

TỔNG HỢP THUỐC CHỐNG CÚM ZANAMIVIR TỪ AXIT SIALIC SYNTHESIS OF THE ANTI-INFLUENZA AGENT ZANAMIVIR FROM SIALIC ACID

Nguyễn Quyết Chiến, Ngô Ngọc Thắng, Nguyễn Thị Minh Hằng,

Trần Quốc Toàn, Trần Thị Thu Thủy

Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

18 - Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

Email: chientc48@yahoo.com

Tóm tắt:

Zanamivir (tên thương mại là Relenza, hãng GSK) là thuốc ức chế enzym neuraminidase, được dùng để điều trị và phòng ngừa bệnh cúm do các vi rút cúm tuýp A, B và C gây ra trên người. Trên cơ sở sơ đồ tổng hợp do các nhà khoa học của hãng GSK công bố (J. Chem. Soc. Perkins Trans. I, 1995, 1173-1180 & 1189-1197), zanamivir đã được chúng tôi tổng hợp thành công từ axit sialic (axit N-acetylneuraminic) qua 7 bước phản ứng. Một số bước phản ứng, đặc biệt là các phản ứng điều chế chất trung gian chìa khóa oxazolin, đã được tối ưu hóa. Hiệu suất oxazolin đạt 74%, cao hơn hiệu suất công bố trong tư liệu (61.7%). Hiệu suất tổng thể cho zanamivir đạt 6.6%.

Abstract:

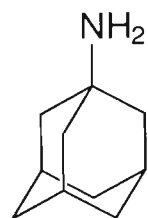
Zanamivir (under trade name Relenza, GSK) is a neuraminidase inhibitor used in the treatment and prophylaxis of influenza caused by the influenza viruses A and B. Based on the synthetic scheme publicized by GSK's scientists (J. Chem. Soc. Perkins Trans. I, 1995, 1173-1180 & 1189-1197), zanamivir was prepared from sialic acid in 7 steps. Several steps were optimized to obtain higher yield, especially for the preparation of the key intermediate oxazoline. The yield for oxazoline was 74%, which is higher than reported data (61.7%). The overall yield for zanamivir was 6.6%.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

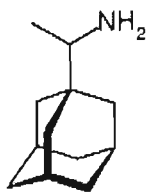
Bệnh cúm là một bệnh truyền nhiễm ở người, động vật có vú và các loài chim, gây ra bởi các vi rút cúm tuýp A, B và C, là các vi rút có cấu trúc RNA thuộc họ Orthomyxoviridae. Ở những trường hợp nặng, bệnh cúm gây ra viêm phổi, suy hô hấp và có thể dẫn tới tử vong, đặc biệt đối với trẻ em, phụ nữ có thai, người già và người có bệnh kinh niên. Bệnh cúm lây nhiễm qua đường hô hấp và qua tiếp xúc, vì thế lan nhanh và có khả năng gây ra nạn dịch trong phạm vi rất rộng. Ba đại dịch cúm lớn nhất của thế kỷ 20 đã cướp đi sinh mạng của gần trăm triệu người, chưa kể hàng năm còn có hàng nghìn người chết do cúm mùa. Gần đây nhất, dịch cúm H5N1 bùng phát năm 2004 có tỷ lệ tử vong khá cao (60%, tính đến 2009: 262 người chết). Còn dịch cúm H1N1 bắt nguồn từ lợn ở Mexico tháng 4/2009 có khả năng lây truyền từ người sang người, được WHO chính thức tuyên bố là đại dịch từ tháng 6/2009. Thông báo ngày 11/10/2009 của WTO cho biết đã có 74 nước trên thế giới bị nhiễm H1N1 và 4735 người chết. Riêng ở Việt nam, tính đến ngày 21/10/2009, cả nước đã có 25 bệnh nhân H1N1 tử vong trong số gần 10.300 ca dương tính.

