Thêm *N,N*-di-Boc-1*H*-pyrazol-1-carboxamidin (42mg, 0,134mmol) vào dung dịch chứa trifloaxetat của axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(amoniometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic (150mg, 0,122mmol) trong DCM (10ml). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng qua đêm ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không, Thêm nước và đông khô nó trong 72 giờ để thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô(210mg, chuyển hóa định lượng giả định). LCMS: $m/z = 772,1$ (M-1).

Bước 2: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(guanidinometyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

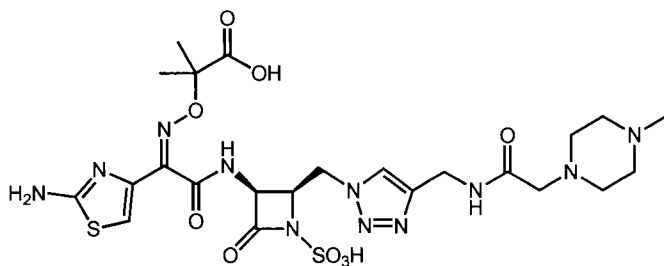
Quy trình chung để loại bỏ bảo vệ trung gian do axit. Thêm TFA (689 μ L, 9mmol) vào dung dịch chứa axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((2,3-bis(tert-butoxycarbonyl)guanidino)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic (0,15 mmol, chuyển hóa định lượng giả định) trong DCM (1,5ml) ở 0°C. Loại bỏ mẻ lạnh này sau 10 phút. Sau 4 giờ ở nhiệt độ phòng, pha loãng nó bằng DCM (1,5ml) và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC, thu sản phẩm pha đảo (X-Bridge, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; axetonitril-nước với chất điều biến axit formic 0,1%, 1ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (2,7mg, 3%). LCMS: m/z = 572,0 (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,91 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,31 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,54 (s, 1H), 4,35 (s, 2H), 3,50-3,35 (m, 2H), 1,19 (s, 3H), 1,18 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 46: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((2-(4-methylpiperazin-1-yl)axetamido)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((2-(4-methylpiperazin-1-yl)axetamido)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm 2-(4-methylpiperazin-1-yl)-*N*-(prop-2-yn-1-yl)axetamit (47mg, 0,24mmol), CuSO_4 (13mg, 0,079mmol) và natri L-ascorbat (48mg, 0,237mmol) vào dung dịch của chất trung gian K (100mg, 0,158mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 1ml) ở 0°C. Đưa từ từ hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 3 giờ. Sau đó pha loãng nó bằng EtOAc và nước muối và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 , sau đó cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô (110mg, 84%); LCMS: m/z = 829,1 (M+1).

Bước 2: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((2-(4-methylpiperazin-1-yl)axetamido)metyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-

sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



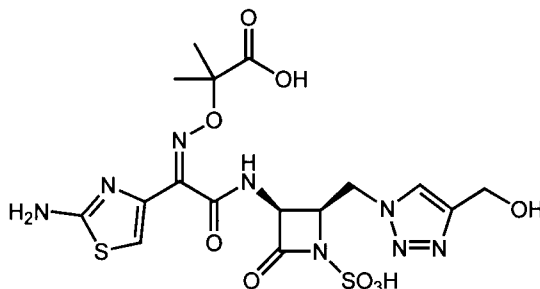
Thêm TFA: DCM (1:1, 3,9ml), sau đó Thêm triethylsilan (62 μ l, 0,39mmol) vào huyền phù đặc của axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((4-((2-(4-methylpiperazin-1-yl)acetamido)methyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (120mg, 0,13mmol) trong DCM (1,3ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 30 phút và làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng. Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc nó trong chân không và nghiền nhỏ bằng MTBE: Heptan (1:2) ngay sau đó quan sát thấy chất rắn. Tinh chế chất rắn thô này bằng HPLC, thu sản phẩm pha đảo (cột C18, hệ thống dung môi ACN-nước với chất điều biến axit formic 0,1%) để thu hợp chất tiêu đề (9mg). LCMS: m/z = 669,75 (M-1); ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,40 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,33 (s, 2H), 6,71 (s, 1H), 5,29 (dd, J = 8,7, 5,6 Hz, 1H), 4,88-4,60 (m, 2H), 4,34 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 4,24 (q, J = 5,3 Hz, 1H), 3,20-2,87 (m, 8H), 2,77 (s, 3H), 1,34 (s, 3H), 1,30 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 47: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

Bước 1: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((4-(hydroxymethyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm rượu propargyl (24 μ l, 0,40mmol), CuSO₄ (16mg, 0,10mmol) và natri L-ascorbat (59mg, 0,30mmol) vào dung dịch của chất trung gian K (126mg, 0,20mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 1,5ml) ở 0°C. Đưa từ từ hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 3 giờ. Sau đó đông lạnh và đông khô nó. Tinh sạch sản phẩm

thô bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-100%) để thu hợp chất tiêu đề ở dạng chất rắn màu nâu nhạt (100mg, 73%); LCMS: $m/z = 687,1$ (M-1).

Bước 2: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymetyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(hydroxymetyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (100mg, 0,145mmol), DCM (4ml) và TFA (1ml, 13mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (T3, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; axetonitril-nước với chất điều biến axit formic 0,1%, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (22mg, 29%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 530,9$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 12,50 (br s, 1H), 9,36 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,50 (br s, 2H), 6,70 (s, 1H), 5,28 (dd, $J = 8,8, 5,2$, Hz, 1H), 4,86 (dd, $J = 14,4, 4,0$ Hz, 1H), 4,69 (dd, $J = 14,8, 7,2$ Hz, 1H), 4,48 (s, 2H), 4,27-4,21 (m, 1H), 1,35 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

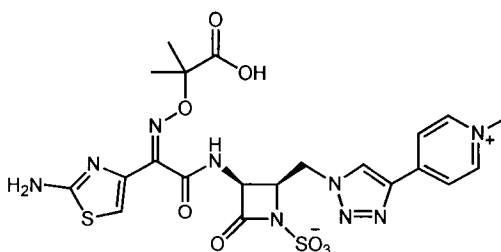
Ví dụ tham khảo 48: (2R,3S)-3-((Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-((4-(1-metylpyridin-1-ium-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Bước 1: 4-(1-(((2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-1-metylpyridin-1-ium triflometansulfonat. Thêm 4-etylnyl-1-metylpyridin-1-ium triflometansulfonat (72 μ l, 0,27mmol), CuSO₄ (11mg, 0,067mmol) và natri L-ascorbat (40mg, 0,201mmol) vào

dung dịch của chất trung gian K (85mg, 0,134mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 1,0ml) ở 0°C. Đưa dần dần hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 3 giờ ngay sau đó, pha loãng nó bằng nước (5ml). Rửa kết tủa thu được bằng nước (2ml) và sấy qua dòng N₂, để thu hợp chất tiêu đề (80mg) ở dạng hỗn hợp với chất tương tự được *N*-sulfonyl hóa ở dạng chất rắn màu nâu nhạt; LCMS: *m/z* = 748,1 (M-1).

Bước 2: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(1-metylpyridin-1-ium-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat. Xử lý 4-(1-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-1-metylpyridin-1-ium triflometansulfonat (70mg, 0,10mmol) trong DMF (1ml) bằng SO₃•DMF (80mg, 0,52mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ sau đó cô đặc trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-100%), để thu hợp chất tiêu đề (24mg, 31%) ở dạng chất rắn màu be. LCMS: *m/z* = 748,1 (M-1).

Bước 3: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-((4-(1-metylpyridin-1-ium-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(1-metylpyridin-1-ium-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat (24mg, 0,032mmol), DCM (1,2ml) và TFA (0,3ml, 3,9mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XBridge, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (7,9mg, 41%) ở dạng chất rắn màu trắng.

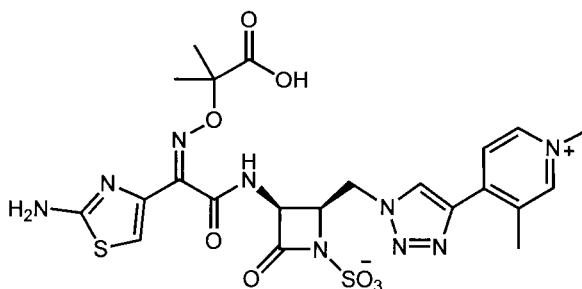
LCMS: $m/z = 592,0$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 8,76 (s, 1H), 8,62 (d, $J = 6,8\text{Hz}$, 2H), 8,19 (d, $J = 6,4\text{ Hz}$, 2H), 6,76 (s, 1H), 5,42 (d, $J = 5,2\text{ Hz}$, 1H), 4,98-4,81 (m, 2H; bị che khuất một phần bởi đỉnh dung môi dư), 4,66-4,54 (m, 2H được giả thiết: bị che khuất bởi đỉnh dung môi dư), 4,22 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,27 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 49: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-((4-(1,3-dimethylpyridin-1-ium-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Bước 1: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(1,3-dimethylpyridin-1-ium-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Thêm 4-etylnyl-1,3-dimethylpyridin-1-ium triflometansulfonat (107mg, 0,38mmol), CuSO_4 (15mg, 0,095mmol) và natri L-ascorbat (56mg, 0,285mmol) vào dung dịch của chất trung gian K (120mg, 0,19mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 1,5mL) ở 0°C . Đưa dần dần hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 3 giờ ngay sau đó, pha loãng nó bằng nước (10ml). Rửa kết tủa thu được bằng nước (5ml) và sấy. Tinh sạch sản phẩm thô bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-100%), để thu hợp chất tiêu đề (80mg, 55%) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt; LCMS: $m/z = 762,2$ (M-1).

Bước 2: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-2-((4-(1,3-dimethylpyridin-1-ium-4-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(1,3-dimethylpyridin-1-ium-4-yl)-

1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat (24mg, 0,032mmol), DCM (1,2ml) và TFA (0,3ml, 3,9mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (T3, 30 x 150mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (12mg, 62%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: m/z = 606,1 (M-1); ^1H NMR (400MHz, D₂O): δ 8,65 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,49 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 8,27 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 6,74 (br s, 1H), 5,47 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,97-4,88 (m, 3H), 4,21 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 1,30 (s, 3H), 1,28 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 50: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic

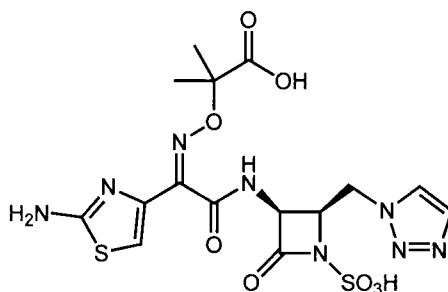
Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-(trimethylsilyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm trimethylsilylaxetylen (100 μ l, 0,724mmol), CuSO₄ (29mg, 0,181mmol) và natri L-ascorbat (108mg, 0,543mmol) vào dung dịch của chất trung gian J (120mg, 0,19mmol) trong hỗn hợp của DMSO:nước: *tert*-butanol (1:1:1, 2,0ml) ở 0°C. Đưa dần dần hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 4 giờ, ngay sau đó, pha loãng nó bằng nước muối (5ml) và chiết bằng EtOAc (3 x 10ml). Sấy các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 7%), để thu hợp chất tiêu đề (170mg, 72%) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt; LCMS: m/z = 651,2 (M+1).

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Được điều chế theo phương pháp đã được mô tả trong WO2013/028590. Thêm TBAF (1M trong THF, 860 μ l, 0,86mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-(trimethylsilyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (140mg, 0,261mmol) trong THF (4ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, bổ sung thêm TBAF (1M trong THF, 1,0ml, 1,0mmol). Sau khi khuấy thêm trong 48 giờ, cô đặc dung dịch trong chân

không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 7%) để thu hợp chất tiêu đề (84mg, 68%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: $m/z = 579,2$ (M+1).

Bước 3: axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (84mg, 0,145mmol) trong DMF (2ml) bằng $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (222mg, 1,45mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ sau đó pha loãng bằng EtOAc (50ml) và nước. Phân tách các lớp và rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không, thu hợp chất tiêu đề ở dạng thô ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (84mg, 88%). LCMS: $m/z = 657,1$ (M-1).

Bước 4: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic

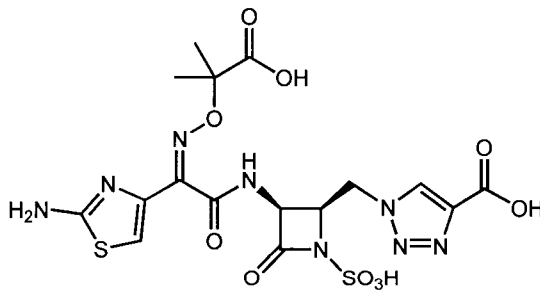


Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (80mg, 0,121mmol), DCM (4ml) và TFA (1ml, 13mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (T3, 30 x 150mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (12mg, 20%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 500,9$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,95 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 5,38 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,88-4,80 (m, 1H), 4,78-4,70 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 1,34 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 51: axit 1-(((2R,3S)-3-((Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-yl)metyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxylic.

Bước 1: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(tert-butoxycarbonyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm *tert*-butyl propiolat (68μl, 0,496mmol), CuSO₄ (20mg, 0,124mmol) và natri L-ascorbat (198mg, 0,372mmol) vào dung dịch của chất trung gian K (157mg, 0,248mmol) trong hỗn hợp của DMSO: nước: *tert*-butanol (1:1:1, 2,0ml) ở 0°C. Đưa từ từ hỗn hợp thu được đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 3 giờ, ngay sau đó, pha loãng nó bằng nước (20ml) và chiết bằng EtOAc (3 x 50ml). Sấy các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄, cô đặc trong chân không hòa tan trong nước và đông khô, để thu hợp chất tiêu đề (180mg, 96%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt; LCMS: $m/z = 759,3$ (M+1).

Bước 2: axit 1-(((2R,3S)-3-((Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2-carboxypropan-2-yl)oxy)imino)axetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-yl)metyl)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(tert-butoxycarbonyl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (180mg, 0,237mmol), DCM (8ml) và TFA (2ml, 26mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (T3, 30 x 150mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (35mg, 27%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 544,9$ (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 8,43 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 5,38 (d, *J* =

5,2 Hz, 1H), 4,92-4,71 (m, 3H; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 1,33 (s, 6H).

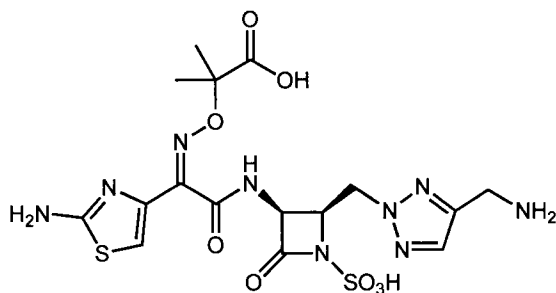
Ví dụ tham khảo 52: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat.

Quy trình chung cho phản ứng Mitsunobu. Thêm từng giọt DIAD (145mg, 0,682mmol) vào dung dịch của chất trung gian H (300mg, 0,569mmol), *tert*-butyl ((2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbammat (135mg, 0,682mmol) và triphenylphosphin (178mg, 0,682mmol) trong THF (10ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, cô đặc dung dịch và tinh sạch bằng sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-5%), để thu hợp chất tiêu đề (300mg, 75%) ở dạng bột màu vàng. LCMS: m/z = 706,2 (M+1).

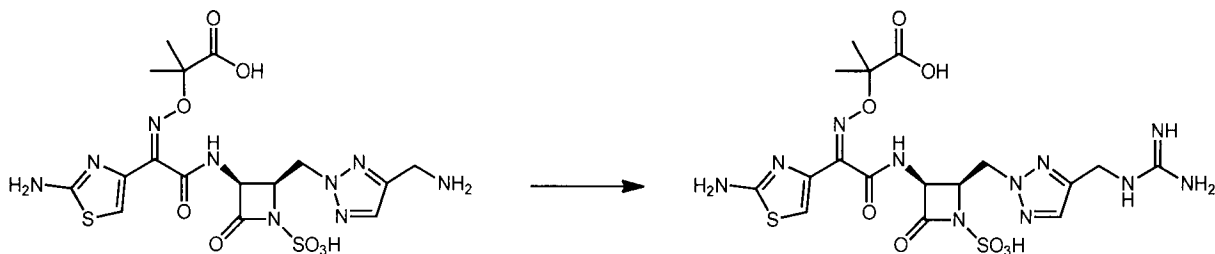
Bước 2: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (220mg, 0,311mmol) trong DMF (5ml) bằng SO₃•DMF (476mg, 3,11mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 48 giờ, sau đó cô đặc trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%), để thu hợp chất tiêu đề (82mg, 33%). LCMS: m/z = 786,2 (M-1).

Bước 3: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Khuấy axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((4-((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (82mg, 0,104mmol) với axit formic (2,0ml) ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ, đã loại bỏ cả hai nhóm Boc. Sau khi cô đặc trong chân không, hòa tan nguyên liệu này trong DCM (1,5ml), làm lạnh xuống 0°C và xử lý bằng TFA (0,5ml, 6,5mmol) trong 1 giờ, ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (T3, 30 x 150mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (17,2mg, 31%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 529,9$ (M-1); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, D_2O): δ 7,67 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 5,39 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,86-4,74 (m, 3H giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,16 (s, 2H), 1,25 (s, 3H), 1,23 (3H, s).

Ví dụ tham khảo 53: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(guanidinometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm DIPEA (45μl, 0,27mmol) vào dung dịch chứa axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic (60mg,

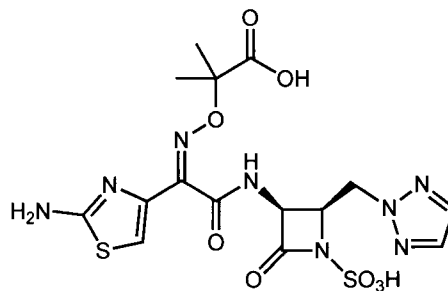
0,089mmol) và pyrazol-1-carboxamithydroclorua (16mg, 0,11mmol) trong DMF(3ml). Sau khi khuấy trong 16 giờ, cô đặc dung dịch và rửa bằng ete. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XBridge, 30 x 150mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (7,5mg, 15%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: m/z = 571,9 (M-1); ^1H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,55 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 5,38 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,82-4,76 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,76-4,72 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,32 (s, 2H), 1,15 (s, 3H), 1,14 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 54: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thực hiện theo quy trình chung đối với phản ứng Mitsunobu sử dụng chất trung gian H (300mg, 0,569mmol), 1,2,3-triazol (47mg, 0,682mmol), triphenylphosphin (178mg, 0,682mmol), DIAD (145mg, 0,682mmol) và THF (10ml). Tinh chế qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-5%), để thu hợp chất tiêu đề (320mg, 97%) ở dạng bột màu vàng. LCMS: m/z = 579,2 (M+1).

Bước 2: axit (2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (320mg, 0,553mmol) trong DMF (5ml) bằng SO₃•DMF (846mg, 5,53mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ sau đó cô đặc trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%), để thu hợp chất tiêu đề (70mg, 19%). LCMS: m/z = 657,1 (M-1).

Bước 3: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Khuấy axit (2R,3S)-2-((2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (70mg, 0,11mmol) với axit formic (2,0ml) ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ sau đó cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XBridge, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (8,1mg, 15%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: m/z = 500,9 (M-1); ^1H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,60 (s, 2H), 6,94 (s, 1H), 5,39 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,83-4,78 (m, 2H), 4,78-4,68 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 1,26 (s, 3H), 1,25 (s, 3H).

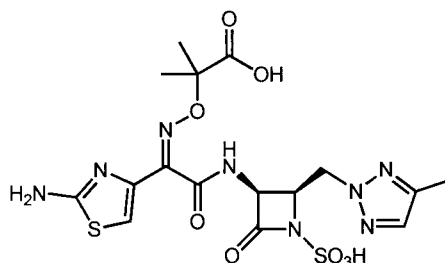
Ví dụ tham khảo 55: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-metyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-metyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thực hiện theo quy trình chung đối với phản ứng Mitsunobu sử dụng chất trung gian H (300mg, 0,569mmol), 4-metyl-1,2,3-triazol (83mg, 0,683mmol), triphenylphosphin (179mg, 0,683mmol), DIAD (138mg, 0,648mmol) và THF (8ml). Tinh chế qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-4%), để thu hợp chất tiêu đề (160mg, 47%) ở dạng bột màu vàng. LCMS: m/z = 591 (M-1).

Bước 2: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-metyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-1-(2-

((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (160mg, 0,270mmol) trong DMF (5ml) bằng SO₃•DMF (413mg, 2,70mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ sau đó cô đặc trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%), để thu hợp chất tiêu đề (77mg, 43%). LCMS: *m/z* = 671,1 (M-1).

Bước 3: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Khuấy axit (2*R*,3*S*)-3-(((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (67mg,0,10mmol) với axit formic (1,5ml) ở nhiệt độ phòng trong 3,5 giờ, sau đó cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XBridge, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (13,7mg, 27%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: *m/z* = 514,9 (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ7,39 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 5,38 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,80-4,60 (m, 3H giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 2,10 (s, 3H), 1,26 (s, 3H), 1,25 (s, 3H).

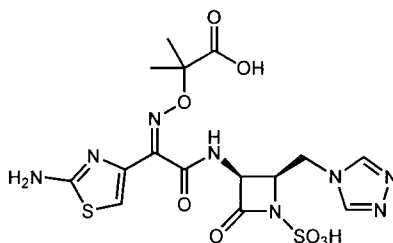
Ví dụ tham khảo 56: axit 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-

oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu dung dịch chứa hydrazit của axit formic (27,4mg, 0,456mmol) và trietyl orthoformat (67,6mg, 0,456mmol) trong MeOH (5ml) trong 4 giờ. Sau khi giảm nhiệt đến 40°C, Thêm chất trung gianL (120mg, 0,228mmol) và gia nhiệt thêm hỗn hợp này đến nhiệt độ hồi lưu trong 20 giờ. Sau khi giảm nhiệt đến nhiệt độ phòng, làm bay hơi dung môi trong chân không và hàn tan phần thu được trong EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (0-10% MeOH-EtOAc), để thu hợp chất tiêu đề (95mg, 72%) ở dạng bột. LCMS: m/z = 529,1 (M+1).

Bước 2: axit (2R,3S)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (95mg, 0,16mmol) trong DMF (2ml) bằng SO₃•DMF (251mg, 1,64mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, ngay sau đó, bổ sung Thêm SO₃•DMF (502mg, 3,28mmol) và khuấy Thêm dung dịch trong 72 giờ. Pha loãng nó bằng nước và chiết bằng EtOAc (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (2x), sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (77mg) ở dạng chất rắn. LCMS: m/z = 657,1 (M-1).

Bước 3: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((4H-1,2,4-triazol-4-yl)metyl)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-

oxoazetidin-1-sulfonic (77mg, 0,117mmol), DCM (3ml) và TFA (1ml, 13,0mmol) trong 2 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XBridge, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 1ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (5,6mg, 10%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: m/z = 500,8 (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 8,52 (s, 2H), 6,90 (s, 1H), 5,30 (d, $J=5,6$ Hz, 1H), 4,56 (m, 2H), 4,42 (q, 1H), 1,30 (s, 6H).

Ví dụ 57: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(aminometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((S)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-2-hydroxypropyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat.

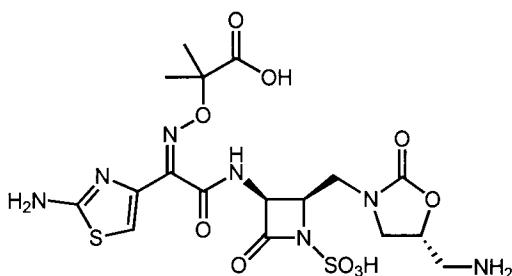
Khuấy dung dịch của chất trung gian L (250mg, 0,475mmol) và (*R*)-*tert*-butyl (oxiran-2-ylmetyl)carbamate (410mg, 2,38mmol) trong DCM (3ml) ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ sau đó cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 4-10%), để thu hợp chất tiêu đề (250mg, 75%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: m/z = 698,1 (M-1).

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm CDI (104mg, 0,643mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-2-hydroxypropyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (250mg, 0,357mmol) trong DCM (10ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 3-5%) để thu hợp chất tiêu đề (155mg, 60%). LCMS: m/z = 724,0 (M-1).

Bước 3: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((R)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-

sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (155mg, 0,213mmol) trong DMF (1ml) bằng SO₃•DMF (130mg, 0,854mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%), để thu hợp chất tiêu đề (160mg, 93%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: *m/z* = 804.0 (M-1).

Bước 4: axit 2-(((Z)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(aminomethyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((*R*)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (160mg, 0,199mmol), DCM (1,5ml) và TFA (500μl, 6,49mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (85,8mg, 78%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: *m/z* = 548.0 (M+1); ¹H NMR (400MHz, D₂O) δppm 6,93 (s, 1H), 5,23 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,76-4,69 (m, 1H), 4,54-4,49 (m, 1H), 3,84 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 14,8, 9,6 Hz, 1H), 3,41-3,34 (m, 2H), 3,21-3,11 (m, 2H), 1,34(s, 3H), 1,32 (s, 3H).

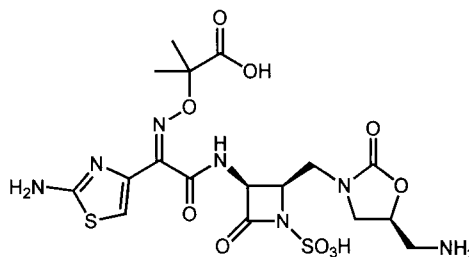
Ví dụ 58: axit 2-(((Z)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(aminomethyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

Bước 1: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-2-hydroxypropyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Khuấy dung dịch của chất trung gian L(400mg, 0,760mmol) và (*S*)-*tert*-butyl (oxiran-2-ylmethyl)carbamate (658mg, 3,80mmol) trong DCM (4ml) ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ sau đó cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 4-10%), để thu hợp chất tiêu đề (390mg, 73%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 700,1$ ($M+1$).

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm CDI (162mg, 1,00mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-2-hydroxypropyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (390mg, 0,557mmol) trong DCM (20ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 15°C trong 2 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 3-5%) để thu hợp chất tiêu đề (168mg, 41%). LCMS: $m/z = 726,1$ ($M+1$).

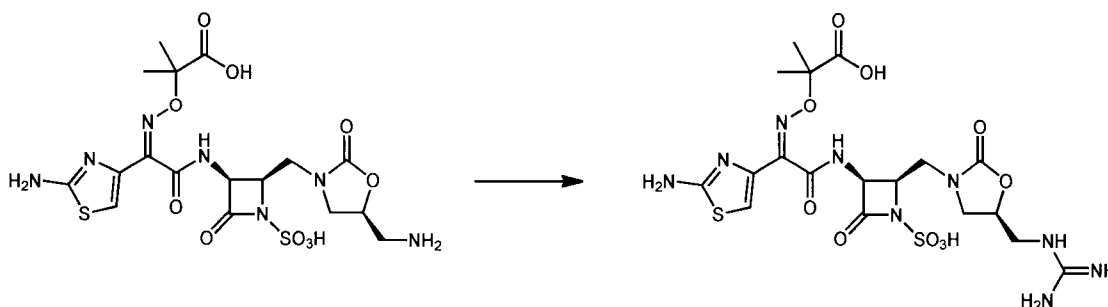
Bước 3: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((*S*)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (168mg, 0,231mmol) trong DMF (1ml) bằng SO₃•DMF (142mg, 0,926mmol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ ngay sau đó, cô đặc nó trong chân không và tinh sạch bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%), để thu hợp chất tiêu đề (155mg, 83%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 804,0$ ($M-1$).

Bước 4: axit 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(aminomethyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((S)-5-((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (155mg, 0,192mmol), DCM (1,5ml) và TFA (500μl, 6,49mmol). Tinh chế một nửa sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (21,8mg, khoảng 82%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: m/z = 547,8 (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O) δppm 6,96 (s, 1H), 5,27 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 4,80-4,78 (m, 1H), 4,52-4,47 (m, 1H), 3,75-3,66 (m, 2H), 3,49-3,45 (m, 1H), 3,32-3,16 (m, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

Ví dụ 59: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((S)-5-(guanidinometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm DIPEA (100μl, 0,576mmol) vào dung dịch chứa axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((S)-5-(aminometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic (0,096mmol) và pyrazol-1-carboxamidinhidroclorua (21mg, 0,144mmol) trong DMF (3ml). Sau 16 giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, cô đặc dung dịch trong chân không và rửa bằng ete. Tinh chế

sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (29mg, 51%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMSm/z = 589,8 (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ ppm 6,93 (s, 1H), 5,26 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,65-4,5 (m, 1H), 4,52-4,45 (m, 1H), 3,69-3,61 (m, 2H), 3,44-3,30 (m, 4H), 1,34 (s, 3H), 1,32 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 60: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((3-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1. Hợp chất A: Benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((3-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat.

Bước 1. Hợp chất B: Benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((5-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat.

Tạo huyền phù đặc ((2S,3S)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl metansulfonat (3,74g, 8,0mmol), 3-metyl-1H-1,2,4-triazol (2,00g, 24,0mmol), K₂CO₃ (6,64g, 48,0mmol) và NaI (2,88g, 17,2mmol) trong DMF (16ml) và gia nhiệt đến 70°C cùng với khuấy. Sau 24 giờ, cô đặc hỗn hợp trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2%) để thu các hợp chất tiêu đề (1,64g, kết hợp 44%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt (hỗn hợp không thể phân tách được). LCMS: m/z = 466,2 (M+1).

Bước 2. Hợp chất A: Benzyl ((2R,3S)-2-((3-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat.

Bước 2. Hợp chất B: Benzyl ((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat.

Được điều chế theo Mastalerz et al. *J. Med. Chem*, 1988, 31, 1190. Thêm K₂S₂O₈ (1,86g, 6,88mmol), sau đó Thêm K₂HPO₄ (1,50g, 8,60mmol) vào dung dịch chứa các hợp chất A/B, bước 1 (1,60g, 3,44mmol) trong ACN:nước (2:1, 45ml). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C trong 4 giờ, ngay sau đó giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng sau đó pha loãng bằng EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân

không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 10%), để thu các hợp chất tiêu đề (hỗn hợp, 670mg, 62%) ở dạng chất rắn màu trắng. Tinh chế Thêm hỗn hợp này qua HPLC không đối xứng (Chiralcel-OJ, 2 x 25 cm, EtOH-Hexan, 18%), để thu hợp chất A (250mg) và hợp chất B (240mg).

Bước 3: (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((3-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)azetidin-2-on.

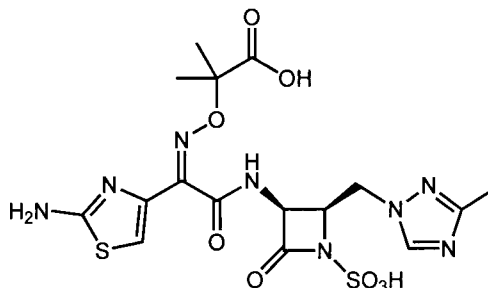
Huyền phù đặc của benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((3-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (250mg, 0,79mmol) và Pd trên C (10%, 100mg) trong MeOH (20ml) được xả và nạp đầy lại bằng H₂ (3x), đưa áp suất cuối tới 35 psi. Sau 2 giờ khuấy lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH và cô đặc dịch lọc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo.

Bước 4: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm pyridin (64μl, 0,79mmol) vào dung dịch chứa axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (310mg, 0,72mmol), (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((3-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)azetidin-2-on (130mg, 0,72mmol) và EDCI (150mg, 0,79mmol) trong DMF (5ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, bổ sung Thêm axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (310mg, 0,72mmol) và EDCI (150mg, 0,79mmol), cùng với HOBt (110mg, 0,79mmol) và DIPEA (250μl, 1,44mmol). Sau khi khuấy Thêm trong 16 giờ, cô đặc nó trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 5%), để thu hợp chất tiêu đề (230mg, 54%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: *m/z* = 593,0 (*M*+1).

Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((3-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((3-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (230mg, 0,388mmol) trong DMF (4ml) bằng SO₃•DMF (594mg, 3,88mmol). Sau khi khuấy 24 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Tinh sạch sản phẩm thô bằng nhựa

HP21 (ACN-nước, 5-50%), để thu hợp chất tiêu đề (100mg, 38%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $m/z = 673,1$ ($M+1$).

Bước 6: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((3-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((3-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (100mg, 0,149mmol), DCM (4,0ml) và TFA (1,0ml, 13,0mmol) trong 3 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (50mg, 65%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $m/z = 514,7$ ($M-1$); $^1\text{H NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,40 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,72 (br s, 1H), 6,78 (s, 1H), 5,25 (dd, $J = 8,8, 5,6$ Hz, 1H), 4,61 (dd, $J = 14,4, 5,2$ Hz, 1H), 4,47 (dd, $J = 14,4, 6,0$ Hz, 1H), 4,33 (dd, $J = 6,0, 5,2$ Hz, 1H), 2,30 (s, 3H), 1,42 (s, 3H), 1,38 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 61: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: (3S,4R)-3-amino-4-((5-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)azetidin-2-on.

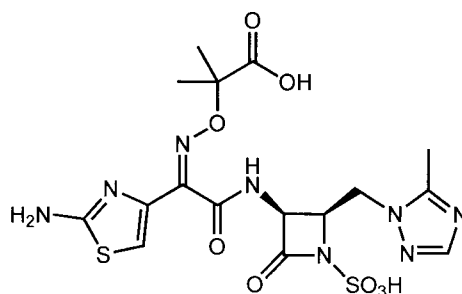
Huyền phù đặc của benzyl ((2R,3S)-2-((5-metyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (240mg, 0,76mmol) và Pd trên C (10%, 100mg) trong MeOH (20ml) được xả và nạp đầy lại bằng H_2 (3x), đưa áp suất cuối tới 35 psi. Sau 2

giờ khuấy lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng MeOH và cô đặc dịch lọc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo.

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm pyridin(64μl, 0,79mmol) vào dung dịch chứa axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (310mg, 0,72mmol), (3*S*,4*R*)-3-amino-4-((5-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)azetidin-2-on(130mg, 0,72mmol) và EDCI (150mg, 0,79mmol) trong DMF (5ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, cô đặc nó trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 10%), để thu hợp chất tiêu đề (190mg, 45%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 593,0$ ($M+1$).

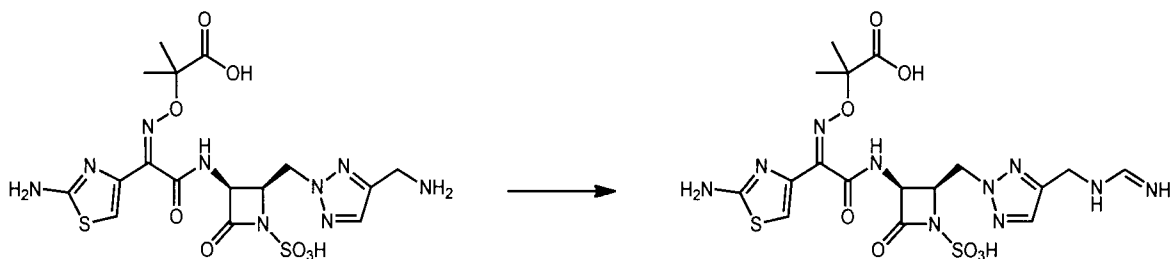
Bước 3: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Xử lý *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (180mg, 0,304mmol) trong DMF (4ml) bằng SO₃•DMF (466mg, 3,04mmol). Sau khi khuấy 24 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Tinh sạch sản phẩm thô bằng nhựa HP21 (ACN-nước, 0-50%), để thu hợp chất tiêu đề (80mg, 39%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $m/z = 671,0$ ($M+1$).

Bước 4: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5-metyl-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-methyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (80mg, 0,119mmol), DCM (4,0ml) và TFA (1,0ml, 13,0mmol) trong 3 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (15mg, 24%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: m/z = 514,8 (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,86 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 5,36-5,28 (m, 1H), 4,78-4,66 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,54-4,44 (m, 1H), 4,42-4,30 (m, 1H), 2,35 (s, 3H), 1,25 (s, 6H).

Ví dụ 62: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(formimidamidomethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Thêm DIPEA (41mg, 0,32mmol) vào dung dịch chứa axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminomethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic (100mg, 0,159mmol) và etylformamidate hydroclorua (17,4mg, 0,159mmol) trong DMF (1ml). Sau 2 giờ khuấy, bổ sung thêm etylformamidate hydroclorua (9,0mg, 0,082mmol) và thêm DIPEA (20mg, 0,16mmol). Sau 4 giờ tiếp theo, cô đặc dung dịch và rửa bằng ete. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (15,5mg, 18%) ở dạng hỗn hợp của các chất hỗ biến amidin. LCMS: m/z = 556,8 (M-1); ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,73 (s, 0,4H), 7,65 (s, 0,6H), 7,57 (m, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,37 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 4,80-4,61 (m, 3H giả thiết; bị che

khuất bởi đỉnh của dung môi dư) 4,48 (s, 0,4H), 4,45 (s, 0,6H), 1,17 (s, 3H), 1,15 (s, 3H).

Ví dụ 63: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((S)-5-(hydroxymethyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

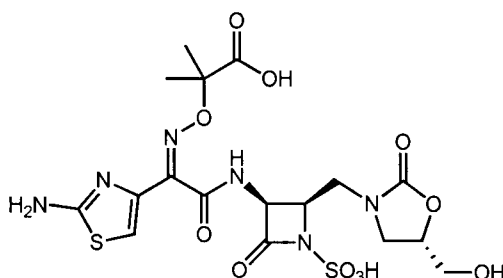
Bước 1: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((S)-9-hydroxy-2,2-dimethyl-5,7-dioxo-11-aza-2-siladodecan-12-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm (S)-trimethyl(2-((oxiran-2-ylmetoxy)metoxy)ethyl)silan (485mg, 2,38mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(aminomethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (500mg, 0,95mmol) trong DCM (5ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, bổ sung thêm 2,5 đương lượng của (S)-trimethyl(2-((oxiran-2-ylmetoxy)metoxy)ethyl)silan. Sau khi khuấy thêm ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-10%) để thu hợp chất tiêu đề (155mg, 22%). LCMS: $m/z = 731,4$ (M+1).

Bước 2: *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-(((S)-2-oxo-5-(((2-(trimethylsilyl)etoxy)metoxy)methyl)oxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm CDI (62mg, 0,38mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((S)-9-hydroxy-2,2-dimethyl-5,7-dioxo-11-aza-2-siladodecan-12-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (155mg, 0,21mmol) trong DCM (10ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở <15 °C trong 2 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 3-5%) để thu hợp chất tiêu đề (130mg, 81%). LCMS: $m/z = 755,3$ (M-1).

Bước 3: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-(((S)-2-oxo-5-(((2-(trimethylsilyl)etoxy)metoxy)methyl)oxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-

1-sulfonic. Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (105mg, 0,69mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-(((*S*)-2-oxo-5-(((2-(trimethylsilyl)etoxy)metoxy)metyl)oxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (130mg, 0,17mmol) trong DMF (1ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế hỗn hợp sản phẩm thô qua nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%) để thu hợp chất tiêu đề (140mg, 97%). LCMS: $m/z = 705,42$ (M-SEM).

Bước 4: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*S*)-5-(hydroxymetyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-(((*S*)-2-oxo-5-(((2-(trimethylsilyl)etoxy)metoxy)metyl)oxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic (140mg, 0,17mmol), DCM (2ml) và TFA (1ml) trong 3 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (28mg, 30%) LCMS: $m/z = 549,0$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,00 (s, 1H), 5,23 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,80-4,70 (m, 1H), 4,45-4,40 (m, 1H), 4,10-3,95 (m, 2H), 3,77 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,49 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 3,39 (m, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,38 (s, 3H).

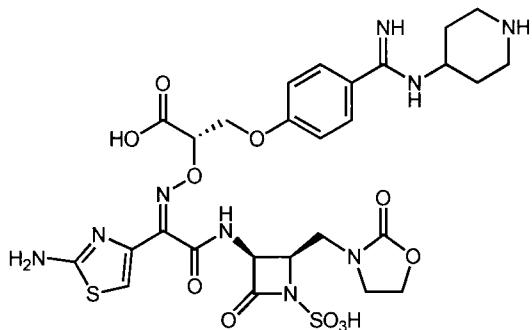
Ví dụ 64: axit (*S*)-2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-(piperidin-4-yl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoic.

Bước 1: *tert*-butyl (4-(2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)axetyl)thiazol-2-yl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với chất trung gian E, sử dụng chất trung gian D (0,776g, 4,19mmol), axit 2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoaxetic (1,141g, 4,19mmol), HATU (3,071g, 8,08mmol) trong DMF (20ml), sau đó Thêm DIPEA (3,66ml, 20,95mmol). LCMS: $R_t = 0,60$ min, $m/z = 440,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 2: axit (3*S*,4*R*)-3-(2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoaxetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic. Điều chế theo phương thức tương tự với chất trung gian F, sử dụng *tert*-butyl(4-(2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)axetyl)thiazol-2-yl)carbamate (500mg, 1,138mmol), SO₃•DMF (523mg, 3,41mmol) trong DMF (5,7ml). LC/MS: $R_t = 0,54$ min; $m/z = 520,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

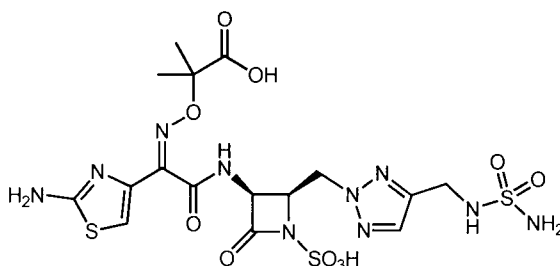
Bước 3: axit (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-((((*S*)-1-(benzhydryloxy)-3-(4-(*N*-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)carbamimidoyl)phenoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic. Thêm (*S*)-*tert*-butyl 4-(4-(2-(aminooxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)piperidin-1-carboxylat (được điều chế theo WO2013110643, 193mg, 0,328mmol) vào dung dịch chứa axit (3*S*,4*R*)-3-(2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoaxetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic (170mg, 0,328mmol) trong CHCl₃ (2ml, tỷ lệ: 1) và EtOH (6mL, tỷ lệ: 3). Sau khi khuấy trong 2 giờ, Thêm AcOH (19μl, 0,328mmol). Sau 12 giờ, bổ sung Thêm dung dịch chứa axit (3*S*,4*R*)-3-(2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoaxetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic (170mg, 0,328mmol) trong CHCl₃:EtOH tỷ lệ 3:1. Sau khi khuấy trong 45 giờ, cô đặc nó trong chân không, và tinh sạch sản phẩm thô bằng nhựa HP21 (10-100% ACN-nước), để thu hợp chất tiêu đề (117mg, 33%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: $R_t = 0,96$ min, $m/z = 1091,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 4: axit (*S*)-2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-3-(4-(*N*-(piperidin-4-yl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3*S*,4*R*)-3-(((*Z*)-2-((((*S*)-1-(benzhydryloxy)-3-(4-(*N*-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)piperidin-4-yl)carbamimidoyl)phenoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic (117mg, 0,107mmol), DCM (5,3ml) và TFA (0,413ml, 5,37mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30x100mm, 5µm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (23mg, 28%) ở dạng bột màu trắng. LC/MS: $R_t = 0,42$ min, $m/z = 724,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 9,53 (d, $J=7,57$ Hz, 1 H), 9,43-9,36 (m, 2H), 9,01 (br s, 1 H), 8,53-8,36 (m, 2H), 7,72 (d, $J=8,5$ Hz, 3H), 7,26 (br s, 2H), 7,15 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 6,82 (s, 1H), 5,19 (dd, $J=8,7, 5,8$ Hz, 1H), 5,02 (t, $J=3,8$ Hz, 1H), 4,51-4,42 (m, 2H), 4,12-3,96 (m, 3H), 3,90-3,81 (m, 1H), 3,73 (d, $J=7,3$ Hz, 1H), 3,69-3,62 (m, 1H), 3,58-3,53 (m, 1H), 3,20-3,16 (m, 1H), 2,98-2,85 (m, 1H) 2,13-2,04 (m, 1H), 1,85-1,72 (m, 1H).

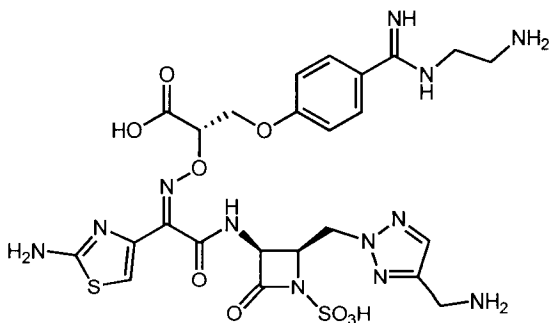
Ví dụ tham khảo 65: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-((sulfamoylamino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 53, sử dụng muối TFA của axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic, hợp chất ở dạng sản phẩm thô (200mg, 0,318mmol), *tert*-butylclosulfonylcarbamat (68mg, 0,318mmol), DIPEA (113ml, 0,636mmol) và DMF (1ml). LCMS: $m/z = 609,1$ ($M-1$), 1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,65 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,40 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,85-4,83 (m, 1H), 4,76-4,74 (m, 2H), 4,13 (s, 2H), 1,26 (s, 3H), 1,25 (s, 3H).

Điều chế *tert*-butylclosulfonylcarbamat: Thêm sulfurisocyanatidoyl clorua (3,5ml, 36,6mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butanol (3,2g, 36,9mmol) trong benzen (13ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, làm ngừng hỗn hợp phản ứng với Hexan. Giảm nhiệt hỗn hợp này trong bể nước đá, thu được kết tủa rắn màu trắng. Lọc chất rắn, rửa bằng Hexan, sấy và sử dụng luôn trong bước tiếp theo (3,2g, 41%).

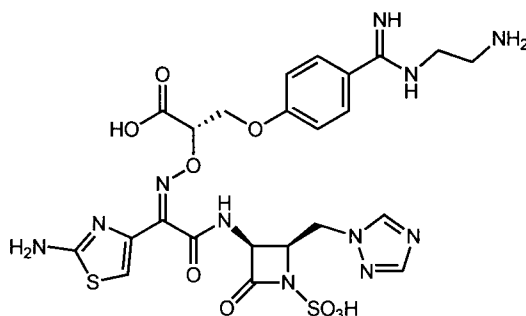
Ví dụ tham khảo 66: axit (*S*)-3-(4-(*N*-(2-aminoetyl)carbamimidoyl)phenoxy)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 31, sử dụng axit *tert*-butyl ((2-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamat và (*S,Z*)-2-(((1-(benzhydryloxy)-3-(4-(*N*-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)etyl)carbamimidoyl)phenoxy)-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl) axetic (được điều chế theo WO2013110643). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: $R_t = 0,25$ min, $m/z = 695,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit;

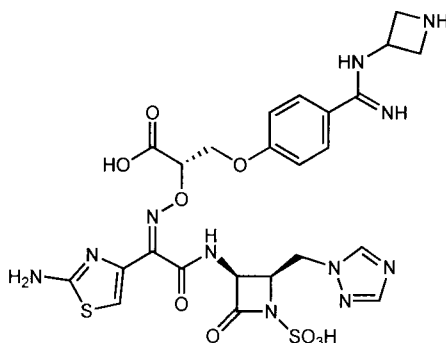
^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,48 (s, 3H), 8,99 (s, 1H), 8,21 (s, 4H), 7,89 (s, 4H), 7,82-7,77 (m, 2H), 7,71 (s, 1H), 7,22 (dd, $J = 10,5, 8,2$ Hz, 4H), 6,72 (s, 1H), 5,33 (dd, $J = 9,3, 5,5$ Hz, 1H), 4,99 (dd, $J = 5,7, 3,3$ Hz, 1H), 4,90 (ddd, $J = 12,8, 8,0, 3,9$ Hz, 1H), 4,78-4,68 (m, 2H), 4,51-4,36 (m, 3H), 4,08 (s, 3H), 3,13 (s, 2H).