Các hướng đi chủ yếu để đối phó với khả năng bùng phát dịch cúm là phát triển các vắc xin đặc hiệu và dự trữ các thuốc chống vi rút, gồm các thuốc ức chế enzym neuraminidase

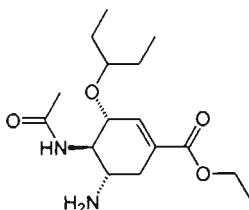
(oseltamivir và zanamivir) và các thuốc ức chế kênh ion M2 (amantadine và rimantadine) của vi rút cúm. Sự cần thiết phải có nhiều biện pháp là do khả năng biến dị rất cao của các loại vi rút nguy hiểm này, dẫn đến nhờn thuốc (như trường hợp của các thuốc ức chế kênh ion M2, amantadine và rimantadine), và vắc xin cũng phải thường xuyên đổi mới. Hiện tại, cùng với tiêm phòng bằng vắc xin, oseltamivir và zanamivir là các thuốc chống vi rút được WHO khuyến cáo nên ưu tiên sử dụng.



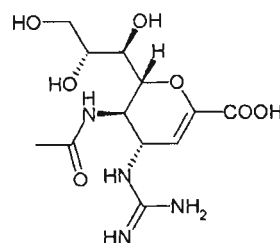
Amantadine



Rimantadine



Oseltamivir



Zanamivir

Hình 1: Các thuốc chống vi rút hiện nay được dùng để chữa bệnh cúm

Năm 2005, trước nhu cầu khẩn cấp về thuốc cho phòng ngừa đại dịch cúm, Viện Hóa học (Viện KH&CN Việt Nam) chúng tôi đã được chính phủ cho phép nghiên cứu tổng hợp hoạt chất oseltamivir từ nguồn nguyên liệu hồi trong nước. Trước tiên chúng tôi đã xây dựng quy trình công nghệ chiết xuất và tinh chế axit shikimic từ quả hồi của Việt Nam, đã thử nghiệm trên quy mô 200 kg hồi khô/mẻ. Kết quả đã thu được axit shikimic có hàm lượng trên 90%, đáp ứng đủ tiêu chuẩn làm nguyên liệu cho tổng hợp hóa học. Các qui trình tổng hợp oseltamivir từ axit shikimic tiếp theo được chọn lựa trên cơ sở đúc kết các tư liệu đã được thế giới công bố, sau đó được thử nghiệm và cải tiến cho đến khi có hiệu suất khả quan và ổn định [1]. Kết quả chúng tôi đã xây dựng được quy trình tổng hợp hoạt chất oseltamivir photphat gồm 14 bước phản ứng, qui mô phòng thí nghiệm 100 g/mẻ, ổn định và phù hợp với điều kiện Việt Nam, hiệu suất tổng thể đạt 26% (tính từ axit shikimic), bằng 70% so với hiệu suất công bố của thế giới, sản phẩm đạt tiêu chuẩn làm thuốc [2].

Tiếp tục hướng nghiên cứu này, chúng tôi đã khảo sát khả năng tổng hợp ở Việt Nam thuốc chống cúm zanamivir từ axit sialic.

II. ZANAMIVIR

Cùng với oseltamivir, hiện nay zanamivir là thuốc duy nhất có tác dụng phòng và chống dịch cúm do các vi rút H5N1 và H1N1 gây ra ở người. Nước ta đã có sự chuẩn bị về thuốc oseltamivir (Tamiflu), nhưng zanamivir còn chưa có. Trong khi đó, các nước như Mỹ, Pháp và Úc đã mua dự trữ một lượng lớn loại thuốc này. Năm 2006, nước Úc dự trữ 3,8 triệu liều oseltamivir, 275.000 liều zanamivir và dự tính tổng số sẽ tăng lên 8,75 triệu liều vào đầu năm 2007. Năm 2006, cơ quan bảo vệ sức khỏe HHS của Mỹ đã mua 16,8 triệu USD thuốc zanamivir và dự tính sẽ mua 15,5 triệu liều trong 2 năm tiếp theo [3].

Zanamivir là thuốc cúm đầu tiên thuộc dòng NI được phát minh và thương mại hoá, trước cả oseltamivir. Tên khoa học của zanamivir là axit 5-acetamido-4-guanidino-6-(1,2,3-trihydroxy-propyl)-5,6-dihydro-4H-pyran-2-carboxylic (9). Sự phát minh ra zanamivir là kết quả nghiên cứu lâu dài, bắt đầu từ những năm 1960-1989 của các nhà khoa học thuộc công ty Biota của Úc, hợp tác với Viện nghiên cứu CSIRO và trường Đại học Dược Victorian [4]. Năm 1974, Meindl đã phát hiện ra DANA (axit 2,3-dideoxy-2,3-didehydro-N-acetylneuraminic) là một chất ức chế enzym neuraminidase. Dựa trên các kết quả nghiên cứu cấu trúc tinh thể của neuraminidase và DANA bằng nhiễu xạ tia X, von Itzstein và các cộng sự đã sử dụng máy tính để thiết kế về mặt lý thuyết các phân tử mới có khả năng khớp vừa vặn vào vị trí hoạt động của enzym neuraminidase, rồi tiến hành tổng hợp ra chúng. Kết quả

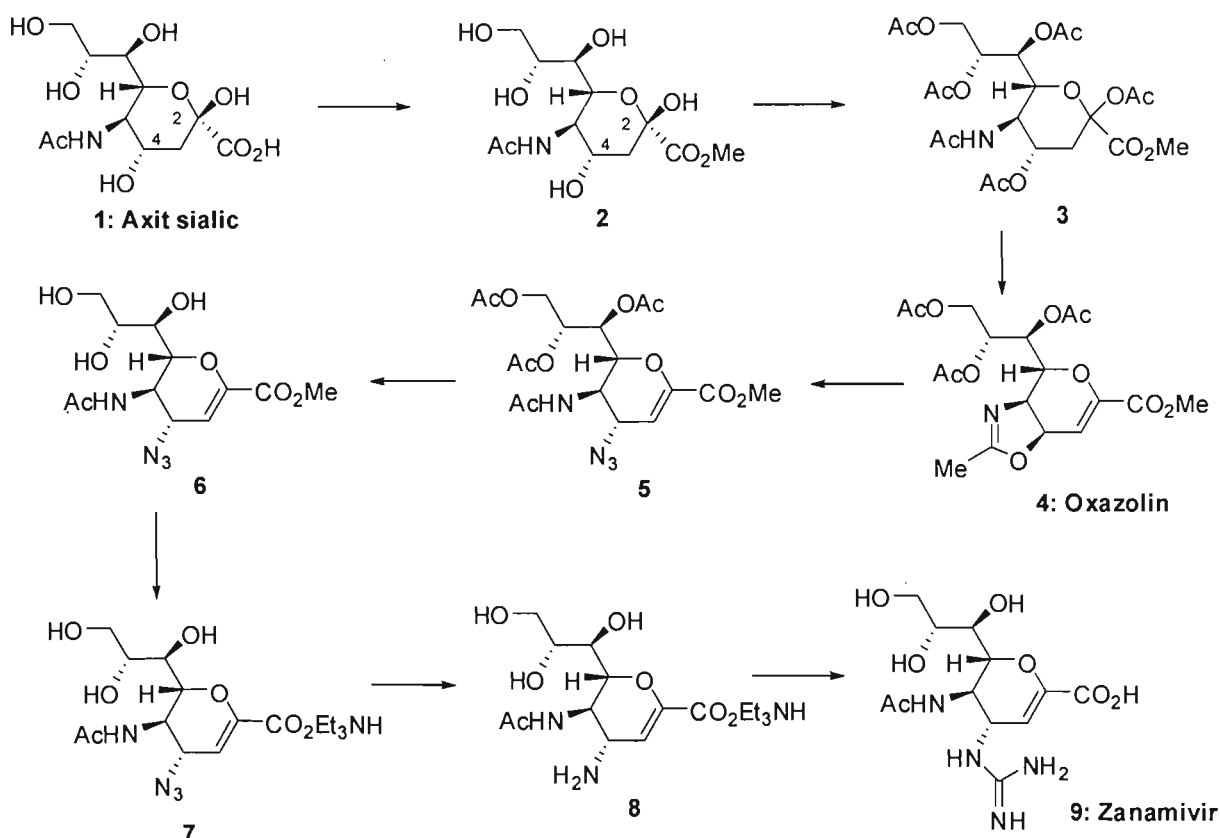
đã tìm thấy zanamivir là chất có hoạt tính cao nhất trong số các chất đã tổng hợp ra được. Năm 1990, hãng GlaxoSmithKline mua lại bản quyền phát minh và thương mại hoá sản phẩm dưới tên Relenza. Năm 1999, zanamivir được quyền lưu hành ở Mỹ và hiện nay đã lưu hành ở 70 nước. Năm 2006, cơ quan FDA của Mỹ chính thức chấp nhận sử dụng zanamivir cho chiến dịch phòng ngừa bệnh cúm gia cầm. Việc phát minh ra zanamivir mở đường cho các nghiên cứu tìm thuốc mới có cùng tác dụng ức chế enzym neuraminidase. Một trong những kết quả đó là việc phát minh ra oseltamivir (tên thương mại là Tamiflu) vào năm 1996. Các nghiên cứu theo hướng này vẫn đang được các nhà khoa học trên thế giới tiếp tục theo đuổi [5] để tìm các thuốc tốt hơn nữa.