Ví dụ tham khảo 67: axit (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(*N*-(2-aminoethyl)carbamidoyl)phenoxy)propanoic.



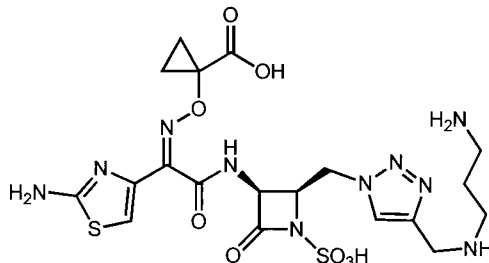
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 66, sử dụng (3*S*,4*R*)-4-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-3-aminoazetidin-2-on. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: $R_t = 0,25$ min, $m/z = 666,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Ví dụ tham khảo 68: axit (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(*N*-(azetidin-3-yl)carbamidoyl)phenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 64, sử dụng chất trung gian F và (*S*)-*tert*-butyl 3-(4-(2-(aminooxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)azetidin-1-carboxylat (được điều chế theo WO2013110643). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: R_t = 0,35 min, m/z = 678,2 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit phân cực}; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ 13,68-13,03(m, 1 H), 10,02 (d, $J=5,9\text{Hz}$, 1 H), 9,57-9,51 (m, 2 H), 9,05 (brs, 1 H), 8,91-8,76 (m, 2 H), 8,39 (s, 1 H), 7,91 (s, 1 H), 7,69 (d, $J=8,5\text{ Hz}$, 2 H), 7,30 (br s, 2 H), 6,92 (d, $J=8,8\text{ Hz}$, 2 H), 6,80 (s, 1H), 5,12-5,04(m, 2H), 4,74-4,66 (m, 1H), 4,54 (d, $J=8,8\text{ Hz}$, 1H), 4,49-4,35 (m, 3H), 4,31-4,16 (m, 5 H).

Ví dụ tham khảo 69: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-aminopropyl)amino)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic hỗn hợp với axit formic (1:1).



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 28, sử dụng axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic (20mg, 0,038mmol), *tert*-butyl (3 bromopropyl)carbamate (60mg, 0,252mmol), DIPEA (0,1ml, 0,572mmol), và DMF (0,5ml). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 19 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút). LCMS: R_t = 0,29 min, m/z = 587,1 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}, ^1H NMR (500MHz, D_2O) δ 8,31 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 5,32 (d, $J = 5,1\text{ Hz}$, 1H), 4,86-4,78 (m, 2H), 4,73-4,66 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh dung môi dư), 4,29 (s, 2H), 3,04-3,01 (m, 2H), 2,97-2,92 (m, 2H), 1,96 (p, $J = 7,9\text{ Hz}$, 2H), 1,22-1,11 (m, 2H), 1,10-0,96 (m, 2H).

Ví dụ 70: axit 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((3-(2-aminoethyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

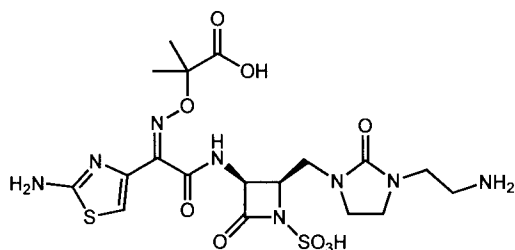
Bước 1: *Tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(11,11-dimethyl-9-oxo-10-oxa-2,5,8-triazadodexyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Thêm *tert*-butyl (2-oxoethyl)carbamate (27,9mg, 0,176mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (100mg, 0,176mmol) trong DCE (1,8ml). Sau khi khuấy trong 2 giờ, Thêm natri triaxetoxyborohydrua (112mg, 0,527mmol). Sau 12 giờ, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa(aq) và chiết bằng EtOAc. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Nó được sử dụng làm nguyên liệu thô trong bước 2.

Bước 2: *Tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((3-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 3 bước 3, sử dụng *tert*-butyl 2-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(11,11-dimethyl-9-oxo-10-oxa-2,5,8-triazadodexyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (135mg, 0,189mmol), CDI (46,1mg, 0,284mmol), TEA (132μl, 0,947mmol) và cloroform (1,9ml). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LC/MS: R_t = 1,02 min, m/z = 739,4 (M+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 3: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((3-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 3, bước 4, sử dụng *tert*-butyl 2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((3-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-

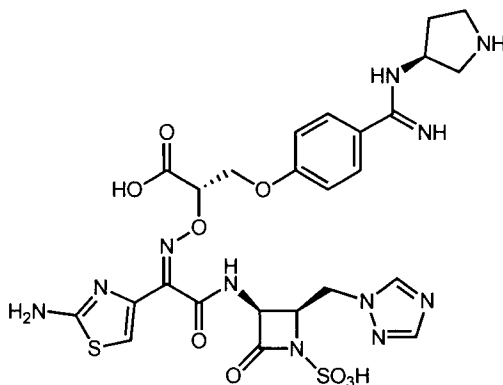
2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (60mg, 0,081mmol), $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (124mg, 0,812mmol), DMF (812 μl). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LC/MS: $R_t = 0,94$ min, $m/z = 819,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((3-(2-aminoethyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((3-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (42mg, 0,051mmol), TFA (237 μl , 3,08mmol) trong DCM (500 μl). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (1,2mg, 4%). LC/MS: $R_t = 0,35$ min, $m/z = 563,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ ^1H NMR 6,99 (s, 1 H), 5,32 (d, $J=5,9\text{Hz}$, 1 H), 4,56-4,50 (m, 1 H), 3,70 (dd, $J=15,1, 9,6\text{Hz}$, 1 H), 3,59-3,49 (m, 1 H), 3,463,30 (m, 4 H), 3,29-3,20 (m, 2 H), 3,08-3,02 (m, 2 H), 1,40 (s, 3 H), 1,38 (s, 3 H).

Ví dụ tham khảo 71: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-((S)-pyrrolidin-3-yl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 64, sử dụng chất trung gian F và (*R*)-*tert*-butyl 3-(4-((*S*)-2-(aminooxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)pyrolidin-1-carboxylat (được điều chế theo WO2013110643). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: $R_t = 0,39$ min, $m/z = 692,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): δ 9,52 (d, $J=7,6$ Hz, 3 H), 9,11 (brs, 1 H), 8,92-8,78 (m, 2 H), 8,40 (s, 1 H), 7,92 (s, 1 H), 7,67 (d, $J=8,8$ Hz, 2 H), 7,30 (brs, 2 H), 6,90 (d, $J=9,1$ Hz, 2 H), 6,80 (s, 1 H), 5,11-5,04 (m, 2 H), 4,58-4,51 (m, 1 H), 4,48-4,35 (m, 4 H), 4,25-4,20 (m, 1 H), 3,53-3,44 (m, 1 H), 2,35-2,25 (m, 1 H), 2,20-2,11 (m, 1 H).

Ví dụ 72: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(hydroxymetyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

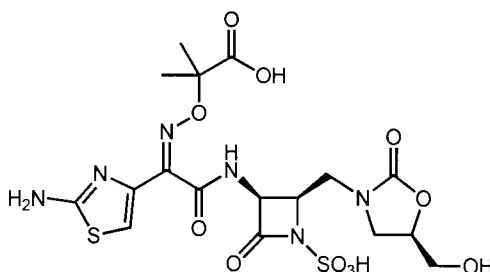
Bước 1: *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-3-(benzyloxy)-2-hydroxypropyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 63 bước 1, sử dụng *tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(aminometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (200mg, 0,38mmol), (*R*)-2-((benzyloxy)metyl)oxiran (623mg, 3,8mmol), DCM (2ml). Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 4-10%) để thu hợp chất tiêu đề (126mg, 48%). LCMS: $m/z = 691,3$ ($M+1$).

Bước 2: *tert-butyl* 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((benzyloxy)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 63 bước 2, sử dụng *tert-butyl* 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-3-(benzyloxy)-2-hydroxypropyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (126mg, 0,182mmol), CDI (53mg, 0,33mmol), DCM (5ml). Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 3-5%) để thu hợp chất tiêu đề (76mg, 58%). LCMS: $m/z = 715,3$ (M-1).

Bước 3: *Tert-butyl* 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((benzyloxy)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat ((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((benzyloxy)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 63 bước 3, sử dụng *tert-butyl* 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((benzyloxy)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (76mg, 0,11mmol), $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (65mg, 0,42mmol), DMF (1ml). Tinh chế sản phẩm thô qua nhựa HP21 (CH_3CN -nước, 10-50%) để thu hợp chất tiêu đề (80mg, 95%). LCMS: $m/z = 797,3$ (M+1).

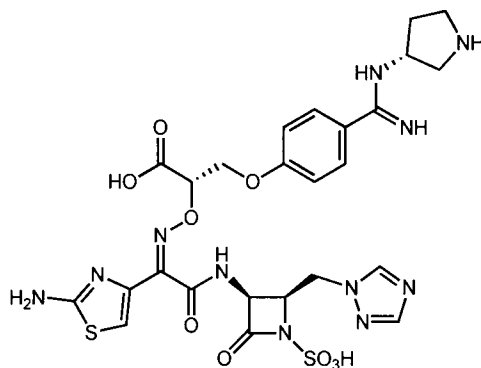
Bước 4: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-(hydroxymetyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Thêm BCl_3 (1M trong DCM, 0,6ml) vào dung dịch chứa *tert-butyl* 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((benzyloxy)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-

yl)amino)-1-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((benzyloxy)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonat (80mg, 0,1mmol) trong DCM (10ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng EtOH và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (1,1mg, 2%). LCMS: m/z = 549,0 (M-1); ^1H NMR (400MHz, D₂O): δ 6,96 (s, 1H), 5,29 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,48 (m, 2H), 3,73-3,35 (m, 6H), 1,36 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

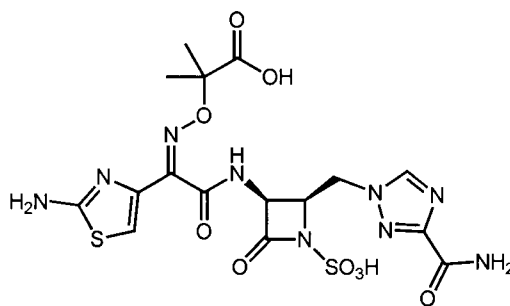
Ví dụ tham khảo 73: axit (S)-2-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-((*R*)-pyrolidin-3-yl)carbamidoyl)phenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 64, sử dụng chất trung gian F và (*S*)-*tert*-butyl 3-(4-((*S*)-2-(aminooxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)pyrolidin-1-carboxylat (được điều chế theo WO2013110643). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: R_t = 0,39 min, m/z = 692,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit phân cực; ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6): δ 9,52 (d, J =7,6Hz, 3 H), 9,11 (br s, 1 H), 8,92-8,78 (m, 2 H), 8,40 (s, 1 H), 7,92 (s, 1 H) 7,67 (d, J =8,8 Hz, 2 H), 7,30 (br s, 2 H), 6,90 (d, J =9,1 Hz, 2 H), 6,80 (s, 1 H), 5,11-5,04(m, 2 H), 4,51-4,58 (m, 1 H),

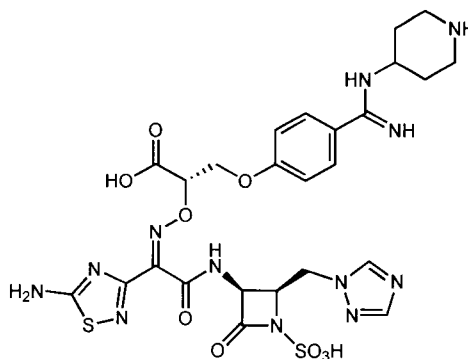
4,48-4,35 (m, 4 H), 4,25-4,19 (m, 1 H), 3,53-3,44 (m, 1 H), 2,35-2,26 (m, 1 H), 2,29-2,11 (m, 1 H).

Ví dụ tham khảo 74: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((3-carbamoyl-1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, sử dụng *tert*-butyl (1-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1H-1,2,4-triazol-3-carbonyl)carbamate. LCMS: $m/z = 544,0$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): $\delta 8,41$ (s, 1H), $6,94$ (s, 1H), $5,36-5,32$ (m, 1H), $4,75-4,50$ (m, 3H, bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), $1,23$ (s, 6H).

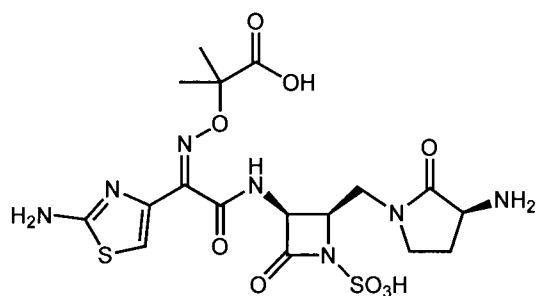
Ví dụ tham khảo 75: axit (S)-2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-(piperidin-4-yl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 31, sử dụng axit 2-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-oxo axetic. LCMS: $R_t = 0,305$ min, $m/z = 707,4$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, D_2O): $\delta 8,02$

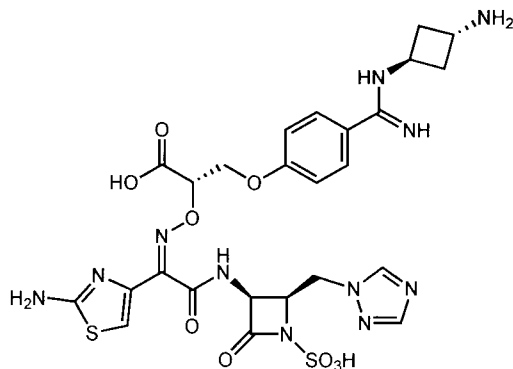
(s, 1 H), 7,66 (s, 1 H), 7,43 (d, $J=8,8$ Hz, 2 H), 6,77 (d, $J=9,1$ Hz, 2 H), 5,24 (d, $J=5,9$ Hz, 1 H), 5,10-5,06 (m, 1 H), 4,44-4,29 (m, 4 H), 4,01-3,88 (m, 1 H), 3,49 (d, $J=13,6$ Hz, 2 H), 3,21-2,99 (m, 2 H), 2,33-2,23 (m, 2H), 1,92-1,80 (m, 2H).

Ví dụ 76: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((S)-3-amino-2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



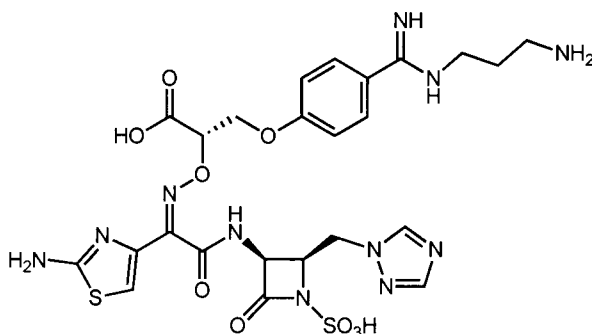
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 1, sử dụng (S)-metyl 4-bromo-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanoat. LCMS: $m/z = 532,0$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 6,99 (s, 1H), 5,31 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 4,70-4,58 (m, 1H), 4,02 (t, $J=9,6,9,2$ Hz, 1H), 3,85 (dd, $J=9,6,9,2$ Hz, 1H), 3,59 (m, 1H), 3,47 (m, 1H), 3,34 (dd, $J=14,8, 2,4$ Hz, 1H), 2,48 (m, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,37 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 77: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-((1R,3S)-3-aminoxyclobutyl)carbamidoyl)phenoxy)propanoic.



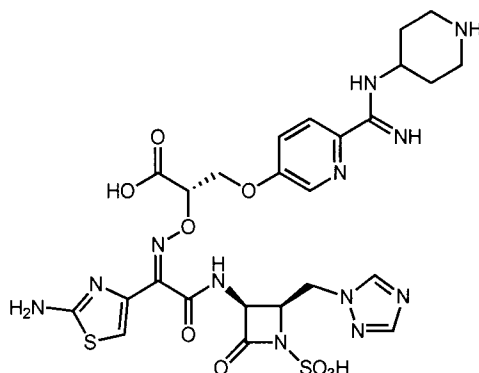
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 31, sử dụng (*S*)-benzhydryl 2-(aminooxy)-3-(4-(*N*-((1*r*,3*S*)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)xyclobutyl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoat LCMS: $R_t = 0,39$ min, $m/z = 692,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,83-9,76 (m, 1H), 9,51 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 9,33 (brs, 1H), 8,71 (brs, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,05-7,97 (m, 3H), 7,91 (s, 1H), 7,66 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,30 (brs, 2H), 6,89 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 6,80 (s, 1H), 5,13-5,04 (m, 2H), 4,5-4,49 (m, 1H), 4,47-4,33 (m, 3H), 4,24-4,16 (m, 2H), 3,97-3,86 (m, 1H), 2,69-2,52 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 78: axit (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(*N*-(3-aminopropyl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoic.



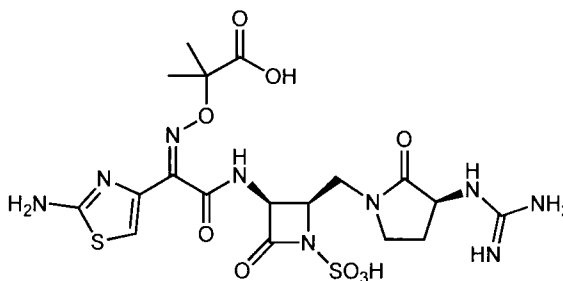
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 67, sử dụng (*S*)-benzhydryl 2-(aminooxy)-3-(4-(*N*-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoat (được điều chế theo WO2013110643). LCMS: $R_t = 0,38$ min, $m/z = 680,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,59-9,47 (m, 2H), 9,34 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,79-7,67 (m, 3H), 7,66-7,62 (m, 2H), 7,29 (s, 2H), 6,94-6,88 (m, 2H), 6,80 (s, 1H), 5,10 (dd, $J = 8,1, 5,5$ Hz, 1H), 5,06 (dd, $J = 5,0, 2,7$ Hz, 1H), 4,56-4,48 (m, 1H), 4,48-4,35 (m, 3H), 4,26-4,19 (m, 1H), 2,90 (dd, $J = 8,9, 5,5$ Hz, 3H), 1,96-1,83 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 79: axit (S)-2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-((6-(N-(piperidin-4-yl)carbamimidoyl)pyridin-3-yl)oxy)propanoic.



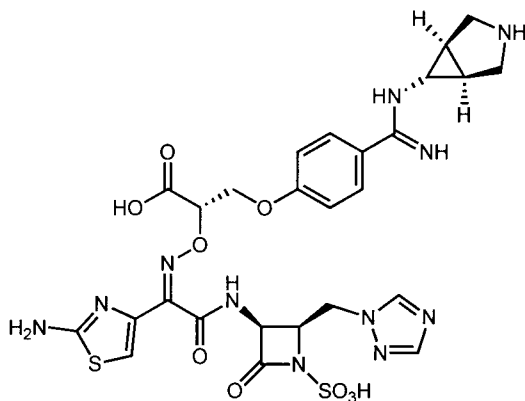
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 68, sử dụng chất trung gian F và (R)-tert-butyl 4-(5-(2-(aminooxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)picolinimidamido)piperidin-1-carboxylat (được điều chế theo WO2013110643). LCMS: $R_t = 0,29$ min, $m/z = 707,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9,71 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H), 9,58 (brs, 1 H), 9,24 (brs, 1 H), 8,45-8,40 (m, 1H), 8,36 (s, 1H), 8,27-8,21 (m, 1H), 8,12 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H), 7,84 (s, 1 H), 7,65-7,59 (m, 1H), 7,24 (br s, 2 H), 6,77 (s, 1 H), 6,50 (s, 1 H), 5,18-5,11 (m, 1H), 5,09-5,03 (m, 1H), 4,64-4,58 (m, 1H), 4,5-4,49 (m, 1H), 4,48-4,42 (m, 1H), 4,23 (q, $J=5,5$ Hz, 1H), 3,96-3,85 (m, 1H), 3,45-3,40 (m, 2H), 2,94-2,83 (m, 2H), 2,10-2,02 (m, 2H), 1,92-1,81 (m, 2H).

Ví dụ 80: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((S)-3-guanidino-2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 20 sử dụng axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((S)-3-amino-2-oxopyrrolidin-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic và 1H-pyrazol-1-carboximidamit của HCl. LCMS: $m/z = 576,2$ ($M+1$); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 6,95 (s, 1H), 5,31 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,72-4,57 (m, 1H), 4,27 (t, $J = 9,6\&9,2$ Hz, 1H), 3,85 (dd, $J = 9,6$ Hz, 1H), 3,59 (t, $J = 9,2, 8,8$ Hz, 1H), 3,49 (q, 1H), 3,34 (dd, 1H), 2,46 (m, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,35 (s, 3H), 1,33 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 81: axit (S)-2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-((1R,5S,6s)-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-6-yl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 31, sử dụng (1R,5S,6s)-*tert*-butyl 6-(4-((R)-2-(aminooxy)-3-(benzhydryloxy)-3-oxopropoxy)benzimidamido)-3-azabixyclo[3.1.0]Hexan-3-carboxylathyrat. LCMS: $R_t = 0,42$ min, $m/z = 704,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_c có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 9,70 (brs, 1H), 9,56-9,45 (m, 2H), 9,14-8,96 (m, 2H), 8,54 (br s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,63 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,28 (brs, 2H), 6,88 (d, $J = 9,6$ Hz, 2H), 6,78 (s, 1H), 5,10-5,02 (m, 2H), 4,54-4,48 (m, 1H), 4,45-4,35 (m, 3H), 4,23-4,17 (m, 1H), 3,61-3,54 (m, 4H), 2,73-2,68 (m, 1H), 2,25 (brs, 2H).

Ví dụ tham khảo 82: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)isoxazol-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.

Bước 1: Benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((E)-2-metoxyvinyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat. Thêm từ từ KHMDS (trong toluen) (66,3ml, 33,1mmol) vào huyền phù của (metoxymetyl)triphenylphosphonium clorua (10,34g, 30,2mmol) trong THF (100ml) ở -78°C. Sau khi khuấy trong 30 phút, Thêm dung dịch ylid đã được điều chế vào dung dịch chứa benzyl ((2S,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-formyl-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (3g, 7,53mmol) trong THF (38ml) ở -78°C. Sau 3 giờ, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (aq, 60ml), và khuấy nó qua đêm. Pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc, và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x), và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy bằng Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-60%) để thu hợp chất tiêu đề (1,6g, 49%) cùng với chất trung gian dạng trans (0,8g, 25%). LCMS: R_t = 0,91 min, m/z = 427,0 (M+1). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzyl ((3S,4R)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-oxo-4-(2-oxoetyl)azetidin-3-yl)carbammat. Thêm HCl (7,4ml, 7,4mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((E)-2-metoxyvinyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (1,58g, 3,70mmol) trong dioxan (37ml) và gia nhiệt đến 50°C trong 4 giờ. Sau khi giảm nhiệt đến nhiệt độ phòng, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa(aq) và chiết bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy bằng Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-80%) để thu hợp chất tiêu đề (0,89g, 58%). LCMS: R_t = 0,86 min, m/z = 413,0 (M+1). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: Benzyl ((2R,3S)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-((E)-2-(hydroxyimino)etyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat. Thêm dung dịch chứa benzyl ((3S,4R)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-oxo-4-(2-oxoetyl)azetidin-3-yl)carbammat (886mg, 2,15mmol) trong EtOH (200μL) sau đó thêm dung dịch rửa EtOH (200μL) vào dung dịch chứa hydroxylaminhydroclorua (160mg, 2,25mmol) và natri bicarbonat (2,4ml, 2,23mmol) trong nước (6ml). Sau khi khuấy trong 20 giờ, cô đặc một phần hỗn hợp phản ứng trong chân không và phân bố giữa DCM và nước muối. Chiết lớp nước bằng DCM (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô

đặc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 0,76 min, m/z = 428,1 ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: Thêm từng giọt natri hypoclorit (5%, 2,6ml, 1,89mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((*E*)-2-(hydroxyimino)ethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (403mg, 0,94mmol) và *N*-Boc-propargylamine (156mg, 0,97mmol) trong DCM (12ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 18 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM và nước. Chiết lớp nước bằng DCM (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-80%), để thu hợp chất tiêu đề (127mg, 23%). LCMS: R_t = 0,96 min, m/z = 581,2 ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: Thêm kali peroxydisulfat (169mg, 0,62mmol), và kaliphosphat, dibazơ (192mg, 1,1mmol) vào dung dịch của chất trung gian từ bước 4 (279mg, 0,48mmol) trong axetonitril (4,6ml, tỷ lệ: 2) và nước (2,3ml, tỷ lệ: 1) và gia nhiệt đến 90°C. Sau 3 giờ, bổ sung thêm kali peroxydisulfat (81mg, 0,3mmol) và gia nhiệt đến 90°C. Sau 2 giờ gia nhiệt bổ sung, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO_3 và chiết bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-80%), để thu hợp chất tiêu đề (71mg, 34%). LCMS: R_t = 0,77 min, m/z = 431,0 ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: *Tert*-butyl ((*Z*)-4-amino-5-((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)-2-oxopent-3-en-1-yl)carbamate. Thêm Pd-C (22mg, 20 μ mol) vào dung dịch của chất trung gian từ bước 5 (84mg, 0,20mmol) trong EtOH (1,9ml, tỷ lệ: 2) và MeOH (0,93ml, tỷ lệ: 1) và lọc bằng N_2 . Bình phản ứng được khớp với một bóng khí chứa H_2 , được xả khí và được nạp đầy lại bằng H_2 (3x). Sau 1,5 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit với dung dịch rửa MeOH (3x). Cô đặc dịch lọc trong chân không và đồng sôi với toluen. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 0,39min, m/z = 229,1 ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 7: *Tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((*Z*)-2-amino-5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-4-oxopent-2-en-1-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoate.

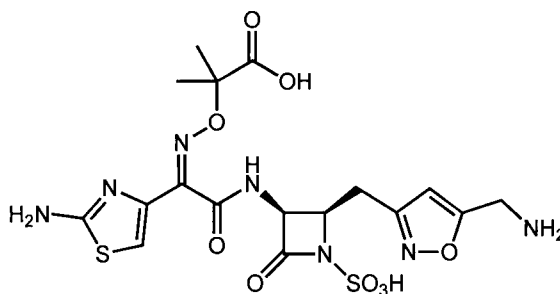
Điều chế theo phương thức tương tự với bước 4 ví dụ 4, sử dụng axit (Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (100mg, 0,23mmol), HATU (89mg, 0,23mmol), DIPEA (68μl, 0,39mmol), *tert*-butyl ((Z)-4-amino-5-((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)-2-oxopent-3-en-1-yl)carbamate (58mg, 0,19mmol) và DCM:DMF (3:1, 2ml). 79 mg. LCMS: $R_t = 0,98$ min, $m/z = 710,4$ (M+1). Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 8: *Tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)isoxazol-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat. Thêm hydroxylaminhydroclorua (19mg, 0,27mmol) và kalicarbonat (18mg, 0,13mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((Z)-2-amino-5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)-4-oxopent-2-en-1-yl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (77mg, 0,108mmol)) trong etanol (0,4ml) và gia nhiệt đến 60°C. Sau 6 giờ, cô đặc một phần hỗn hợp phản ứng trong chân không và phân bố giữa EtOAc và nước. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột (EtOAc-Heptan, 5-90%) để thu hợp chất tiêu đề (13mg, 17%). LCMS: $R_t = 1,04$ min, $m/z = 708,3$ (M+1). Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 9: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)isoxazol-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic.

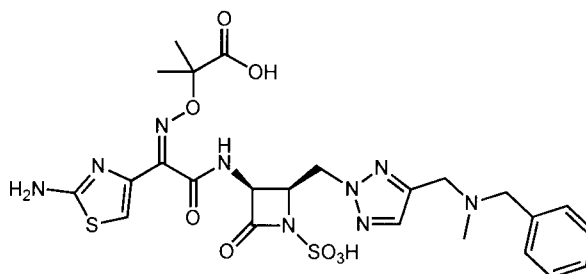
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4 bước 5, sử dụng *tert*-butyl 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)isoxazol-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoat (13mg, 18μmol), SO₃•DMF (16,8mg, 0,11mmol), DMF (200μl). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,94$ min, $m/z = 788,4$ (M+1). Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 10: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(aminometyl)isoxazol-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)isoxazol-3-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (10,9mg, 14μmol), TFA (70μl, 0,91mmol), và DCM (0,2ml). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 19 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (1,7mg, 17%). LCMS: $R_t = 0,48$ min, $m/z = 532,1$ ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, 1H NMR (400MHz, D_2O) δ 6,85 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 5,38 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,26 (s, 2H), 3,22 (dd, $J = 16,2, 7,1$ Hz, 2H), 3,10 (dd, $J = 16,2, 6,0$ Hz, 1H), 1,33 (s, 3H), 1,29 (s, 3H).

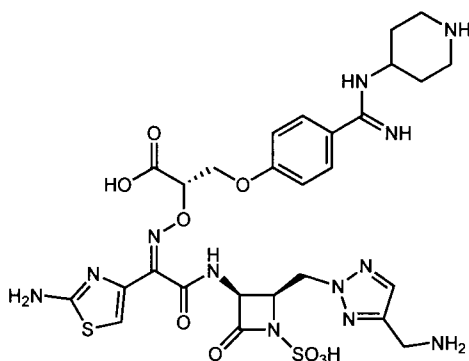
Ví dụ tham khảo 83: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((benzyl(metyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 52, sử dụng *N*-((2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)-*N*-metyl-1-phenylmetanamin. LCMS: $m/z = 634,1$ ($M-1$), 1H NMR

(400MHz, D₂O) δ 7,79 (s, 1H), 7,40-7,31 (m, 5H), 6,89 (s, 1H), 5,43 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,96-4,89 (m, 1H), 4,87-4,83 (m, 2H), 4,70-4,60 (m, 2H, bị chồng chéo một phần với tín hiệu D₂O), 4,36 (s, 2H), 2,64 (s, 3H), 1,28 (s, 3H), 1,27 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 84: axit (S)-2-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)-3-(4-(N-(piperidin-4-yl)carbamidoyl)phenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 31, sử dụng *tert*-butyl ((2-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamat. LCMS: R_t = 0,44 min, m/z = 735,3 ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit. ¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,63-9,48 (m, 1H), 9,45-9,33(m, 2H), 9,02 (s, 1H), 8,56 (brs,1H), 8,44 (brs, 1H), 8,22 (s, 3H), 7,74-7,67 (m, 3H), 7,26 (brs, 2H), 7,19 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,72 (s, 1H), 5,38-5,30 (m, 1H), 5,01-4,96 (m, 1H), 4,93-4,86 (m, 1H), 4,77-4,68 (m, 1H), 4,49-4,35 (m, 3H), 4,08 (brs, 2H), 3,85 (brs, 2H), 2,96-2,84 (m, 2H), 2,13-2,03(m, 2H), 1,83-1,70 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 85: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((azetidin-3-ylmetyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanocarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymetyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanocarboxylat. Thêm DIPEA (0,11ml,0,61mmol), HATU (170mg, 0,446mmol), và (3S,4R)-3-amino-4-((4-(hydroxymetyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)azetidin-2-on (80mg, 0,41mmol) vào

dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (218mg, 0,39mmol) trong DCM (5ml) và DMF (1ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 0°C trong 1 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%), để thu hợp chất tiêu đề (250mg, 86%). LCMS: R_t = 0,98 min, m/z = 717,3 (M+1). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

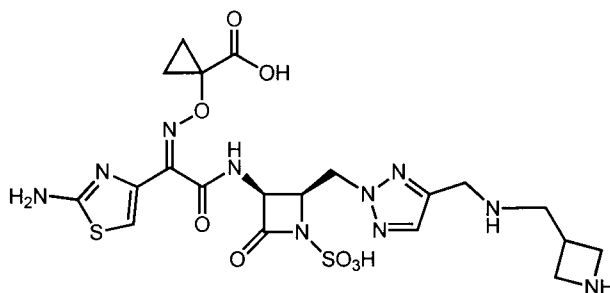
Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-formyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Thêm MnO₂ (1,2g, 13,51mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymetyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (440mg, 0,614mmol) trong THF (4ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit với dung dịch rửa THF (20ml). Cô đặc dịch lọc, và tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%) để thu hợp chất tiêu đề (300mg, 68%). LCMS: R_t = 1,04 min, m/z = 715,3 (M+H). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 3: *Tert*-butyl 3-(((2-(((2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)amino)metyl)azetidin-1-carboxylat. Thêm *tert*-butyl 3-(aminometyl)azetidin-1-carboxylat (78mg, 0,420mmol), natri triaxetoxymorohyđrua (66,7mg, 0,315mmol), và DMF (0,4ml) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-formyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (150mg, 0,21mmol) trong DCE (4ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (aq) và pha loãng bằng 10% EtOH/DCM (40ml). Phân tách lớp hữu cơ, sấy bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 0,55 min, m/z = 885,5 (M+1). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 4: *Tert*-butyl 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat. Thêm Boc₂O (137mg, 0,630mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat (186mg, 0,21mmol) và NaHCO₃ bão hòa (aq, 4ml, 0,210mmol) trong DCM (4ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, phân tách các lớp của hỗn hợp phản ứng. Chiết lớp nước bằng DCM, và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (EtOAc-Hept, 50-80%) để thu hợp chất tiêu đề (120mg, 58%). LCMS: *R*_t = 1,24 min, *m/z* = 985,7 (*M*+1). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

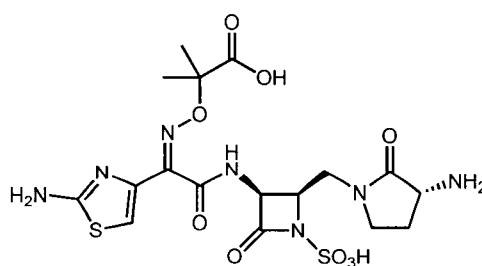
Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)((1-((*tert*-butoxycarbonyl)azetidin-3-yl)methyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 19 bước 3, sử dụng *tert*-butyl 3-((((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat (120mg, 0,122mmol), SO₃•DMF (192mg, 1,22mmol), và DMF (1,2ml). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: *R*_t = 1,12 min, *m/z* = 1065,7 (*M*+1). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 6: axit 1-(((*Z*)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((azetidin-3-yl)methyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)((1-((*tert*-butoxycarbonyl)azetidin-3-yl)metyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (130mg, 0,122mmol), TFA (0,56ml, 7,32mmol), và DCM (1,5ml). 6,3 mg. LCMS: $R_t = 0,47$ min, $m/z = 599,3$ ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit phân cực, ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,82 (s, 1 H), 7,10 (s, 1 H), 5,61 (d, $J=5,9\text{Hz}$, 1 H), 5,01 (q, $J=5,6$ Hz, 1 H), 4,95-4,85 (m, 2 H), 4,36 (s, 2 H), 4,26-4,15 (m, 2 H) 4,11-3,97 (m, 2 H), 3,46-3,30 (m, 3 H), 1,26 (s, 2 H), 1,20 - 1,05 (m, 2 H).

Ví dụ 86: axit 2-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-3-amino-2-oxopyrrolidin-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 76, sử dụng (*R*)-metyl 4-bromo-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanoat. LCMS: $m/z = 532,0$ ($M-1$); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 6,96 (s, 1H), 5,28 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 4,53(m, 1H), 3,96 (t, $J=10,0\&9,2$ Hz, 1H), 3,85 (dd, $J=10,4\&10,0$ Hz, 1H), 3,58 (m, 1H), 3,44(m, 1H), 3,31 (dd, 1H), 2,47 (m, 1H), 1,96 (m, 1H), 1,34(s, 3H), 1,34 (s, 3H).

Ví dụ 87: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)-2-methylpropanoic.

Bước 1: Benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thực hiện theo quy trình chung đối với phản ứng Mitsunobu sử dụng chất trung gian G (10,0g, 25mmol), imidazolidin-2,4-dione (2,5g, 25mmol), triphenylphosphine (7,9g, 30mmol), DIAD (6,1g, 30mmol) và THF (200ml). Kết quả thu được (8,3g, 69%) bị tạp nhiễm nhẹ bởi triphenylphosphine oxide, thu bằng cách lọc. LCMS: $m/z = 481,0$ (M-1).

Bước 2: *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2,4-dioxoimidazolidin-1-carboxylate. Thêm DMAP (0,150g, 1,33mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (4,60g, 9,54mmol) và di-*tert*-butyldicarbonate (2,30g, 10,5mmol) trong DCM (55ml). Sau 3 giờ ở nhiệt độ phòng, thêm nước, ngay sau đó phân tách các lớp. Sấy lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel, để thu hợp chất tiêu đề (4,20g, 75%).

Bước 3: *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2,4-dioxoimidazolidin-1-carboxylate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, bước 2 sử dụng *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2,4-dioxoimidazolidin-1-carboxylate (900mg, 1,70mmol) $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (280mg, 2,89mmol), và K_2HPO_4 (680mg, 2,91mmol) trong ACN:nước (2:1, 30ml) trong khi gia nhiệt ở 90°C trong 4 giờ. Sau khi giảm nhiệt đến nhiệt độ phòng, lọc hỗn hợp và cô đặc dịch lọc trong chân không, loại bỏ phần lớn ACN. Pha loãng hỗn hợp này bằng nước/EtOAc và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-6%) để thu hợp chất tiêu đề (170mg, 23%). LCMS: $m/z = 431,0$ (M-1).

Bước 4: *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4-hydroxy-2-oxoimidazolidin-1-carboxylate. Thêm natri borohydride (30mg, 0,78mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-

((((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2,4-dioxoimidazolidin-1-carboxylat (170mg, 0,390mmol) trong EtOH (10ml) ở 0°C. Sau 3 giờ ở 0°C, làm ngừng phản ứng bằng NH₄Cl bão hòa (aq) và cô đặc một phần trong chân không. Chiết phần có hai lớp bằng DCM và sấy lớp hữu cơ qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thu được được sử dụng luôn trong bước 5. LCMS: m/z = 457,1 (M+Na).

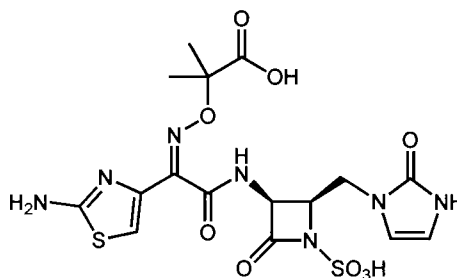
Bước 5: *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-1-carboxylat. Thêm metansulfonyl clorua (31μl, 0,41mmol), sau đó Thêm TEA (0,15ml, 1,1mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4-hydroxy-2-oxoimidazolidin-1-carboxylat (160mg, 0,368mmol) trong DCM (5ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở 0°C, cô đặc dung dịch trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 2-5%), để thu hợp chất tiêu đề (100mg, 65%). LCMS: m/z = 415,1 (M-1); ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ8,02 (s, 1H), 7,41-7,27 (m, 5H), 7,06 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 6,15 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 5,21-5,09 (m, 3H), 4,30 (dd, *J* = 14,4, 9,6 Hz, 1H), 4,01-3,94 (m, 1H), 3,49 (dd, *J* = 14,8, 3,2 Hz, 1H), 1,46 (s, 9H).

Bước 6: *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-1-carboxylat. Hỗn hợp chứa *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-1-carboxylat (490mg, 1,18mmol) và Paladi trên cacbon (10% wt, 140mg) trong MeOH (60ml) được xả và nạp đầy lại bằng H₂ (3x), mang áp suất cuối lên đến 30 psi. Sau 2 giờ khuấy, lọc hỗn hợp qua xelit và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 6%), để thu hợp chất tiêu đề (50mg, 25%).

Bước 7: *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-1-carboxylat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4 bước 4, sử dụng axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (117mg, 0,276mmol), HATU (105mg, 0,276mmol), DIPEA (36mg, 0,28mmol), *tert*-butyl 3-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-imidazol-1-carboxylat (65mg, 0,23mmol) và DMF (5ml). Tinh chế

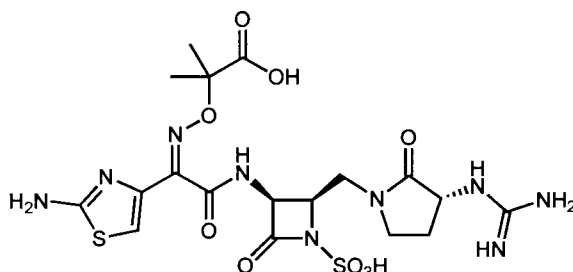
sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 3%), để thu hợp chất tiêu đề (140mg, 88%). LCMS: $m/z = 694.0$ (M+1).

Bước 8: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-Butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((3-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (185mg, 1,21mmol) vào dung dịch of *tert*-butyl 3-(((2R,3S)-3-((Z)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-carboxylat (140mg, 0,202mmol) trong DMF (1,0ml). Sau 4 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc dung dịch trong chân không và tinh chế qua nhựa HP21 (ACN-nước, 10-50%), để thu hợp chất tiêu đề (90mg, 58%). LCMS: $m/z = 772,3$ (M-1).



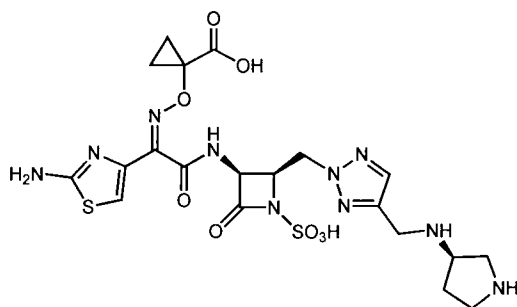
Bước 9: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)-2-metylpropanoic. Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng *tert*-butyl 3-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-carboxylat (được điều chế từ *tert*-butyl 3-(((2R,3S)-3-((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2,4-dioxoimidazolidin-1-carboxylat (90mg, 1,16mmol), TFA (0,5ml, 6,4mmol) và DCM (1,5ml). Tinh chế sản phẩm thô qua HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (15,6mg, 60%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: $m/z = 516,0$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 6,98 (s, 1H), 6,41 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 6,30 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 5,30 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,54-4,52 (m, 1H), 4,00-3,95 (m, 1H), 3,84-3,79 (m, 1H), 1,35 (s, 3H), 1,34 (s, 3H).

Ví dụ 88: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-3-guanidino-2-oxopyrrolidin-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 20, sử dụng sử dụng axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-3-amino-2-oxopyrrolidin-1-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic và 1*H*-pyrazol-1-carboximidamit của HCl. LCMS: $m/z = 574,1$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 6,93 (s, 1H), 5,28 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,24 (t, $J = 9,6\&9,2$ Hz, 1H), 3,85 (dd, $J = 9,2\&9,2$ Hz, 1H), 3,51 (m, 1H), 3,40 (t, $J = 9,2\&8,8$ Hz, 1H), 3,32 (dd, 1H), 3,34 (dd, 1H), 2,43 (m, 1H), 1,87 (m, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,32 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 89: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-(((R)-pyrrolidin-3-ylamino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 85, sử dụng (*R*)-*tert*-butyl 3-aminopyrrolidin-1-carboxylat. LCMS: $R_t = 0,46$ min, $m/z = 599,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,86 (s, 1 H), 7,16 (s, 1 H), 5,60 (d, $J=5,5\text{Hz}$, 1 H), 4,99 (s, 1 H), 4,90 (d, $J=3,9$ Hz, 2 H), 4,46 (d, $J=5,1\text{Hz}$,

2H), 4,20-4,14(m, 1 H), 3,82 (dd, $J=13,1, 8,0$ Hz, 1 H), 3,65-3,38 (m, 2 H), 2,67- 2,57 (m, 1 H), 2,31-2,20 (m, 1 H), 1,34 (t, $J=4,3$ Hz, 3 H), 1,25-1,19 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 90: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-aminopropyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (1,2ml, 7,00mmol), HATU (1,9g, 5,13mmol), và (3S,4R)-3-amino-4-((4-(hydroxymethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)azetidin-2-on(0,92g, 4,67mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetic (2,5g, 4,43mmol) trong DCM (78ml) và DMF (15ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 0°C trong 1 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%), để thu hợp chất tiêu đề (2,5g, 75%). LCMS: $R_t = 0,98$ min, $m/z = 717,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-formyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm MnO₂ (4,9g, 56,5mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (1,8g, 2,57mmol) trong THF (21ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit với dung dịch rửa THF (250ml). Cô đặc dịch lọc, và tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%) để thu hợp chất tiêu đề (1,4g, 76%). LCMS: $R_t = 1,04$ min, $m/z = 715,3$ (M+H). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-

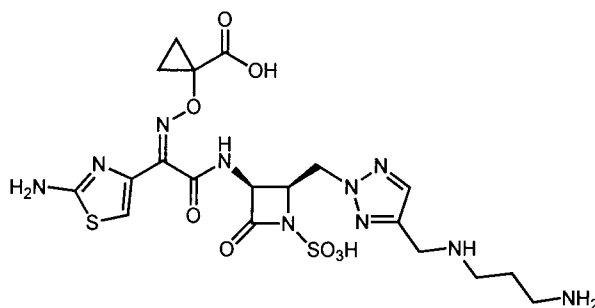
oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat. Thêm lần lượt *tert*-butyl (3-aminopropyl)carbammat (180mg, 1,04mmol) và natri triaxetoxhydroborat (165mg, 0,78mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat (370mg, 0,52mmol) trong DCE (4ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM, rửa bằng NaHCO₃bão hòa (aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 0,99 min, m/z = 873,2 (M+1). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 4: Benzhydryl 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat. Thêm Boc-anhydrit (0,24ml, 1,04mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat (0,45g, 0,52mmol) trong DMF (6ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ, Thêm DIPEA (0,18ml, 1,04mmol). Sau khi khuấy trong 36 giờ, rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước và chiết bằng DCM. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng 5% LiCl, nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-60%) để thu hợp chất tiêu đề (0,40g, 80%). LCMS: R_t = 1,26 min, m/z = 973,3 (M+H). Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 5: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xcyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (0,63g, 4,12mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-

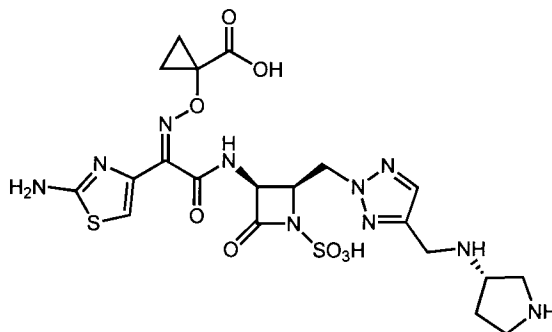
oxoetyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat (0,40g, 0,41mmol) trong DMF (5ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng 5% LiC (aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (0,42g, 97%). LCMS: R_t = 1,10 min, m/z = 1053,6 (M+H). Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 6: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((4-(((3-aminopropyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylic.



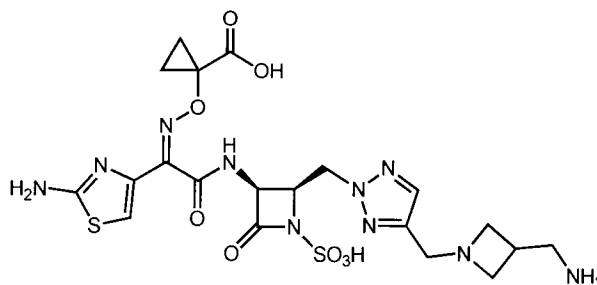
Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-(((Z)-2-(((1-(((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-2-(((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-(((4-(((tert-butoxycarbonyl)(3-(((tert-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (0,5g, 0,48mmol), DCM (2,5ml), và TFA (1ml, 13mmol) trong 1,5 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (123mg, 42%). LCMS: R_t = 0,31 min, m/z = 587,2 (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit; ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): δ 9,39 (br s, 1 H), 7,76 (s, 1 H), 7,22 (s, 2 H), 6,73 (s, 1 H), 5,33 (dd, J=9,0, 5,5 Hz, 1 H), 4,84 (dd, J=14,3, 4,5 Hz, 1 H), 4,73-4,61 (m, 1 H), 4,61-4,48 (m, 1 H), 4,27-4,14 (m, 2 H), 3,02-2,89 (m, 3 H), 2,85 (t, J=7,4 Hz, 3 H), 1,85 (p, J=7,5 Hz, 3H) 1,32-1,04 (m, 6 H); ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,90 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 5,67 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 5,12-5,04 (m, 1H), 5,04-4,88 (m, 2H), 4,45 (s, 2H), 3,30-3,22 (m, 2H), 3,16 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,24-2,08 (m, 2H), 1,37-1,26 (m, 2H), 1,26-1,08 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 91: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-(((S)-pyrrolidin-3-ylamino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)xylopropancarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng (*S*)-*tert*-butyl 3-aminopyrrolidin-1-carboxylat và benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetylidene)amino)oxy)xylopropancarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,3$ min, $m/z = 599,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9,18 (d, $J=9,0$ Hz, 1 H), 9,04-8,59 (m, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,24 (br s, 2 H), 6,72 (s, 1 H), 5,35 (dd, $J=9,0, 5,5$ Hz, 1 H), 4,93-4,81 (m, 1 H), 4,68-4,60 (m, 1 H), 4,5 (s, 1 H), 4,24 (br s, 2 H), 3,95-3,79 (m, 1 H), 2,27-2,11 (m, 1 H), 2,04-1,90 (m, 1 H), 1,38-1,06 (m, 4 H).

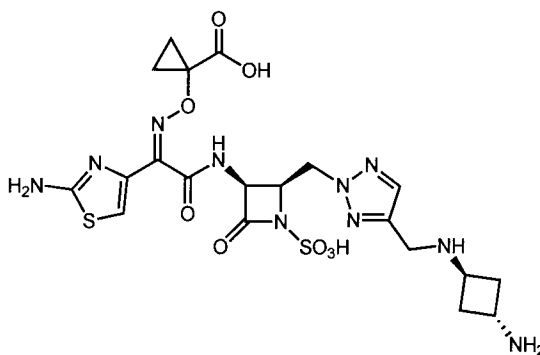
Ví dụ tham khảo 92: axit 1-(((Z)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(aminometyl)azetidin-1-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetylidene)amino)oxy)xylopropancarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (azetidin-3-ylmetyl)carbamate và benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-

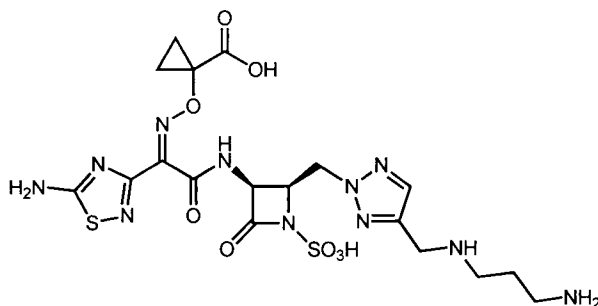
yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,46$ min, $m/z = 599,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, D_2O): δ 7,84 (s, 1 H) 7,11 (s, 1 H) 5,56 (d, $J=5,5\text{Hz}$, 1 H) 5,00 (m, 1 H) 4,89 (m, 2 H) 4,52 (s, 2 H) 4,35 (m, 2 H) 4,23-4,03(m, 2 H) 3,38- 3,21 (m, 3 H) 1,31 (m, 2 H) 1,18 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 93: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((1r,3R)-3-aminoxyclobutyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



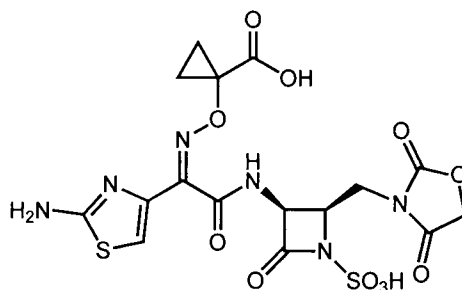
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl ((1r,3r)-3-aminoxyclobutyl)carbamát và benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-formyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,46$ min, $m/z = 599,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, D_2O): δ 7,82 (s, 1 H), 7,09 (s, 1 H), 5,58 (d, $J=5,9\text{Hz}$, 1 H), 5,04-4,84 (m, 3 H), 4,31 (s, 2 H), 4,14-4,00 (m, 2 H), 2,81-2,60 (m, 4 H) 1,26 (s, 2 H), 1,19-1,06 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 94: axit (((Z)-(1-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-aminopropyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



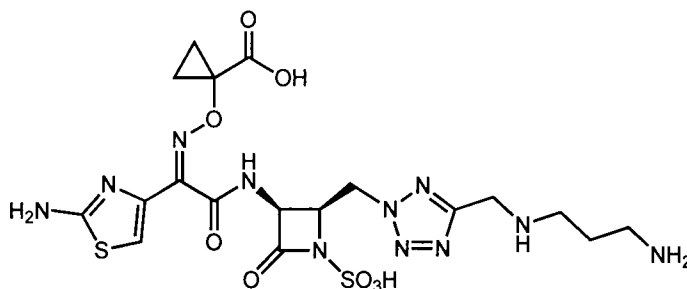
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(5-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-1,2,4-thiadiazol-3-yl) axetic. LCMS: $R_t = 0,29$ min, $m/z = 588,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): δ 9,53-9,29 (m, 1 H), 8,15 (s, 2 H), 7,75 (s, 1 H) 5,40-5,28 (m, 1 H), 4,82-4,69 (m, 1 H), 4,63 (s, 2 H), 4,21 (d, $J=5,1\text{Hz}$, 2 H), 3,00-2,91 (m, 2 H), 2,85 (s, 2 H), 1,91-1,74(m, 2 H), 1,37-1,04 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 95: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((2,4-dioxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



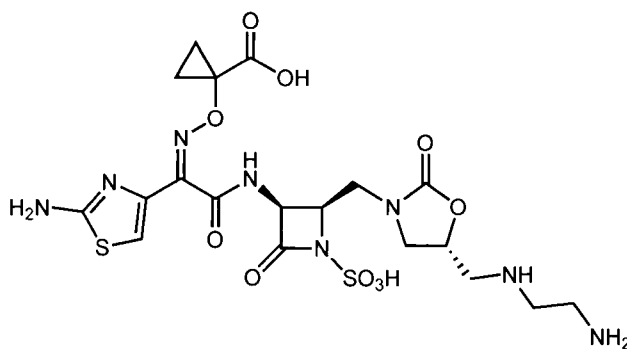
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 54, sử dụng benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2S,3S)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat và oxazolidin-2,4-dion. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 533,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,23 (s, 1 H), 5,42 (d, $J=5,9\text{Hz}$, 1 H), 4,86-4,83(m, 3 H), 4,07 (dd, $J=14,5, 9,8\text{Hz}$, 1 H), 3,72 (dd, $J=14,5,3,9 \text{ Hz}$, 1 H), 1,58-1,52 (m, 2 H), 1,51-1,45 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 96: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((5-(((3-aminopropyl)amino)methyl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với các quy trình được mô tả trong các ví dụ 54 và 90, sử dụng benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*S*,3*S*)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat và 5-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2H-tetrazol. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 588,4(M+1)$ Phương pháp 2m_có tính axit; 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,41 (br s, 1 H), 7,78 (s, 1 H), 7,24 (s, 1 H), 6,75 (s, 1 H), 5,38-5,32 (m, 1H), 4,86 (dd, $J=14,3, 4,5$ Hz, 1 H), 4,72-4,63 (m, 1H), 4,61-4,5 (m, 1H), 4,28-4,16 (m, 1H), 3,01-2,94 (m, 1H), 2,87 (t, $J=7,4$ Hz, 1 H), 1,92-1,82 (m, 1H), 1,33-1,18 (m, 2 H), 1,18-1,08 (m, 1 H).

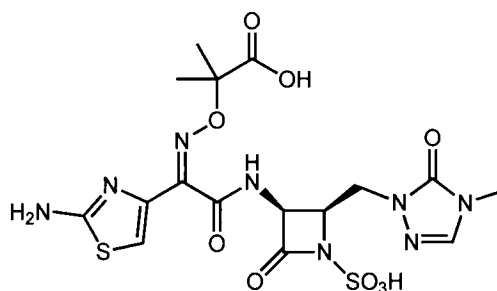
Ví dụ 97: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 26, sử dụng *tert*-butyl (2-bromoethyl)carbamate. LCMS: $R_t = 0,380$ min, $m/z = 591,1 (M+1)$ Phương pháp 2m_có

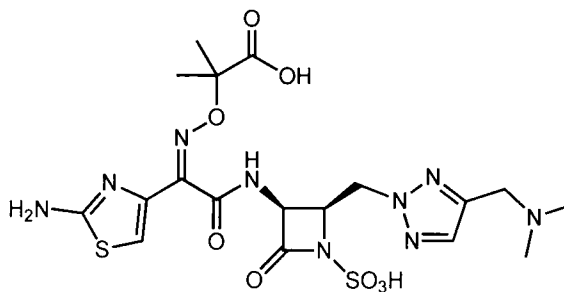
tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 6,93 (s, 1H), 5,28 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 3,85 (t, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,68 (dd, $J = 15,0, 8,1$ Hz, 1H), 3,46-3,36 (m, 2H), 3,25-3,01 (m, 5H), 2,60 (s, 1H), 1,30-1,21 (m, 2H), 1,18-1,09 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 98: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-metyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



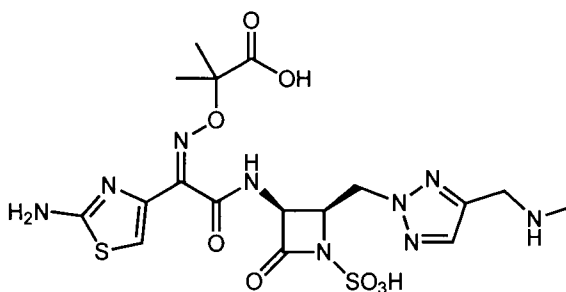
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 31, sử dụng 1-(((2R,3S)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-4-metyl-1H-1,2,4-triazol-5 (4H)-on và axit (Z)-2-(((1-(tert-butoxy)-2-metyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic. LCMS: $m/z = 531.0$ (M-1); ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,67 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,36 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,70 – 4,60 (m, 1H, bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 4,14 (dd, $J = 15,2$ và 7,6 Hz, 1H), 3,96 (dd, $J = 15,2$ và 4,8 Hz, 1H), 3,14 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 99: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((dimetyl-amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



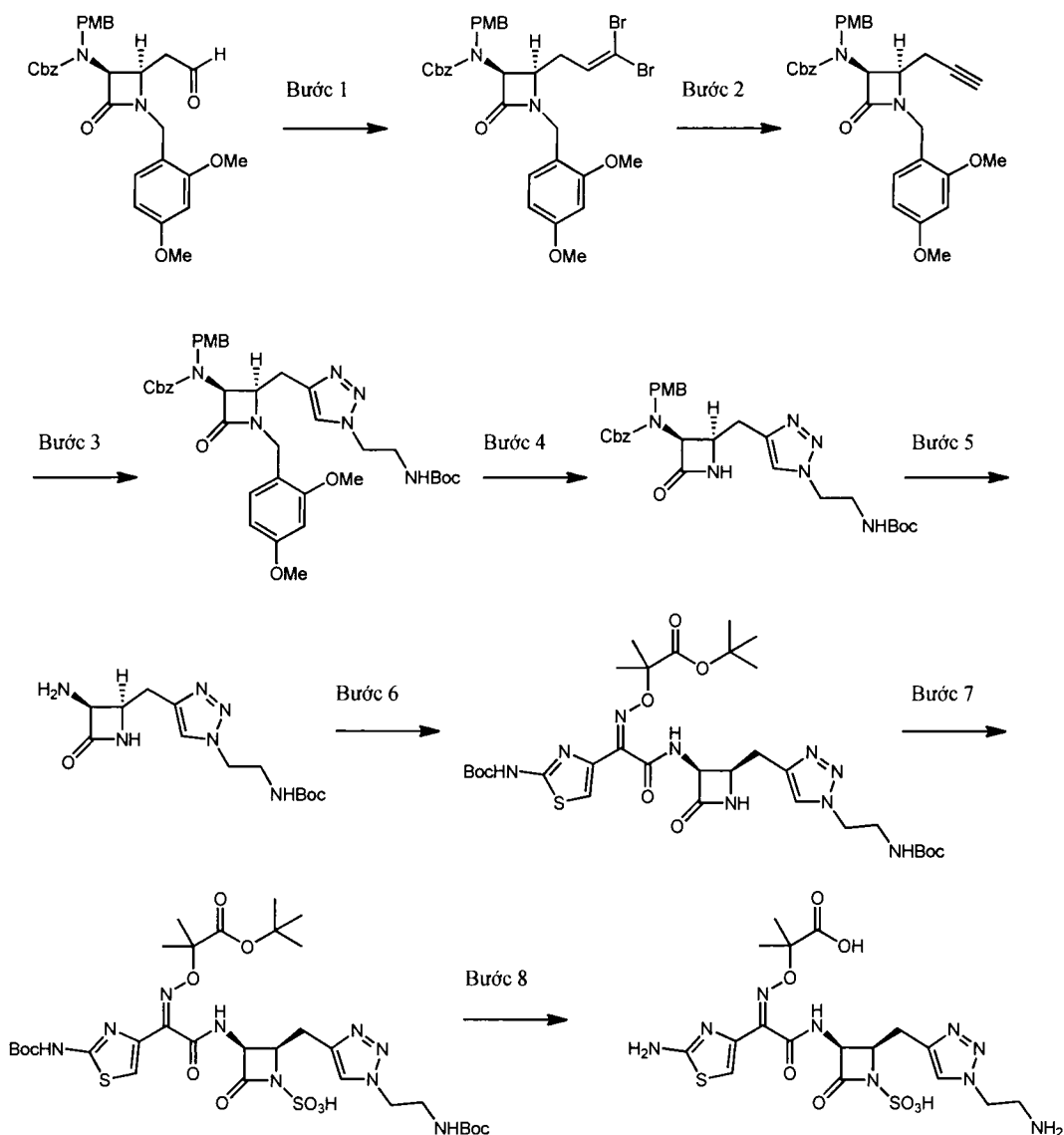
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 54, sử dụng *N,N*-dimetyl-1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metanamin. LCMS: $m/z = 560,2$ ($M+1$); ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,80 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,43 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,94-4,88 (m, 1H), 4,85-4,80 (m, 2H), 4,32 (s, 2H), 2,75 (s, 6H), 1,28 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 100: axit 2-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((metylamino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 54, sử dụng *tert*-butyl ((2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)(metyl)carbamate. LCMS: $m/z = 544,1$ $[M-H]^-$; 1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,73 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,42 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,92-4,86 (m, 1H), 4,82-4,78 (m, 2H), 4,22 (s, 2H), 2,60 (s, 3H), 1,30 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 101: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((1-(2-aminoethyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Bước 1: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-(3,3-dibromoallyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate. Thêm CBr₄ (192mg, 0,58mmol) vào dung dịch chứa PPh₃ (302,4mg, 1,15mmol) trong DCM (1ml) ở 0°C. Sau 10 phút, Thêm từng giọt dung dịch chứa benzyl ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-(2-oxoethyl)azetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate (152,7mg, 0,29mmol) trong DCM (800μL) sau đó thêm dung dịch rửa DCM (800μL). Sau 20 phút, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM và nước, và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (0-40% EtOAc-Hex) để thu hợp chất tiêu đề (162mg, 82%). LCMS: R_t = 1,2 min, m/z = 689,1 (M+1) Phương pháp 2m₊ có tính axit.

Điều chế benzyl ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-(2-oxoethyl)azetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate: Thêm natri hydrua (60%, 162mg, 4,05mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((*E*)-2-methoxyvinyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (ví dụ 82, bước 1, 1,44g, 3,38mmol) trong DMF (33,8ml) ở -10°C (bể nước đá-muối). Sau khi khuấy trong 30 phút, Thêm *p*-methoxybenzylchlorua (506,μl, 3,71mmol). Sau khi làm ấm đến 0°C và khuấy Thêm trong 30 phút, làm ngừng nó bằng NH₄Cl (aq, satd) sau đó pha loãng bằng EtOAc và LiCl (5% aq). Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng bằng EtOAc (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Nguyên liệu thô được đưa vào các điều kiện được mô tả trong ví dụ 82, bước 2 sau đó tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hept, 0-70%) để thu hợp chất tiêu đề (684mg, 38%). LCMS: R_t = 0,97 min, m/z = 533,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzyl ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-(prop-2-yn-1-yl)azetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate. Thêm *tert*-butyllithium (0,291ml, 0,494mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-(3,3-dibromoallyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate (162mg, 0,235mmol) trong THF (thể tích: 3,4ml) ở -78°C. Sau 15 phút, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NH₄Cl, và pha loãng bằng nước và EtOAc. Phân tách các lớp, và chiết lớp hữu cơ bằng EtOAc (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hept, 0-40%) để thu hợp chất tiêu đề (98mg, 79%). LCMS: R_t = 1,08 min, m/z = 529,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate. Thêm đồng (II) sulfat pentahydrat (4,5mg, 0,018mmol), natri L-ascorbat (35,8mg, 0,18mmol) và *N*-Boc-2-azidoethylamin (76mg, 0,39mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((3*S*,4*R*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-oxo-4-(prop-2-yn-1-yl)azetidin-3-yl)(4-methoxybenzyl)carbamate (95,6mg, 0,18mmol) trong hỗn hợp của DMSO (1,2ml), *tert*-butanol (1,2ml) và nước (1,2ml). Sau khi khuấy trong 12 giờ, bổ sung Thêm đồng (II) sulfat pentahydrat (10,6mg, 0,23 đương lượng), natri L-ascorbat (37,4mg, 1,04 đương lượng) và *N*-Boc-2-azidoethylamin (82,1mg, 2,44 đương lượng). Sau khi khuấy trong thời gian tổng số là 4 ngày, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng

EtOAc và nước. Phân tách các lớp, và chiết lớp nước bằng EtOAc (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hep, 0-40%) để thu hợp chất tiêu đề (57,2mg, 44%). LCMS: R_t = 1,06 min, m/z = 715,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)(4-metoxymethyl)carbamate. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 82 bước 5, sử dụng benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)(4-metoxymethyl)carbamate (57,2mg, 0,080mmol), CH₃CN (762μl), nước (381μl), kali peroxydisulfat (31mg, 0,12mmol), và kaliphosphat, dibazơ (19mg, 0,109mmol). 20,2 mg. LCMS: R_t = 0,89 min, m/z = 565,3 (M+1). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: *Tert*-butyl (2-(4-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)ethyl)carbamate. Thêm Pd đen (19mg, 0,018mmol) và axit formic (31μl, 0,711mmol) vào huyền phù đặc của benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)(4-metoxymethyl)carbamate (20,2mg, 0,036mmol) trong MeOH (0,68ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, bổ sung Thêm Pd đen (9,7mg). Sau khi khuấy Thêm ở nhiệt độ phòng trong 5,5 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua xenluloza bằng chất rửa giải MeOH, và cô đặc dịch lọc trong chân không. Nó được sử dụng trong bước 6 không cần tinh chế thêm. LCMS: R_t = 0,396min, m/z = 311,1 (M+1). Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: *Tert*-butyl 2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethylidene)amino)oxy)-2-methylpropanoate.

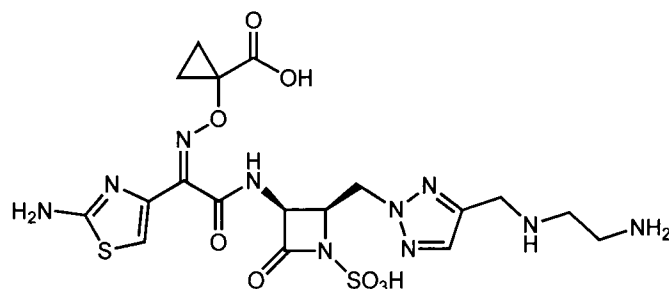
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 82 bước 7, sử dụng axit (*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetic (18,55mg, 0,043mmol), HATU (17,7mg, 0,047mmol), DCM:DMF (1:3, 800μl), DIPEA (18,86μl, 0,108mmol), *tert*-butyl (2-(4-

((((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)ethyl)carbamate (11,17mg, 0,036mmol). 6,5mg. LCMS: $R_t = 0,971\text{min}$, $m/z = 722,4$ ($M+1$). Phương pháp 2m_{có tính axit}, $^1\text{H NMR}$ (400MHz, Metanol- d_4) δ 7,82 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 5,34 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 4,43 (t, $J=5,9$ Hz, 3H), 4,19 (dt, $J=9,3, 4,5$ Hz, 1H), 4,09 (q, $J=7,1$ Hz, 1H), 3,54-3,45 (m, 3H), 3,13 (ddd, $J=15,0, 11,8, 6,0$ Hz, 2H), 2,93 (dd, $J=15,2, 9,6$ Hz, 1H), 2,01 (s, 2H), 1,53 (d, $J=1,4$ Hz, 14H), 1,49 (s, 7H), 1,46 (d, $J=1,7$ Hz, 15H), 1,38 (s, 14H), 1,23 (t, $J=7,1$ Hz, 3H).

Bước 7: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 82 bước 9, sử dụng *tert*-butyl 2-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoat (6,5mg, 9,00 μmol), DMF (200 μl), $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (5,8mg, 0,037mmol). Nó được sử dụng trong bước 8 không cần tinh chế Thêm. LCMS: $R_t = 0,911\text{min}$, $m/z = 802,1$ ($M+1$). Phương pháp 2m_{có tính axit}.

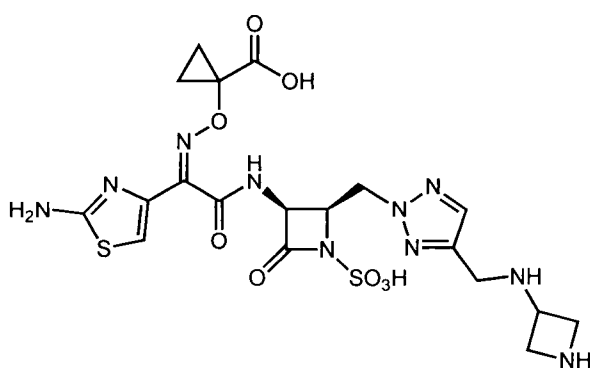
Bước 8: axit 2-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((1-(2-aminoethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic. Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit, sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(((1-(*tert*-butoxy)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (7,22mg, 9,00 μmol), DCM (200 μl) và TFA (50 μl , 649 μmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19x100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (1,2mg, 24%). LCMS: $R_t = 0,487\text{min}$, $m/z = 546,2$ ($M+1$). Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Ví dụ tham khảo 102: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (2-aminoethyl)carbamate và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)cyclopropanecarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 573,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,24 (d, $J=9,0\text{Hz}$, 1.0 H), 7,75 (s, 1 H), 7,22 (s, 2 H), 6,71 (s, 1 H), 5,42-5,28 (m, 1 H), 4,86 (dd, $J=14,3, 4,1$ Hz, 1 H), 4,72-4,59 (m, 1 H), 4,53 (ddd, $J=7,4, 5,5, 4,3$ Hz, 1 H), 4,24-4,09 (m, 2 H), 3,10-2,97 (m, 5 H), 1,34-1,19 (m, 3 H), 1,19-1,06 (m, 1H).

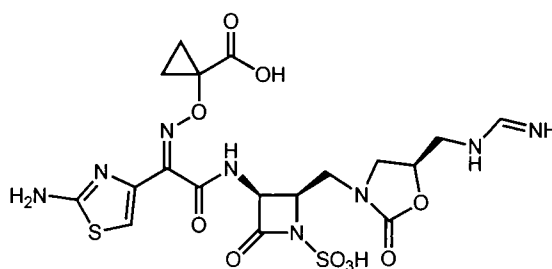
Ví dụ tham khảo 103: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((azetidin-3-ylamino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl 3-aminoazetidin-1-carboxylat và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)cyclopropanecarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 585,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính

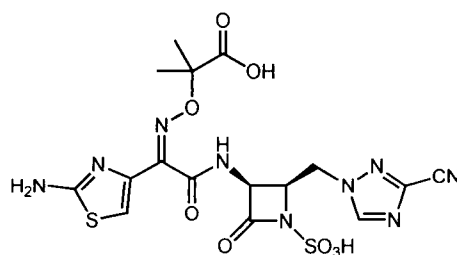
axit; ^1H NMR (500MHz, D_2O) δ 7,84 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,60 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,04-4,87 (m, 3H), 4,52-4,36 (m, 5H), 4,35 (s, 1H), 1,35-1,29 (m, 2H), 1,24-1,14 (m, 2H).

Ví dụ 104: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-(((R)-5-(formimidamidometyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic.



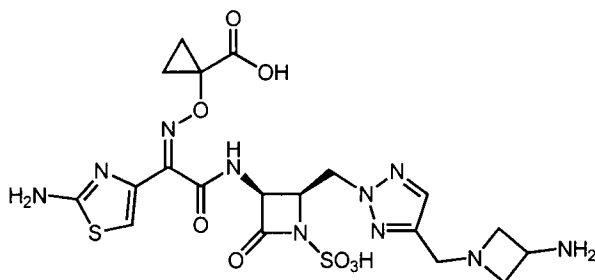
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 26, sử dụng ethyl formamidat-HCl. LCMS: $R_t = 0,29$ min, $m/z = 575,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Ví dụ tham khảo 105: axit 2-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((3-xyano-1H-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



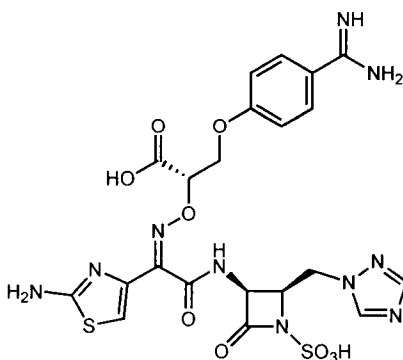
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 54, sử dụng 1H-1,2,4-triazol-3-carbonitril. LCMS: $m/z = 526,0$ [$M-H$]; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 8,57 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 5,34(br s, 1H), 5,20-4,77 (m, 3H), 1,31 (s, 6H).

Ví dụ tham khảo 106: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((3-aminoazetidin-1-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (2-oxoethyl)carbamate và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat trong bước 3, ngoại trừ việc có một quy trình điều chế bổ sung trong bước sulfonyl hóa. Xử lý sản phẩm sulfonyl hóa thô bằng pyridin trong MeOH ở 40°C trong 1 giờ để loại bỏ sản phẩm sulfonyl hóa quá mức trên azetidin. LCMS: $R_t = 0,30$ min, $m/z = 585,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (500MHz, D₂O) δ 7,76 (s, 1 H), 7,03 (s, 1 H), 5,50 (d, $J=5,5$ Hz, 1 H), 4,97-4,89 (m, 1 H), 4,89-4,77 (m, 2 H), 4,56-4,48 (m, 3 H), 4,46-4,35 (m, 3 H), 1,29-1,18 (m, 2 H), 1,15-1,08 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 107: axit (*S*)-2-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-carbamimidoylphenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 68, sử dụng (*R*)-benzhydryl 2-(aminooxy)-3-(4-(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)carbamimidoyl)phenoxy)propanoat (được điều chế theo WO2013110643). LCMS: $R_t = 0,30$ min, $m/z = 623,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,14 (s, 2 H), 8,68 (brs, 2 H), 8,37 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,77-7,70 (m, 2 H), 7,28 (br s, 2 H), 6,95 (brs, 1H), 6,79

(s, 1 H), 6,55 (br s, 1 H), 5,19-5,11 (m, 1H), 5,07-4,98 (m, 1H), 4,54-4,39 (m, 3H), 4,28-4,22 (m, 1H).

Ví dụ 108: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2S,3S)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (6,49ml, 37,2mmol) và HATU (5,65g, 14,86mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xcyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (6,66g, 12,38mmol) ở 0°C trong DCM (61,9ml, tỷ lệ: 1) và DMF (61,9ml, tỷ lệ: 1). Sau 20 phút, thêm (3S,4S)-3-amino-4-(hydroxymetyl)azetidin-2-on (1,44g, 12,38mmol). Sau khi khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và pha loãng bằng EtOAc. Rửa lớp hữu cơ bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (Axeton-DCM) để thu hợp chất tiêu đề (4,4g, 56%). LCMS: R_t = 0,97 min, m/z = 636,1 (M+1), Phương pháp 2m_có tính axit, ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 11,80 (brs, 1H), 9,08 (d, J=9,0 Hz, 1 H), 8,41 (s, 1 H), 7,48-7,32 (m, 5 H), 7,32-7,15 (m, 6 H), 6,84 (s, 1 H), 5,20 (ddd, J=9,2, 5,1, 0,9 Hz, 1 H), 4,77 (t, J=5,3 Hz, 1 H), 3,76-3,70 (m, 1H), 3,62-3,48 (m, 1 H), 3,47-3,33 (m, 1 H), 1,56-1,33 (m, 13 H).

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2S,3S)-2-((metylsulfonyl)oxy)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat. Thêm TEA (0,66ml, 4,7mmol) và MsCl (25μl, 0,32mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2S,3S)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat (1g, 1,57mmol) ở 0°C trong THF (15,7ml). Sau 2 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề

(định lượng giả định). LCMS: $R_t = 0,99$ min, $m/z = 714,1$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(azidometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat. Thêm NaI (0,82g, 5,5mmol) và natri azit (0,83g, 12,8mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2S,3S)-2-(((metylsulfonyl)oxy)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat (1,3g, 1,82mmol) trong DMF (20ml). Sau khi khuấy ở 60°C trong 6 giờ, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh và chiết bằng EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 khan, cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (689mg, 57%). LCMS: $R_t = 1,02$ min, $m/z = 661,1$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(aminometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat. Thêm Ph_3P (301mg, 1,15mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(azidometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat (689mg, 1,04mmol) trong THF (10ml) và MeOH (1,3ml). Sau 12 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (369mg, 56%). LCMS: $R_t = 0,88$ min, $m/z = 635,1$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((2-(((9H-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)etyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat. Thêm (9H-fluoren-9-yl)metyl (2-oxoetyl)carbammat (84mg, 0,30mmol) và natri triaxetoxiborohydrua (181mg, 0,86mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(aminometyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat (199mg, 0,29mmol) trong DCE (2,9ml). Sau 12 giờ, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO_3 bão hòa (aq), pha loãng bằng EtOAc, và phân tách các lớp. Chiết lớp

nước bằng EtOAc, và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (150mg, 58%). LCMS: R_t = 1,10 min, m/z = 900,0 (M+1), Phương pháp 2m_{có} tính axit, ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆): 9,16 (d, J=9,0 Hz, 1 H), 8,35 (s, 1H), 7,87 (d, J=7,4 Hz, 2 H), 7,66 (d, J=7,4 Hz, 2 H), 7,45-7,18 (m, 16 H), 6,83 (s, 1H), 5,24-5,17 (m, 1H), 4,28 (d, J=6,7 Hz, 2 H), 4,19 (d, J=6,3 Hz, 1 H), 3,79-3,67 (m, 1 H), 3,03-2,95 (m, 2H), 2,73-2,63 (m, 1H), 1,54-1,37 (m, 13H).

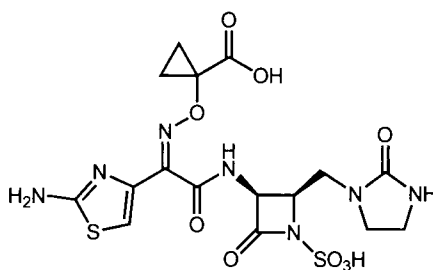
Bước 6: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm piperidin (16,50μl, 0,167mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((2-(((9H-fluoren-9-yl)metoxy)carbonyl)amino)ethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (150mg, 0,167mmol) trong DCM (1,7ml). Sau 2 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và đông khô trong hỗn hợp CH₃CN/nước để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: R_t = 0,93 min, m/z = 678,5 (M+1), Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 7: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm CDI (43,1mg, 0,266mmol) và TEA (111μl, 0,797mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((2-aminoethyl)amino)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (90mg, 0,133mmol) trong clorofom (2,7ml). Sau 12 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (46mg, 49%). LCMS: R_t = 0,95min, m/z = 704,0 (M+1), Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 8: axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic, axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((1-

((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((3-oxo-1,2,4-triazinan-1-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic. Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (100mg, 0,654mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropancarboxylat (46mg, 65 μ mol) trong DMF (654 μ l). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (50mg, 98%). LCMS: $R_t = 0,84\text{min}$, $m/z = 784.0$ ($M+1$), Phương pháp 2m_ có tính axit. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo.

Bước 9: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropancarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((2-oxoimidazolidin-1-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic, axit (3S,4R)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((3-oxo-1,2,4-triazinan-1-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic (48mg, 61 μ mol), DCM (0,61ml), và TFA (0,28ml, 3,7mmol) trong 4 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (3,6mg, 10%). LCMS: $R_t = 0,45$ phút, $m/z = 518,1$ ($M+1$), Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (500MHz, D_2O): δ 7,01 (s, 1 H), 5,32 (d, $J = 5,5$ Hz, 1 H), 4,53-4,39 (m, 1 H), 3,61 (dd, $J = 14,8, 6,9$ Hz, 1 H), 3,56-3,41 (m, 2 H), 3,35-3,21 (m, 3 H), 1,46-1,19 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 109: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4,5-bis(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.

Bước 1: Thêm natri hydrua (0,19g, 4,83mmol) vào dung dịch chứa di-*tert*-butyliminodicarbonat (1,02g, 4,60mmol) trong DMF (14ml) ở 0°C. Loại bỏ bể lạnh, và bổ sung Thêm DMF (20ml). Sau khi khuấy trong 15 phút, Thêm nhanh 1,4-diclobut-2-yn (0,91ml, 9,20mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, rót hỗn hợp phản ứng vào trong dung dịch lạnh chứa LiCl (5% aq.). Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x), và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq.), nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-10%) để thu hợp chất tiêu đề (467mg, 33%). LCMS: R_t = 1,07 min, m/z = 326,0 (M+Na), Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 4,13 (t, J=1,9 Hz, 2 H) 4,40 (t, J=1,9 Hz, 2 H), 1,57-1,51 (m, 18H).

Bước 2: Được điều chế theo quy trình được mô tả trong Sharpless, K. B. *Synthesis*. 2005, 9, 1514. Thêm natri azit (401mg, 6,17mmol), sau đó Thêm amoniclorua (167,8mg, 3,14mmol) vào dung dịch của chất trung gian từ bước 1 (466mg, 1,53mmol) trong 1,4-dioxan (5,8ml) và nước (1,9ml). Sau khi gia nhiệt đến 75°C trong 11 giờ, rót hỗn hợp phản ứng vào trong phễu phân tách, và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hep, 0-40%) để thu hợp chất tiêu đề (224mg, 41%). LCMS: R_t = 0,90 min, m/z = 354,1 (M+1), Phương pháp 2m_có tính axit; ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 4,87 (s, 2H), 4,56 (s, 2H), 1,50 (s, 18H).

Bước 3: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(azidometyl)-5-((bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Thêm từng giọt DIAD (0,079ml, 0,38mmol) vào huyền phù đặc của benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2S,3S)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (202mg, 0,32mmol), chất trung gian Từ bước 2 (136mg, 0,38mmol) và triphenylphosphin (100mg, 0,38mmol)

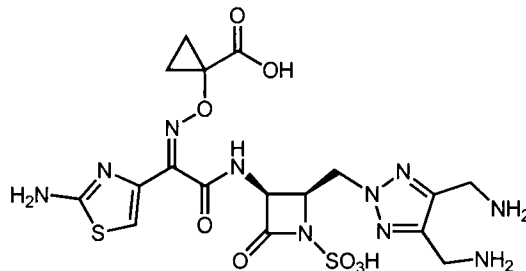
trong THF (4ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Hep, 0-70%) để thu hợp chất tiêu đề. LCMS: $R_t = 1,27$ min, $m/z = 971,5$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,38 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H), 8,56 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H), 7,45 – 7,38 (m, 5H), 7,32 – 7,20 (m, 7H), 6,84 (s, 1H), 5,41 (dd, $J = 9,0, 5,2$ Hz, 1H), 4,78 (d, $J = 1,5$ Hz, 2H), 4,51 (d, $J = 1,2$ Hz, 2H), 4,48 – 4,42 (m, 2H), 4,37 – 4,30 (m, 1H), 1,42 (d, $J = 39,1$ Hz, 31H).

Bước 4: axit (2R,3S)-2-((4-(azidometyl)-5-((bis(tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (33,5mg, 0,21mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(azidometyl)-5-((bis(tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (103mg, 0,11 μ mol) trong DMF (530 μ l) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng LiCl (5% aq.), nước muối, sấy qua Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: $R_t = 1,16$ min, $m/z = 1051,6$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo.

Bước 5: axit (2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-5-((bis(tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm Pd-C (22mg, 0,021mmol) vào dung dịch chứa axit (2R,3S)-2-((4-(azidometyl)-5-((bis(tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (111mg, 0,11mmol) trong EtOAc (1,1ml) và EtOH (0,22ml) trong điều kiện N_2 . Xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H_2 (3x). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit bằng dung dịch rửa EtOAc và EtOH. Cô đặc dịch lọc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). Sản phẩm thô được sử dụng

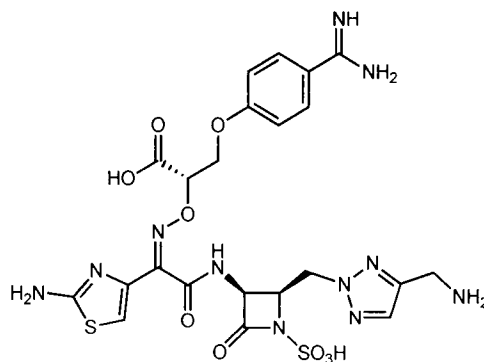
luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 1,06\text{min}$, $m/z = 1025,7$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4,5-bis(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-5-((bis(tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (109mg, 0,11 μmol), DCM (1,1ml), và TFA (0,49ml, 6,36mmol) trong 2 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30 x 100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (12mg, 19%). LCMS: $R_t = 0,46$ min, $m/z = 559,2$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,16 (s, 1H), 5,61 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,07-4,88 (m, 3H), 4,34 (s, 4H), 1,39-1,13 (m, 4H).

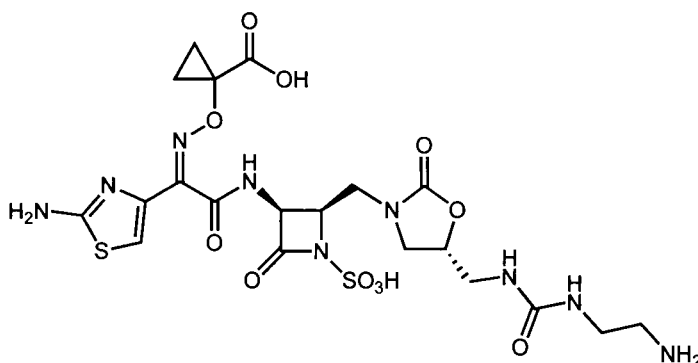
Ví dụ tham khảo 110: axit 2-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-3-(4-carbamimidoylphenoxy)propanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 107, sử dụng *tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamát.

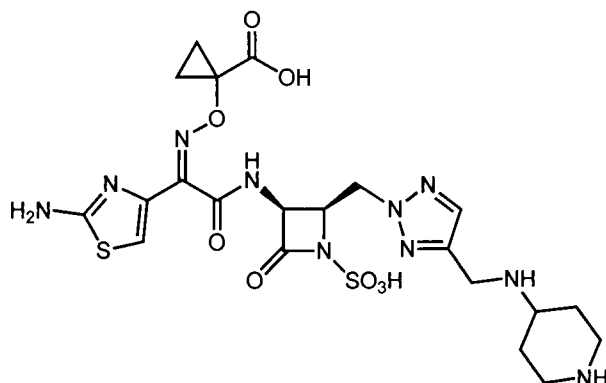
LCMS: $R_t = 0,29$ min, $m/z = 652,1$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,53 (d, $J = 8,9$ Hz, 2 H), 7,43 (s, 1 H), 7,03 (s, 1 H), 6,82 (d, $J = 8,9$ Hz, 2 H), 5,35-5,28 (m, 1 H), 4,97-4,91 (m, 1 H), 4,77-4,70 (m, 1 H), 4,61-4,5 (m, 2 H), 4,38-4,29 (m, 1H), 4,27-4,19 (m, 1H), 4,00 (s, 2H).

Ví dụ 111: axit 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-(((*R*)-5-((3-(2-aminoetyl)ureido)metyl)-2-oxooxazolidin-3-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.



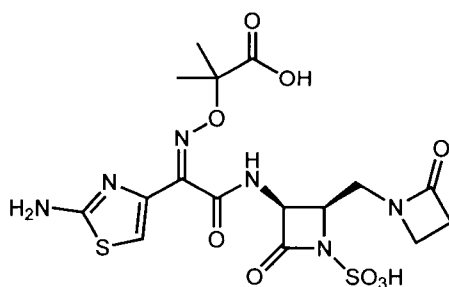
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 26, sử dụng *tert*-butyl (2-(1*H*-imidazol-1-carboxamido)etyl)carbamát. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 634,3$ ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,18 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H), 7,68 (br s, 2 H), 7,28 (brs, 2 H), 6,82 (s, 1H), 6,41 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 6,31-6,20 (m, 1H), 5,23 (dd, $J = 8,9, 5,83$ Hz, 1H), 4,52-4,44 (m, 1H), 4,24-4,12 (m, 1H), 3,69-3,58 (m, 1H), 2,90-2,75 (m, 2H), 1,38-1,27 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 112: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((piperidin-4-ylamino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.



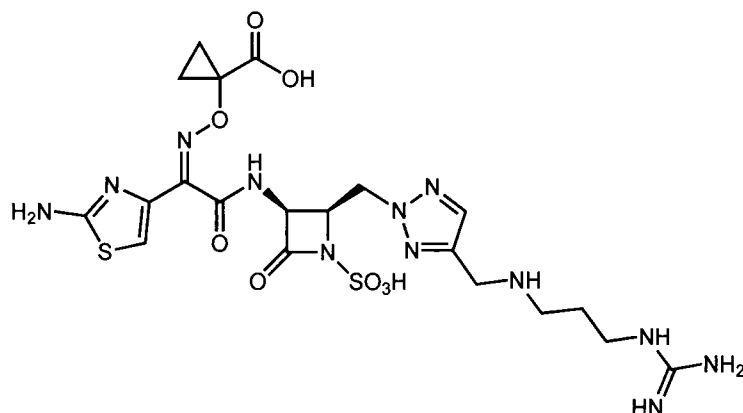
Điều chế theo phương thức tương tự với 90, sử dụng *tert*-butyl 4-aminopiperidin-1-carboxylat và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xy)cyclopropancarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 613,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,73 (s, 1 H), 7,00 (s, 1 H), 5,49 (d, $J=5,6$ Hz, 1 H), 4,90 (q, $J=5,5$ Hz, 1 H), 4,85-4,74(m, 2 H), 4,33 (s, 2 H), 3,53-3,37 (m, 2 H), 3,09-2,88 (m, 2 H), 2,29 (t, $J=12,5$ Hz, 2 H), 1,87-1,66 (m, 2 H), 1,25-1,12 (m, 2 H), 1,11-0,95 (m, 2 H).

Ví dụ 113: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((2-oxoazetidin-1-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)-2-metylpropanoic.



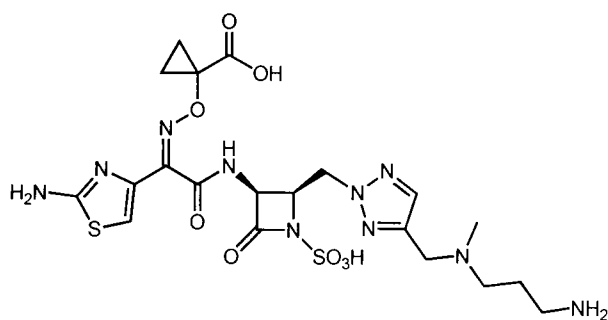
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 1, sử dụng axit 3-bromopropanoic. LCMS: $m/z = 503,0$ [$M-H$]; ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 6,95 (s, 1H), 5,27 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,52-4,43 (m, 1H), 3,66-3,60 (m, 1H), 3,36-3,31 (m, 2H), 3,28 (m, 1H), 2,76 (t, $J = 3,6$ Hz, 2H), 1,36 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

Ví dụ tham khảo 114: axit 1-(((Z)-((1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-guanidinopropyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropancarboxylic.