III. AXIT SIALIC (AXIT N-AXETYLNEURAMINIC)

Axit sialic là nguyên liệu đầu để tổng hợp zanamivir. Tên axit sialic (**1**) dùng chung để chỉ các dẫn xuất thế ở vị trí O- và N- của axit neuraminic, dùng riêng để chỉ axit N-axetylneuraminic (**1**, viết tắt là Neu5Ac2en). Axit sialic thuộc nhóm các carbohydrat và có mặt rộng khắp trong các tế bào động vật, trong các vi sinh vật, đặc biệt trong các glycoprotein và gangliosid. Axit sialic thương mại được chiết xuất từ nước ót (whey) của các quá trình chế biến phomat và sữa, cũng như từ lòng đỏ trứng, có giá bán khá cao (khoảng 5.000 USD/kg) [6].

IV. QUÁ TRÌNH TỔNG HỢP ZANAMIVIR

Tư liệu về quá trình tổng hợp zanamivir không nhiều. Zanamivir được tổng hợp và công bố đầu tiên vào năm 1994 bởi von Itzstein và các nhà khoa học tại khoa Hóa dược, Đại học tổng hợp Monash (Australia) [7]. Sau đó Chandler và các cộng sự của công ty Glaxo (GSK, Anh) tiếp thu kết quả, cải tiến các bước phản ứng và công bố năm 1995 [8]. Theo công bố, phương pháp này cho hiệu suất tổng thể 8,3%, quá trình tổng hợp được mô tả trên Hình 2.



Hình 2: Quá trình tổng hợp zanamivir theo Chandler [8]