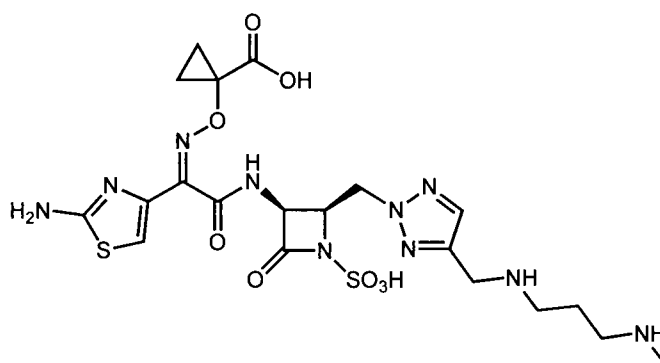
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng N-(3-aminopropyl)-N'-tert-butoxycarbonyl guanidin và benzhydryl 1-(((Z)-((1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-formyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropancarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,55$ min, $m/z = 629,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m có tính axit phân cực; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, D_2O): δ 7,80 (s, 1 H), 7,05 (s, 1 H), 5,68-5,57 (m, 1 H), 5,05-4,90 (m, 2 H), 4,84-4,79 (m, 1 H), 4,34 (s, 2 H), 3,29-3,21 (m, 2 H), 3,19-3,08 (m, 2 H), 2,02-1,91 (m, 2 H), 1,29-0,94 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 115: axit 1-(((Z)-((2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-aminopropyl)(methyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropancarboxylic.



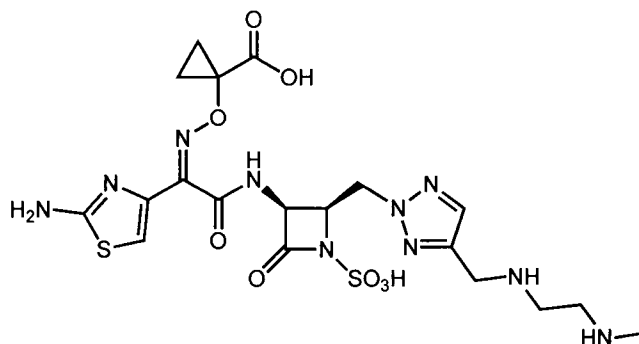
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (3-(methylamino)propyl)carbamate và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,53$ min, $m/z = 601,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,91 (s, 1 H), 7,06 (s, 1 H), 5,55 (d, 1 H, $J = 6,1\text{Hz}$), 5,06-4,88 (m, 3 H), 4,49 (s, 2 H), 3,26-3,15 (m, 2H), 3,06 (t, 2 H, $J = 7,5\text{ Hz}$), 2,89 (s, 3 H), 2,20-2,07 (m, 2H), 1,30-1,07 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 116: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-(methylamino)propyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



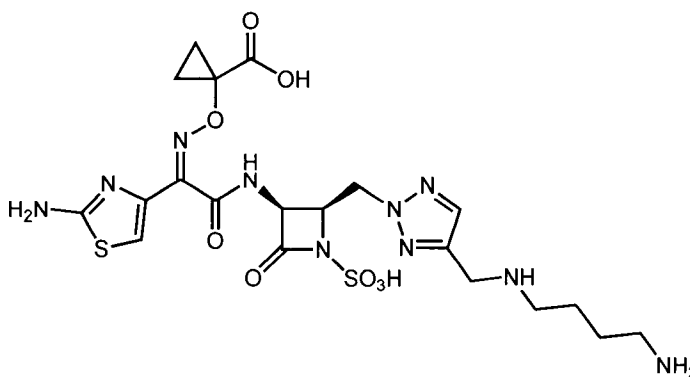
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (3-aminopropyl)(methyl)carbamate và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,48$ min, $m/z = 601,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,82 (s, 1 H), 7,09 (s, 1 H), 5,66-5,53 (m, 1 H), 5,03-4,87 (m, 3 H), 4,37 (s, 2 H), 3,21-3,05 (m, 4 H), 2,68 (s, 3H), 2,17-2,02 (m, 2 H), 1,30-1,04 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 117: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-(methylamino)ethyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (2-aminoethyl)(metyl)carbammat và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropancarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,44$ min, $m/z = 587,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,82 (s, 1 H), 7,09 (s, 1 H), 5,58 (d, $J = 5,5$ Hz, 1 H), 5,02-4,82 (m, 3 H), 4,42 (s, 2 H), 3,55-3,40 (m, 4H), 2,75 (s, 3 H), 1,30-1,04(m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 118: axit 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((4-aminobutyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropancarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (4-aminobutyl)carbammat và benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropancarboxylat trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,32$ min, $m/z = 601,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính

axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,71 (s, 1 H), 6,99 (s, 1 H), 5,48 (d, $J=5,6$ Hz, 1 H), 4,95-4,69 (m, 3 H), 4,24 (s, 2 H), 3,00 (t, $J=7,3$ Hz, 2 H), 2,87 (t, $J=7,1$ Hz, 2 H), 1,77-1,51 (m, 4 H), 1,23-1,12 (m, 2 H), 1,12-0,90 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 119: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)guanidino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.

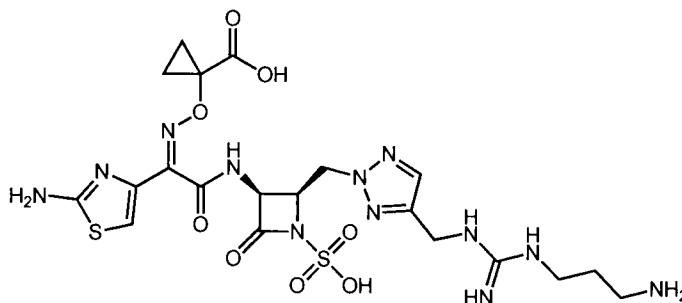
Bước 1: *Tert*-butyl (3-(3-benzoylthioureido)propyl)carbamate. Được điều chế theo quy trình đã được mô tả bởi Jubian et al. *Angew.Chem*, 1995, 107, 1343 và Rasmussen et al. *Synthesis*, 1988, 456. Thêm *tert*-butyl (3-aminopropyl)carbamate (0,95g, 5,45mmol) vào dung dịch chứa benzoyl isothioxyanat (0,93g, 5,70mmol) trong Axeton (10ml). Sau khi gia nhiệt ở 60°C trong 2,5 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-40%), để thu hợp chất tiêu đề (0,83g, 43%). LCMS: $R_t = 0,93$ min, $m/z = 338,0$ (M+1) Phương pháp 2m có tính axit.

Bước 2: *Tert*-butyl (3-thioureidopropyl)carbamate. Thêm dung dịch natri hydroxit chứa nước (1,96ml, 2,45mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl (3-(3-benzoylthioureido)propyl)carbamate (0,83g, 2,45mmol) trong MeOH (15ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và đồng sôi với toluen. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 9% with 1% NH_4OH), để thu hợp chất tiêu đề (0,83g, 43%). LCMS: $R_t = 0,47$ min, $m/z = 234,2$ (M+1) Phương pháp 2m có tính axit.

Bước 3: *Tert*-butyl (3-((imino(methylthio)metyl)amino)propyl)carbamate. Thêm iodometan (80 μl , 1,29mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl (3-thioureidopropyl)carbamate (0,29g, 1,28mmol) trong MeOH (8ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ, Thêm bicarbonat giá đỡ polyme (0,5g, 3,5mmol NaCO_3/g nhựa) vào hỗn hợp phản ứng. Sau 30 phút, lọc hỗn hợp phản ứng, và cô đặc dịch lọc trong chân không để thu sản phẩm mong muốn cùng với sản phẩm metyl hóa ở vị trí N, *tert*-butyl (3-(3-methylthioureido)propyl)carbamate (0,28g, 87%, tỷ lệ 2:1). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,44$ min và 0,49 min, $m/z = 248,1$ (M+1) Phương pháp 2m có tính axit.

Bước 4: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(3-imino-11,11-dimetyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic. Thêm triethylamin (30 μ L, 0,22mmol), axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic (ví dụ 19, 23mg, 43 μ mol), và DMF (0,5ml, tỷ lệ: 1) vào dung dịch chứa *tert*-butyl (3-((imino(metylthio)metyl)amino)propyl)carbammat (32,1mg, 87 μ mol) trong dioxan (1ml, tỷ lệ: 2) ở nhiệt độ phòng. Sau khi gia nhiệt đến 60°C trong 17 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc và nước. Phân tách lớp nước, cô đặc trong chân không, đồng sôi với toluen, và sấy trên áp suất chân không cao để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: R_t = 0,51 min, m/z = 729,6 (M+1), Phương pháp 2m_{có tính} axit.

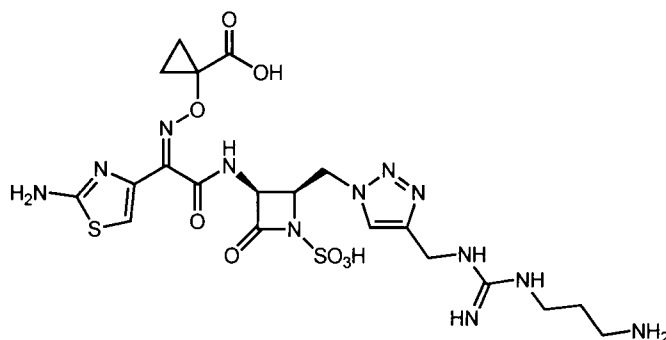
Bước 5: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)guanidino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(3-imino-11,11-dimetyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylic (37mg, 15 μ mol), DCM (0,8ml), và TFA (0,2ml, 2,60mmol) trong 1,5 giờ. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 24ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (5,2mg, 20%). LCMS: R_t = 0,39 min, m/z = 629,2 (M+1), Phương pháp 2m_{có tính} axit; ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,77 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 5,63 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5,06-4,99 (m, 1H), 4,98-

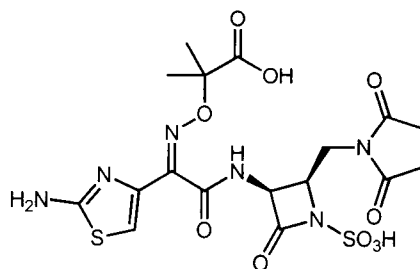
4,89 (m, 2H), 4,57 (s, 2H), 3,39-3,34 (m, 2H), 3,14-3,06 (m, 2H), 2,01 (p, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,39-1,29 (m, 2H), 1,26-1,15 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 120: axit 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)guanidino)metyl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng *tert*-butyl (3-((imino(methylthio)metyl)amino)propyl)carbamate. LCMS: $R_t = 0,30$ min, $m/z = 629,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (500MHz, D_2O) δ 7,97 (s, 1 H), 7,05 (s, 1 H), 5,42 (d, $J=5,4\text{Hz}$, 1 H), 4,87-4,78 (m, 1 H), 4,45 (s, 1 H), 3,24 (t, $J=6,9\text{Hz}$, 1 H), 2,98-2,93(m, 1 H), 2,64 (s, 1 H), 1,87 (dt, $J=14,9, 7,18$ Hz, 3 H), 1,33-1,25 (m, 3 H), 1,21-1,10 (m, 4 H).

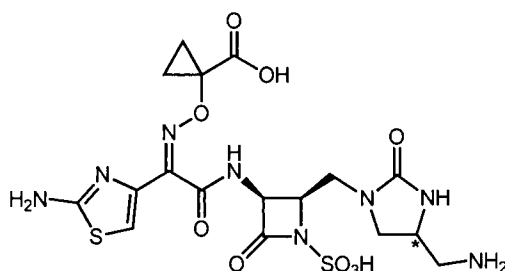
Ví dụ tham khảo 121: axit 2-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)-2-methylpropanoic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 54, sử dụng pyrrolidin-2,5-dion. LCMS: $R_t = 0,55$ min, $m/z = 533,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H

NMR (400MHz, DMSO-d₆:D₂O (1:1)): δ 6,94 (s, 1 H), 5,18 (d, *J* = 5,9 Hz, 1 H), 4,53-4,43 (m, 1 H), 3,96-3,86 (m, 1 H), 3,36-3,25 (m, 1 H), 2,53 (s, 4 H), 1,40 (s, 3 H), 1,37 (s, 3 H).

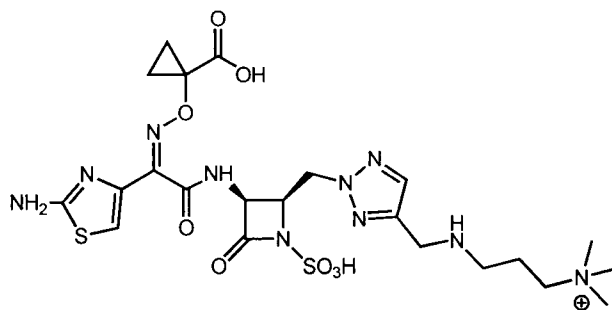
Ví dụ tham khảo 122: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometyl)-2-oxoimidazolidin-1-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 108, sử dụng benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((9*H*-fluoren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Chất đồng phân không đối quang A: 3,1mg. LCMS: *R*_t = 0,65 min, *m/z* = 547,1 (*M*+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,12 (s, 1H), 5,39 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,60-4,56 (m, 1H), 3,84 (t, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,59-3,53 (m, 1H), 3,48-3,41 (m, 2H), 3,21-3,09 (m, 3H), 1,46 (brs, 3H), 1,36 (brs, 3H).

Chất đồng phân không đối quang B: 2,9mg, LCMS: *R*_t = 0,65 min, *m/z* = 547,1 (*M*+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,12 (s, 1H), 5,42 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,61-4,54 (m, 1H), 4,16-4,08 (m, 1H), 3,82-3,72 (m, 2H), 3,55-3,49 (m, 1H), 3,27-3,15 (m, 3H), 1,47 (brs, 3H), 1,37 (brs, 3H).

Ví dụ tham khảo 123: 3-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-((1-carboxyxyclopropoxy)imino)axetamido)-4-oxo-1-sulfoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)amino)-*N,N,N*-trimetylpropan-1-aminium.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng N^1,N^1,N^1 -trimethylpropan-1,3-diaminium 2,2,2-trifloaxetat.. LCMS: $R_t = 0,51$ min, $m/z = 629,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; 1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,81 (s, 1 H), 7,09 (s, 1 H), 5,70-5,63 (m, 1 H), 5,03-4,93 (m, 3 H), 4,83-4,82 (m, 1 H), 4,37 (s, 2 H), 3,44-3,37 (m, 2 H), 3,22-3,16 (m, 2 H), 3,07 (s, 9 H), 2,26-2,17 (m, 2 H), 1,29-1,10 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 124: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((4-aminobutanamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(((metylsulfonyl)oxy)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Thêm MsCl (25 μ l, 0,32mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(hydroxymetyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (178mg,0,25mmol) và DIPEA (65 μ l, 0,37mmol) trong DCM (2,5ml) ở 0°C. Sau 1 giờ ở 0°C, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (10ml), rửa bằng 0,2 N HCl và $NaHCO_3$ bão hòa (aq). Sấy lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 , cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (190mg, 96%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 1,05$ min, $m/z = 795,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Thêm từng giọt dung dịch chứa

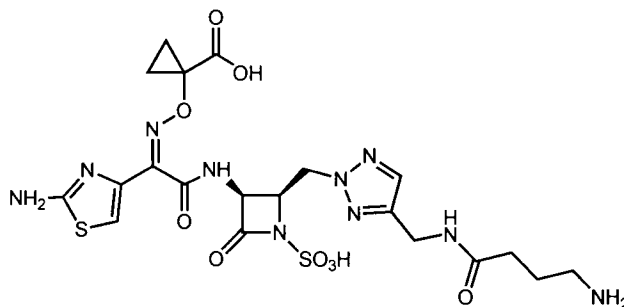
benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metylsulfonyl)oxy)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (190mg, 0,24mmol) trong THF (1ml) vào dung dịch chứa NH₄OH chứa nước (2ml, 28-30% wt) trong EtOH (2ml, tỷ lệ:1) và THF (2ml, tỷ lệ:1) ở -5°C. Sau khi khuấy ở -5°C trong 1 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng 40mL DCM và rửa bằng 10mL NaHCO₃ bão hòa chứa nước (aq), sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 5-10%) để thu hợp chất tiêu đề (120mg, 49%). LCMS: R_t = 0,87 min, m/z = 716,4 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanamido)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (35μl, 0,20mmol) và HATU (65mg, 0,17mmol) vào dung dịch chứa 4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanoic acid (30,7mg, 0,15mmol) trong DCM (2ml) ở 0°C. Sau 10 phút, benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminometyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (90mg, 0,10mmol) Thêm . Sau khi khuấy ở 0°C trong 1 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (40ml), rửa bằng Na₂CO₃ chứa nước nồng độ 2M (20ml), nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 5-10%) để thu hợp chất tiêu đề (42mg, 46%). LCMS: R_t = 1,07 min, m/z = 901,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit (2*R*,3*S*)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanamido)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (74mg, 0,47mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butanamido)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-

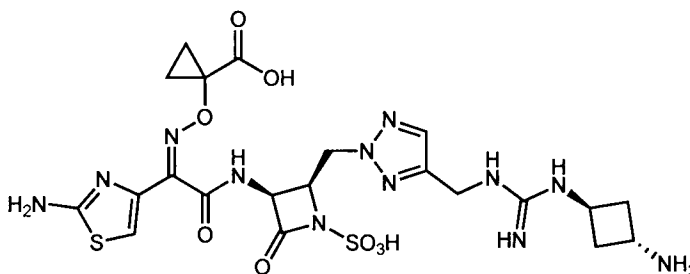
oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (42mg, 47 μ mol) trong DMF (0,47ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ, Thêm 10 đương lượng bổ sung của SO₃• Thêm và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (60ml) và nước muối (40ml), và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng bằng EtOAc (40ml). Sấy các lớp hữu cơ kết hợp bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (45,3mg, 99%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 0,96 min, m/z = 981,6 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((4-aminobutanamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((4-((tert-butoxycarbonyl)amino)butanamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (47mg, 48 μ mol), DCM (0,5ml), và TFA (0,2ml, 2,87mmol) trong 2 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không, và phân bố phần còn lại giữa DCM và nước đá. Tinh chế lớp nước bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề LCMS: R_t = 0,53 min, m/z = 615,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ¹H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,63 (s, 1 H), 7,05 (s, 1 H), 5,58-5,49 (m, 1 H), 4,96-4,83 (m, 3 H), 4,41 (brs, 2 H), 3,06-2,90 (m, 2 H), 2,44-2,28 (m, 2 H), 1,98-1,83 (m, 2 H), 1,38-1,04 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 125: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((3-((1r,3R)-3-aminoxyclobutyl)guanidino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng *tert*-butyl ((1r,3r)-3-((imino(metylthio)metyl)amino)xyclobutyl)carbamate. LCMS: $R_t = 0,33$ min, $m/z = 641.0$ (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit; ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,72 (s, 1 H), 7,10 (s, 1 H), 5,58 (d, $J=5,5$ Hz, 1 H), 5,01-4,95 (m, 1H), 4,89-4,85 (m, 2H), 4,53 (s, 2 H), 4,25-4,17 (m, 1H), 4,05-3,95 (m, 1H), 2,69-2,59 (m, 2H), 2,58-2,48 (m, 2H), 1,34-1,27 (m, 2H), 1,19-1,12 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 126: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(azetidin-3-yl)metyl)guanidino)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.

Bước 1: *tert*-butyl 3-((3-((2-(((2R,3S)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)metyl)azetidin-1-carboxylat.

Điều chế benzyl ((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate 2,2,2-trifloaxetat. Thêm TFA (1,05ml, 13,68mmol) vào dung dịch chứa NH-Boc [benzyl ((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate] (368mg, 0,86mmol) trong DCM (4ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề dạng muối TFA (định lượng giả định). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,43$ min, $m/z = 331.0$ (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Điều chế *tert*-butyl 3-((*N,N*-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-pyrazol-1-carboximidamido)methyl)azetidin-1-carboxylat. Thêm từng giọt DIAD (1,62g, 8,01mmol) vào dung dịch chứa *Bis*-Boc-pyrazolcarboxamidin (2,49g, 8,01mmol), *N*-Boc-3-hydroxymethylazetidin (1,50g, 8,01mmol) và triphenylphosphin (2,10g, 8,01mmol) trong THF (80ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không, và hòa tan phần thu được trong EtOAc/Heptan 10% để nghiền nhỏ triphenylphosphinoxit. Cô đặc dịch lọc trong chân không và sắc ký đồ qua sắc ký cột silicagel (EtOAc-Heptan, 0-35%) để thu hợp chất tiêu đề (1,6g, 41%). LCMS: $R_t = 1,12$ min, $m/z = 480,0$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

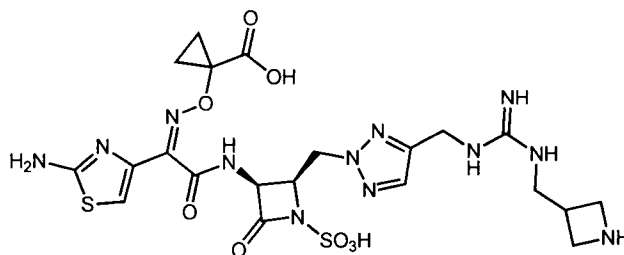
Điều chế *tert*-butyl 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)methyl)azetidin-1-carboxylat. Thêm DIPEA (0,147ml, 0,842mmol) và dung dịch chứa *tert*-butyl 3-((*N,N*-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-pyrazol-1-carboximidamido)methyl)azetidin-1-carboxylat (367mg, 0,765mmol) trong dioxan (1ml) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminomethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate 2,2,2-trifloaxetat (340mg, 0,77mmol) trong dioxan (6ml). Sau khi gia nhiệt đến 60°C trong 12 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-95%) để thu hợp chất tiêu đề (390mg, 69%). LCMS: $R_t = 0,94$ min, $m/z = 742,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: *Tert*-butyl 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)methyl)azetidin-1-carboxylat. Thêm Pd/C (5%, 112mg, 53μmol) và bóng chứa khí hydro vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)methyl)azetidin-1-carboxylat (390mg, 0,526mmol) trong EtOH (10ml) và MeOH (10,00ml) sau khi được xả khí và được nạp lại H₂. Sau 1 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit, và cô đặc dịch lọc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (302mg, 95%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,74$ min, $m/z = 608,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: *Tert*-butyl 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)methyl)azetidin-1-carboxylat. Thêm HATU (232mg, 0,61mmol), sau đó Thêm DIPEA (0,22ml, 1,27mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)methyl)azetidin-1-carboxylat (309mg, 0,51mmol) và axit (*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (273mg, 0,51mmol) trong DMF (6ml, tỷ lệ: 1) và DCM (6ml, tỷ lệ: 1). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, EtOAc Thêm vào hỗn hợp phản ứng và rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-95%) để thu hợp chất tiêu đề (330mg, 58%). LCMS: R_t = 1,15 min, m/z = 1127,8 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 4: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((1-((*tert*-butoxycarbonyl)azetidin-3-yl)methyl)guanidino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm dung dịch chứa SO₃•DMF (359mg, 2,34mmol) trong DMF (1ml) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 3-((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)methyl)azetidin-1-carboxylat (330mg, 0,29mmol) trong DMF (2ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc và rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (300mg, 85%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 1,25 min, m/z = 1208,7 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 5: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(azetidin-3-yl)methyl)guanidino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((1-((*tert*-butoxycarbonyl)azetidin-3-yl)metyl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (300mg, 0,248mmol), DCM (3ml) và TFA (1,90ml, 24,85mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 19x100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 24ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (19mg, 12%). LCMS: R_t = 0,32 min, m/z = 641,3 ($M+1$), Phương pháp 2m_{có tính axit}; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ[□] 10,26 (br s, 1 H), 8,79 (br s, 3 H), 7,78-7,54 (m, 3H), 7,14 (s, 2 H), 6,84 (s, 1 H), 5,06 (br s, 1 H), 4,88 (dd, J = 14,1, 3,94 Hz, 1 H), 4,70-4,59 (m, 1H), 4,54-4,46 (m, 1H), 4,35 (d, J = 3,8 Hz, 2 H), 4,00-3,89 (m, 2H), 3,76-3,65 (m, 2H), 3,08-2,94 (m, 1H), 1,30-1,09 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 127: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(aminometyl)azetidin-1-carboximidamido)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hydroxymetyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (1,8g, 4,04mmol) trong MeOH (60mL) Thêm nhựa DOWEX-50W-X4 100-200 (3,60g, 4,04mmol) đã được rửa trước bằng MeOH. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng, và cô đặc dịch lọc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: R_t = 0,52 min, m/z = 332,1 ($M+1$) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 2: *Tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)methyl)carbamate. Thêm triphenylphosphin (1,16g, 4,42mmol), sau đó Thêm DIAD (0,89g, 4,42mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hydroxymethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (1,33g, 4,01mmol) và bis-Boc-pyrazolcarboxamidin (1,37g, 4,42mmol) trong THF (50ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-90%) để thu hợp chất tiêu đề (1,73g, 69%). LCMS: $R_t = 0,99$ min, $m/z = 624,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 3: Thêm Boc-aminomethylazetidin (105mg, 0,56mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)methyl)carbamate (320mg, 0,51mmol) trong CH₃CN (2ml). Sau khi gia nhiệt đến 70°C trong 1 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không để thu hợp chất tiêu đề. Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,91$ min, $m/z = 742,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

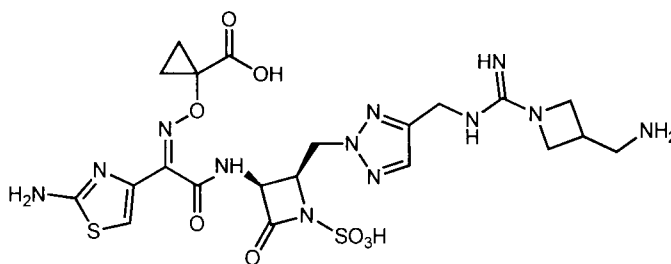
Bước 4: *Tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)((3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-yl)((*tert*-butoxycarbonyl)imino)methyl)carbamate. Thêm Pd/C (5%, 16,35mg, 77μmol) và bóng chứa khí hydro vào dung dịch chứa hợp chất từ bước 3 (570mg, 0,77mmol) trong EtOH (10ml) và MeOH (10mL) sau khi được xả khí và nạp lại bằng H₂. Sau 4 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit, và cô đặc dịch lọc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (302mg, 95%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,68$ min, $m/z = 608,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 5: Benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*N,N*-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboximidamido)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 126 bước 3, sử dụng *tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)((3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-yl)((*tert*-

butoxycarbonyl)imino)metyl)carbamate (460mg, 0,76mmol), axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (407mg, 0,76mmol), DMF (8ml), DCM (8ml), HATU (345mg, 0,91mmol) và DIPEA (0,33 μ L, 1,89mmol). Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (0,65g, 76%). LCMS: R_t = 1,15 min, m/z = 1127,9 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((N,N'-bis(tert-butoxycarbonyl)-3-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)azetidin-1-carboximidamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm dung dịch chứa $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (883mg, 5,77mmol) trong DMF (1ml) ở 0°C vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((N,N'-bis(tert-butoxycarbonyl)-3-(((tert-butoxycarbonyl)amino)metyl)azetidin-1-carboximidamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylat (650mg, 0,58mmol) trong DMF (3ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc và rửa bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: R_t = 1,18 min, m/z = 1208,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

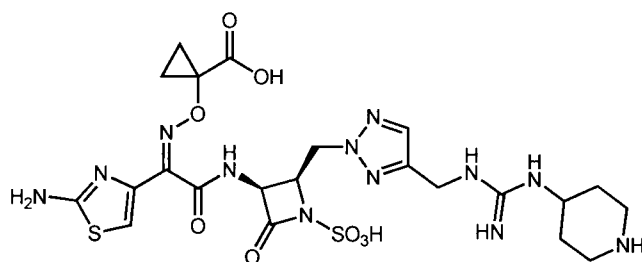
Bước 7: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(aminometyl)azetidin-1-carboximidamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropancarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-

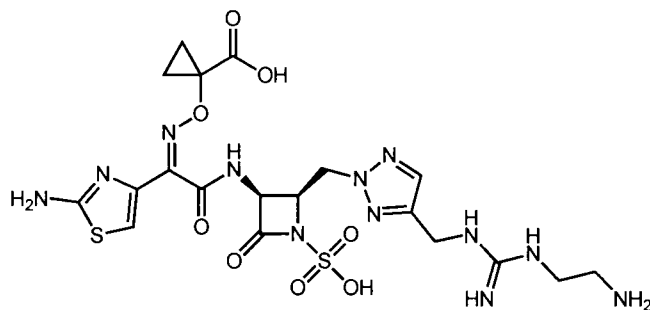
butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((*N,N'*-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)azetidin-1-carboximidamido)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (690mg, 0,57mmol), DCM (3ml) và TFA (2,1ml, 27,4mmol). Tinh chế sản phẩm thô qua HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp chất tiêu đề (98mg, 27%). LCMS: R_t = 0,32 min, m/z = 641,3 ($M+1$), Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,73 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,72-7,54 (m, 3H), 7,18 (s, 2H), 6,74 (s, 1H), 5,25 (dd, J = 8,9, 5,5 Hz, 1H), 4,88 (dd, J = 14,2, 4,3 Hz, 1H), 4,65 (dd, J = 14,2, 7,7 Hz, 1H), 4,53 (ddd, J = 7,6, 5,6, 4,4 Hz, 1H), 4,46-4,31 (m, 2H), 4,15 (td, J = 8,7, 5,0 Hz, 2H), 3,96-3,81 (m, 2H), 3,11 (d, J = 7,3 Hz, 2H được giả thiết; bị che khuất một phần bởi nước), 2,91 (p, J = 6,8 Hz, 1H), 1,26-1,11 (m, 2H), 1,08-0,95 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 128: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((3-(piperidin-4-yl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etylidene)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng *tert*-butyl 4-((imino(metylthio)metyl)amino)piperidin-1-carboxylat. LCMS: R_t = 0,32 min, m/z = 655,1 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,73 (s, 1 H), 7,14 (s, 1 H), 5,59 (d, J =5,6 Hz, 1 H), 5,01-4,94 (m, 1 H), 4,90-4,84 (m, 1H), 4,80 (s, 1H), 4,54 (s, 2 H), 3,80-3,71 (m, 1H), 3,48 (d, J = 13,4Hz, 2 H), 3,10 (t, J = 12,5Hz, 2 H), 2,21 (d, J =12,9 Hz, 2 H), 1,85-1,71 (m, 2H), 1,38-1,31 (m, 2 H), 1,24-1,16 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 129: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(2-aminoethyl)guanidino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng *tert*-butyl (2-((imino(methylthio)methyl)amino)ethyl)carbamate. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 615,4$ (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}; ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,63 (s, 1 H), 7,02 (s, 1 H), 5,49 (d, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 4,88 (q, $J = 5,6$ Hz, 1 H), 4,77 (d, $J = 5,6$ Hz, 2 H), 4,44 (s, 2 H), 3,48 (t, $J = 5,9$ Hz, 2 H), 3,14 (t, $J = 5,9$ Hz, 2 H), 1,28-1,15 (m, 2 H), 1,12-1,00 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 130: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((1-(3-aminopropyl)guanidino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzyl ((2R,3S)-2-((4-(hydroxymethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm nhựa DOWEX-50W-X4 100-200 (1g, 1,12mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2R,3S)-2-((4-(((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (500mg, 1,12mmol) trong MeOH (15ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, lọc hỗn hợp phản ứng, và cô đặc dịch lọc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (định lượng giả định). LCMS: $R_t = 0,51$ min, $m/z = 332,1$ (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 2: Benzyl ((2R,3S)-2-((4-formyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm mangan dioxit (2,0g, 23mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2R,3S)-2-((4-(hydroxymethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (385mg, 1,16mmol) trong THF (10ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, Thêm 1g MnO₂ khuấy Thêm trong 1 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit

voiqua dung dịch rửa MeOH. Cô đặc dịch lọc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (340mg, 89%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,61$ min, $m/z = 330,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: Thêm natri triaxetoxymorhydrua (328mg, 1,55mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (340mg, 1,03mmol) và Boc-1,3-diaminopropan (360mg, 2,07mmol) trong DCE (16ml) và THF (6ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không, tái hòa tan trong DCM, rửa bằng 5% natri bicarbonat, nước muối, sấy qua MgSO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (470mg, 93%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,64$ min, $m/z = 488,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: Thêm bis-Boc-pyrazolcarboxamidin (359mg, 1,16mmol) vào dung dịch chứa DIPEA (0,17ml, 0,96mmol) và sản phẩm từ bước 3 (470mg, 0,96mmol) trong dioxan (15ml). Sau khi gia nhiệt đến 60°C trong 3 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 20-100%) để thu được hợp chất tiêu đề (130mg, 18%). LCMS: $R_t = 0,93$ min, $m/z = 730,5$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

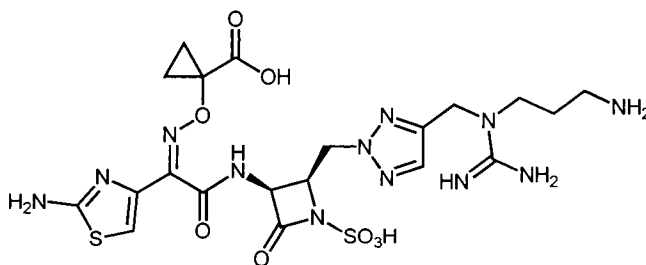
Bước 5: Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 126 bước 2, sử dụng sản phẩm từ bước 4 (130mg, 0,178mmol), EtOH (5ml) và metanol (3ml), Pd/C (5%, 37,9mg, 18μmol). Sản phẩm thô thu được được sử dụng là chính nó trong bước sau đây (100mg, 94%). LCMS: $R_t = 0,70$ min, $m/z = 596,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: Benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-1-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xcyclopropanecarboxylat. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 126 bước 3, sử dụng sản phẩm từ bước 5 (100mg, 0,168mmol), *tert*-butyl 3-(((3-((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)-1,2-bis(*tert*-butoxycarbonyl)guanidino)metyl)azetidin-1-carboxylat (309mg, 0,51mmol) và axit (*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xcyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axeticacid (90mg, 0,17mmol), DMF (3ml), DCM

(2ml), HATU (83mg, 0,22mmol) và DIPEA (73 μ l, 0,42mmol). Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 15-90%) để thu hợp chất tiêu đề (110mg, 59%) cùng với the bis-Boc product. LCMS: $R_t = 1,13$ min, $m/z = 1115,7$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 7: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-1-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 126 bước 4, sử dụng benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-1-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat (110mg, 99 μ mol), DMF (2ml), dung dịch chứa SO₃•DMF (121mg, 0,79mmol) trong DMF (1ml), sau đó Thêm 140mg SO₃•DMF bổ sung. Sản phẩm thô thu được được sử dụng là chính nó trong bước sau đây (định lượng giả định). LCMS: $R_t = 1,15$ min, $m/z = 1195,9$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

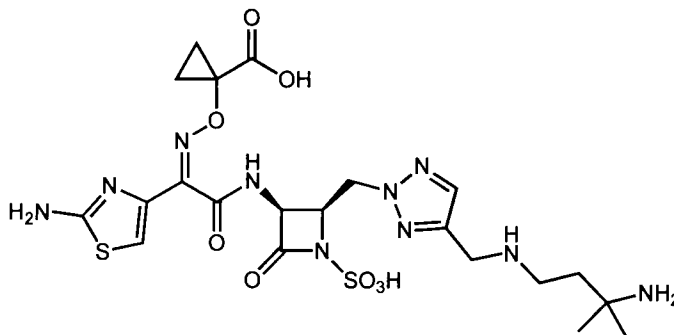
Bước 8: sản phẩm thô thu được được sử dụng là chính nó trong bước sau đây.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((2,3-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-1-(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (118mg, 99 μ mol), DCM (2ml) và TFA (2,0ml, 26mmol). Tinh chế sản phẩm thô qua HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút) để thu hợp

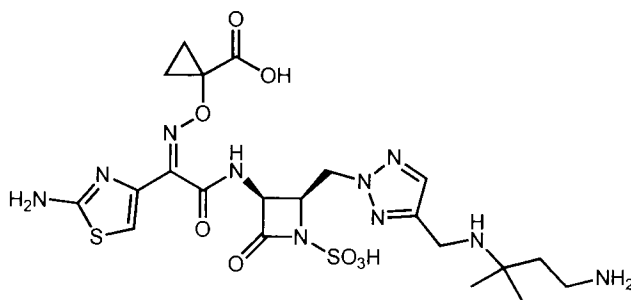
chất tiêu đề (5,1mg, 8%). LCMS: $R_t = 0,28$ min, $m/z = 629,4$ ($M+1$). Phương pháp 2m_có tính axit.

Ví dụ tham khảo 131: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((3-amino-3-methylbutyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (4-amino-2-methylbutan-2-yl)carbamate. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 60ml/phút). LCMS: $R_t = 0,33$ min, $m/z = 615,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O): δ 7,76 (s, 1 H), 7,03 (s, 1 H), 5,52 (d, $J=5,6$ Hz, 1 H), 4,97-4,90 (m, 1 H), 4,88-4,74 (m, 2 H), 4,31 (s, 2 H), 3,18-3,08 (m, 2 H), 2,04-1,94 (m, 2 H), 1,29 (s, 6 H), 1,23-1,18 (m, 2 H), 1,14-0,99 (m, 2 H).

Ví dụ tham khảo 132: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((4-amino-2-methylbutan-2-yl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 90, sử dụng *tert*-butyl (3-amino-3-methylbutyl)carbamate (Bảo vệ Boc là không cần thiết do amin bị cản trở). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: R_t = 0,49 min, m/z = 615,3 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D₂O): δ 7,86 (s, 1 H), 7,16 (s, 1 H), 5,62 (d, J =5,4Hz, 1 H), 5,07-4,91 (m, 2 H), 4,88-4,79 (m, 3 H), 4,40 (s, 2 H), 3,23-3,13 (m, 2 H), 2,22-2,12 (m, 2 H), 1,49 (s, 6 H), 1,39-1,11 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 133: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((2-aminoethoxy)carbonyl)amino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.

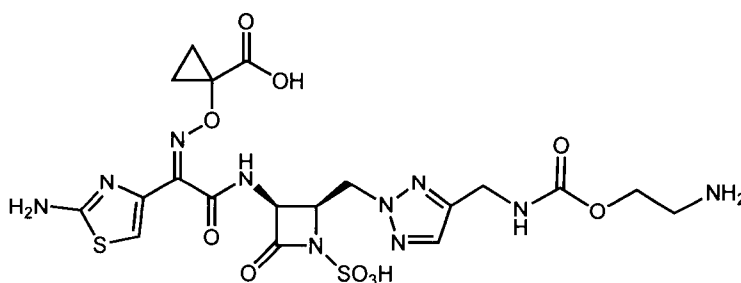
Bước 1: 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl 1*H*-imidazol-1-carboxylat. Thêm dung dịch chứa *tert*-butyl (2-hydroxyethyl)carbamate (0,22ml, 1,37mmol) trong DCM (1ml) vào dung dịch chứa CDI (218mg, 1,30mmol) trong DCM (4ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được sử dụng trực tiếp trong DCM cho bước tiếp theo.

Bước 2: Benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-(10,10-dimethyl-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundecyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat. Thêm dung dịch chứa 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl 1*H*-imidazol-1-carboxylat (0,59ml, 0,19mmol) trong DCM (0,6ml) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminomethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat (90mg, 0,13mmol) trong DCM (2ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, Thêm 3 đương lượng bổ sung của 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl 1*H*-imidazol-1-carboxylat (1,18ml, 0,38mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 60 giờ bổ sung, phân bố hỗn hợp phản ứng giữa DCM (40ml) và nước (20ml). Sấy lớp hữu cơ bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc

ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%) để thu hợp chất tiêu đề (64mg, 56%). LCMS: $R_t = 1,09$ min, $m/z = 903,5$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 3: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((4-(10,10-dimetyl-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (189mg, 1,20mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((*Z*)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(10,10-dimetyl-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xypropylcarboxylat (108mg, 0,120mmol) trong DMF (1,2ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (60ml) và nước muối (20ml). Chiết lớp nước bằng EtOAc (20ml). Sấy các lớp hữu cơ kết hợp bằng Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (68mg, 58%). Sản phẩm thô được sử dụng luôn cho bước tiếp theo. LCMS: $R_t = 0,96$ min, $m/z = 983,6$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

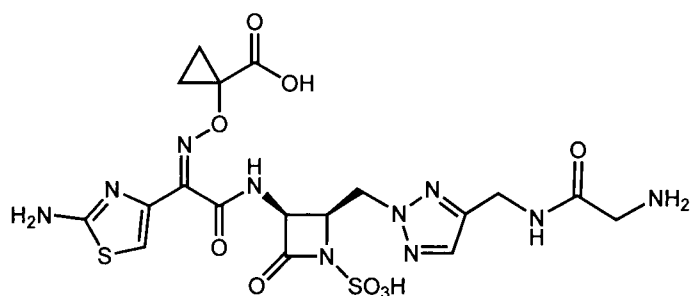
Bước 4: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((2-aminoethoxy)carbonyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xypropylcarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)acetamido)-2-((4-(10,10-dimetyl-3,8-dioxo-4,9-dioxa-2,7-diazaundexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic acid (68mg, 69μmol), DCM (0,7ml) và TFA (0,32ml, 4,15mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (19mg,

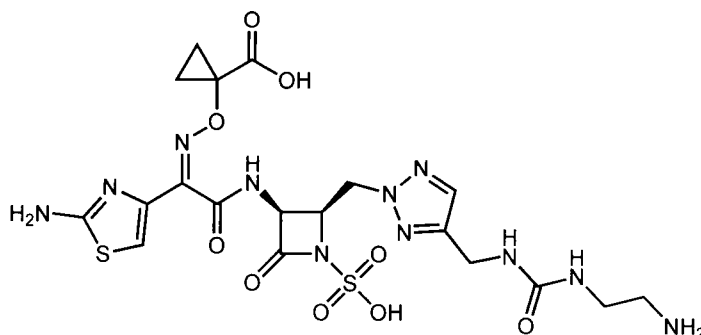
44%). LCMS: $R_t = 0,54$ min, $m/z = 617,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,67 (s, 1 H), 7,10 (s, 1 H), 5,60-5,52 (m, 1 H), 5,01-4,84(m, 3 H), 4,43-4,37 (s, 2 H), 4,35-4,27 (m, 2 H), 3,33-3,25 (m, 2 H), 1,36-1,13 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 134: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((2-aminoaxetamido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



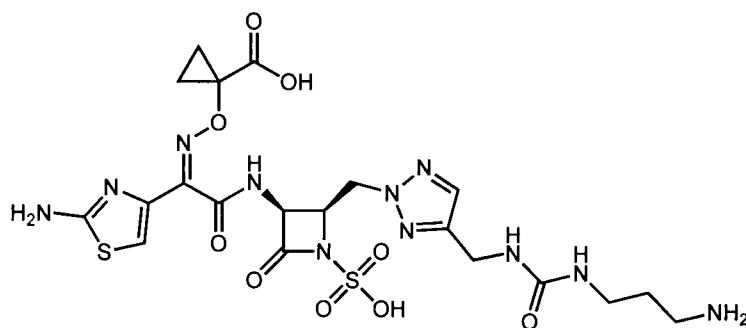
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 124, sử dụng axit 2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino) axetic. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSelect CSH, 30x100mm, 5 μm , cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: $R_t = 0,48$ min, $m/z = 587,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,68 (s, 1 H), 7,12 (s, 1 H), 5,57-5,53 (m, 1 H), 4,96 (m, 3 H), 4,51 (s, 2 H), 3,84 (s, 2 H), 1,35 (m, 4 H).

Ví dụ tham khảo 135: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(2-aminoethyl)ureido)metyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 133, sử dụng *tert*-butyl (2-(1*H*-imidazol-1-carboxamido)ethyl)carbamate (không có bazơ bổ sung) trong bước 2. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30x100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: R_t = 0,51 min, m/z = 616,3 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; 1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,62 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,55-5,49 (m, 1H), 4,97-4,86 (m, 3H), 4,34 (s, 2H), 3,44-3,35 (m, 2H), 3,12-3,03 (m, 2H), 1,36-1,10 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 136: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-(((4-((3-(3-aminopropyl)ureido)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 133, *tert*-butyl (3-(1*H*-imidazol-1-carboxamido)propyl)carbamate (không có bazơ bổ sung) trong bước 2. Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút). LCMS: R_t = 0,52 min, m/z = 630,4 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; 1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,60 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,57-5,48 (m, 1 H), 4,97-4,86 (m, 3H), 4,32 (s, 2H), 3,18 (m, 2H), 2,97 (m, 2H), 1,79 (m, 2 H), 1,33 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 137: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-((1-carboxycyclopropoxy)imino)acetamido)-2-(((4-(((1-methylpyridin-1-ium-3-yl)methyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Bước 1: 3-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-((*tert*-

butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)amino)metyl)-1-metylpyridin-1-ium clorua.

Thêm trietylamin (175 μ l, 1,26mmol), sau đó Thêm từng giọt dung dịch chứa benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((metylsulfonyl)oxy)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropan-carboxylat (200mg, 0,252mmol) trong THF (500 μ l) vào huyền phù của 3-(amoniometyl)-1-metylpyridin-1-ium (147mg, 0,755mmol) trong THF:EtOH (1:1, 1,26ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ, cô đặc hỗn hợp trong chân không, sau đó tái hòa tan trong DMSO và tinh chế bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (50mg, 23%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,85 min, m/z = 821,3 (M^+) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 2: 3-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)(*tert*-butoxycarbonyl)amino)metyl)-1-metylpyridin-1-ium clorua.

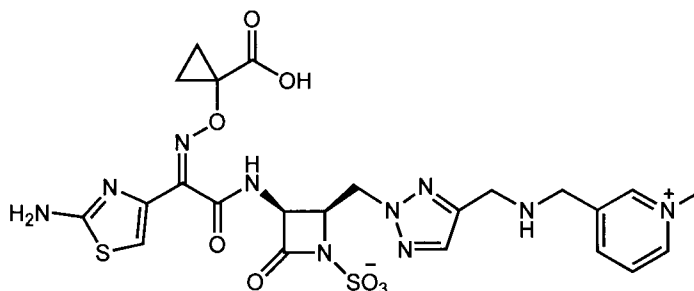
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 85, bước 4 sử dụng 3-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)amino)metyl)-1-metylpyridin-1-ium clorua(50mg, 0,058mmol),Boc-anhydrit (0,027ml,0,115mmol), NaHCO₃ (satd aq, 1,22ml) và DCM (1,15ml). LCMS: R_t = 0,99 min, m/z = 921,3 (M^+) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 3: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)((1-metylpyridin-1-ium-3-yl)metyl)amino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 19, bước 3 sử dụng 3-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)(*tert*-butoxycarbonyl)-amino)metyl)-1-metylpyridin-1-ium clorua

(49mg, 0,051mmol), SO₃•DMF (78mg, 0,51mmol) và DMF (1ml). LCMS: R_t = 0,99 min, m/z = 1002 (M⁺) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 4: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-((1-carboxycyclopropoxy)imino)axetamido)-2-((4-(((1-methylpyridin-1-ium-3-yl)methyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)((1-methylpyridin-1-ium-3-yl)methyl)amino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat (53mg, 0,053mmol), TFA (81μl, 1,1mmol) và DCM (72ml). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (13mg, 35%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,30 min, m/z = 635,3 (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit; ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 9,00 (s, 1H), 8,78-8,67 (m, 2H), 7,97 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 5,75 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H), 5,11 (dd, *J* = 14,4, 3,7 Hz, 1H), 5,06-4,99 (m, 1H), 4,70-4,46 (m, 4H), 4,38 (s, 3H), 3,77-3,62 (m, 1H), 1,35-1,26 (m, 1H), 1,20-1,10 (m, 2H), 0,93-0,82 (m, 1H).