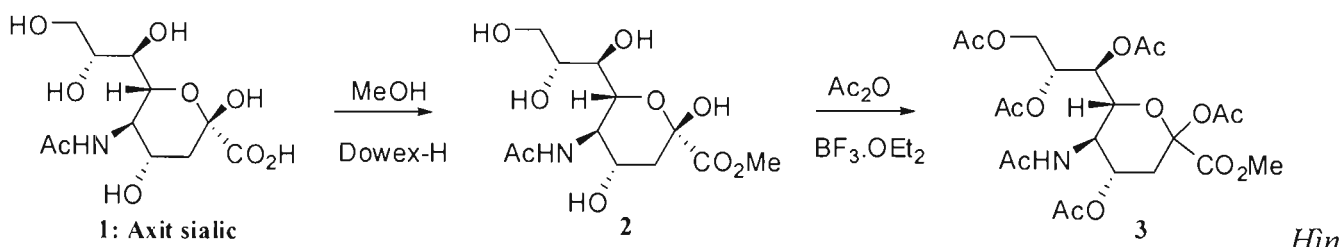
Theo đó, trước tiên hợp chất *O*-pentaacetyl **3** được điều chế từ axit sialic (**1**) qua hai bước, rồi được xử lý với $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ để tạo ra chất trung gian chìa khóa oxazoline **4**. Hợp chất này chịu sự tấn công nucleophile bởi azide (LiN_3 hoặc Me_3SiN_3) cho azide **5** có cấu hình đảo ngược với độ chọn lọc cao. Tuy nhiên việc sử dụng LiN_3 sẽ không an toàn khi tiến hành thao tác ở lượng lớn. Sau hai bước giải phóng các nhóm bảo vệ, hydro hóa nhóm azide với xúc tác Pd/C sẽ được amine **8**. Quá trình hydro hóa có thể tạo ra các sản phẩm phụ do chuyển dịch nhóm acetyl hoặc khử hóa liên kết đôi. Phản ứng của **8** với AIMSOA (axit aminoiminomethanesulfonic) sẽ tạo ra dẫn xuất guanidine, tức là zanamivir (**9**). Cho tới hiện tại, bài báo của Chandler là công bố duy nhất về phương pháp tổng hợp zanamivir mà sản phẩm thu được ở lượng lớn hơn miligam, đồng thời cũng cung cấp các chi tiết về điều kiện phản ứng và tính chất hóa lý của các chất.

Gần đây, nhóm nghiên cứu của Yao (Trung Quốc) [9] đã đưa ra một cách tiếp cận mới để tổng hợp ra hợp chất trung gian **5**. Các tác giả bắt đầu từ một nguyên liệu khác là D-glucono- δ -lactone, rẻ tiền hơn axit sialic, nhưng con đường tổng hợp tương đối dài và phức tạp (24 bước) và hiệu suất rất thấp (0,2%).

V. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tổng hợp methyl *N*-acetylneuramate (**2**) và *O*-pentaacetoxy (**3**) từ axit sialic [10]:

Chúng tôi sử dụng axit sialic (axit *N*-acetylneuraminic) 98% của Trung Quốc làm nguyên liệu đầu cho quá trình tổng hợp zanamivir. Khi thực hiện lại qui trình tổng hợp theo tài liệu do Chandler công bố [8], ngay từ phản ứng methyl hóa đầu tiên chúng tôi đã không thu được kết quả mong đợi, axit *N*-acetylneuraminic tỏ ra rất mẫn cảm với các điều kiện phản ứng và phương pháp tinh chế sản phẩm. Vì thế chúng tôi quyết định thử nghiệm các phương pháp este hóa với các xúc tác khác nhau. Thay vì este hóa bằng HCl/metanol như tài liệu mô tả, chúng tôi thử nghiệm thionyl chloride (SOCl_2) cũng như H_2SO_4 làm xúc tác cho phản ứng này. Kết quả thu được cũng không tốt hơn.