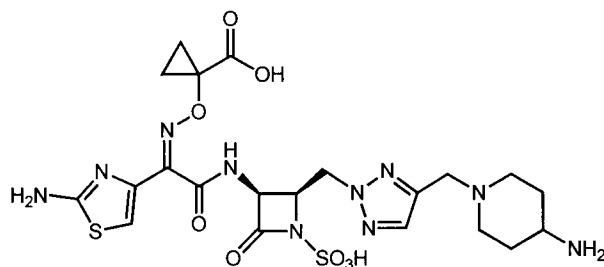
Ví dụ tham khảo 138: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-aminopiperidin-1-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.

Bước 1: Benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)piperidin-1-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat.

Khuấy benzhydryl 1-(((Z)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((methylsulfonyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropanecarboxylat (64mg, 0,081mmol) và natri iotua (18,1mg, 0,121mmol) trong DMF (700μl) trong 14 giờ, ngay sau đó Thêm cesium carbonat (33,4mg, 0,103mmol) và *tert*-butyl piperidin-4-ylcarbamate (17,7mg, 0,089mmol). Sau 3 giờ khuấy Thêm , pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc và dung dịch LiCl (5% aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng dung dịch LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (1-8% MeOH-DCM), để thu hợp chất tiêu đề (52,6mg, 73%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: R_t = 0,98 min, m/z = 899,7 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 2: axit (2*R*,3*S*)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xy)clopropoxy)imino)-2-((2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)piperidin-1-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (24,3mg, 0,159mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)piperidin-1-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropanecarboxylat (53mg, 59μmol) trong DMF (293μl) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng, bổ sung Thêm SO₃•DMF (24,3mg, 81μmol). Sau khi khuấy bổ sung trong 16 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không. Nguyên liệu sản phẩm thô được sử dụng trực tiếp trong bước 3. LCMS: R_t = 0,97 min, m/z = 979,9 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 3: axit 1-(((Z)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((4-aminopiperidin-1-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropanecarboxylic.



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)piperidin-1-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (58mg, 59μmol), DCM (590μl), anisol (13μl, 0,12mmol) và TFA (273μl, 3,54mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN-nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (2,7mg, 7,3%) ở dạng chất bột màu trắng nhạt. LCMS: $R_t = 0,50$ min, $m/z = 613,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,93 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 5,59 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 5,07-5,00 (m, 1H), 4,99-4,96 (m, 1H), 4,93-4,90 (m, 1H), 4,39 (s, 2H), 3,75-3,62 (m, 2H), 3,63-3,51 (m, 1H), 3,28-3,08 (m, 2H), 2,33 (d, $J=13,7$ Hz, 2H), 2,04-1,89 (m, 2H), 1,38-1,11 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 139: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-((1-carboxyxypropoxy)imino)axetamido)-2-((4-(((6,7-dihydro-5*H*-pyrazolo[1,2-*a*][1,2,4]triazol-4-ium-6-yl)thio)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Bước 1: 6-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)thio)-6,7-dihydro-5*H*-pyrazolo[1,2-*a*][1,2,4]triazol-4-ium clorua.

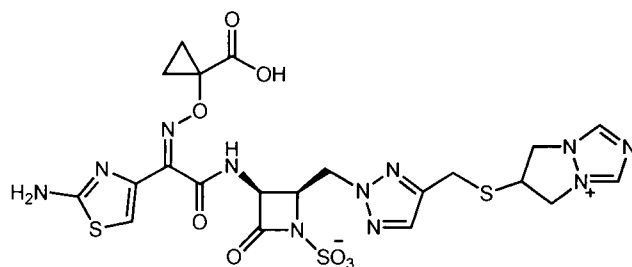
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 138, bước 1 sử dụng benzhydryl 1-(((*Z*)-2-((1-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((methylsulfonyl)oxy)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xypropyl)carboxylat (54mg, 0,068mmol), natri iotua

(17,2mg,0,115mmol), cesium carbonat (24,5mg, 0,075mmol), 6-mercapto-6,7-dihydro-5H-pyrazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-ium clorua (13,4mg, 0,075mmol) và DMF (600μl). Cô đặc huyền phù đặc trong chân không, và tinh chế sản phẩm thô qua HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (19,7mg, 34%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 0,91$ min, $m/z = 840,4$ (M^+) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((6,7-dihydro-5H-pyrazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-ium-6-yl)thio)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.

Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 138, bước 2 sử dụng 6-(((2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)thio)-6,7-dihydro-5H-pyrazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-ium clorua (21mg, 0,025mmol), DMF (250μl), $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (18,9mg,0,123mmol), sau đó là lượng $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ bổ sung (22,3mg,0,146mmol). Nguyên liệu sản phẩm thô được sử dụng trực tiếp trong bước 3. LCMS: $R_t = 0,92$ min, $m/z = 921,7$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

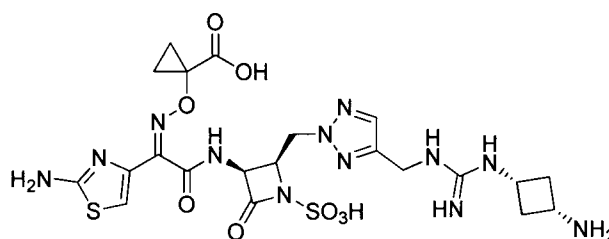
Bước 3: (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-((1-carboxyxcyclopropoxy)imino)-axetamido)-2-((4-(((6,7-dihydro-5H-pyrazolo[1,2-a][1,2,4]triazol-4-ium-6-yl)thio)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 138, bước 3 sử dụng (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((6,7-dihydro-5H-pyrazolo[1,2-

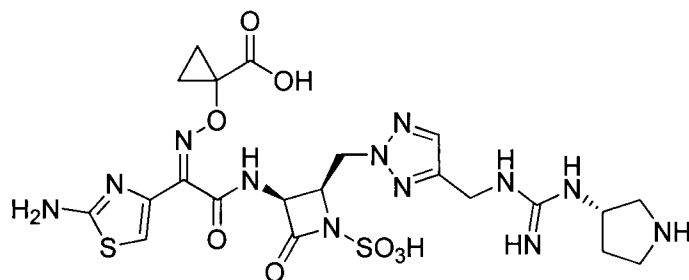
a][1,2,4]triazol-4-ylthio)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonat (23mg, 0,025mmol), anisol (5,5μl, 0,050mmol), TFA (116μl, 1,50mmol) và DCM (300μl). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (Xselect CSH, 30 x 100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (1,5mg, 8%). LCMS: R_t = 0,60 min, m/z = 654,4 ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 9,02 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 7,84 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 5,65 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 5,12-4,97 (m, 3H), 4,94-4,89 (m, 1H), 4,64-4,50 (m, 4H), 4,09 (s, 2H), 1,48-1,36 (m, 2H), 1,32-1,24 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 140: axit 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-((1*S*,3*S*)-3-aminoxyclobutyl)guanidino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic



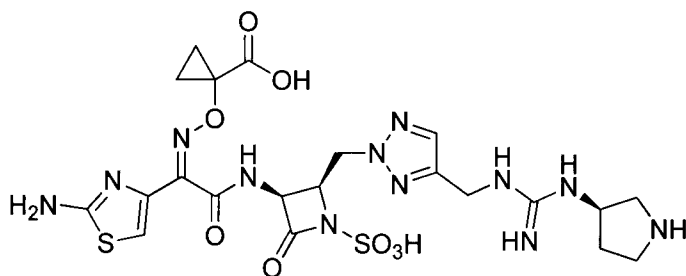
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng *tert*-butyl ((1*S*,3*S*)-3-((imino(methylthio)methyl)amino)xyclobutyl)carbamate. LCMS: R_t = 0,49 min, m/z = 641,2 ($M+1$) Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ ppm 7,61 (s, 1H) 7,00 (s, 1H) 5,47 (d, J = 5,6 Hz, 1H) 4,91-4,84 (m, 1H) 4,79-4,76 (m, 3H) 4,41 (s, 3H) 3,78 (t, J = 7,6 Hz, 1H) 3,51 (t, J = 8,0 Hz, 1H) 2,84-2,67 (m, 1H) 2,12 (d, J = 9,7 Hz, 1H) 1,23-1,19 (m, 2H) 1,05 (d, J = 4,5 Hz, 2H).

Ví dụ tham khảo 141: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((3-((*S*)-pyrrolidin-3-yl)guanidino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng (S)-*tert*-butyl 3-((imino(methylthio)methyl)amino)pyrrolidin-1-carboxylat. LCMS: $R_t = 0,49$ min, $m/z = 640,8$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ ppm 7,62 (s, 1H) 7,00 (s, 1H) 5,49 (d, $J=5,6$ Hz, 1H) 4,83 – 4,91 (m, 1H) 4,80-4,75 (m, 2H) 4,44 (s, 2H) 4,30 (t, $J= 4.0$ Hz, 1H) 3,60-3,18 (m, 5H) 2,38-2,24 (m, 1H) 2,04 (dq, $J=12,5, 6,5$ Hz, 1H) 1,24-1,12 (m, 2H) 1,04 (br s, 2H).

Ví dụ tham khảo 142: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3S,4R)-2-oxo-4-((4-((3-(®-pyrrolidin-3-yl)guanidino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng (R)-*tert*-butyl 3-((imino(methylthio)methyl)amino)pyrrolidin-1-carboxylat. LCMS: $R_t = 0,29$ min, $m/z = 641,1$ (M+1) Phương pháp 2m; ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ ppm 7,62 (s, 1H) 7,01 (s, 1H) 5,49 (d, $J=5,6$ Hz, 1H) 4,87 (q, $J=5,7$ Hz, 1H) 4,80-4,75 (m, 2H) 4,44 (s, 2H) 4,31 (t, $J=4,0$ Hz, 1H) 3,61-3,20 (m, 4H) 2,41-2,21 (m, 1H) 2,08-2,00 (m, 1H) 1,18 (m, 2H) 1,14 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 143: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-5-metyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic

Bước 1: 4-(azidometyl)-5-metyl-2H-1,2,3-triazol. Thêm natri azit (1,901g, 29,2mmol), sau đó Thêm amoniclorua (782mg, 14,6mmol) vào dung dịch chứa 1-bromo-2-butyne (640μl, 7,31mmol) trong 1,4-dioxan/Nước (3:1, 36ml). Gia nhiệt huyền phù đặc đến 75°C trong 8 giờ. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu nguyên liệu sản phẩm thô (833mg, 78%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước 2. LCMS: R_t = 0,35 min, m/z = 138,9 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 2: *tert*-butyl ((5-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamate. Huyền phù đặc của 4-(azidometyl)-5-metyl-2H-1,2,3-triazol (803mg, 5,81mmol), Boc-anhydrit (1,36ml, 5,88mmol) và Pd-C (157mg, 0,148mmol) trong EtOH (39ml) xả khí và tái nạp khí H₂ (3x). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong H₂ trong 1 giờ 45 phút. Lọc huyền phù màu đen thu được qua xelit và chiết bằng EtOAc. Cô đặc dịch lọc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-60%) để thu hợp chất tiêu đề (878mg, 71%). LCMS: R_t = 0,82 min, m/z = 213,0 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 3: Thêm từng giọt DIAD (0,210ml, 1,016mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (331mg, 0,826mmol), *tert*-butyl ((5-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)metyl)carbamate (235,3mg, 1,109mmol) và triphenylphosphin (265,6mg, 1,013mmol) trong THF (8,3ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, cô đặc hỗn hợp phản ứng trên silicagel. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-60%) thu được hợp chất mong muốn (360mg, 73%). LCMS: R_t = 0,99 min, m/z = 595,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 4: Gia nhiệt huyền phù đặc của sản phẩm từ bước trên (bước 4) (396,8mg, 0,667mmol), K₂S₂O₈ (243mg, 0,870mmol) và K₂HPO₄ (268,1mg, 1,539mmol) trong ACN/nước (2:1, 9,4ml) đến 90°C trong 2 giờ. Bổ sung Thêm K₂S₂O₈ (55,6mg, 0,200mmol) và tiếp tục gia nhiệt Thêm trong 2 giờ. Cô đặc một phần hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, làm nguội bằng băng NaHCO₃ và chiết

bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-90%), sau đó HPLC (OBD C18, 5 μ , 30x100mm, ACN/H₂O 30-70% w/0,1% TFA buffer over 18 min, 60ml/phút), thu được hợp chất mong muốn (157mg, 53%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: R_t = 0,80 min, m/z = 445,2 (M+1) Phương pháp 2m₋ có tính axit.

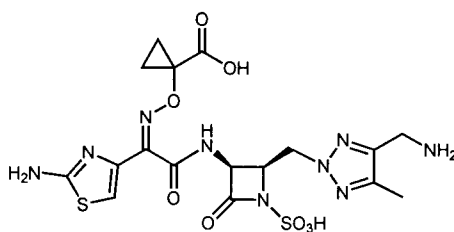
Bước 5: *tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate. Thêm ethanol (1,6ml), sau đó Thêm metanol (0,4ml) vào bình phản ứng được sục N₂ chứa sản phẩm từ bước trên (93,2mg, 0,210mmol) và Pd-C (18mg). Huyền phù đặc thu được được xả và nạp đầy lại bằng H₂ (3x). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong khí H₂ trong 2 giờ. Lọc huyền phù màu đen thu được qua xelit, chiết bằng metanol. Cô đặc dịch lọc trong chân không và sản phẩm thô thu được được sử dụng luôn trong bước 6. LCMS: R_t = 0,46 min, m/z = 311,1 (M+1) Phương pháp 2m₋ có tính axit.

Bước 6: Benzhydryl 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylat. Thêm DIPEA (0,073ml, 0,420mmol) vào dung dịch chứa axit (*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic(120mg, 0,213mmol), *tert*-butyl ((2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)carbamate (65,2mg, 0,210mmol) và HATU (86mg, 0,22mmol) trong DMF (2,1ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 16 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch LiCl (5% aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng dung dịch LiCl (5% aq), NaHCO₃ bão hòa (aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-90%) thu được hợp chất tiêu đề (144mg, 82%). LCMS: R_t = 1,12 min, m/z = 830,5 (M+1) Phương pháp 2m₋ có tính axit.

Bước 7: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)cyclopropoxy)imino)-2-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (54,4mg, 0,355mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-

(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (140mg, 0,170mmol) trong DMF (848μl) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 2,5 giờ, ngay sau đó, bổ sung Thêm SO₃•DMF (27,4mg,0,170mmol). Sau khi khuấy Thêm trong 22 giờ, pha loãng dung dịch bằng EtOAc và rót vào trong dung dịch LiCl (5%, aq) lạnh. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng EtOAc (2x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu 163,1mg nguyên liệu sản phẩm thô mà được sử dụng trong bước 8 không cần tinh chế Thêm . LCMS: R_t = 1,01 phút, m/z = 910,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 8: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminomethyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic



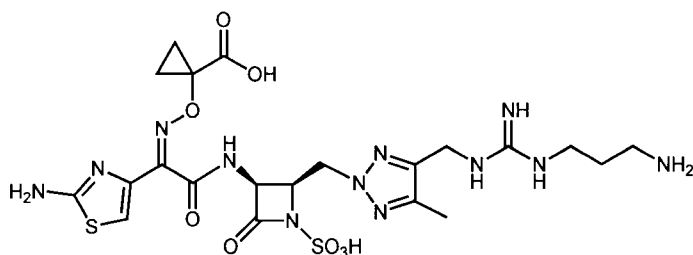
Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng (2*R*,3*S*)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic acid (155mg, 0,170mmol), DCM (1,70ml), anisol (37μl, 0,34mmol) anf TFA (0,787ml, 10,2mmol). Nguyên liệu sản phẩm thô was tinh sạch bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSELECT C18, 5μ, 30x100mm, ACN-H₂O w/axit formic 0,1% buffer, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (55mg, 57%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: R_t = 0,49 min, m/z = 544,1 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,04 (s, 1H), 5,46 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,91-4,84 (m, 1H), 4,84-4,76 (m, 1H), 4,62-4,56 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,13 (s, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,32-1,18 (m, 2H), 1,18-1,00 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 144: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)guanidino)metyl)-5-metyl-2H-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic

Bước 1: *tert*-butyl (3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metyl)carbamate. Thêm DIAD (470μl, 2,417mmol) vào dung dịch nước đá lạnh chứa *tert*-butyl (((*tert*-butoxycarbonyl)amino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metylen)carbamate (500mg, 1,611mmol), *tert*-butyl (3-hydroxypropyl)carbamate (282mg, 1,611mmol) và triphenylphosphin (634mg, 2,417mmol) hòa tan trong THF (16ml) và khuấy trong 16 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (600mg, 80%). LCMS: $R_t = 1,02$ min, $m/z = 468,4$ (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 2: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((Z)-4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-1,1,1-dimetyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-5-metyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic. Thêm DIPEA (32,7μl, 0,187mmol) vào dung dịch chứa axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(aminometyl)-5-metyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic (33,9mg, 0,062mmol) và *tert*-butyl (3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metyl)carbamate (54,2mg, 0,116mmol) trong DMF (624μl) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, cô đặc dung dịch trong chân không và được sử dụng luôn không cần tinh chế. Thêm . LCMS: $R_t = 0,75$ min, $m/z = 943,7$ (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 3: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)guanidino)metyl)-5-metyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((Z)-4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-11,11-dimethyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropanecarboxylic (58,5mg, 0,062mmol), DCM (621μl), anisol (20,4μl, 0,186mmol) và TFA (427μl, 4,5mmol). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng ice-cold nước (1ml) và phân tách các lớp. Chiết lớp hữu cơ bằng nước (1ml) và rửa các lớp chứa nước kết hợp bằng DCM (1ml) và sau đó tinh sạch bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSELECT C18, 5 μ, 30x100mm, 1-20% ACN/H₂O w/axit formic 0,1% buffer over 18 min, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (19mg, 44%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: $R_t = 0,54$ min, $m/z = 643,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,11 (s, 1H), 5,62 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,01-4,94 (m, 1H), 4,91-4,74 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 4,50 (br s, 2H), 3,36 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,11 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,01 (p, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,35-1,25 (m, 2H), 1,21-1,05 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 145: axit 1-(((Z)-1-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-(3-(3-aminopropyl)guanidino)ethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)clopropanecarboxylic

Bước 1: 1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etanol. Thêm azidotrimethylsilan (10,22ml, 75mmol) vào dung dịch chứa but-3-yn-2-ol (3,63g, 50,2mmol) trong DMF (40ml) và MeOH (10ml). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 100°C trong 16 giờ. Giảm nhiệt phản ứng và lọc qua tấm xelit. Cô đặc dịch lọc đến ~25 ml và sử dụng trực tiếp trong bước kế tiếp. LCMS: $R_t = 0,16$ min, $m/z = 113,8$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực.

Bước 2: 4-(1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol. Thêm TBDPSCl (14,6ml, 55,2mmol) vào dung dịch chứa 1-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etanol (50,2mmol) và imidazol (5,13mg, 75mmol) trong DCM (50ml) 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm, lọc hỗn hợp qua tấm xelit và sau đó cô đặc đến khô. Hàn tan phần thu được trong EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy bằng natri sulfat và cô đặc. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 5-25%) thu được hợp chất tiêu đề (8,16g, 46%) ở dạng dầu màu vàng. LCMS: $R_t = 1,09$ min, $m/z = 352,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit, ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ ppm 7,71 (d, $J = 6,5$ Hz, 2H) 7,64-7,54 (m, 3 H) 7,49-7,28 (m, 6H) 5,14 (q, $J = 6,3$ Hz, 1H) 1,46 (dd, $J = 6,3, 3,0$ Hz, 3H) 1,08 (s, 9H).

Bước 3: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm từng giọt DIAD (1,60ml, 8,26mmol) vào dung dịch chứa 4-(1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol (2,42g, 6,88mmol), benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (2,76g, 6,88mmol), và PPh_3 (2,17mg, 8,26mmol) trong THF (35ml) ở 0°C. Khuấy phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ, sau đó cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 30-60%) thu được hợp chất tiêu đề (4,32g, 85%) ở dạng chất rắn. LCMS: $R_t = 1,12$ min, $m/z = 734$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (1,57mg, 5,79mmol) và K_2HPO_4 (949mg, 5,45mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)ethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (2,50g, 3,41mmol) trong ACN/nước (2:1, 45ml) ở nhiệt độ phòng. Gia nhiệt hỗn hợp đến 90°C trong áp suất khí nitơ cùng với khuấy trong 6 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không để loại bỏ ACN. Thêm EtOAc và nước vào huyền phù đặc. Phân tách lớp hữu cơ và chiết lớp nước bằng EtOAc (2x). Kết hợp các phần hữu cơ lại, sấy bằng Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 30-60%) thu được hợp chất tiêu đề (1,35g, 68%). LCMS: $R_t = 1,18$ min, $m/z = 584,3$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-hydroxyetyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamát. Khuấy hỗn hợp chứa ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)etyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamát (1,35g, 2,31mmol) và TBAF (1M trong THF, 4,63ml, 4,63mmol) trong THF (23ml) ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Loại bỏ dung môi và tinh chế phần thu được qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (450mg, 56%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $R_t = 0,53$ min, $m/z = 346,1$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: *tert*-butyl (1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etyl)((*Z*)-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metyl)carbamát. Thêm từng giọt DIAD (0,311ml, 1,598mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(1-hydroxyetyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamát (460mg, 1,33mmol), (*E*)-*tert*-butyl (((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metyl)carbamát (455mg, 1,465mmol), và triphenylphosphin (419mg, 1,60mmol) trong THF (7ml) ở 0°C. Khuấy phản ứng ở nhiệt độ phòng qua đêm và cô đặc đến khô. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 30-60%) thu được hợp chất tiêu đề (190mg, 22%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: $R_t = 0,99$ min, $m/z = 638,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

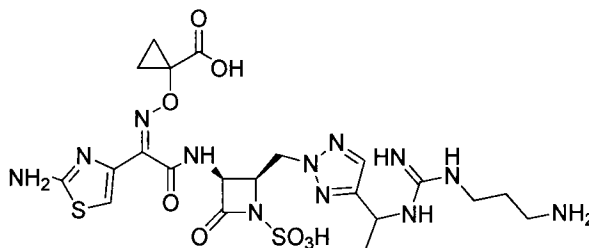
Bước 7: Khuấy hỗn hợp chứa *tert*-butyl (1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etyl)((*Z*)-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metyl)carbamát (190mg, 0,298mmol) và *tert*-butyl (3-aminopropyl)carbamát (57,1mg, 0,328mmol) trong ACN (1490μl) ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Sau đó, loại bỏ dung môi trong chân không và tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 50-80%), thu được hợp chất mong muốn (100mg, 45%). LCMS: $R_t = 0,91$ min, $m/z = 744,5$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 8: Khuấy hỗn hợp chứa sản phẩm thu được từ bước 7 (100mg, 0,134mmol) và 10% Pd-C (30mg, 0,134mmol) trong EtOH (2ml) và MeOH (1ml) dưới áp suất khí hydro trong 4 giờ. Lọc bỏ paladi qua tấm xelit và loại bỏ dung môi để thu nguyên liệu sản phẩm thô được sử dụng trong bước 9 không cần tinh chế Thêm . LCMS: $R_t = 0,68$ min, $m/z = 610,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 9: Benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((E)-3-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-12,12-dimethyl-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropylcarboxylat. Thêm HATU (61,1mg, 0,161mmol) vào dung dịch chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (76mg, 0,13mmol) và DIPEA (35,1μl, 0,201mmol) trong DCM/DMF (2:1, 1,34mL) ở 0°C. Khuấy dung dịch này ở 0°C trong 30 phút. Thêm sản phẩm thu được từ bước 8 (82mg, 0,13mmol) vào dung dịch phản ứng. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 30 phút, sau đó pha loãng bằng EtOAc(60ml), rửa bằng Na₂CO₃ chứa nước bão hòa, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 40-60%) thu được hợp chất tiêu đề (150mg, 99%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: R_t = 1,12 min, m/z = 1129,8 (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 10: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((E)-3-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-12,12-dimethyl-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic Thêm phức SO₃•DMF (203mg, 1,33mmol) vào dung dịch chứa benzhydryl 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((E)-3-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-12,12-dimethyl-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropylcarboxylat (150mg, 0,133mmol) trong DMF (1ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng nước muối lạnh, sấy bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng luôn trong bước 11.LCMS: R_t = 1,15 min, m/z = 1210,5 (M+1) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 11: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(1-(3-(3-aminopropyl)guanidino)ethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropylcarboxylic



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xcyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((*E*)-3-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-12,12-dimetyl-10-oxo-11-oxa-3,5,9-triazatridecan-2-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (0,133mmol), TFA (410μl, 5,32mmol) anisol (29μl, 0,27mmol) và DCM (1,33ml). Giảm nhiệt hỗn hợp phản ứng xuống 0°C và pha loãng bằng DCM và nước đá. Ngay sau đó, phân tách các lớp. Tinh sạch các lớp chứa nước bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSELECT, C18 5μm 30x100mm; với ACN-nước axit formic 0,1%), để thu hợp chất tiêu đề (34mg, 39%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: $R_t = 0,52$ min, $m/z = 643,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, ^1H NMR (400MHz, D_2O , được báo cáo ở dạng hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang theo tỷ lệ 1:1) δ 7,79 (s, 1H) 7,77 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 5,64 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,61 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,05-4,73 (m, 8H giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 3,39-3,32 (m, 4H), 3,13-3,05 (m, 4H), 2,00 (p, $J = 7,0$ Hz, 4H), 1,64 (d, $J = 3,6$ Hz, 3H), 1,63 (d, $J = 3,7$ Hz, 3H), 1,37-1,28 (m, 4H), 1,21-1,12 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 146: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-((S)-1-((3-aminopropyl)amino)ethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic

Bước 1: (*R*)-But-3-yn-2-yl metansulfonat. Thêm metansulfonyl clorua (1,44ml, 18,6mmol) vào dung dịch chứa *R*-(+)-3-butyn-2-ol (1000mg, 14,27mmol) và DIPEA (3,72ml, 21,4mmol) trong DCM (50ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp ở 0°C trong 2 giờ, sau đó pha loãng bằng DCM, rửa bằng HCl (0,2 N, aq), sau đó Thêm NaHCO₃ bão hòa (aq). Sấy lớp hữu cơ qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không, thu được hợp chất tiêu đề (2,093g, 99%) ở dạng dầu màu cam, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 5,28 (m, *J* = 6,7, 2,1 Hz, 1H) 3,12 (s, 3H) 2,71 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H) 1,66 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H).

Bước 2: (*S*)-*tert*-butyl (3-(but-3-yn-2-ylamino)propyl)carbamate. Thêm từng giọt dung dịch chứa (*R*)-but-3-yn-2-yl metansulfonat (2189mg, 14,77mmol) trong ACN (10ml) vào huyền phù của *tert*-butyl (3-aminopropyl)carbamate (2831mg, 16,25mmol) và kalicarbonat (2446mg, 17,72mmol) trong ACN (50ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ, ngay sau đó, lọc huyền phù đặc và cô đặc dịch lọc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-8%) để thu hợp chất tiêu đề (570mg, 17%) ở dạng dầu màu cam. LCMS: *R*_t = 0,43 min, *m/z* = 227,0 (*M*+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 3: (*S*)-*tert*-butyl but-3-yn-2-yl(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamate. Khuấy hỗn hợp chứa (*S*)-*tert*-butyl (3-(but-3-yn-2-ylamino)propyl)carbamate (570mg, 2,52mmol), di-*tert*-butyl dicarbonat (1,10g, 5,04mmol) và NaHCO₃ bão hòa (aq, 17ml) trong DCM (16,8ml) ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, ngay sau đó, phân tách hai lớp và sấy lớp hữu cơ qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (MeOH-DCM, 0-5%) thu được hợp chất tiêu đề (710mg, 86%) ở dạng dầu nhớt. LCMS: *R*_t = 0,99 min, *m/z* = 327,1 (*M*+1) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 4: (*S*)-*tert*-butyl (1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)ethyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamate. Gia nhiệt hỗn hợp chứa (*S*)-*tert*-butyl but-3-yn-2-yl(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamate (710mg, 2,18mmol), azidotrimethylsilan (452μl, 3,26mmol) và đồng (I) iotua (21mg, 0,11mmol) trong

DMF/MeOH (1:1, 3,4ml) đến 100°C trong 8 giờ. Cùng với việc giảm nhiệt, lọc hỗn hợp qua tấm xelit, và cô đặc dịch lọc trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 30-80%) để thu hợp chất tiêu đề (636mg, 79%) ở dạng dầu. LCMS: $R_t = 0,78$ min, $m/z = 370,1$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 5: Thêm từng giọt DIAD (402 μ l, 2,07mmol) vào dung dịch chứa (*S*)-*tert*-butyl (1-(1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamate (636mg, 1,72mmol), benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (689mg, 1,72mmol) và triphenylphosphine (542mg, 2,07mmol) trong THF (8,6ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ, cô đặc hỗn hợp trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 30-60%) thu được hợp chất mong muốn (970mg, 75%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 1,08$ min, $m/z = 752,1$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 6: Gia nhiệt hỗn hợp chứa sản phẩm thu được bước 5 (970mg, 1,29mmol), $K_2S_2O_8$ (611mg, 2,19mmol) và K_2HPO_4 (360mg, 2,06mmol) trong ACN/nước (2:1, 15ml) đến 90°C trong áp suất khí nitơ trong 4 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không để loại bỏ ACN. Phân bố hỗn hợp phản ứng giữa EtOAc/nước và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng EtOAc và sấy các phần hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 50-100%) thu được hợp chất mong muốn (443mg, 57%). LCMS: $R_t = 0,95$ min, $m/z = 602,4$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

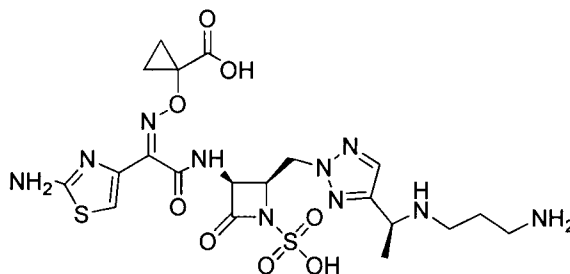
Bước 7: *tert*-butyl ((*S*)-1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamate. Khuấy hỗn hợp chứa sản phẩm thu được từ bước 6 (443mg, 0,736mmol) và 10% Pd/C (100mg) trong EtOH/MeOH (2:1, 15ml) dưới áp suất khí hydro trong 4 giờ, ngay sau đó, lọc hỗn hợp qua xelit và loại bỏ dung môi trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) được sử dụng trực tiếp không cần tinh chế Thêm . LCMS: $R_t = 0,68$ min, $m/z = 468,3$ (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 8: Benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*S*)-1-((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)etyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethylidene)amino)oxy)cyclopropanecarboxylate

Thêm HATU (308mg, 0,810mmol) vào hỗn hợp chứa axit (Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (416mg, 0,736mmol), *tert*-butyl ((*S*)-1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)etyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)carbamate (0,736mmol) và DIPEA (193μl, 1,10mmol) trong DCM/DMF (5:1, 7,3ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 0°C trong 1 giờ, pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua natri sulfat và cô đặc trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 50-90%) thu được hợp chất mong muốn (700mg, 96%) ở dạng chất rắn màu đỏ. LCMS: $R_t = 1,17$ min, $m/z = 987,7$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit. Phân tích SFC không đối xứng (SFC-X5, CO₂/EtOH=90/10, SFC=5ml/min, AD cột, $R_t = 12,28$ min) đã xác nhận nó là chất đồng phân không đối quang đơn.

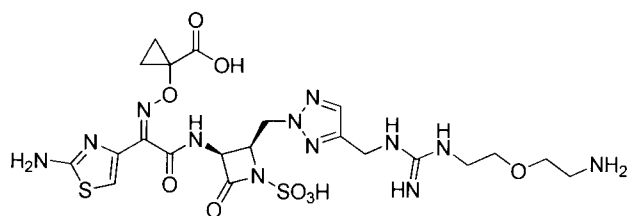
Bước 9: axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((*S*)-1-((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)etyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (760mg, 4,96mmol) vào benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*S*)-1-((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)etyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropylcarboxylat (700mg, 0,709mmol) trong DMF (3,5ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, ngay sau đó Bổ sung Thêm 3 đương lượng của SO₃•DMF và khuấy Thêm trong 2 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng LiCl (5%, aq, 2x), nước muối, sấy bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu được hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) được sử dụng luôn không cần tinh chế Thêm. LCMS: $R_t = 1,07$ min, $m/z = 1067,6$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 10: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*S*)-1-((3-aminopropyl)amino)etyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropylcarboxylic



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-((*S*)-1-((*tert*-butoxycarbonyl)(3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)amino)etyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (0,709mmol), anisol (153mg, 1,42mmol), TFA (273μl, 35,5mmol) và DCM (7,1mL). Giảm nhiệt hỗn hợp phản ứng xuống 0°C và pha loãng bằng DCM và nước đá. Sau khi khuấy mạnh phân tách hai lớp và tinh sạch lớp nước bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSELECT, C18, 5μm 30x100mm với ACN-nước với 0,1 axit formic), thu hợp chất tiêu đề (110mg, 25%) ở dạng chất rắn màu trắng. LCMS: $R_t = 0,50$ min, $m/z = 601,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit phân cực; ^1H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,87 (s, 1H) 7,04 (s, 1H) 5,61 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H) 5,04-4,97 (m, 1 H) 4,89 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H) 4,69-4,62 (m, 1H) 3,13-3,00 (m, 4H) 2,04 (t, $J = 4,0$ Hz, 2H) 1,68 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H) 1,23 (t, $J = 3,9$ Hz, 2H) 1,11-1,02 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 147: axit 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(2-(2-aminoetoxy)etyl)guanidino)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoetyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylic



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 119, sử dụng *tert*-butyl (2-(2-((imino(methylthio)metyl)amino)etoxy)etyl)carbamate. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 659,0$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (500MHz, D₂O) δ ppm 7,61 (s, 1H), 6,99 (s, 1H), 5,47 (d, $J=5,7$ Hz, 1H), 4,87 (q, $J=5,6$ Hz, 1H), 4,81-4,70 (m, 2H)

được giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 4,42 (s, 2H), 3,66-3,54 (m, 4H), 3,32 (t, $J=5,0$ Hz, 2H), 3,13-3,06 (m, 2H), 1,28-0,93 (m, 4H).

Ví dụ tham khảo 148: axit 1-(((Z)-2-(((2R,3S)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)-1-methylguanidino)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic

Bước 1: *tert*-butyl (3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl))(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)methyl)carbamate. Thêm DIAD (470μl, 2,42mmol) vào dung dịch nước-đá chứa *tert*-butyl (((*tert*-butoxycarbonyl)amino)(1*H*-pyrazol-1-yl)metylen)carbamate (500mg, 1,61mmol), *tert*-butyl (3-hydroxypropyl)carbamate (282mg, 1,611mmol) và triphenylphosphine (634mg, 2,42mmol) trong THF (16ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, ngay sau đó loại bỏ tất cả các chất bay hơi trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100%) thu được hợp chất tiêu đề (600mg, 80%). LCMS: $R_t = 1,02$ min, $m/z = 468,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Khuấy hỗn hợp của benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(hydroxymethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (360mg, 1,09mmol) và MnO_2 (2,36g, 27,2mmol) trong THF (11ml) ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, ngay sau đó, lọc hỗn hợp qua xelit và cô đặc. Nguyên liệu thu được (340mg, 95%) được sử dụng luôn trong bước 3.

Bước 3: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-((methylamino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm $MeNH_2$ (1032μl, 2,065mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-formyl-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (340mg, 1,03mmol) trong DCE (10ml). Sau khi khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng, Thêm natri triacetoxymethylborohydride (438mg, 2,07mmol) và khuấy hỗn hợp qua đêm, ngay sau đó làm ngừng phản ứng bằng $NaHCO_3$ (aq) bão hòa ở 0°C và chiết bằng EtOAc (2x). Kết hợp các dịch chiết hữu cơ, rửa bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không. Nguyên liệu sản phẩm thô thu được (định lượng giả định) được sử dụng luôn trong bước 4.

Bước 4: Gia nhiệt dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-((methylamino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (93mg, 0,27mmol), *tert*-butyl (3-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)(((*tert*-butoxycarbonyl)imino)(1*H*-pyrazol-1-yl)methyl)carbamate (152mg, 0,324mmol), DIPEA (94μl, 0,540mmol) trong ACN (1800μl) đến 90°C qua đêm. Loại bỏ tất cả các chất bay hơi trong chân không và tinh chế sản phẩm thô thu được qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) thu được sản phẩm mong muốn. LCMS: $R_t = 0,94$ min, $m/z = 744,6$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

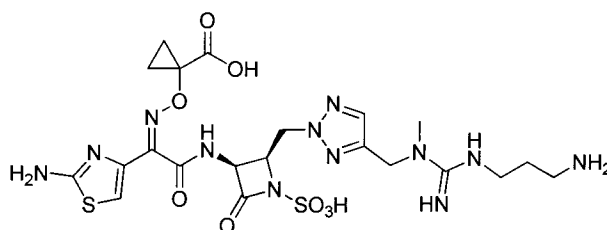
Bước 5: Khuấy hỗn hợp chứa sản phẩm từ bước 4 (46mg, 0,062mmol) và Pd trên C (10% wt, 23mg) trong EtOH/MeOH (4:1, 620μl) trong điều kiện áp suất khí hydro trong 16 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit và cô đặc và nguyên liệu thu được (định lượng giả định) được sử dụng luôn không cần tinh chế Thêm .

Bước 6: Benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-2,11,11-trimethyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat. Khuấy dung dịch chứa axit (*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (30,9mg, 0,057mmol), DIPEA (30,1μl, 0,172mmol) và HATU (26,2mg, 0,069mmol) trong DCM/DMF (1:1, 574μl) trong 20 phút, ngay sau đó, Thêm sản phẩm từ bước 5 (35mg, 0,057mmol). Khuấy hỗn hợp thu được trong khoảng thời gian bổ sung là 2 giờ, ở thời điểm này, loại bỏ các chất bay hơi trong chân không và pha loãng nguyên liệu này bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) thu được hợp chất tiêu đề. LCMS: $R_t = 1,11$ min, $m/z = 1029,9$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 7: axit ((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-2,11,11-trimethyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (43,4mg, 0,283mmol) vào dung dịch nước-đá của benzhydryl 1-(((*Z*)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-2,11,11-trimethyl-9-oxo-

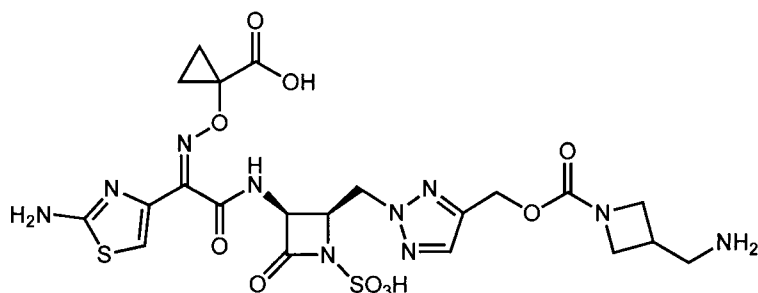
10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylat (32mg, 0,028mmol) trong DMF (283μl). Sau khi khuấy trong 2 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế Thêm .

Bước 8: axit 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((3-(3-aminopropyl)-1-methylguanidino)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic



Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng axit (2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xylopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((4-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-((*tert*-butoxycarbonyl)imino)-2,11,11-trimetyl-9-oxo-10-oxa-2,4,8-triazadodexyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic (27mg, 0,022mmol), TFA (103μl, 1,34mmol) và DCM (223μl). Tinh chế nguyên liệu sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSELECT C18, 5μ, 30x100mm, dung dịch đệm ACN/H₂O w/axit formic 0,1%), để thu hợp chất tiêu đề (1,1mg, 7%) ở dạng chất rắn màu trắng.LCMS: R_t = 0,32 min, m/z = 643,3 (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit, ¹H NMR (500MHz, D₂O) δ ppm 7,65 (s, 1H)7,00 (s, 1H) 5,48 (d, *J*=5,7 Hz, 1H) 4,89-4,83 (m, 1H)4,60-4,45 (m, 2H)3,25 (td, *J*=6,9, 3,6 Hz, 2H)2,95 (t, *J*=7,7 Hz, 2H)2,91 (s, 3H)1,98-1,74 (m, 2H)1,23-1,10 (m, 2H)1,05-1,00 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 149: axit 1-(((*Z*)-(2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-(((3-(aminometyl)azetidin-1-carbonyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropanecarboxylic.



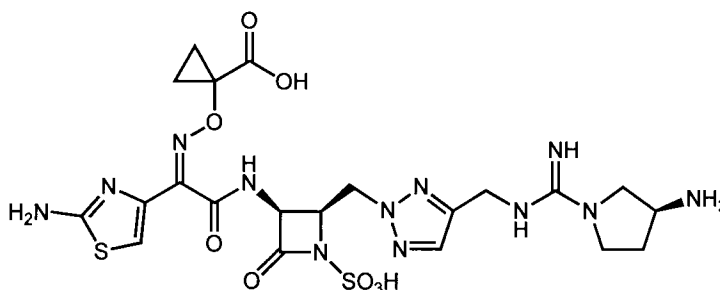
Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 126 sử dụng (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl 3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat trong bước 2. LCMS: R_t = 0,52 min, m/z = 643,2 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, 1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,83 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 5,61 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 5,25-5,16 (m, 2H), 5,08-4,97 (m, 2H), 4,93-4,86 (m, 2H được giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh dư dung môi), 4,22 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 3,89-3,77 (m, 2H), 3,32 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 3,07-2,95 (m, 1H), 1,49-1,37 (m, 2H), 1,34-1,19 (m, 2H).

Điều chế (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl 3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat. Điều chế tương tự như cách đã nêu trong ví dụ 4, bước 2 sử dụng (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl 3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat (410mg, 0,591mmol), $K_2S_2O_8$ (272mg, 1,01mmol) và K_2HPO_4 (165mg, 0,946mmol) trong ACN:nước (2:1, 7,2ml) trong khi gia nhiệt trong 5 giờ ở 90°C. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 30-90%), để thu hợp chất tiêu đề (80mg, 25%) ở dạng chất rắn. LCMS: R_t = 0,78 min, m/z = 544,2 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Điều chế (2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl 3-(((*tert*-butoxycarbonyl)amino)methyl)azetidin-1-carboxylat. Nạp benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((4-(hydroxymethyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (660mg, 1,37 mmol, thu được ở dạng sản phẩm phụ trong quá trình điều chế chất trung gian V), CDI (252mg, 1,51mmol) và DCM (11,4ml) vào ống siêu âm dung tích 20mL. Sau khi khuấy trong 2 giờ, Thêm *tert*-butyl (azetidin-3-

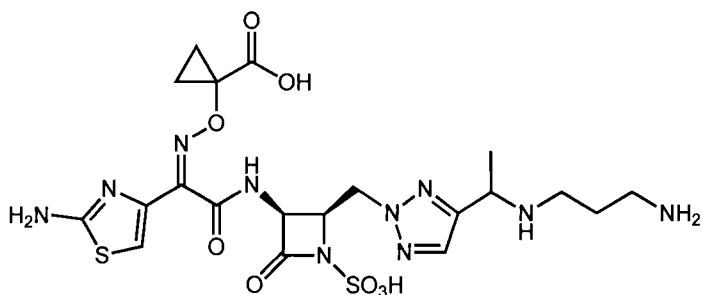
ylmethyl)carbamate (383mg, 2,06mmol) và khuấy nó trong khoảng thời gian bổ sung là 16 giờ. Cô đặc hỗn hợp trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 40-90%), để thu hợp chất tiêu đề (410mg, 43%) ở dạng chất rắn. $R_t = 0,94$ min, $m/z = 694,3$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Ví dụ tham khảo 150: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((S)-3-aminopyrrolidin-1-carboximidamido)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 127 sử dụng (*S*)-*tert*-butylpyrrolidin-3-ylcarbamate trong bước 3. $R_t = 0,25$ min, $m/z = 641,4$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,55-10,15 (m, 1H), 8,06-7,78 (m, 1H), 7,66 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 7,59 (br s, 2H), 7,20 (s, 2H), 6,74 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 5,23 (ddd, $J = 14,6, 8,8, 5,5$ Hz, 1H), 4,90 (dt, $J = 13,8, 3,7$ Hz, 1H), 4,71-4,60 (m, 1H), 4,59-4,35 (m, 3H), 3,90 (br s, 1H), 3,70-3,38 (m, 3H giả thiết; chồng chéo lên đỉnh của nước), 2,30-2,15 (m, 1H), 2,09-1,98 (m, 1H), 1,30-1,13 (m, 2H), 1,13-0,98 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 151: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(1-((3-aminopropyl)amino)ethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 146 sử dụng 3-bromobut-1-yn trong bước 2. LCMS: $R_t = 0,50$ min, $m/z = 601,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, ^1H NMR (400MHz, D_2O , được báo cáo là hỗn hợp chất đồng phân không đối quang tỷ lệ 1,3:1) δ 7,94 (s, 0,75H), 7,90 (s, 1H), 5,69 (d, $J = 5,6$ Hz, 0,75H), 5,64 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,08 (q, $J = 5,5$ Hz, 1,8H), 4,97 (q, $J = 9,3, 7,7$ Hz, 3,9H), 4,76-4,68 (m, 1,7H giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư), 3,24-3,02 (m, 7,5H), 2,21-2,02 (m, 3,8H), 1,76 (d, $J = 7,0$ Hz, 2,35H), 1,73 (d, $J = 6,9$ Hz, 3,1H), 1,41-1,21 (m, 4,9H), 1,20-1,08 (m, 2,5H).

Ví dụ tham khảo 152: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-(((4-(((2-aminoethyl)sulfonyl)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.

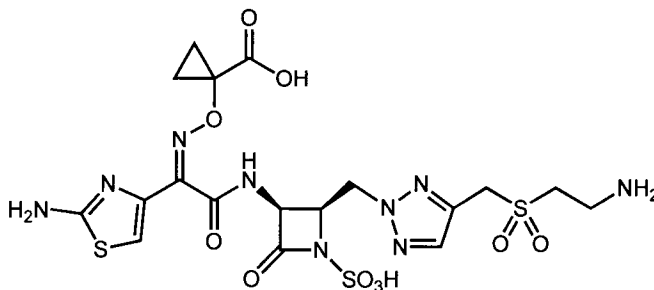
Bước 1: (2-(((2R,3S)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-2H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl metansulfonat. Thêm TEA (84 μl , 0,60mmol), sau đó thêm metansulfonyl clorua (28,2 μl , 0,362mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2R,3S)-2-((4-(hydroxymethyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (100mg, 0,302mmol, thu được trong quá trình điều chế chất trung gian V) trong DCM (3,0ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, pha loãng dung dịch bằng DCM, rửa bằng NaHCO_3 bão hòa (aq), nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô thu được được sử dụng không cần tinh chế Thêm. LCMS: $R_t = 0,66$ min, $m/z = 410,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 2: Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 138, bước 1 sử dụng sản phẩm từ bước 1 (525mg, 1,28mmol), *tert*-butyl (2-mercaptoethyl)carbamate (273mg, 1,53mmol), natri iotua (192mg, 1,28mmol) và cesium carbonat (836mg, 2,56mmol) trong DMF (12,8ml). Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để

thu sản phẩm (190mg, 30%). LCMS: $R_t = 0,80$ min, $m/z = 491,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

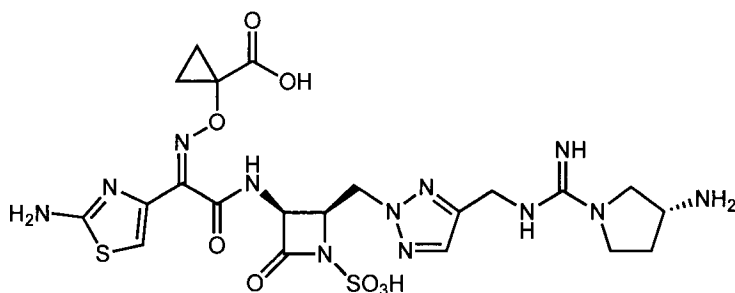
Bước 3: Thêm *m*-CPBA (147mg, 0,852mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm này (190mg, 0,387mmol) từ bước 2 trong DCM (3,9ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ, phân bố nó giữa nước/DCM. Chiết lớp nước bằng DCM và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan), để thu sản phẩm (148mg, 73%). LCMS: $R_t = 0,72$ min, $m/z = 523,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((2-aminoethyl)sulfonyl)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 4, các bước 3-6. LCMS: $R_t = 0,31$ min, $m/z = 622,1$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (500MHz, D_2O) δ 7,90 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 5,59 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 5,03 (q, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,91 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 4,78 (s, 2H được giả thiết; bị che khuất bởi đỉnh của dung môi dư), 3,63-3,58 (m, 2H), 3,54-3,50 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 2H), 1,24 (t, $J = 3,2$ Hz, 2H).

Ví dụ tham khảo 153: axit 1-(((Z)-(2-(((2R,3S)-2-((4-(((R)-3-aminopyrrolidin-1-carboximidamido)methyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.



Điều chế theo phương thức tương tự với ví dụ 127 sử dụng (*R*)-*tert*-butylpyrrolidin-3-ylcarbamate trong bước 3. $R_t = 0,30$ min, $m/z = 641,4$ ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,51-9,87 (m, 1H), 8,07-7,75 (m, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,59 (br s, 2H), 7,20 (s, 2H), 6,73 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,22 (ddd, $J = 15,1, 8,8, 5,4$ Hz, 1H), 4,94-4,85 (m, 1H), 4,70-4,59 (m, 1H), 4,59-4,36 (m, 3H), 3,97-3,83 (m, 1H), 3,70-3,38 (m, 3H giả thiết; chồng chéo lên đỉnh của nước), 2,29-2,17 (m, 1H), 2,08-1,98 (m, 1H), 1,27-1,15 (m, 2H), 1,13-1,01 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 154: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((5,6-dihydropyrrolo[3,4-*d*][1,2,3]triazol-2 (4H)-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)cyclopropanecarboxylic.

Bước 1: *tert*-butyl((4-clobut-2-yn-1-yl)oxy)diphenylsilan. Thêm 4-clobut-2-yn-1-ol (824 μ l, 9,18mmol) vào dung dịch chứa imidazol (691mg, 10,2mmol) và *tert*-butylclodiphenylsilan (2,65ml, 10,1mmol) trong DCM (15,3ml) ở 0°C. Sau 2 giờ khuấy ở nhiệt độ phòng, pha loãng nó bằng DCM/nước và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Hòa tan sản phẩm thô thu được trong dioxan và tái cô đặc (2x) sau đó được sử dụng trực tiếp không cần tinh chế Thêm .

Bước 2: 5-(azidomethyl)-4-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol. Thêm amoniclorua (982mg, 18,4mmol), sau đó thêm natri azit (2,39g, 36,8mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl((4-clobut-2-yn-1-yl)oxy)diphenylsilan (3,15g, 9,18mmol) trong dioxan/nước (46ml, 3:1). Gia nhiệt dung dịch hai pha này đến 75°C trong 33 giờ, ngay sau đó phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng EtOAc (3 x 20ml). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-35%)

để thu hợp chất tiêu đề (1,692g, 47%) ở dạng chất rắn màu trắng. $R_t = 1,11$ min, $m/z = 393,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 11,54 (s, 1H), 7,71-7,63 (m, 4H), 7,49-7,36 (m, 6H), 4,87 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 1,58 (s, 2H), 1,07 (s, 9H).

Bước 3: *tert*-butyl ((4-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)carbamate. Nạp 5-(azidomethyl)-4-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol (1,044g, 2,420mmol), Boc-anhydrit (581mg, 2,66mmol) và Pd-C (5%, 200mg) vào bình phản ứng. Sau khi sục khí N_2 vào hệ thống, Thêm EtOH (24,2ml). Sau đó, hỗn hợp này được xả khí và tái nạp khí H_2 (3x). Sau khi khuấy mạnh trong 17 giờ, xả khí N_2 khỏi hệ thống và lọc huyền phù đặc qua xelit và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-50%) để thu hợp chất tiêu đề (777mg, 69%) ở dạng chất rắn màu trắng. $R_t = 1,12$ min, $m/z = 467,1$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit. ^1H NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7,71-7,64 (m, 4H), 7,49-7,36 (m, 6H), 4,87 (s, 2H), 4,40 (br s, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,08 (s, 9H).

Bước 4: Thêm từng giọt DIAD (414 μl , 1,10mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-(hydroxymethyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (674mg, 1,68mmol), *tert*-butyl ((4-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-1*H*-1,2,3-triazol-5-yl)methyl)carbamate (777mg, 1,67mmol) và triphenylphosphin (525mg, 2,00mmol) trong THF (16,7ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 11 giờ, cô đặc hỗn hợp trên silicagel và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-50%) để thu sản phẩm (1,196g, 85%) ở dạng chất rắn màu trắng. $R_t = 1,31$ min, $m/z = 849,4$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 5: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminomethyl)-5-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm TFA (721 μl , 9,36mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm từ bước 4 (265mg, 0,312mmol) trong DCM (3,1ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở 0°C trong 3 giờ, pha loãng nó bằng DCE và cô đặc trong chân không. Tái hòa tan phần thu được trong DCM và rửa bằng NaHCO_3 bão hòa (aq). Chiết lớp nước bằng DCM (3x) và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô thu được được sử dụng luôn không cần tinh chế Thêm. $R_t = 1,03$ min, $m/z = 749,4$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 6: Benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-5-((2-nitrophenylsulfonamido)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm 2-nitrobenzen-1-sulfonyl clorua (77,2mg, 0,338mmol), sau đó Thêm TEA (87μl, 0,62mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(aminomethyl)-5-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (234mg, 0,312mmol) trong DCM (3,1ml) ở 0°C. Sau khi khuấy 2,2 giờ ở nhiệt độ phòng, pha loãng nó bằng DCM và rửa bằng KHSO₄ (2%, aq). Chiết lớp nước bằng DCM (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-60%), để thu hợp chất tiêu đề (252mg, 87%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. *R*_t = 1,24 min, *m/z* = 934,4 (*M*+1) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 7: Benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((4-(hydroxymethyl)-5-((2-nitrophenylsulfonamido)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm TBAF (1.0 M trong THF, 270μl, 0,270mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-2-((4-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-5-((2-nitrophenylsulfonamido)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (252mg, 0,270mmol) trong THF (2,8ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 2,6 giờ, pha loãng dung dịch bằng EtOAc và cô đặc một phần trong chân không. Bổ sung Thêm EtOAc cùng với KHSO₄ (2%, aq) và nước. Phân tách các lớp và chiết lớp nước bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100%), để thu hợp chất tiêu đề (165mg, 88%) ở dạng chất rắn màu trắng. *R*_t = 0,83 min, *m/z* = 696,3 (*M*+1) Phương pháp 2m_c có tính axit.

Bước 8: Benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((5-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-5,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-2 (4*H*)-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate. Thêm từng giọt DIAD (72μL, 0,35mmol) vào dung dịch chứa benzyl ((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((4-(hydroxymethyl)-5-((2-nitrophenylsulfonamido)methyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (165mg, 0,237mmol), và triphenylphosphin (91,6mg, 0,349mmol) trong THF (11,9ml) ở 0°C. Sau 3 giờ, bổ sung Thêm triphenylphosphin (46,4mg, 0,177mmol), ngay sau đó, nó được giảm nhiệt xuống 0°C, sau đó Thêm

lượng bổ sung của DIAD (37 μ l, 0,18mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ, cô đặc nó trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (318mg), bị tạp nhiễm bởi triphenylphosphinoxit. R_t = 0,93 min, m/z = 678,3 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit.

Bước 9: *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat. Thêm thiophenol (23,8 μ l, 0,231mmol) vào huyền phù đặc của benzyl (((2*R*,3*S*)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-2-((5-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-5,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-2 (4*H*)-yl)methyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbamate (241mg, ~50%/wt, ~0,178mmol) và kalicarbonat (77,4mg, 0,560mmol) trong DMF (3,0ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, Thêm Boc-anhydrit (78mg, 0,36mmol). Sau khi khuấy Thêm trong 2 giờ, pha loãng huyền phù đặc bằng EtOAc và rửa bằng NaHCO₃ bão hòa (aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Kết hợp phần thu được với phần thu được từ hai mẻ chuyển dạng tương tự (quy mô 15mg và 20mg) và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100%) để thu hợp chất tiêu đề (85,5mg, 81% kết hợp). R_t = 0,96 min, m/z = 593,2 (M+1) Phương pháp 2m_ có tính axit, 1H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,21 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,40-7,27 (m, 5H), 6,92 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 5,04 (s, 2H), 5,00 (dd, J = 9,6, 5,1 Hz, 1H), 4,65 (dd, J = 14,0, 7,1 Hz, 1H), 4,56 (dd, J = 4,1, 6,2 Hz, 1H), 4,38-4,24 (m, 5H), 4,12 (q, J = 6,2 Hz, 1H), 3,86 (d, J = 15,1 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 1,46 (s, 9H).

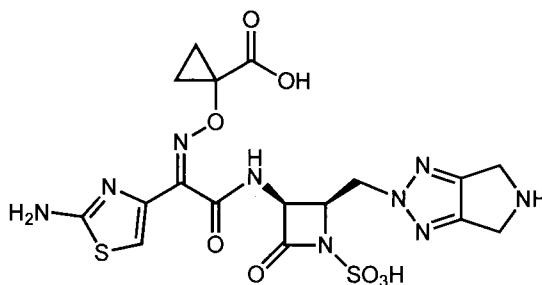
Bước 10: *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat. Tạo huyền phù đặc *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat (85,5mg, 0,144mmol), kali peroxydisulfat (51,8mg, 0,186mmol) và kaliphosphat, dibazơ (57mg, 0,33mmol) trong ACN/nước (2ml, 2:1) trong 5 phút, sau đó gia nhiệt đến 90°C trong 1,5 giờ. Bổ sung thêm kali peroxydisulfat (13,9mg, 0,050mmol) và gia nhiệt Thêm trong 1 giờ. Bổ sung Thêm kali peroxydisulfat (12,1mg, 0,043mmol) và gia nhiệt Thêm trong 1 giờ, ngay sau đó cô đặc một phần huyền phù đặc trong chân không, sau đó phân bố giữa NaHCO₃ bão hòa (aq) và EtOAc. Sau khi phân tách các

lớp, chiết lớp nước bằng EtOAc (3x). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan, 0-100%) thu được sản phẩm bị tạp nhiễm (33mg), tái tinh sạch bằng HPLC pha đảo (XSELECT CSH, C18, 5 μ , 30x100mm, dung dịch đệm ACN/H₂O với axit formic 0,1%, 60ml/phút). Thu được hợp chất tiêu đề (12,1mg, 19%) ở dạng chất rắn màu trắng. R_t = 0,78 min, m/z = 433,2 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit, ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,40 (s, 1H), 8,17 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 7,42-7,26 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 5,04-4,99 (m, 1H), 4,58 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 4,40 (d, J = 4,7 Hz, 4H), 4,22 (q, J = 6,5 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

Bước 11: *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat. Tạo huyền phù đặc *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat (11,8mg, 0,027mmol) và Pd-C (5%, 2,3mg) trong MeOH/EtOH (740 μ l, 1,7:1) trong áp suất khí N₂, ngay sau đó, xả khí và nạp đầy lại hệ thống này bằng H₂ (3x). Sau khi khuấy mạnh trong 1,7 giờ, xả khí N₂ khỏi hệ thống và lọc chất rắn qua ống trụ lọc 0,45 μ . Cô đặc dịch lọc trong chân không và được sử dụng luôn không cần tinh chế Thêm .

Bước 12: *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-((*Z*)-2-((1- ((benzhydryloxy)carbonyl)-xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat. Thêm DIPEA (9,5 μ l, 0,054mmol) vào huyền phù được được giảm nhiệt (0°C) của axit (*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)-imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axit axetic (15,3mg, 0,028mmol), *tert*-butyl 2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)methyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-*d*][1,2,3]triazol-5 (2*H*)-carboxylat (8,3mg, 0,027mmol) và HATU (11,4mg, 0,029mmol) trong DMF (500 μ l). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, pha loãng nó bằng EtOAc và rửa bằng LiCl (5%, aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (3x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (18,1mg, 81%) ở dạng chất rắn màu trắng. R_t = 1,08 min, m/z = 828,5 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 13: axit (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(tert-butoxycarbonyl)-5,6-dihydropyrido[3,4-d][1,2,3]triazol-2 (4H)-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic. Thêm SO₃•DMF (12,3mg, 0,078mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 2-(((2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-4,6-dihydropyrido[3,4-d][1,2,3]triazol-5 (2H)-carboxylat (18,1mg, 0,022mmol) trong DMF (300μl) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, giảm nhiệt dung dịch xuống 0°C và bổ sung Thêm SO₃•DMF (22,2mg, 0,141mmol). Sau 4 giờ tiếp theo ở nhiệt độ phòng, pha loãng nó bằng EtOAc và rửa bằng LiCl (5% aq). Chiết lớp nước bằng EtOAc (2x) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Nó được sử dụng luôn (định lượng giả định) không cần tinh chế Thêm . R_t = 0,96 min, m/z = 908,4 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.



Bước 14: axit 1-(((Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((5,6-dihydropyrido[3,4-d][1,2,3]triazol-2 (4H)-yl)metyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xypropancarboxylic. Theo quy trình chung để loại bỏ bảo vệ do trung gian axit sử dụng (2R,3S)-3-((Z)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-((5-(tert-butoxycarbonyl)-5,6-dihydropyrido[3,4-d][1,2,3]triazol-2 (4H)-yl)metyl)-4-oxoazetidin-1-sulfonic acid (20mg, 0,022mmol), anisol (5μl, 0,046mmol), DCM (300μL) và TFA (51μL, 0,66mmol). Tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC thu sản phẩm pha đảo (XSELECT CSH, 30x100mm, 5μm, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất tiêu đề (7,3mg, 60%) ở dạng bột màu trắng. LCMS: R_t = 0,37 min, m/z = 542,1 (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực; ¹H NMR (500MHz, D₂O) δ 7,18 (s, 1H), 5,51 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 5,01-4,92 (m,

2H), 4,87 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,61-4,35 (m, 4H), 1,42-1,32 (m, 2H), 1,32-1,23 (m, 2H).

Ví dụ tham khảo 155: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((S)-1,3-diaminopropyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropyl)carboxylic

Ví dụ tham khảo 156: axit 1-(((Z)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2R,3S)-2-((4-((R)-1,3-diaminopropyl)-2H-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xylopropyl)carboxylic

Bước 1: (*S*)-*tert*-butyl (1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4-oxobutan-2-yl)carbamate Thêm huyền phù đặc của DMSO (7,20ml, 101mmol) và phức sulfurtrioxipyridin (16,14g, 101mmol) trong DCM (50ml) vào dung dịch chứa (*S*)-*tert*-butyl (1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4-hydroxybutan-2-yl)carbamate (được điều chế theo quy trình được mô tả trong WO2013124826 A1 sử dụng axit L-aspartic) (15,0g, 33,8mmol) và DIPEA (29,5ml, 169mmol) trong DCM (50ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1,5 giờ, pha loãng hỗn hợp này bằng NaHCO₃ bão hòa(aq) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM và sấy các phần hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (16,9g, định lượng giả định) ở dạng dầu màu nâu nhạt. Nó được sử dụng luôn không cần tinh chế Thêm . LCMS: $R_t = 1,20$ min, $m/z = 442,2$ (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 2: (*S*)-*tert*-butyl (4-(benzylamino)-1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)butan-2-yl)carbamate. Thêm lần lượt benzylamin (3,69ml, 33,8mmol) và natri triaxetoxyhydroborat (8,60g, 40,6mmol) vào (*S*)-*tert*-butyl (1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-4-oxobutan-2-yl)carbamate (14,93g, 33,8mmol) trong DCE (100ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ, làm ngừng nó bằng cách Thêm NaHCO₃ bão hòa (aq, 300mL) và khuấy Thêm trong 30 phút. Phân tách các pha và chiết pha chứa nước bằng EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế nguyên liệu sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (8g, 44%). LCMS: $R_t = 1,08$ min, $m/z = 533,2$ (M+1) Phương pháp 2m_{có} tính axit.

Bước 3: (*S*)-*tert*-butyl (4-amino-1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)butan-2-yl)carbamat. Thêm amoniformat (9,47g, 150mmol) và PD (OH)₂ (1,054g, 1,502mmol) vào (*S*)-*tert*-butyl (4-(benzylamino)-1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)butan-2-yl)carbamat (8,0g, 15,0mmol) trong MeOH (100ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70°C trong 1,5 giờ sau đó làm mát đến nhiệt độ phòng và lọc qua xelit, chiết bằng MeOH/EtOAc (1:2, ~800ml). Cô đặc dịch lọc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (7g) có dạng cặn màu nâu nhạt mà được sử dụng luôn không cần tinh chế. Thêm . LCMS: $R_t = 0,95$ min, $m/z = 443,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit.

Bước 4: (*S*)-di-*tert*-butyl (4-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)butan-1,3-diyl)dicarbamat. Thêm lần lượt NaHCO₃ bão hòa (aq, 50ml) và di-*tert*-butyl dicarbonat (5,24g, 24,03mmol), vào (*S*)-*tert*-butyl (4-amino-1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)butan-2-yl)carbamat (6,65g, 15,02mmol) trong DCM (75ml). Sau khi khuấy trong 16 giờ. Phân tách các lớp và rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (6,25g, 77%). LCMS: $R_t = 1,31$ min, $m/z = 543,2$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 7,70-7,58 (m, 4H) 7,49-7,34 (m, 6H) 5,29-5,12 (m, 1H) 4,83-4,56 (m, 1H) 3,72 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H) 3,63-3,51 (m, 1H) 3,48-3,27 (m, 1H) 3,04-2,73 (m, 1H) 1,58 (d, $J = 4,9$ Hz, 2H) 1,44 (s, 9H) 1,43, (s, 9H), 1,06 (s, 9H).

Bước 5: (*S*)-di-*tert*-butyl (4-hydroxybutan-1,3-diyl)dicarbamat. Thêm natri hydroxit (1,38g, 34,5mmol) trong nước (20,0ml) vào dung dịch chứa (*S*)-di-*tert*-butyl (4-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)butan-1,3-diyl)dicarbamat (6,25g, 11,51mmol) trong MeOH (100ml). Gia nhiệt hỗn hợp đến 70°C trong 18 giờ, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng và cô đặc một phần trong chân không. Sau đó Thêm DCM và giảm nhiệt hỗn hợp xuống 0°C, ngay sau đó, Thêm axit axetic (2,31ml, 40,3mmol). Sau đó phân tách lớp hữu cơ, rửa bằng NaHCO₃ bão hòa (aq) và nước muối. Chiết các phần chứa nước kết hợp bằng DCM và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (1,67g, 48%). LCMS: $R_t = 0,67$ min, $m/z = 305,1$ (M+1) Phương pháp 2m_có tính axit, ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ ppm 5,06 (br s, 1H) 4,83 (br s, 1H) 3,82-3,64 (m, 2H) 3,61 (dd, $J = 10,3, 4,9$ Hz, 1H) 3,43-3,25 (m, 1H) 3,11-2,93 (m, 1H) 2,18 (br s, 1H) 1,79-1,65 (m, 1H) 1,64-1,58 (m, 1H) 1,51-1,36 (m, 18H).

Bước 6: (*S*)-di-*tert*-butyl (4-oxobutan-1,3-diyl)dicarbamat. Thêm huyền phù đặc của DMSO (1,061ml, 13,72mmol) và phức sulfur trioxitpyridin (2,183g, 13,72mmol) trong DCM (20ml) vào dung dịch chứa (*S*)-di-*tert*-butyl (4-oxobutan-1,3-diyl)dicarbamat (1,67g, 5,49mmol) và DIPEA (3,83ml, 21,95mmol) trong DCM (20ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, pha loãng hỗn hợp này bằng NaHCO₃bão hòa(aq) và phân tách các lớp. Chiết lớp nước bằng DCM và sấy rửa các lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (1,47g, 89%). LCMS: R_t = 0,70 min, m/z = 325,0 (M+Na) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 7: (*S*)-di-*tert*-butyl pent-4-yn-1,3-diyl dicarbamat. Thêm lần lượt kalicarbonat (1,680g, 12,15mmol) và dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (1,40ml, 7,29mmol), vào dung dịch chứa (*S*)-di-*tert*-butyl (4-oxobutan-1,3-diyl)dicarbamat (1,47g, 4,86mmol) trong MeOH (30ml). Sau khi khuấy trong 15 giờ, pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Tinh chế nguyên liệu sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (0,943g, 65%). LCMS: R_t = 0,81 min, m/z = 321,1 (M+Na) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 8: (*S*)-di-*tert*-butyl (1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)propan-1,3-diyl)dicarbamat. Thêm azidotrimetylsilan (330μl, 2,38mmol) và đồng iotua (15mg, 0,079mmol) vào dung dịch chứa (*S*)-di-*tert*-butyl pent-4-yn-1,3-diyl dicarbamat trong DMF/MeOH (3,7ml, 1,2:1). Gia nhiệt hỗn hợp ở 100°C trong 16 giờ, giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng, sau đó lọc qua xelit. Cô đặc dịch lọc trong chân không và tinh chế sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc -Heptan) để thu hợp chất tiêu đề. LCMS: R_t = 0,68 min, m/z = 342,1 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 9: Thêm từng giọt DIAD (0,582ml, 2,99mmol) vào dung dịch chứa (*S*)-di-*tert*-butyl (1-(2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)propan-1,3-diyl)dicarbamat (852mg, 2,50mmol), benzyl ((2*S*,3*S*)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-2-(hydroxymetyl)-4-oxoazetidin-3-yl)carbammat (1,05g, 2,62mmol) và PPh₃ (785mg, 2,99mmol) trong THF (13ml) ở 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong 7 giờ, cô đặc nó trong chân không và tinh chế qua sắc ký silicagel (EtOAc -Heptan) để thu sản phẩm (1,24g, 68%). LCMS: R_t = 1,01 phút, m/z = 724,5 (M+1) Phương pháp 2m_{có tính axit}.

Bước 10: Thêm lần lượt $K_2S_2O_8$ (621mg, 2,227mmol) và dung dịch chứa K_2HPO_4 (477mg, 2,74mmol) trong nước (10ml), vào sản phẩm của bước 9 (1,240g, 1,713mmol) trong axetonitril (20ml). Sau khi gia nhiệt ở $90^\circ C$ cùng với khuấy mạnh trong 1 giờ, bổ sung thêm $K_2S_2O_8$ (185mg, 0,685mmol) cùng với K_3PO_4 (363mg, 1,71mmol). Gia nhiệt hỗn hợp đến $90^\circ C$ trong 5 giờ, sau đó giảm nhiệt xuống nhiệt độ phòng và pha loãng bằng EtOAc (120ml). Phân tách các lớp và rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế nguyên liệu sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu sản phẩm (590mg, 60%). LCMS: $R_t = 0,85$ min, $m/z = 574,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

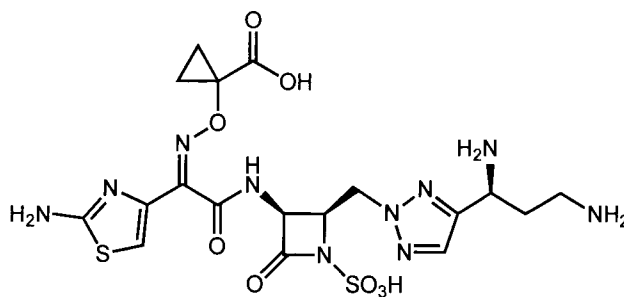
Bước 11: Di-*tert*-butyl ((*S*)-1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)propan-1,3-diyl)dicarbamat. Tạo huyền phù đặc sản phẩm của bước 10 (590mg, 1,03mmol) và Pd-C (10% 200mg) trong EtOH/MeOH (21ml, 2:1), ngay sau đó hệ thống này được xả khí và tái nạp khí H_2 (3x). Sau 4 giờ khuấy mạnh, lọc hỗn hợp qua xelit, rửa bằng EtOH/DCM. Cô đặc dịch lọc trong chân không, để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt được sử dụng luôn không cần tinh chế thêm. LCMS: $R_t = 0,61$ min, $m/z = 440,2$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 12: Benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((*S*)-2,2,12,12-tetrametyl-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)azetidin-3-yl)amino)etyliden)amino)oxy)xyclopropanecarboxylat. Khuấy hỗn hợp chứa axit (*Z*)-2-(((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetic (582mg, 1,028mmol), DIPEA (0,269ml, 1,543mmol) và HATU (430mg, 1,131mmol) trong DCM/DMF (12ml, 5:1) ở $0^\circ C$ trong 30 phút. Thêm di-*tert*-butyl ((*S*)-1-(2-(((2*R*,3*S*)-3-amino-4-oxoazetidin-2-yl)metyl)-2*H*-1,2,3-triazol-4-yl)propan-1,3-diyl)dicarbamat (1,03mmol) vào hỗn hợp này. Sau khi khuấy Thêm trong 30 phút ở $0^\circ C$, pha loãng nó bằng EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Tinh chế nguyên liệu sản phẩm thô qua sắc ký silicagel (EtOAc-Heptan) để thu hợp chất tiêu đề (760mg, 77%). LCMS: $R_t = 1,12$ min, $m/z = 959,6$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

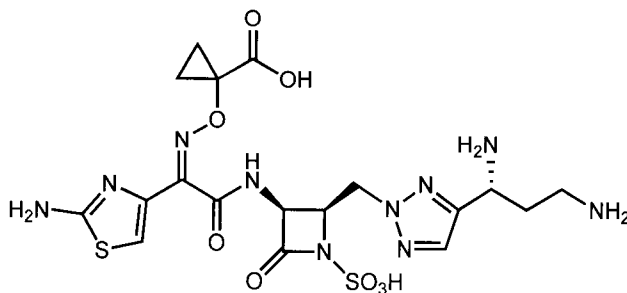
Bước 13: axit (3*S*,4*R*)-3-(((*Z*)-2-(((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xyclopropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-

butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((4-((*S*)-2,2,12,12-tetramethyl-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)azetidin-1-sulfonic. Thêm $\text{SO}_3 \cdot \text{DMF}$ (850mg, 5,55mmol) vào benzhydryl 1-(((*Z*)-(1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)-2-oxo-2-(((3*S*,4*R*)-2-oxo-4-((4-((*S*)-2,2,12,12-tetramethyl-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)azetidin-3-yl)amino)ethyliden)amino)oxy)xy)propyl)carboxylat (760mg, 0,792mmol) trong DMF (4ml) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng, pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng LiCl (5% aq), nước muối, sấy qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu hợp chất tiêu đề (định lượng giả định) ở dạng dầu màu cam được sử dụng trực tiếp không cần tinh chế Thêm . LCMS: $R_t = 1,01$ phút, $m/z = 1039,6$ ($M+1$) Phương pháp 2m₂ có tính axit.

Bước 14. Hợp chất 1: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*S*)-1,3-diaminopropyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)propyl)carboxylic.



Bước 14. Hợp chất 2: axit 1-(((*Z*)-(1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(((2*R*,3*S*)-2-((4-((*R*)-1,3-diaminopropyl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)methyl)-4-oxo-1-sulfoazetidin-3-yl)amino)-2-oxoethyliden)amino)oxy)xy)propyl)carboxylic.



Thêm anisol (173 μ l, 1,58mmol) vào (3*S*,4*R*)-3-((*Z*)-2-((1-((benzhydryloxy)carbonyl)xypropoxy)imino)-2-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)thiazol-4-yl)axetamido)-2-oxo-4-((4-((*S*)-2,2,12,12-tetrametyl-4,10-dioxo-3,11-dioxa-5,9-diazatridecan-6-yl)-2*H*-1,2,3-triazol-2-yl)metyl)azetidin-1-sulfonic acid (5,55mmol) trong axit formic (4ml) ở 0°C. Gia nhiệt dung dịch ở 40°C trong 2 giờ, ngay sau đó giảm nhiệt độ xuống nhiệt độ phòng và cô đặc trong chân không. Thêm DCM (15ml) sau đó nước đá (12ml) vào phần thu được và khuấy mạnh trong 1 giờ. Phân tách các lớp và tinh chế trực tiếp lớp nước bằng HPLC pha đảo (XSELECT CSH, 30 x 100mm, 5 μ m, cột C18; với chất điều biến axit formic 0,1% ACN- nước, 60ml/phút), để thu hợp chất 1 (170mg, 37%) và hợp chất 2 (21mg, 5%) ở dạng chất rắn màu trắng. Hợp chất 2 được cho là phát sinh từ việc epime hóa tâm lập thể này trong suốt bước 7. 1-LCMS: R_t = 0,31 min, m/z = 573,3 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, 1H NMR (400MHz, D_2O) δ ppm 7,86 (s, 1H) 7,07 (s, 1H) 5,60 (d, J = 5,6 Hz, 1H) 5,03-4,82 (m, 4H giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư) 3,12-2,85 (m, 2H) 2,54-2,34 (m, 2H) 1,28-1,08 (m, 4H). 2-LCMS: R_t = 0,30 min, m/z = 573,3 ($M+1$) Phương pháp 2m_có tính axit_phân cực, 1H NMR (400MHz, D_2O) δ ppm 7,86 (s, 1H) 7,07 (s, 1H) 5,58 (d, J = 5,5 Hz, 1H) 5,07-4,85 (m, 4H giả thiết; bị che khuất một phần bởi đỉnh của dung môi dư) 3,12-2,84 (m, 2H) 2,53-2,34 (m, 2H) 1,30-1,03 (m, 4H).

Sàng lọc và nuôi cấy vi khuẩn

Nuôi cấy các dòng vi khuẩn phân lập được từ -70°C được giữ đông lạnh bằng hai đoạn qua đêm liên tục ở 35°C trong môi trường không khí xung quanh trên thạch máu 5% (Remel, Lenexa, Kans.). Kiểm soát số lượng và *P. aeruginosa* ATCC 27853) từ American Type Culture Collection (ATCC; Rockville, Md.) và PAO1 thu được từ Dr. K. Poole.

Cấu trúc của chủng đẳng gen của *Escherichia coli* NB27273-CDY0026 (parent), NB27273-CDY0033 (KPC2) và NB27273-CDY0030 (SHV12)

Chủng NB27273 (BW25113 *pspB*::Km^r) thu được từ việc chọn lọc chèn transposon Keio. Chủng này có gen *pspB* được thay thế bằng dấu chuẩn chống chịu kanamycin (BW25113 *pspB*::Km^r). Chủng này được nối liền nhờ transposon trong

pspB qua FLP recombinaza sử dụng hệ phương pháp đã được công bố. Chúng thu được, BW25113 *pspB*, được sử dụng làm vật chủ của các vector đa bản biểu hiện β -lactamaza chủ yếu. Các plasmid đa bản sao điều hướng sự biểu hiện ứng động của các β -lactamaza được thiết lập như sau: Các gen tổng hợp được tối ưu hóa codon mã hóa các β -lactamaza KPC2 và SHV12 của *E. coli* được tạo ra bằng ADN 2.0 (Palo Alto, CA). Mỗi phân đoạn trong số các phân đoạn tổng hợp được thiết kế để chứa các vị trí cắt giới hạn của NotI và NcoI ở phía đầu của chúng, cho phép nối vào vector biến thể pET28a(+) được phân cắt bằng NotI/NcoI để biểu hiện protein. Các đoạn chèn trong các vector này có vai trò là ADN khuôn để khuếch đại PCR của gen mã hóa KPC2 và SHV12, sử dụng các cặp môi tương ứng là E225 (tcgcCTCGAGgcgactgcgctgacgaatttgg) (SEQ ID NO:1) và E202 (aatcGAATTCttactgaccattaacgccaage) (SEQ ID NO:2) và E227 (tcgcCTCGAGgcgagccccgaaccgctgga) (SEQ ID NO:3) và E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgetcaate) (SEQ ID NO:4). Các trình tự nucleotit được tối ưu hóa codon và thông tin công nhận đoạn môi liên quan được biểu thị dưới đây:

SHV12

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCC
GCGAGCCCGCAACCGCTGGAGCAGATCAAGCAGTCTGAGAGCCAGCTGAGCGGCCGTGTGGG
TATGATCGAGATGGATCTGGCTTCCGGCCGTACGCTGACGGCATGGCGTGCCGACGAACGTT
TCCCGATGATGTGACCTTTAAAGTTGTTCTGTGTGGTGCGGTCTTGGCACGTGTAGACGCG
GGTGACGAACAACCTGGAGCGCAAGATCCATTACCGCCAACAGGACTTGGTTCGACTACAGCCC
GGTTAGCGAAAAGCACCTGGCGGATGGCATGACCGTGGGTGAATTGTGCGCCGCTGCGATTA
CCATGAGCGACAATAGCGCGGCTAATCTGCTGTTGGCGACCGTTGGTGGCCCAGCGGGCTTG
ACCGCATTTCTGCGTCAAATCGGCGATAATGTTACGCGTCTGGATCGCTGGGAAACGGAGCT
GAACGAGGCACTGCCGGGTGATGCCCCGTGATACCACGACTCCTGCTAGCATGGCAGCGACCC
TGCGTAAACTGCTGACCAGCCAGCGTCTGAGCGCACGTAGCCAACGCCAGCTGCTGCAATGG
ATGGTGGATGACCGCGTGGCGGGTCCGCTGATCCGCTCCGTCCTGCCAGCAGGCTGGTTCAT
TGCGGACAAAACCTGGTGCTCTAAGCGTGGTGCGCGTGGTATCGTCGCGCTGCTGGGTCCGA
ACAACAAAGCCGAACGTATTGTGGTTATCTATCTGCGCGACACCCCGGCAAGCATGGCCGAG
CGCAACCAGCAAATTGCGGGCATTGGTGCGGCACTGATTGAGCACTGGCAGCGTTAACGCCG
GCG (SEQ ID NO:5)

E227 TCGCCTCGAGGCGAGCCCGCAACCGCTGGA (SEQ ID NO:6)
E204 AATCGAATTCTTAACGCTGCCAGTGCTCAATC (SEQ ID NO:7)
REV. COMP. E204 GATTGAGCACTGGCAGCGTTAAGAATTCGATT (SEQ ID
NO:8)

KPC2

ATGGGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGAAGTTCTGTTCCAGGGGCCCCG
CGACTGCGCTGA
CGAATTTGGTGGCCGAGCCGTTTCGCGAAATTGGAGCAAGATTTTGGTGGTTCGATCGG
TGTCTACGCGAT
GGACACCGGTAGCGGTGCCACCGTGAGCTACCGTGCCGAAGAGCGTTTTCCGCTGTGT
AGCTCTTTCAAG
GGTTTTCTGGCCGCAGCCGTGCTGGCACGCAGCCAACAGCAAGCGGGCCTGCTGGACA
CCCCGATCCGTT
ACGGCAAAAATGCGCTGGTTCCGTGGAGCCCGATTAGCGAAAAGTACCTGACCACCGG
CATGACGGTGGC
GGAGTTGAGCGCTGCGGCGGTTTCAGTATTCCGATAACGCTGCGGCAAATCTGCTGCTG
AAAGAACTGGGC
GGTCCAGCGGGTCTGACGGCTTTCATGCGTTCTATTGGCGACACCACCTTTCGCTTGG
ACCGCTGGGAGC
TGGAGCTGAACAGCGCGATTCCGGGCGACGCACGTGATACGAGCAGCCCGCGTGCAGT
GACCGAGAGCCT
GCAGAAGCTGACCCTGGGCAGCGCACTGGCCGCACCGCAGCGCCAACAGTTCGTTCGAT
TGGCTGAAGGGT
AACACCACCGGTAACCATCGTATTCGCGCAGCGGTCCCGGCTGATTGGGCAGTTGGTG
ACAAGACTGGTA

CGTGCGGCGTTTATGGTACGGCGAATGACTACGCGGTTGTTTGGCCTACGGGTCGTGC
GCCGATCGTCCT

GGCGGTGTATACCCGTGCTCCGAACAAAGACGATAAACACTCCGAAGCGGTCATCGCC
GCAGCAGCGCGT

CTGGCCCTGGAAGGCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAACGCCGGCG (SEQ ID NO:9)

E225 TCGCCTCGAGGCGACTGCGCTGACGAATTTGG (SEQ ID NO:10)

E202 AATCGAATTCTTACTGACCATTAACGCCCAAGC (SEQ ID NO:11)

REV. COMP. E202 GCTTGGGCGTTAATGGTCAGTAAGAATTCGATT (SEQ
ID NO:12)

GẠCH CHÂN = ADN MÃ HÓA BL

Sau đó, các sản phẩm PCR này được phân cắt bằng XhoI và EcoRI và nối vào plasmit pAH63-pstS(BlaP) được phân cắt tương tự. Plasmit pAH63-pstS(BlaP) là biến thể của plasmit pAH63 (J Bacteriol. 183(21): 6384–6393) được tạo ra bằng cách phân lập trình tự khởi đầu phiên mã TEM-1 (*bla*) và peptit tín hiệu mã hóa vùng từ plasmit pBAD (J Bacteriol. 1995 Jul. 177 (14):4121-30) vào plasmit pAH63. Mảnh này được khuếch đại PCR từ pBAD sử dụng cặp mồi E192 (ttcaCTGCAGtgaacgttgcaagcaacggC) (SEQ ID NO:13) và E194 (TCGAggatcctcgagagcaaaaacaggaaggcaaaatgccg) (SEQ ID NO:14), được phân cắt bằng PstI và BamHI và được chèn vào plasmit pAH63 được phân cắt tương tự. Do đó, sự biểu hiện của các β -lactamaza từ pAH63-pstS(BlaP) dựa trên các cấu trúc ứng đồng và trình tự tín hiệu được đề xuất để điều hướng các protein này đến khoang chu chất. Các vector dựa trên plasmit pAH63 được sử dụng để chèn vào hệ gen ở dạng đơn bản, tuy nhiên, để cung cấp mức độ biểu hiện cao hơn để bổ sung Thêm tính nhạy của việc phát hiện khả năng nhạy cảm của các hợp chất với các β -lactamaza, các đoạn chèn biểu hiện có trong các vector này được chuyển sang vector pBAD-Kan đa bản sao chép (J Bacteriol. 1995 Jul. 177 (14):4121-30). Để thực hiện việc này, các đoạn chèn bao gồm các gen β -lactamaza, với trình tự khởi đầu phiên mã TEM kèm theo và các trình

tự tín hiệu, được khuếch đại PCR từ các vector tương ứng của chúng sử dụng môi E269 (ccgTCTAGAcggatggccttttgcgtttc) (SEQ ID NO:15) và E202 (aatcGAATTCttactgaccattaacgcccgaagc) (SEQ ID NO:16) với cấu trúc KPC2 và E204 (aatcGAATTCttaacgctgccagtgtctcaatc) (SEQ ID NO:17) với cấu trúc SHV12. Sau đó, các phân đoạn này được phân cắt bằng XbaI và EcoRI, và mỗi phân đoạn được chèn vào pBAD18-kan đã được phân cắt bằng cùng loại enzym để tạo ra cặp vector đa bản biểu hiện tương ứng là KPC2 và SHV12. Các vector này được biến nạp vào BW25113 *pspB* để tạo ra các chủng NB27273-CDY0033 (biểu hiện KPC2) và NB27273-CDY0030 (biểu hiện SHV12). Vector pBAD18-kan còn chứa vùng khởi đầu phiên mã TEM và trình tự tín hiệu, (nhưng không chứa bất kỳ gen β -lactamaza nguyên vẹn nào) và được biến nạp vào BW25113 *pspB* sử dụng các quy trình tiêu chuẩn để tạo ra chủng đối chứng NB27273-CDY0026. Sự biểu hiện các β -lactamaza được xác nhận bằng cách xác định tính nhạy cảm với các chất kháng sinh thử nghiệm ví dụ bị giảm xuống đã biết là các cơ chất của KPC2 hoặc SHV12.

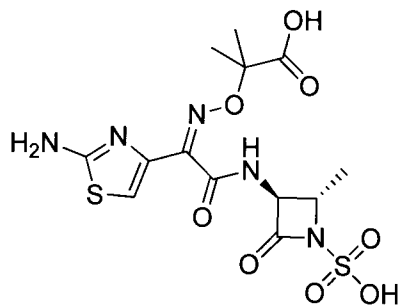
Thử nghiệm về tính nhạy cảm

Nồng độ ức chế tối thiểu (MICs) được xác định bằng phương pháp vi pha loãng nước canh thịt theo hướng dẫn của Clinical and Laboratories Institute (CLSI). Ngắn gọn là, dung dịch nuôi cấy vi khuẩn qua đêm mới được tạo huyền phù trong nước muối đã khử trùng, và được điều chỉnh đến 0,5 McFarl và chuẩn về độ đục McFarl. Sau đó, huyền phù chứa vi khuẩn được pha loãng trong cation được điều chỉnh nước canh thịt Mueller-Hinton (MHB II; BBL) để thu được nguồn mầm bệnh cuối xấp xỉ là 5×10^5 đơn vị tạo thành khuẩn lạc (colony) (CFU)/mL. Đĩa master chứa các chất kháng sinh được chuẩn bị ở nồng độ đương lượng để gấp 100 lần nồng độ cuối mong muốn cao nhất trong dimethyl sulfoxit (DMSO) 100%. Đĩa chứa chất kháng sinh master này sau đó được pha loãng bằng dải pha loãng hai điểm với pipet đa kênh. Dải pha loãng thu được của các hợp chất được pha loãng theo tỷ lệ 1:10 với nước khử trùng dẫn đến nồng độ cuối là DMSO 10%. Thể tích là 10 μ L của dải pha loãng được chất được chuyển sang các đĩa thử nghiệm 96 giếng. Các đĩa thử nghiệm được ủ với 90 μ L huyền phù vi khuẩn và được ủ ở 35-37°C trong 20 giờ. Các đĩa thử nghiệm này được đọc bằng cách sử dụng máy đọc đĩa vi chuẩn độ (Molecular Devices) ở 600nm cũng như bằng cách quan sát bằng mắt thường với gương đọc. Tỷ lệ thấp nhấp của hợp chất mà

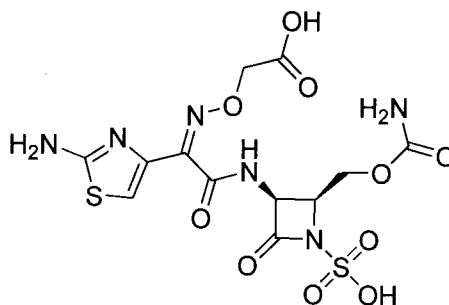
ngăn ngừa được sự tăng trưởng nhìn thấy được được ghi lại là MIC. Việc tiến hành thử nghiệm này được giám sát bằng thử nghiệm aztreonam kháng các chủng đối chứng đạt tiêu chuẩn phòng thí nghiệm theo hướng dẫn của CLSI.

Hợp chất tham chiếu: để so sánh, các hợp chất monobactam đã biết dưới đây được sử dụng ở đây:

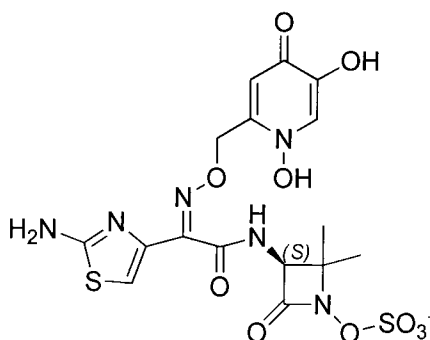
Hợp chất tham chiếu 1: Aztreonam



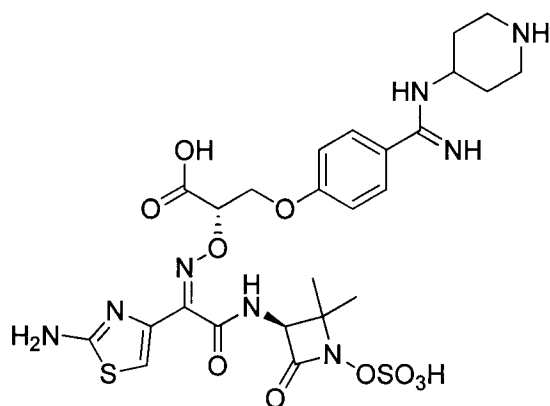
Hợp chất tham chiếu 2: Carumonam



Hợp chất tham chiếu 3: BAL30072



Hợp chất tham chiếu 4: Aicuris WO2013110643



Bảng A: Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) kháng các chủng đẳng gen của E. coli, mang nhiều yếu tố quyết định kháng khác nhau.

Ví dụ số	Chủng 1 MIC (µg/mL)	Chủng 2 MIC (µg/mL)	Chủng 3MIC (µg/mL)
Hợp chất tham chiếu 1	0,125	>32	>32
Hợp chất tham chiếu 2	0,125	1	>32
Hợp chất tham chiếu 3	0,25	0,5	>32
Hợp chất tham chiếu 4	≤ 0,06	0,25	32
Ví dụ 1	1	2	2
Ví dụ tham khảo 31	0,125	0,25	0,5
Ví dụ 22	≤ 0,06	0,125	0,5

Ví dụ tham khảo 4	0,5	8	2
Ví dụ tham khảo 28	$\leq 0,06$	$\leq 0,06$	0,5

Chủng 1: *E.coli* NB27273-CDY0026 (gốc)

Chủng 2: *E.coli* NB27273-CDY0033 (KPC2)

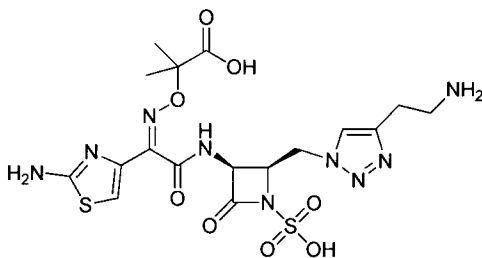
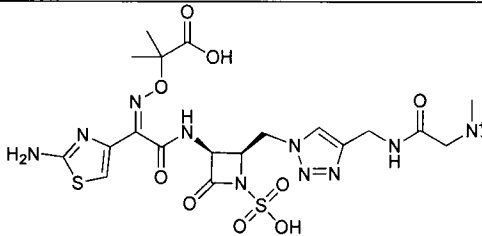
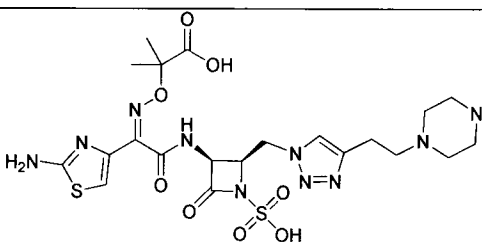
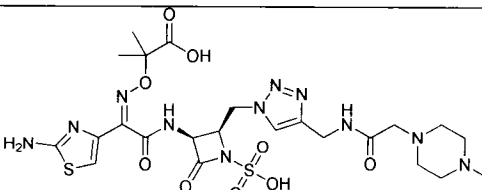
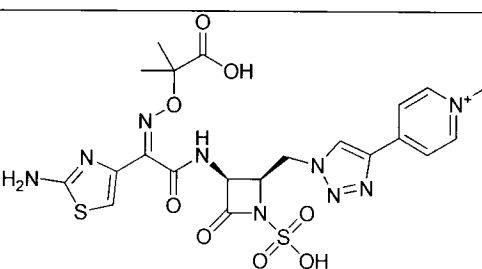
Chủng 3: *E.coli* NB27273-CDY0030 (SHV12)

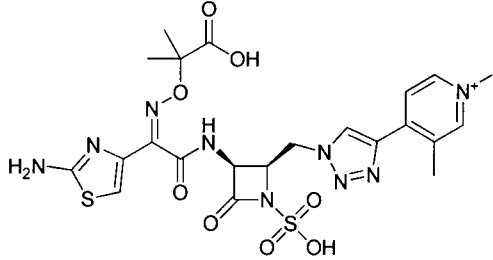
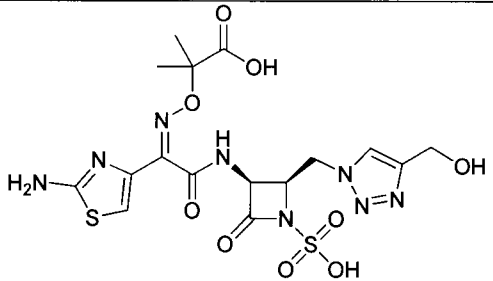
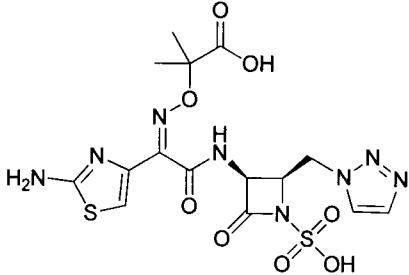
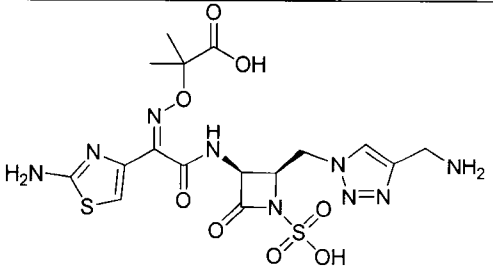
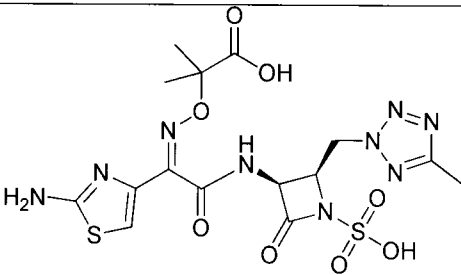
Dữ liệu trong bảng A biểu thị rằng hợp chất theo sáng chế có tiềm lực kháng khuẩn chống lại *E. coli* tốt, bao gồm các chủng biểu thị tính chống chịu mạnh với một số chất kháng sinh monobactam và sulfabactam đã biết.

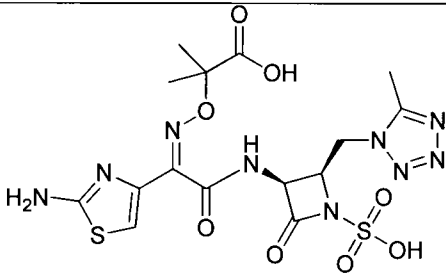
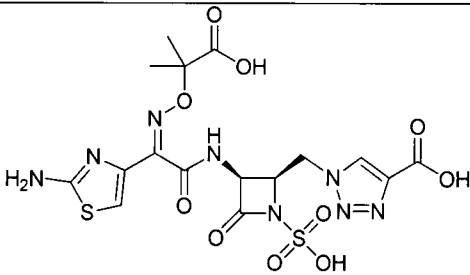
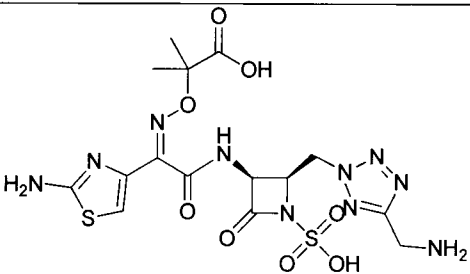
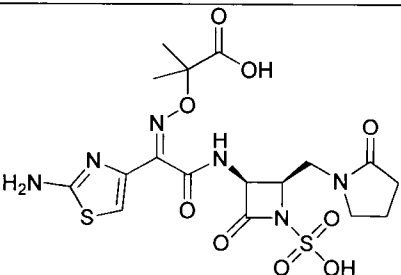
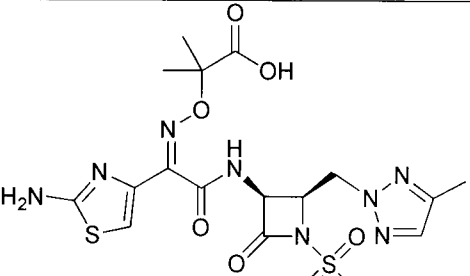
Dữ liệu về hoạt tính của hợp chất theo sáng chế đã được chọn lọc được đưa ra trong bảng dưới đây. Các hợp chất được kiểm tra trên chủng *E. coli* 25922 và *E. coli* chứa KPC-2 (carbapenemaza từ *Klebsiella pneumoniae*), để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), ở mg/L. Lưu ý rằng các hợp chất được xác định ở dạng các muối được đưa vào đông khô trong suốt quá trình phân tách, mà trong một số trường hợp đã loại bỏ một số axit formic, do đó hàm lượng format của các muối này có thể ít hơn lượng hóa tỷ lượng.

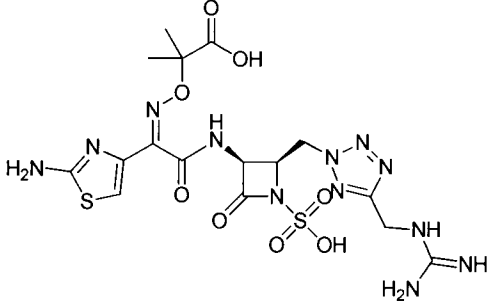
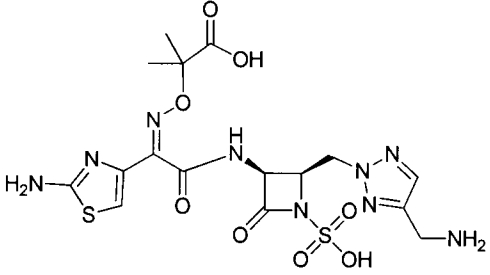
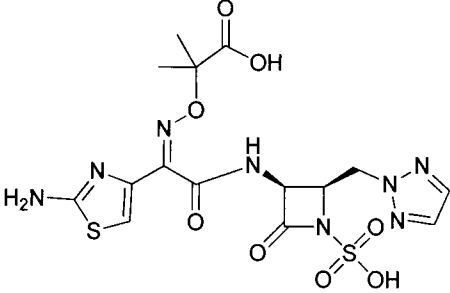
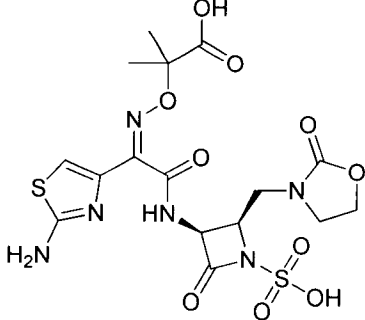
Bảng B. Hoạt tính của các hợp chất trong các ví dụ thực hiện sáng chế.

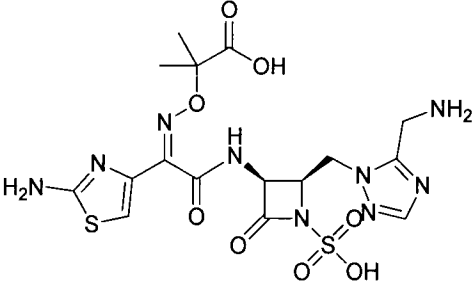
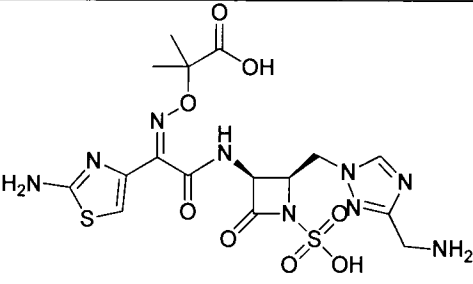
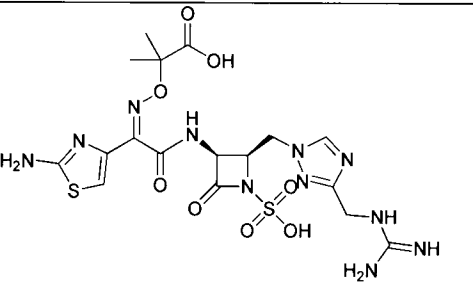
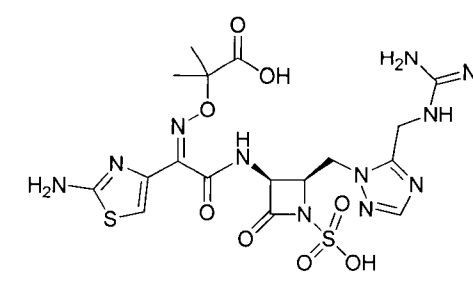
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso

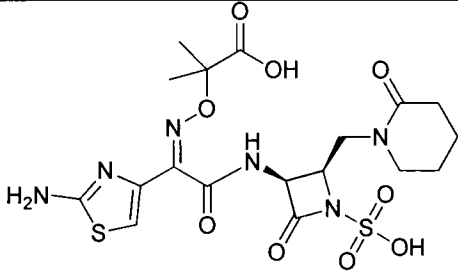
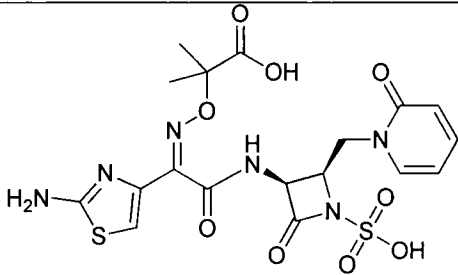
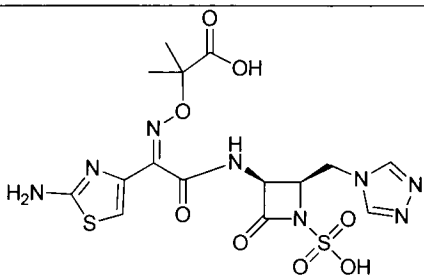
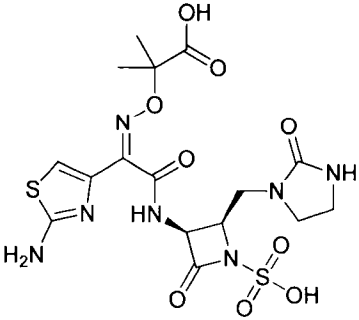
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
41		không có	1	2
43		không có	2	2
42		không có	1,4	2
46		không có		
48		không có		

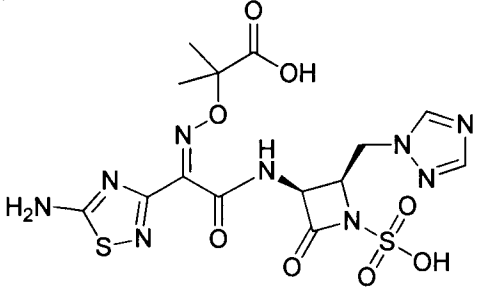
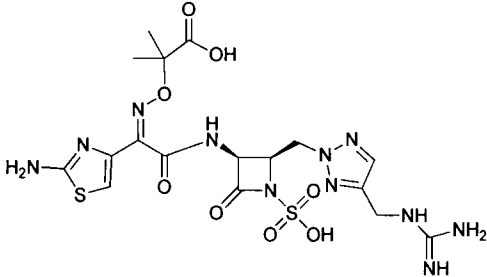
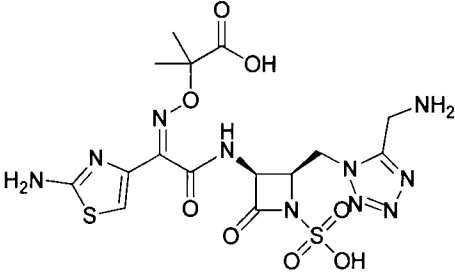
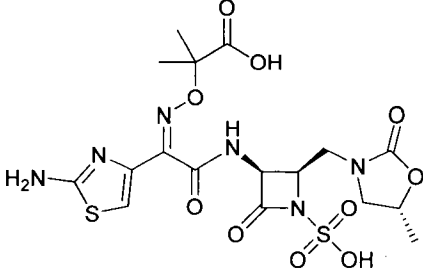
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
49		không có	2	16
47		không có	2	5
50		không có	2	2,8
44		không có	0,67	1,5
7		format	4	8

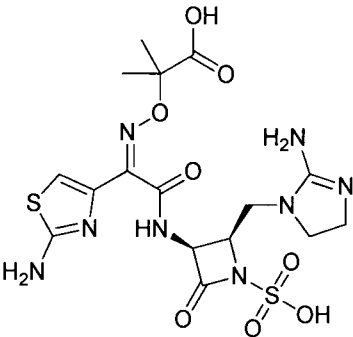
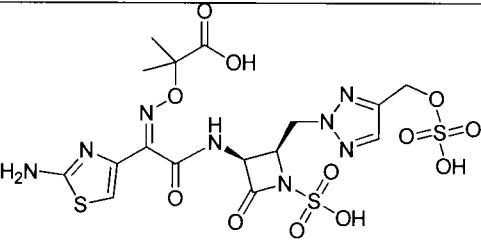
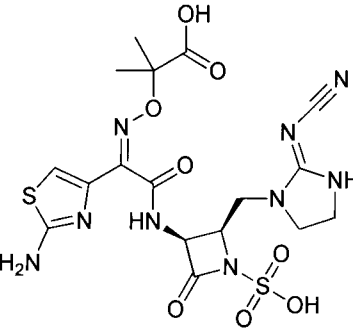
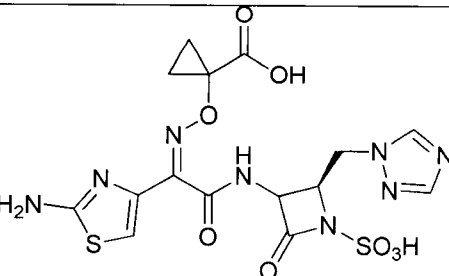
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
8		format	2	2
51		không có	>64	16
4		format	1	8
1		không có	16	2
55		không có	16	4

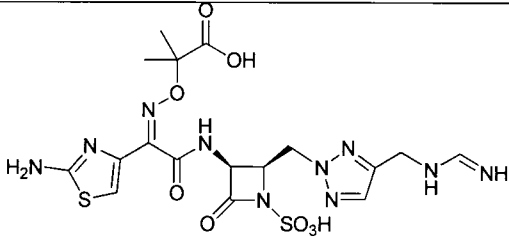
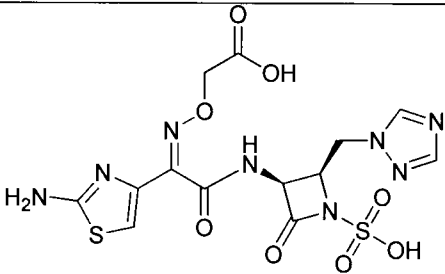
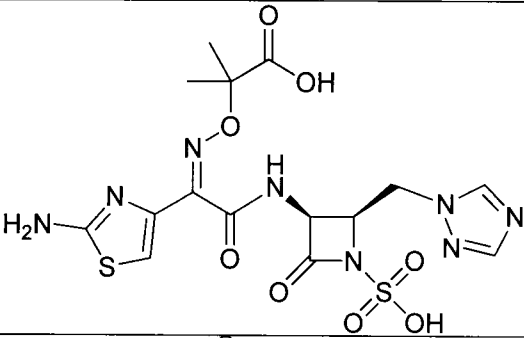
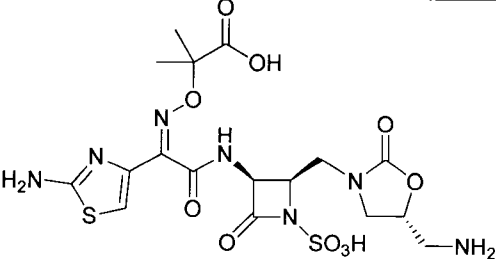
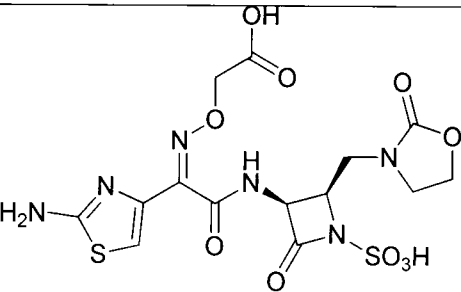
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
5		format	1	4
52		format	0,5	1
54		format	2	1
2		không có	1	0,5

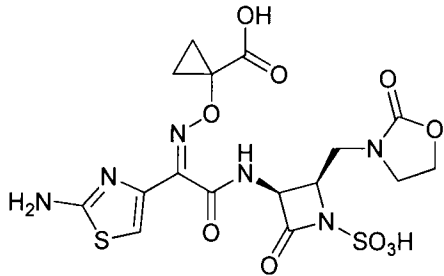
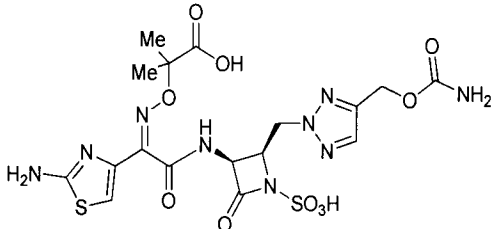
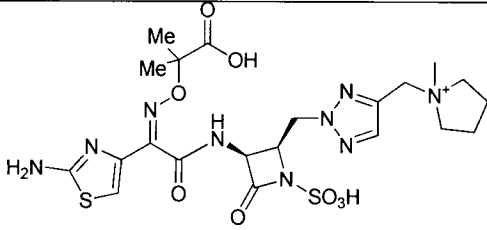
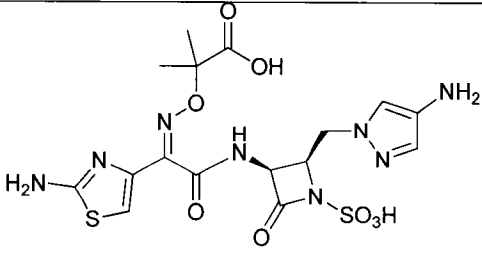
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
12		format	4	4
10		format	4	11
11		format	4	4
13		format	16	32

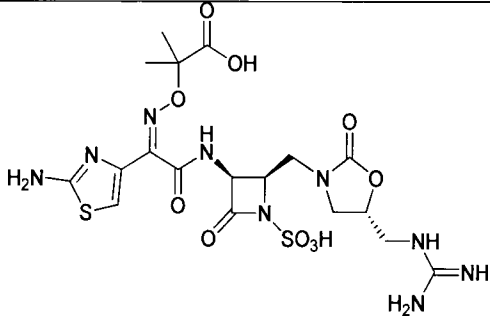
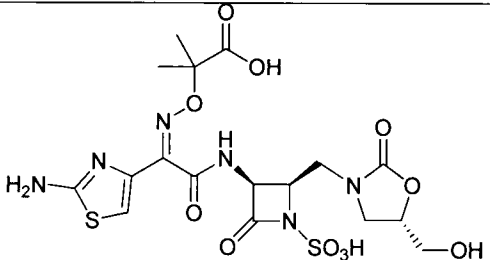
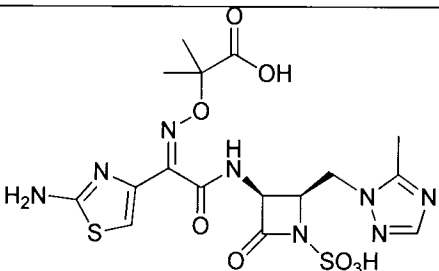
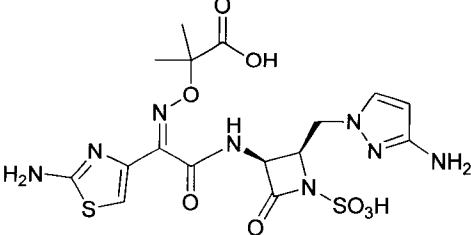
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
14		format	16	8
15		format	16	8
56		format	4	16
3		không có	2	1

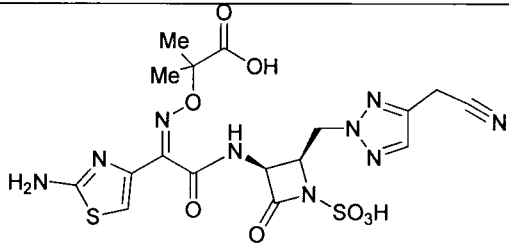
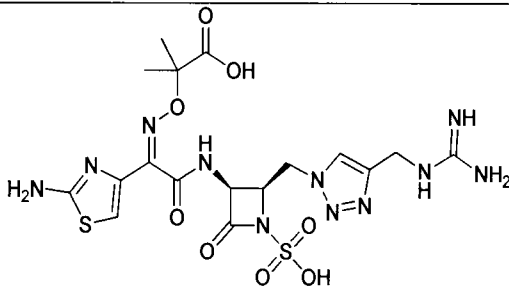
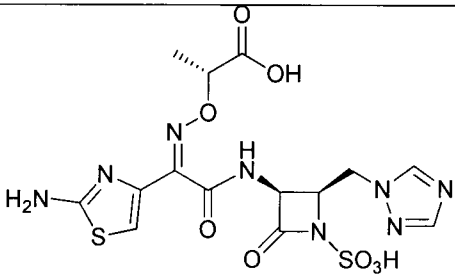
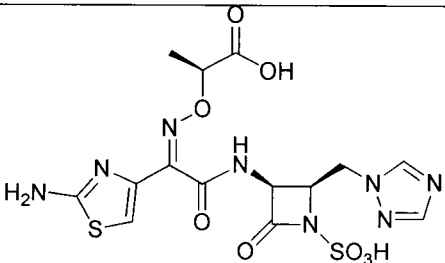
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
16		format	4	2
53		format	1	1
6		format	4	1
23		format	2	1

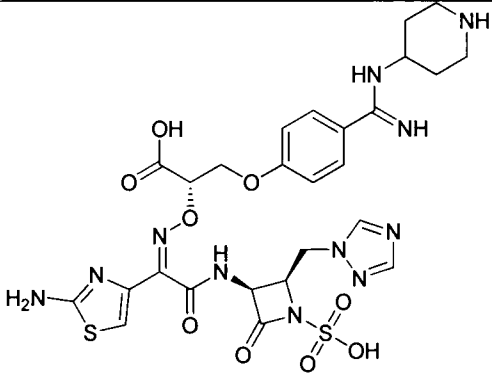
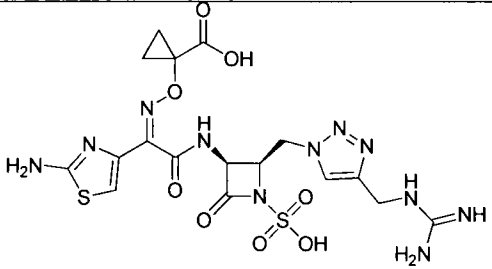
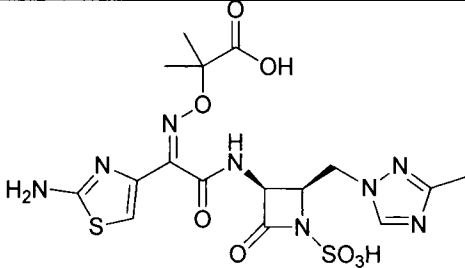
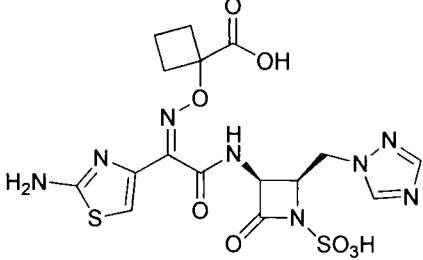
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
39		không có	64	>64
38		format	8	4
40		không có	2	2
18		format	0,5	0,25

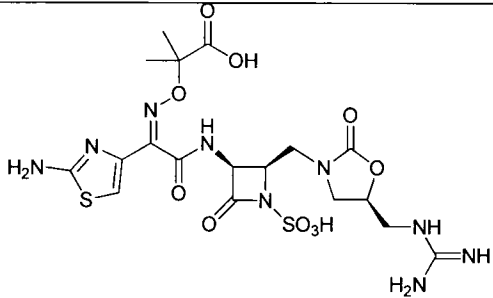
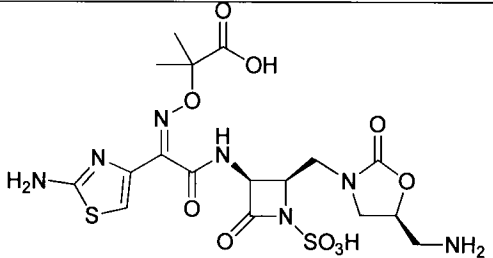
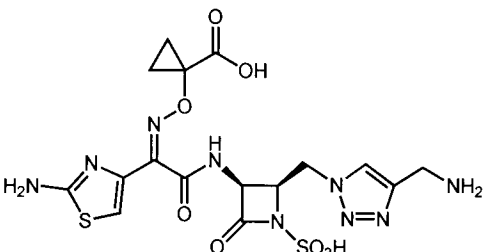
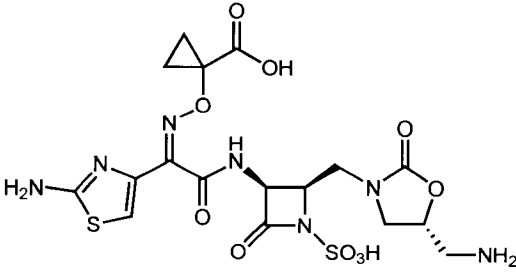
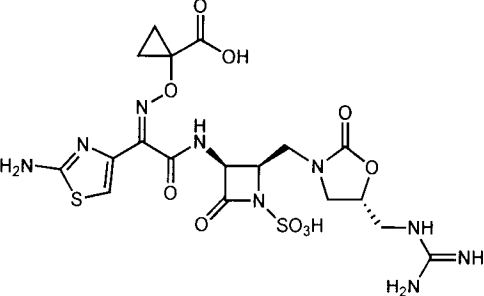
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
62		format	0,5	2
17		format	0,5	0,25
9		format	1	1
57		format	0,5	1
21		không có	0,25	0,5

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
22		không có	0,25	0,125
37		format	2	2
36		format	2	1
35		format	2	1

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
24		format	0,25	1
63		không có	32	32
61		không có	8	2
34		format	>64	>64

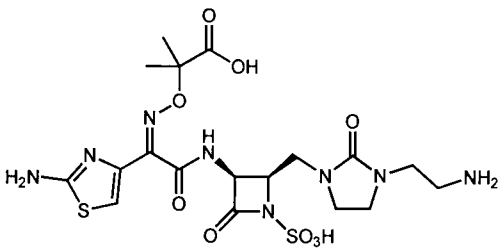
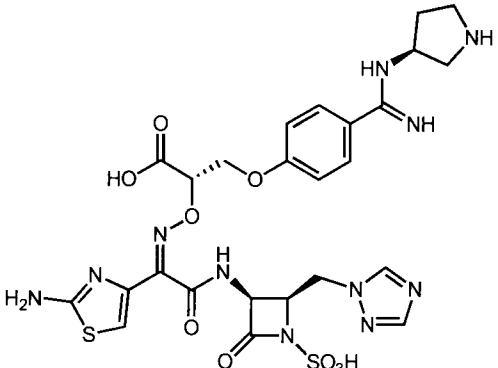
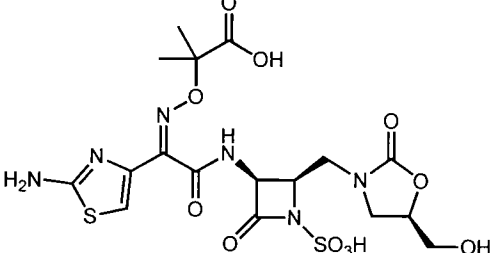
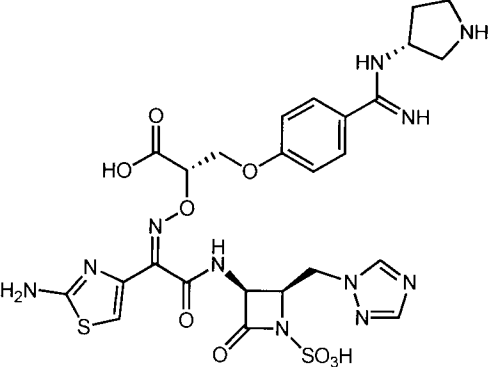
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
33		format	2	2
45		format	0,5	0,5
30		không có	1	1
29		không có	0,25	1

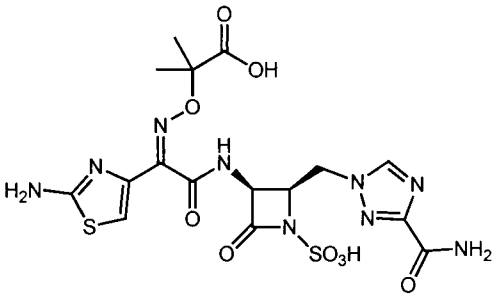
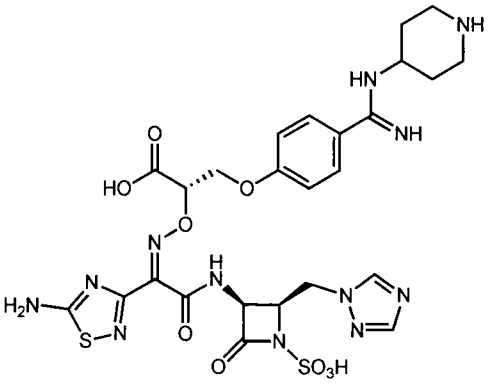
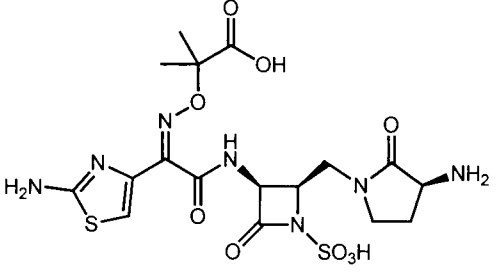
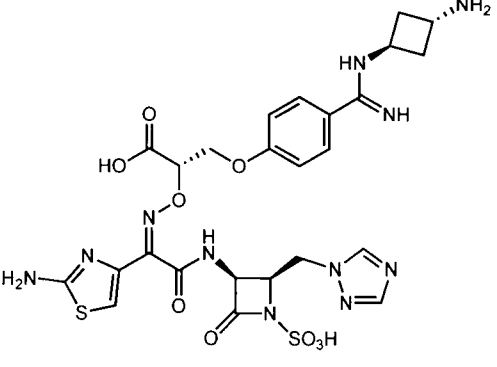
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
31		format	0,25	0,25
28		format	0,25	0,125
60		không có	8	8
32		không có	2	1

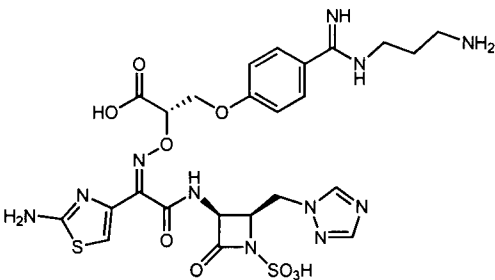
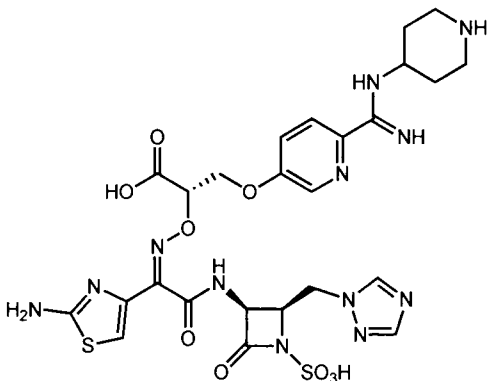
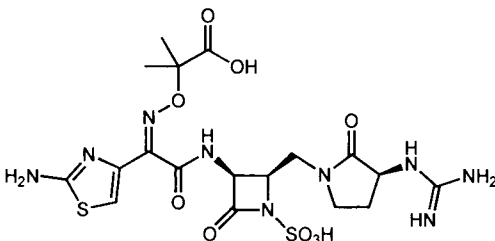
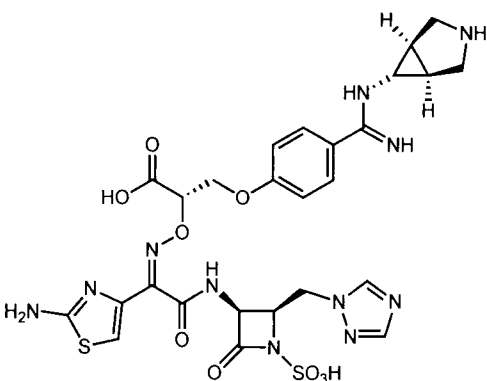
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
59		không có	16	16
58		không có	2	1
27		Không có	$\leq 0,06$	0,125
25		không có	0,125	$\leq 0,06$
26		Không có	0,125	$\leq 0,06$

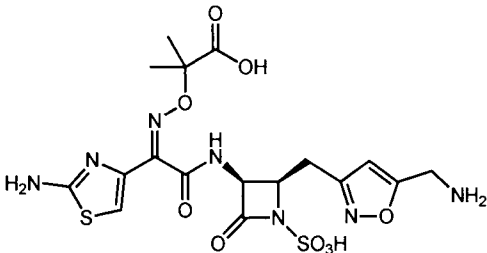
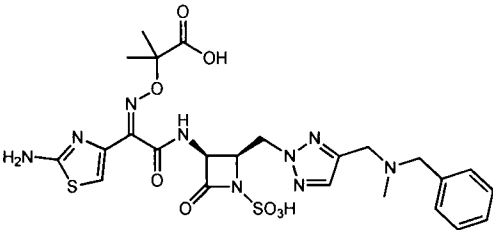
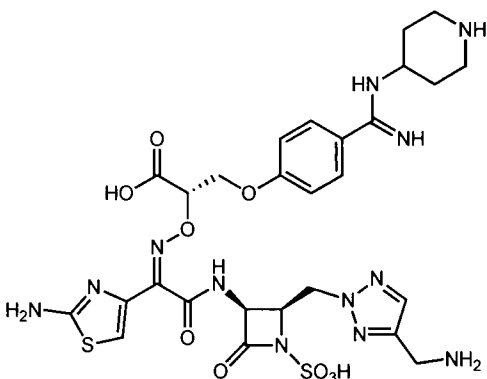
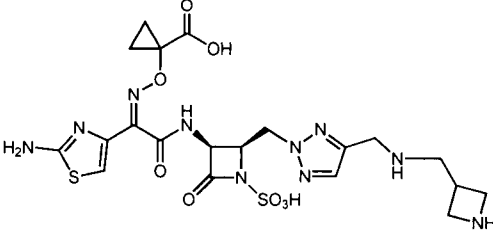
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
19		Không có	0,25	0,25
20		Không có	≤ 0,06	0,125
64		không có	0,5	0,25
65		không có	64	64

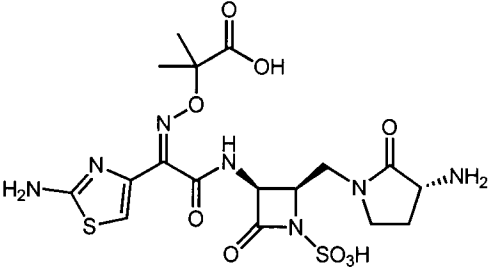
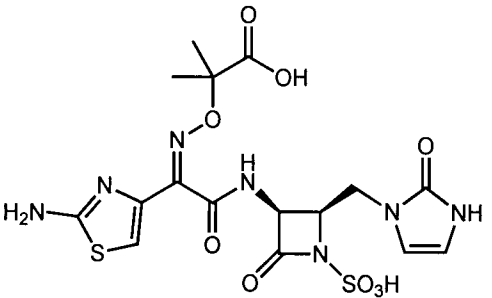
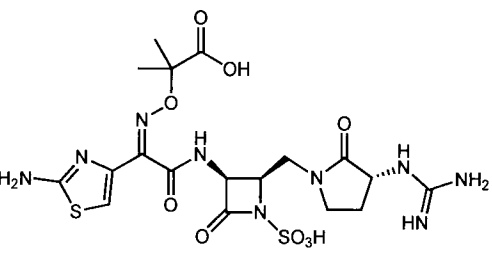
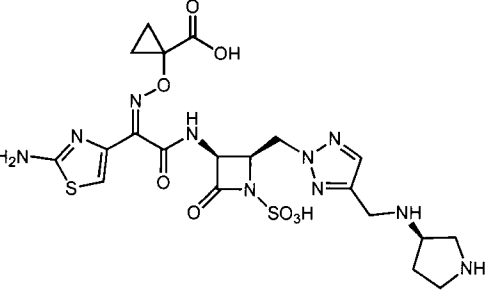
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
66		không có	1	2
67		không có	0,25	0,125
68		không có	0,25	0,25
69		format	0,25	0,125

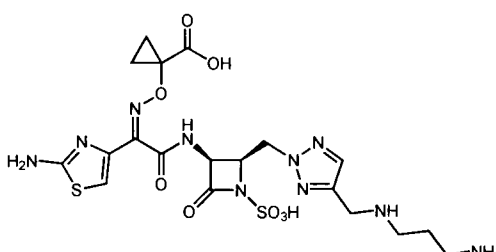
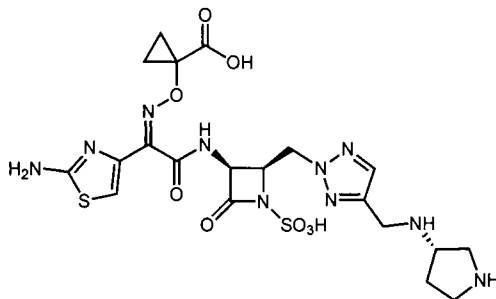
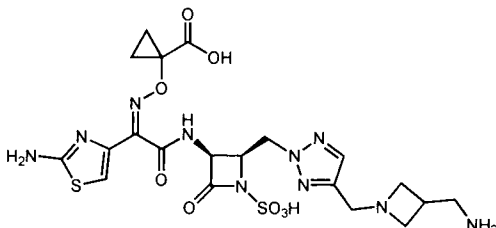
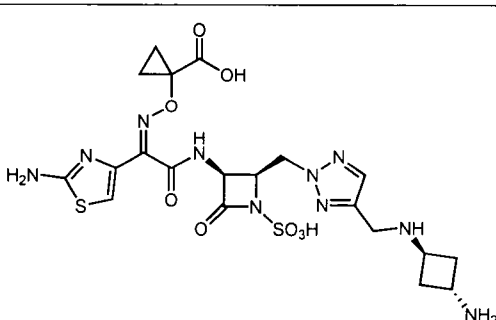
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
70		format	8	8
71		không có	0,25	0,25
72		không có	4	4
73		không có	0,25	0,25

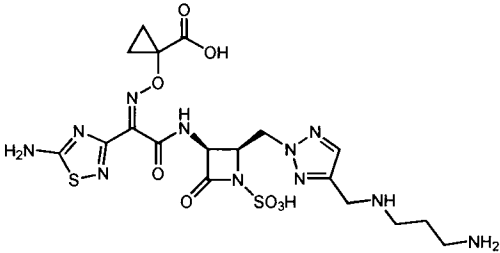
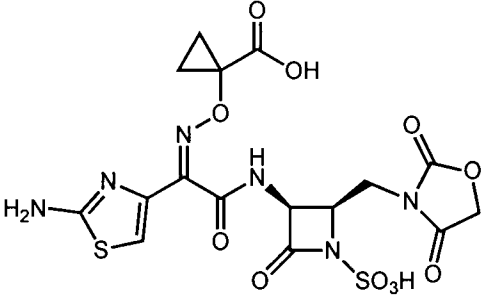
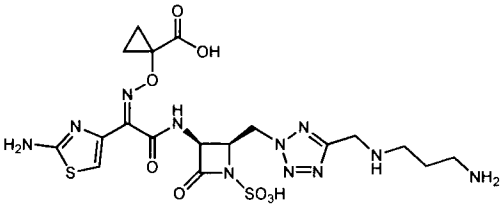
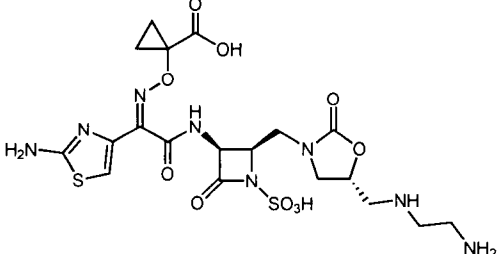
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
74		không có	8	32
75		format	0,5	0,5
76		không có	1	0,5
77		không có	0,25	0,125

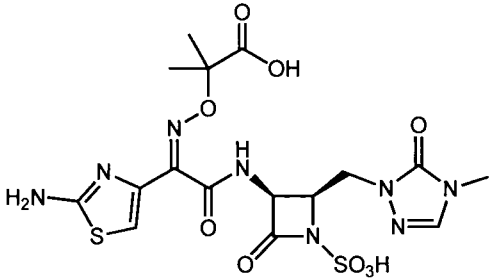
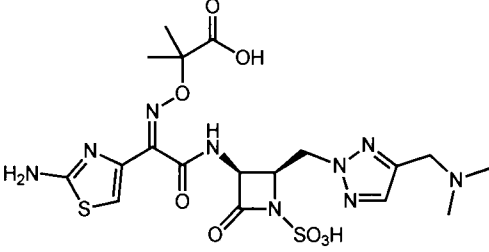
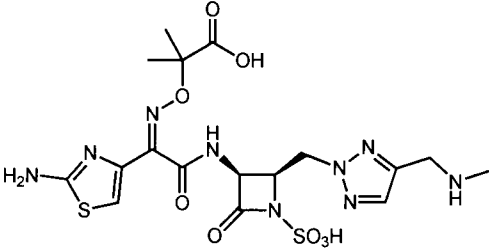
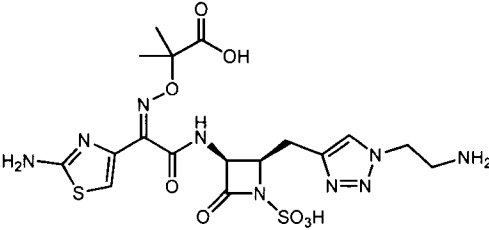
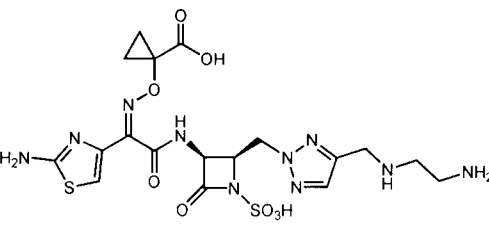
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
78		không có	$\leq 0,06$	0,125
79		format	0,25	0,25
80		không có	4	4
81		không có	0,125	0,125

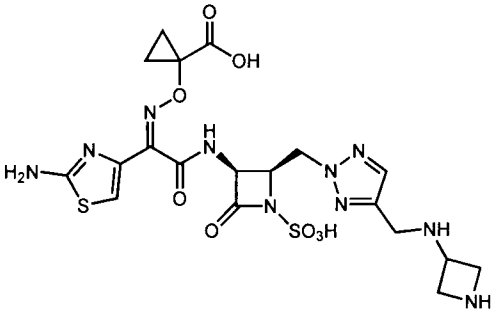
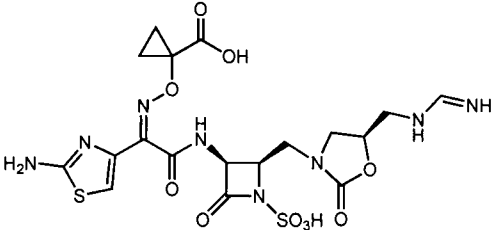
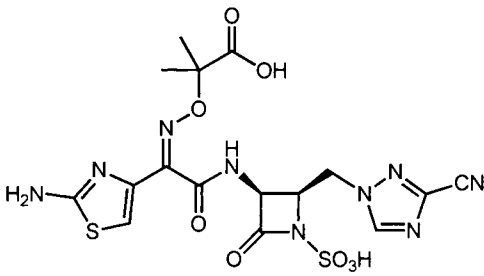
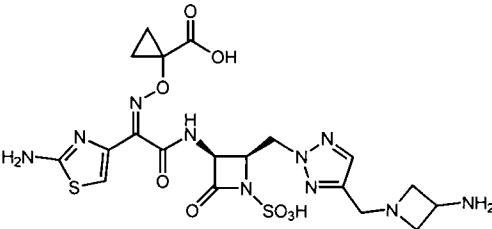
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
82		không có	0,5	0,5
83		không có	32	32
84		không có	0,5	0,5
85		không có	0,5	0,5

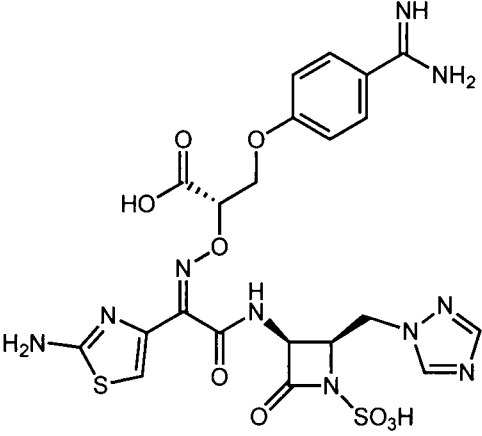
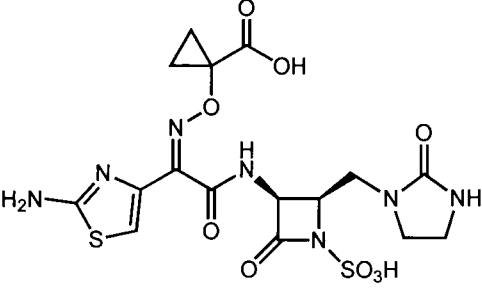
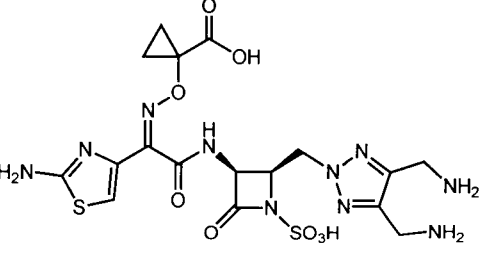
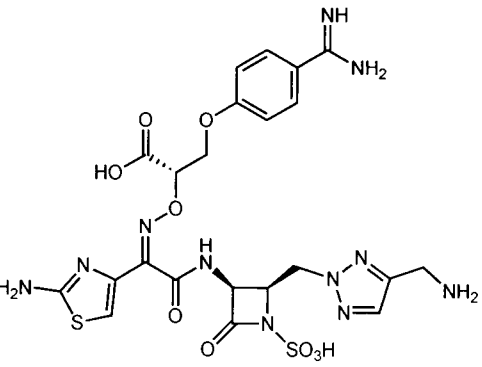
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
86		không có	1	1
87		không có	1	0,5
88		không có	2	4
89		không có	0,5	1

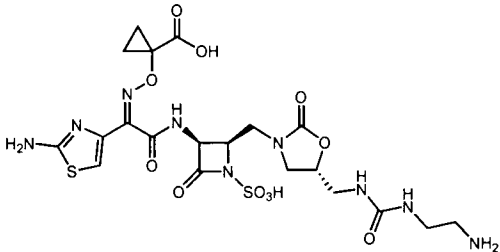
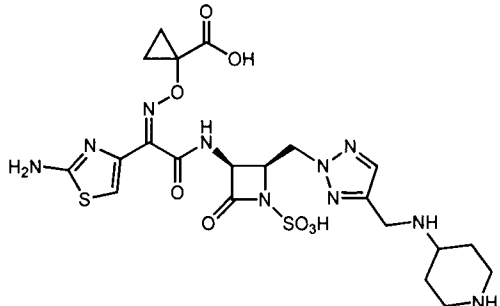
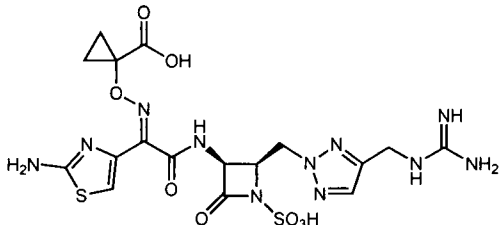
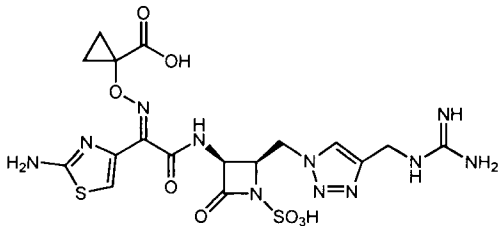
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
90		không có	0,25	0,25
91		không có	0,125	0,25
92		không có	0,25	0,5
93		không có	0,25	0,5

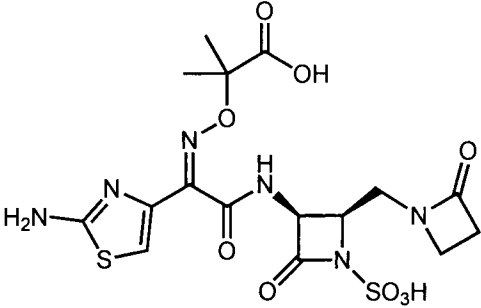
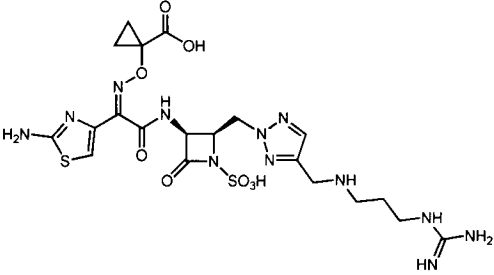
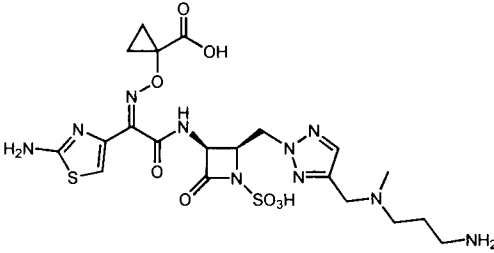
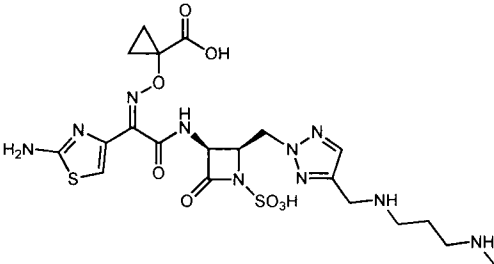
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
94		không có	0,5	1
95		không có	0,25	0,125
96		format	0,25	1
97		không có	0,125	0,125

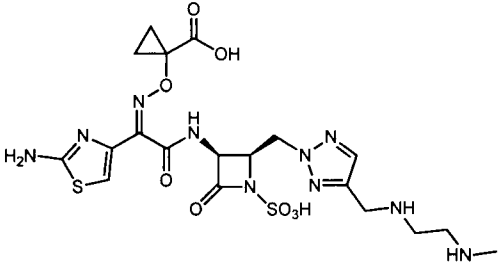
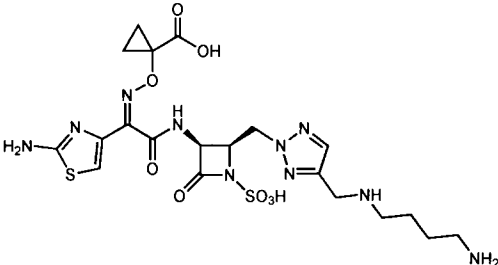
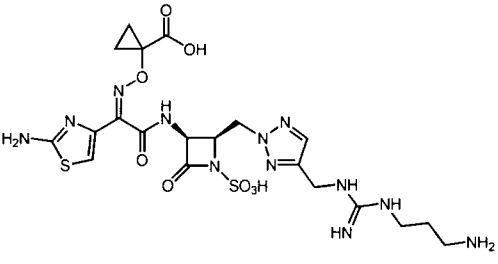
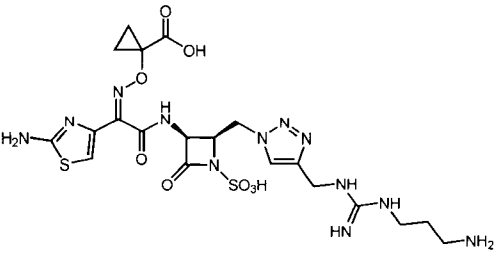
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
98		không có	2	0,5
99		không có	2	4
100		không có	1	4
101		không có	1	1
102		không có	0,25	0,25

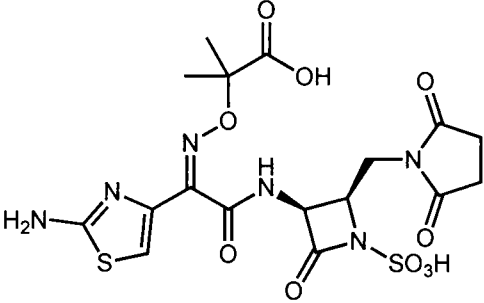
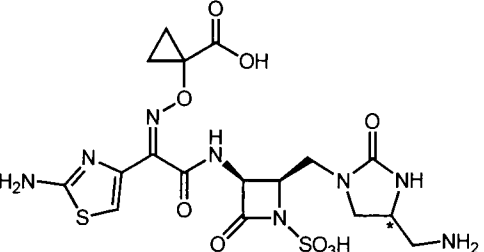
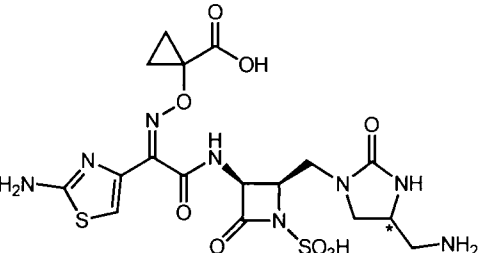
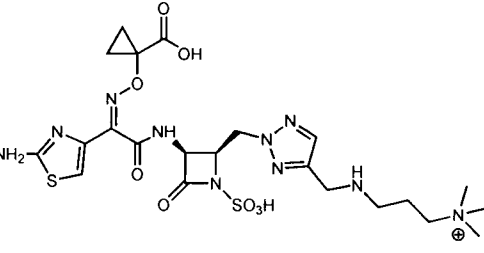
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
103		không có	0,25	
104		không có	>64	>64
105		không có	16	32
106		không có	≤ 0,06	≤ 0,06

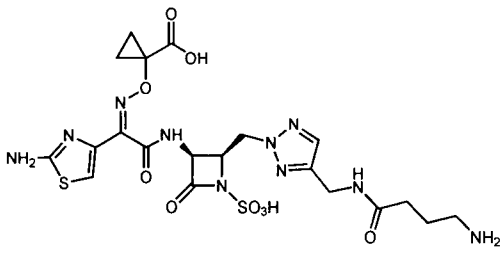
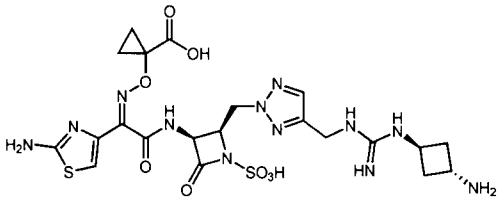
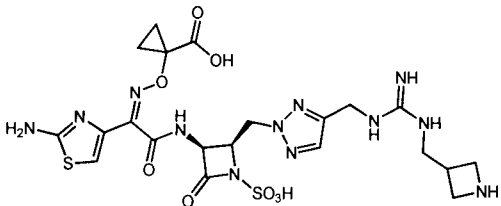
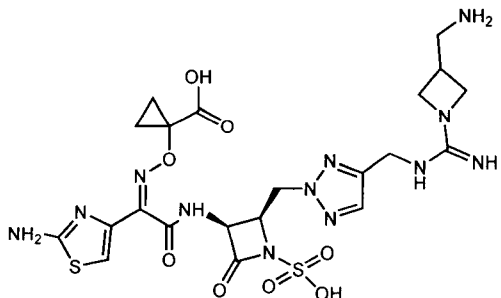
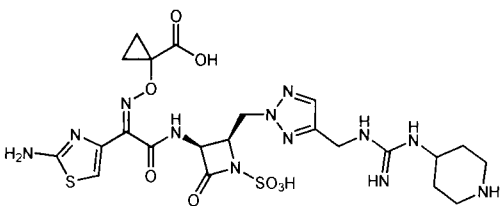
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
107		format	0,25	0,25
108		format	0,125	≤ 0,06
109		không có	0,125	0,25
110		không có	8	8

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
111		format	$\leq 0,06$	$\leq 0,06$
112		format	0,5	0,5
20		không có	2	4
28		không có	4	8

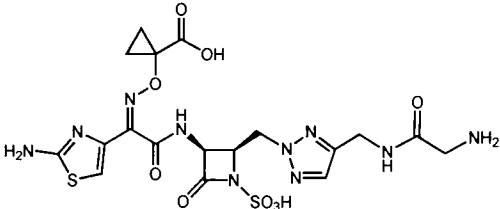
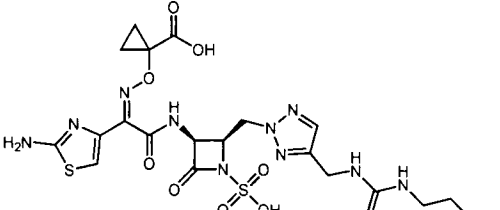
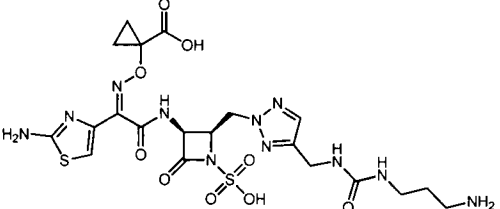
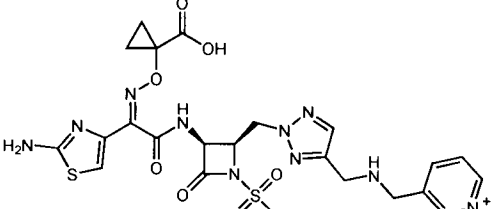
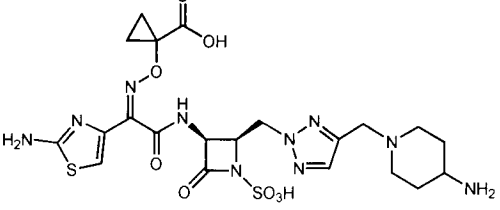
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
113		không có	4	4
114		không có	0,25	≤ 0,06
115		không có	0,125	0,25
116		không có	0,25	0,125

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
117		không có	0,5	1
118		không có	0,5	0,25
119		không có	0,25	0,25
120		không có	0,25	0,5

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
121		không có	0,25	0,25
122		format	0,125	0,125
122		format	$\leq 0,06$	$\leq 0,06$
123		không có	1	0,5

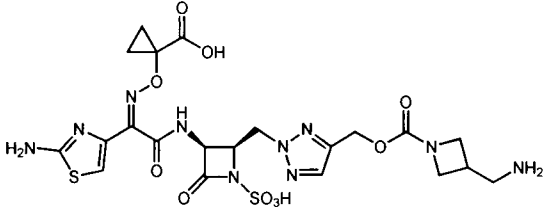
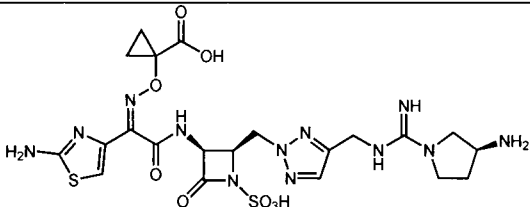
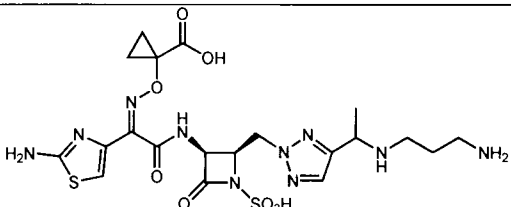
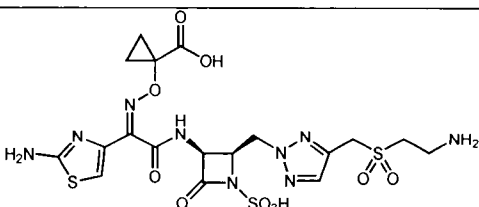
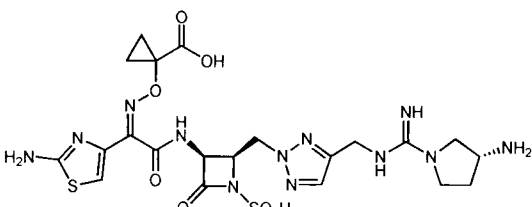
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
124		không có	1	1
125		không có	0,25	0,5
126		không có	0,5	0,5
127		không có	0,25	0,25
128		Không có	0,5	1

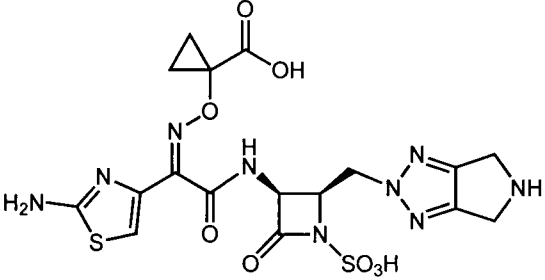
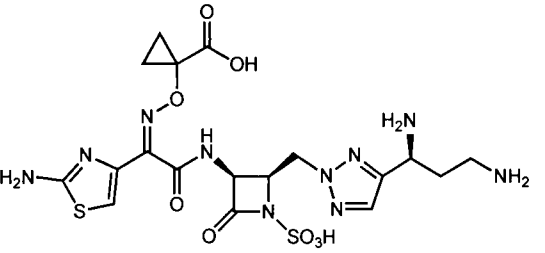
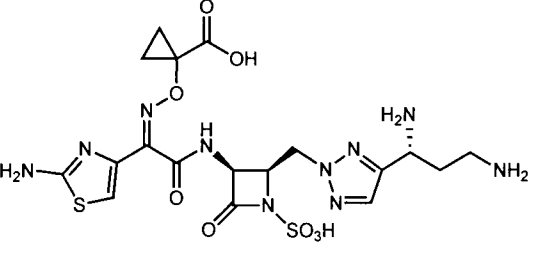
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
129		Không có	0,5	1
130		không có	1	2
131		không có	1	2
132		không có	1	1
133		không có	1	0,5

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
134		không có	0,5	0,25
135		không có	0,5	0,5
136		không có	0,5	0,5
137		không có	1	0,5
138		không có	0,5	1

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
139		không có	1	4
140		không có	0,25	0,25
141		không có	0,5	0,5
142		không có	0,5	0,25
143		không có	0,5	0,25

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
144		không có	1	1
145		không có	0,5	0,5
146		không có	0,5	0,5
147		không có	0,5	0,5
148		không có	1	1

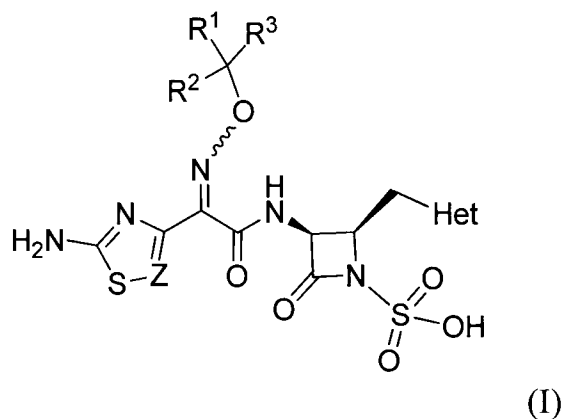
Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
149		không có	0,5	0,5
150		không có	1	0,5
151		không có	0,5	0,5
152		không có	0,5	0,5
153		không có	1	0,5

Ví dụ số/Ví dụ tham khảo số		Muối	Ec 25922	Ec KPC2 Iso
154		không có	0,25	0,25
155		không có	0,25	0,25
156		không có	0,25	0,25

Bằng các phương pháp giống như được mô tả ở đây, các hợp chất bổ sung có thể được điều chế dễ dàng từ những nguyên liệu ban đầu đã biết sử dụng kỹ năng thông thường.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng của nó,

trong đó :

Z là CR⁴ hoặc N;

R¹ là H hoặc C₁-C₄ alkyl;

R² được chọn từ nhóm bao gồm H, C₁-C₄ alkyl, và -COOH

hoặc R¹ và R² cùng với cacbon mà chúng được gắn vào tạo thành vòng được chọn từ vòng C₃-C₆cycloalkyl và vòng dị vòng có 4-6 cạnh chứa lên đến hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng;

R³ được chọn từ H, -COOH, và -L¹-W-(CH₂)₀₋₂-X-R⁵;

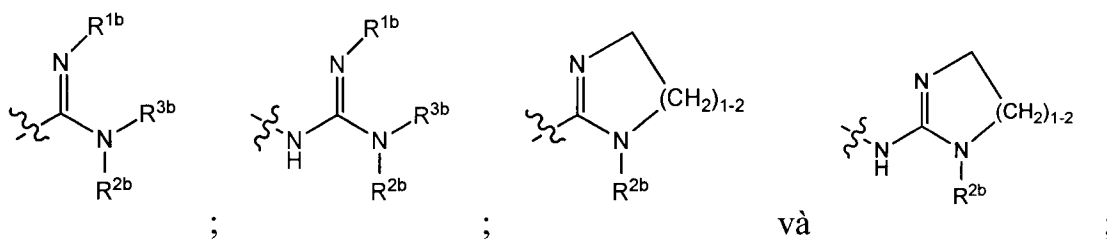
R⁴ là H hoặc halo;

mỗi L¹ độc lập là C₁₋₄ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh;

W là liên kết, O, NH hoặc S;

X là phenyl, hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh chứa 1-3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng; trong đó phenyl và heteroaryl có 5-6 cạnh này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C₁₋₄ alkyl, hydroxy, -CN, F, C₁₋₄ alkoxy, -NH₂, -NH(C₁₋₄ alkyl) và -N(C₁₋₄ alkyl)₂;

R⁵ được chọn từ



trong đó R^{1b} , R^{2b} , và R^{3b} độc lập là hydro, hydroxy, CN, (C_1-C_4) alkyl, (C_1-C_4) alkoxy, (C_3-C_6) xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa N, O hoặc S làm thành phần của vòng, trong đó mỗi (C_1-C_4) alkyl, (C_1-C_4) alkoxy, (C_3-C_6) xycloalkyl, hoặc heteroxyclyl có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa N, O hoặc S làm thành phần của vòng có thể được thế bằng một, hai hoặc ba phần tử thế độc lập được chọn từ Y,

và trong đó R^{2b} và R^{3b} cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được liên kết có thể tùy ý tạo thành heteroxyclyl có 5 đến 7 cạnh bao gồm Thêm 0 hoặc 1 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl này tùy ý được thế bằng Y;

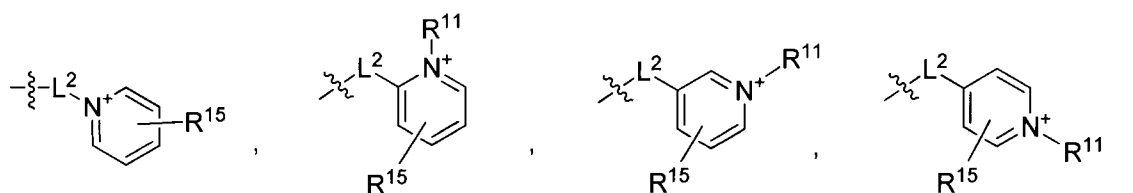
Y được chọn từ F, CN, $-NH_2$, Q, $-L^2-C(O)NR^{10}-L^2-Q$, $-L^2-NR^{10}-C(O)-L^2-Q$, $-L^2-OR^{10}$, $-L^2-N(R^{10})_2$, $-L^2-N^+(R^{11})_3$, $-L^2-NR^{10}-C(O)R^{10}$, $-L^2-NR^{10}-L^2-N(R^{10})_2$, $-L^2-O-C(O)OR^{10}$, $-L^2-O-C(O)-N(R^{10})_2$, $-L^2-NR^{10}-C(O)-N(R^{10})_2$, $-L^2-NR^{10}-C(O)-OR^{11}$, $-L^2-C(=NR^{10})-N(R^{10})_2$, $-CON(R^{10})_2$, $-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-N(R^{10})_2$, $-L^2-NR^{10}-C(=NR^{10})-R^{10}$, $-L^2-C(O)N(R^{10})_2$, $-L^2-O-SO_3R^{10}$;

L^2 với mỗi lần xuất hiện độc lập là liên kết hoặc C_{1-4} alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh, tùy ý được thế bằng NH_2 , OH, hoặc F;

Het là vòng dị vòng no có 4-6 cạnh, trong đó vòng dị vòng này chứa 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm các thành phần của vòng và được thế bằng oxo và tùy ý còn được thế bằng Y;

R^{10} và R^{12} độc lập là H hoặc C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ OH, NH_2 hoặc Q;

Q được chọn từ $-L^2-N(R^{13})_2$, $-L^2-N^+(R^{14})_3$, $-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-CR^{13}(=NR^{13})$, $-L^2-NR^{13}-L^2-Cy$, $-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-NR^{13}-L^2-Cy$, $-L^2-NR^{13}-C(=NR^{13})-L^2-Cy$, $-L^2-Cy-L^2-R^{13}$, $-L^2-Cy-L^2-N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-SO_2-N(R^{13})_2$, $-L^2-SO_2-N(R^{13})_2$, $-L^2-NR^{13}-SO_2-R^{13}$, $-L^2-NR^{13}-L^2-Ar$, $-L^2-S-L^2-Cy$, $-L^2-NR^{13}-(C=O)-O-R^{13}$,



mỗi Cy độc lập là xycloalkyl có 3-6 cạnh hoặc heteroxyclyl có 3-6 cạnh chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S làm thành phần vòng và tùy ý được ngưng tụ với vòng aryl hoặc vòng heteroaryl có 5-6 cạnh, trong đó mỗi Cy tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ halo, C_{1-3} haloalkyl, R^{14} , hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

Ar là phenyl, tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ halo, C_{1-3} haloalkyl, R^{14} , hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

R^{11} với mỗi lần xuất hiện độc lập là C_{1-4} alkyl;

và hai R^{10} , hoặc hai R^{11} , hoặc hai R^{12} trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, hydroxy, hoặc oxo;

R^{13} với mỗi lần xuất hiện độc lập là H hoặc C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, $-OR^{14}$, $-NHR^{14}$, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

R^{14} với mỗi lần xuất hiện độc lập là C_{1-4} alkyl tùy ý được thế bằng hydroxy, C_{1-4} alkoxy, $-NH_2$, $-NH(C_{1-4} \text{ alkyl})$ hoặc $-N(C_{1-4} \text{ alkyl})_2$;

trong đó hai R^{13} hoặc hai R^{14} trên cùng nguyên tử N có thể vòng hóa để tạo thành vòng dị vòng có 4-6 cạnh tùy ý được thế bằng C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, hydroxy, amino hoặc oxo;

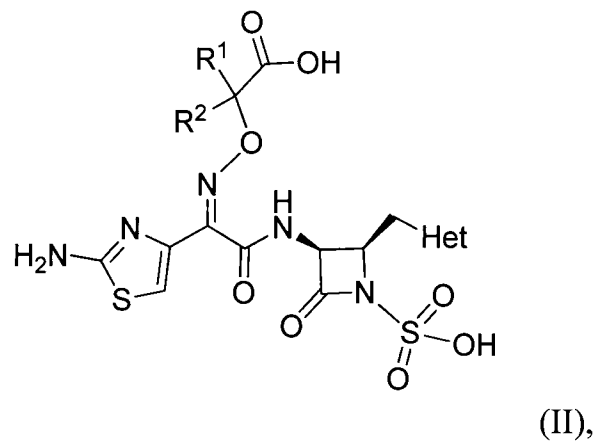
R^{15} là H, halo, C_{1-4} alkyl, CN, hoặc $-O(C_{1-4} \text{ alkyl})$.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^1 và R^2 cùng với cacbon mà chúng được gắn vào tạo thành vòng xyclopropan và R^3 là $-COOH$.

3. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó Z là CH.

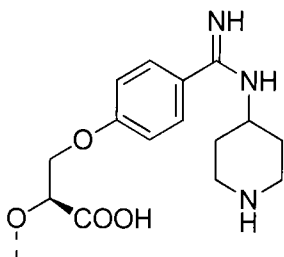
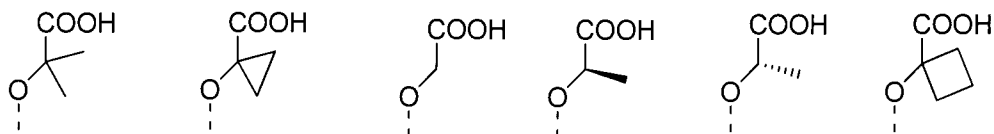
4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-3, trong đó Het được chọn từ pyrrolidin-2-on, oxazolidin-2-on, và imidazolidin-2-on, và tùy ý được thế bằng Y.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hợp chất này có công thức (II):



hoặc muối được dụng của nó.

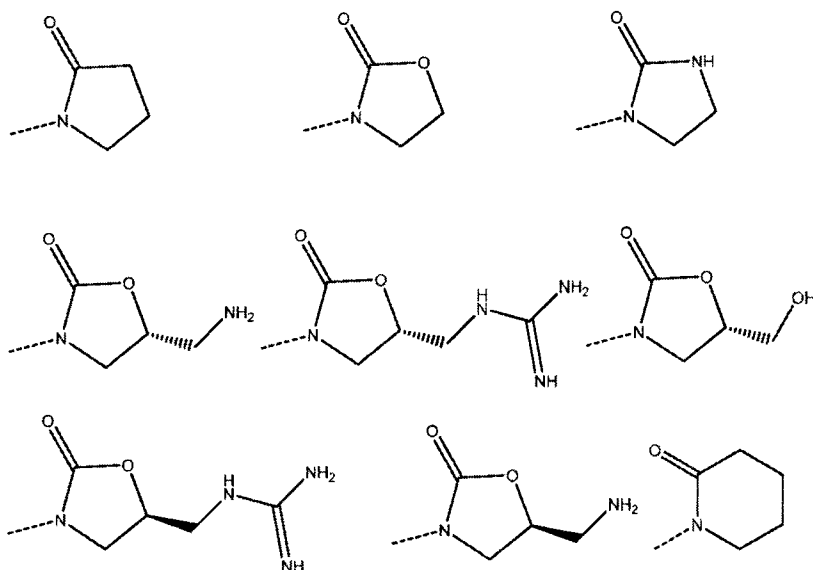
6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó $---O-CR^1R^2R^3$ được chọn từ



và

.

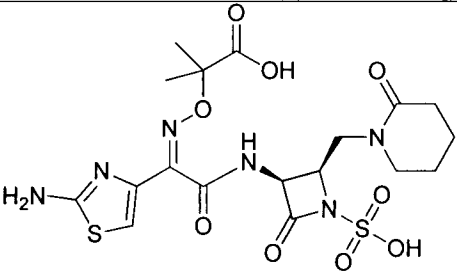
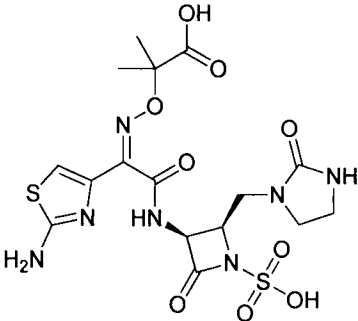
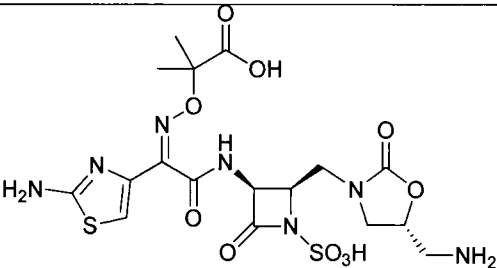
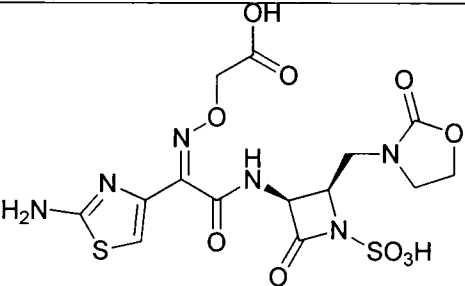
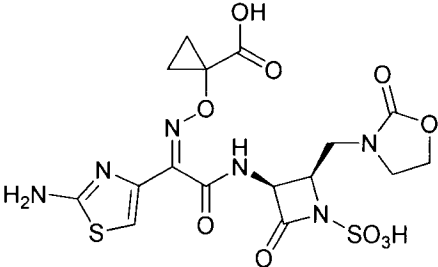
7. Hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 6, trong đó Het được chọn từ

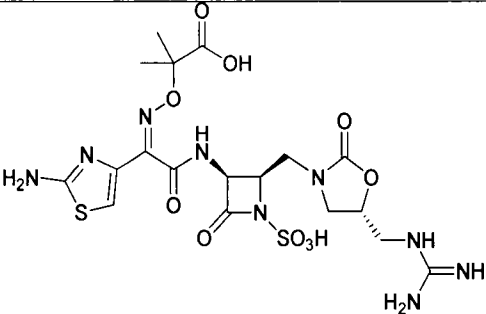
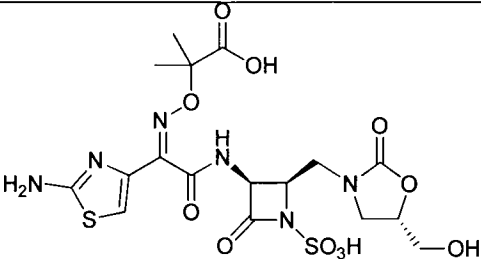
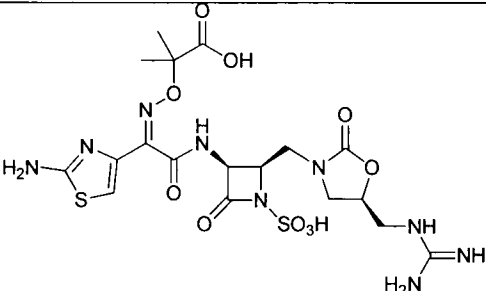
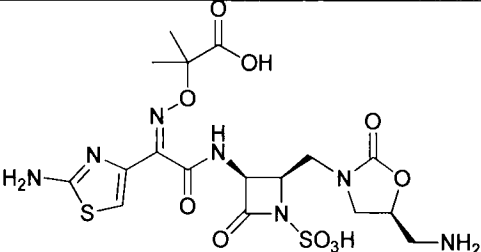
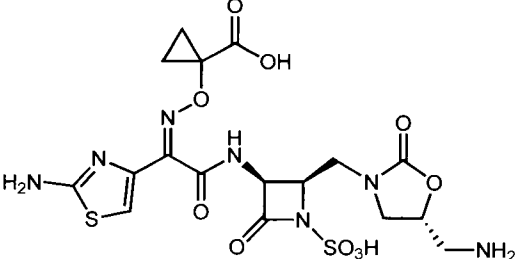


8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm trên, trong đó hợp chất này là muối được dùng.

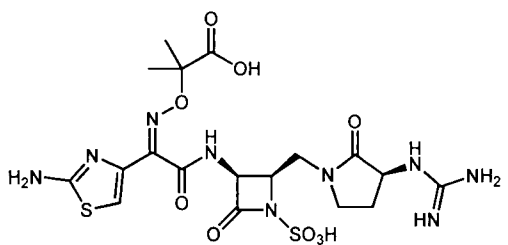
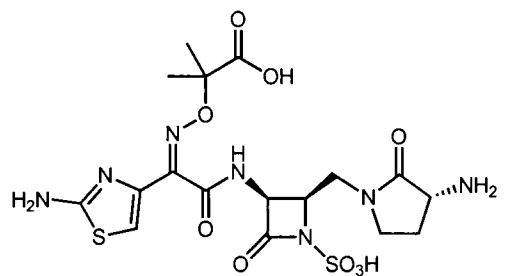
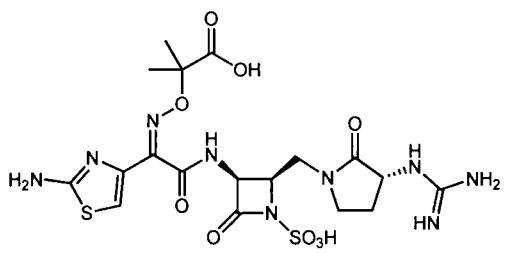
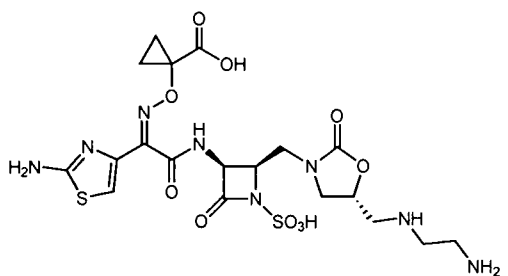
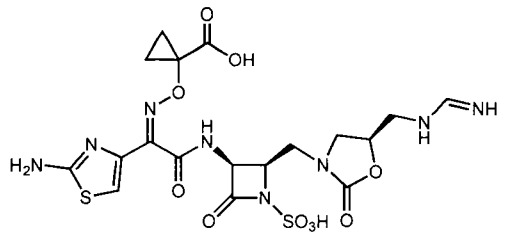
9. Hợp chất theo điểm 1, được chọn từ:

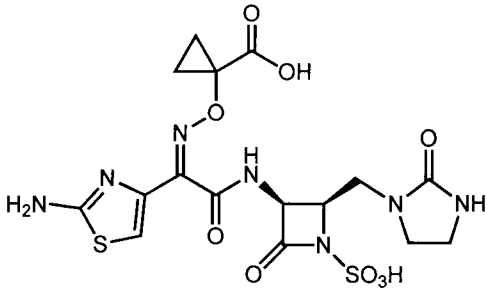
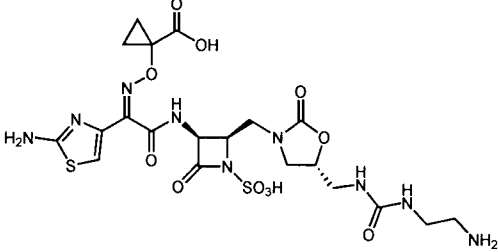
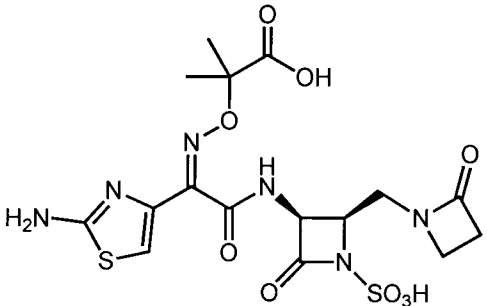
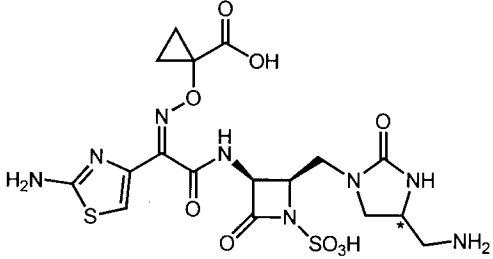
1	
2	

14	
3	
57	
21	
22	

24	
63	
59	
58	
25	

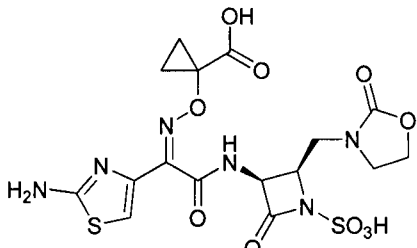
26	<chem>Nc1cc(s1)C(=O)N=O[C@@H]2C(=O)N(CS(=O)(=O)O)C[C@H]2N(C(=O)OCCN=C(N)N)C3CC3</chem>
64	<chem>Nc1cc(s1)C(=O)N=O[C@@H]2C(=O)N(CS(=O)(=O)O)C[C@H]2N(C(=O)Nc3ccc(OCC[C@H](O)C(=O)O)cc3)C4CCNC4</chem>
70	<chem>Nc1cc(s1)C(=O)N=O[C@@H]2C(=O)N(CS(=O)(=O)O)C[C@H]2N(C(=O)OCCN)C3CC3</chem>
72	<chem>Nc1cc(s1)C(=O)N=O[C@@H]2C(=O)N(CS(=O)(=O)O)C[C@H]2N(C(=O)OCCO)C3CC3</chem>
76	<chem>Nc1cc(s1)C(=O)N=O[C@@H]2C(=O)N(CS(=O)(=O)O)C[C@H]2N(C(=O)OCCN)C3CC3</chem>

80	
86	
88	
97	
104	

108	
111	
113	
122	

và các muối được dùng của chúng.

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

22	
----	--

hoặc muối được dùng của nó.

11. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên và ít nhất một tá dược được dùng.

12. Tổ hợp dược, chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1-10 và chất điều trị thứ hai, trong đó chất điều trị thứ hai là chất kháng vi khuẩn, chất này được chọn từ macrolit, beta-lactam, glycopeptit, quinolon, sulfonamid kháng khuẩn, sulphanilamid kháng khuẩn, aminoglycosit, tetracyclin, rifamixin, lincosamid, streptogramin, oxazolidinon, polymyxin, colistin, colymyxin, trimethoprim, bacitracin, chất ức chế bơm đẩy, hoặc chất ức chế beta-lactamaza.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110>	Novartis AG	
<120>	HỢP CHẤT HỮU CƠ MONOBACTAM, DƯỢC PHẨM VÀ TỔ HỢP DƯỢC CHỨA HỢP CHẤT NÀY	
<130>	PAT056170-US-PSP02	
<160>	17	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	32	
<212>	ADN	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Oligonucleotit tổng hợp	
<400>	1	
	tcgcctcgag gcgactgcgc tgacgaattt gg	32
<210>	2	
<211>	33	
<212>	ADN	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Oligonucleotit tổng hợp	
<400>	2	
	aatcgaattc ttactgacca ttaacgccca agc	33
<210>	3	
<211>	30	
<212>	ADN	
<213>	Trình tự Nhân tạo	
<220>		
<223>	Oligonucleotit Tổng hợp	
<400>	3	
	tcgcctcgag gcgagcccgc aaccgctgga	30
<210>	4	
<211>	32	
<212>	ADN	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Oligonucleotit tổng hợp	
<400>	4	
	aatcgaattc ttaacgctgc cagtgcctcaa tc	32
<210>	5	
<211>	866	
<212>	ADN	

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Polynucleotit tổng hợp

<400> 5

atggggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttctgttcca gggggcccgcg	60
agcccgaac cgctggagca gatcaagcag tctgagagcc agctgagcgg ccgtgtgggt	120
atgatcgaga tggatctggc ttccggccgt acgtgacgg catggcgtgc cgacgaacgt	180
ttcccgatga tgtcgacctt taaagttggt ctgtgtggtg cggctcttggc acgtgtagac	240
gcgggtgacg aacaactgga gcgcaagatc cattaccgcc aacaggactt ggtcgactac	300
agcccgggta gcgaaaagca cctggcggat ggcatgaccg tgggtgaatt gtgcgccgct	360
gcgattacca tgagcgacaa tagcgcggct aatctgctgt tggcgaccgt tgggtggcca	420
gcgggcttga ccgcatttct gcgtcaaate ggcgataatg ttacgcgtct ggatcgctgg	480
gaaacggagc tgaacgaggc actgccgggt gatgcccggtg ataccacgac tcctgctagc	540
atggcagcga ccctgcgtaa actgctgacc agccagcgtc tgagcgcacg tagccaacgc	600
cagctgctgc aatggatggg ggatgaccgc gtggcgggtc cgctgatccg ctccgtcctg	660
ccagcaggct ggttcattgc ggacaaaact ggtgcctcta agcgtgggtgc gcgtggatc	720
gtcgcgtgc tgggtccgaa caacaaagcc gaacgtattg tggttatcta tctgcgcgac	780
accccgga gcatggccga gcgcaaccag caaattgcgg gcattgggtgc ggcactgatt	840
gagcactggc agcgttaacg ccggcg	866

<210> 6

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Oligonucleotit tổng hợp

<400> 6

tcgcctcgag gcgagcccgc aaccgctgga	30
----------------------------------	----

<210> 7

<211> 32

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Oligonucleotit Tổng hợp

<400> 7

aatcgaattc ttaacgctgc cagtgtcaa tc	32
------------------------------------	----

<210> 8

<211> 32

<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Oligonucleotit tổng hợp

<400> 8

gattgagcac tggcagcggt aagaattcga tt

32

<210> 9

<211> 884

<212> ADN

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polynucleotit Tổng hợp

<400> 9

atggggccatc atcatcatca tcacagcagc ggccctggaag ttctgttcca ggggcccgcg 60

actgcgctga cgaatttggt ggccgagccg ttccgcgaat tggagcaaga ttttggtggt 120

tcgatcgggtg tctacgcgat ggacaccggt agcgggtgcca ccgtgagcta ccgtgccgaa 180

gagcggtttc cgctgtgtag ctctttcaag ggttttctgg ccgcagccgt gctggcacgc 240

agccaacagc aagcgggcct gctggacacc ccgatccgtt acggcaaaaa tgcgctgggt 300

ccgtggagcc cgattagcga aaagtacctg accaccggca tgacgggtggc ggagttgagc 360

gctgcgggcg ttcagtattc cgataacgct gcggaacaat tgctgctgaa agaactgggc 420

ggtccagcgg gtctgacggc tttcatgcgt tctattggcg acaccacctt tcgcttgagc 480

cgctgggagc tggagctgaa cagcgcgatt ccgggagcag cacgtgatac gagcagcccg 540

cgtgcagtga ccgagagcct gcagaagctg accctgggca gcgcactggc cgcaccgcag 600

cgccaacagt tcgtcgattg gctgaagggt aacaccaccg gtaaccatcg tattcgcgca 660

gcgggtcccg ctgattgggc agttggtgac aagactggta cgtgcggcgt ttatggtacg 720

gcgaatgact acgcggttgt ttggcctacg ggtcgtgcgc cgatcgtoct ggcggtgtat 780

accggtgctc cgaacaaaga cgataaacac tccgaagcgg tcatcgccgc agcagcgcgt 840

ctggccctgg aaggcttggg cgtaaatggt cagtaacgcc ggcg 884

<210> 10

<211> 32

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Oligonucleotit tổng hợp

<400> 10

tcgcctcgag gcgactgcgc tgacgaattt gg

32

<210> 11

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Oligonucleotit tổng hợp
 <400> 11
 aatcgaattc ttactgacca ttaacgccca agc 33
 <210> 12
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Oligonucleotit tổng hợp
 <400> 12
 gcttgggcgt taatgggtcag taagaattcg att 33
 <210> 13
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Oligonucleotit tổng hợp
 <400> 13
 ttcactgcag tgaacgttgc gaagcaacgg c 31
 <210> 14
 <211> 41
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Oligonucleotit tổng hợp
 <400> 14
 tcgaggatcc tcgagagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc g 41
 <210> 15
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Oligonucleotit tổng hợp
 <400> 15
 ccgtctagac ggatggcctt tttgcgtttc 30
 <210> 16
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Oligonucleotit tổng hợp

<400>	16	
aatcgaattc ttactgacca ttaacgccca agc		33
<210>	17	
<211>	32	
<212>	ADN	
<213>	Trình tự nhân tạo	
<220>		
<223>	Oligonucleotit tổng hợp	
<400>	17	
aatcgaattc ttaacgctgc cagtgctcaa tc		32