h 3: Sơ đồ điều chế dẫn xuất *O*-pentaacetoxy **3**

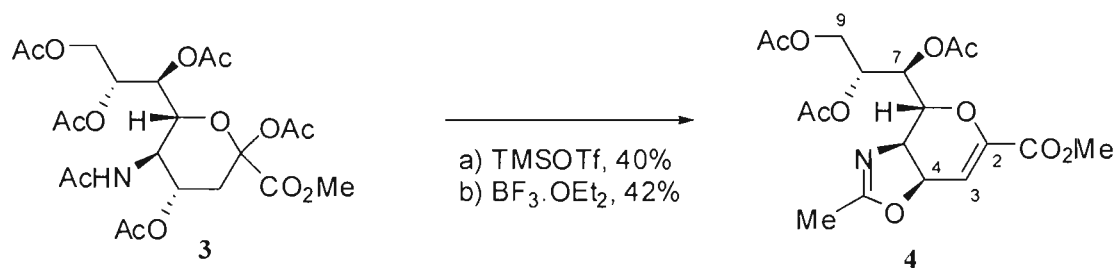
Khi áp dụng phương pháp của Warner [11], sử dụng nhựa trao đổi ion Dowex-H với vai trò xúc tác, phản ứng thực hiện ở nhiệt độ phòng trong khoảng 10 h, chúng tôi đã nhận được sản phẩm methyl este **4** của axit *N*-acetylneuraminic với hiệu suất 99%. Warner đã sử dụng 3 g nhựa / 0,97 g axit *N*-acetylneuraminic / 100 mL metanol và khuấy trong 3 h cho methyl este với hiệu suất 93%. Chúng tôi đã thay đổi chút ít quy trình để có thể tiết kiệm một lượng nhựa Dowex-H: 13 g nhựa / 25 g axit *N*-acetylneuraminic / 1200 mL metanol / 16 h. Nhựa trao đổi ion đã dùng làm phản ứng được rửa nhiều lần bằng metanol và có thể tái sử dụng cho phản ứng ester hóa mà không gây ảnh hưởng gì đến hiệu suất của phản ứng.

Tiếp theo chúng tôi khảo sát 3 phương pháp tổng hợp methyl 5-*N*-acetyl-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-neuramate (**3**) từ methyl este **2** (Hình 3). Trong phương pháp thứ nhất, hợp chất penta-acetoxy **3** được điều chế bằng cách xử lý este **2** với anhydrit axetic trong pyridin và xúc tác 4-(dimethylamino)pyridin (DMAP), cho hiệu suất 88%. Tuy nhiên chúng tôi nhận thấy, khi thực hiện phản ứng này ở lượng lớn thì việc sử dụng pyridin sẽ gây khó khăn cho quá trình xử lý sau phản ứng. Vì thế chúng tôi khảo sát phương pháp thứ hai, trong đó quá trình axetyl hóa **2** được tiến hành với $\text{Ac}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ở 80°C , kết quả cho sản phẩm đi

kèm với nhiều sản phẩm phụ. Trong phương án thứ ba, chúng tôi áp dụng một phương pháp axetyl hóa hiệu quả được công bố gần đây [12] sử dụng xúc tác $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ở 0°C . Kết quả chúng tôi đã thu được sản phẩm với hiệu suất trên 95%.

Như vậy hợp chất trung gian methyl 5-*N*-acetyl-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-neuraminate (gọi tắt là *O*-pentaacetoxy **3**) đã được tổng hợp theo các phương pháp khác nhau. Các phương pháp tốt nhất cho hiệu suất tổng thể là 94% (tính theo axit *N*-acetylneuraminic). Việc sử dụng các xúc tác là nhựa trao đổi ion Dowex-H (cho phản ứng este hóa) và $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (cho phản ứng axetyl hóa) có ưu điểm hơn so với các phương pháp công bố bởi các nhà khoa học của Glaxo.

Tổng hợp hợp chất trung gian chìa khoá oxazoline **4** từ *O*-pentaacetoxy **3** [13]:



Hình 4: Sơ đồ điều chế oxazoline **4** từ *O*-pentaacetoxy **3** theo phương pháp a và b

Trước hết, chúng tôi đã tiến hành khảo sát quá trình tổng hợp oxazoline **4** theo qui trình công bố của Chandler. Hợp chất *O*-pentaacetoxy **3** được tách loại 2 nhóm OAc và tạo vòng oxazoline nhờ tác dụng của axit Lewis mạnh là TMSOTf ở 52°C trong 2,5 h. Hiệu suất của phản ứng đạt 40%. Thử nghiệm thay thế TMSOTf bằng xúc tác $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ trong dichloromethane ở nhiệt độ phòng trong 1 đêm, hiệu suất phản ứng tạo vòng oxazoline từ penta-acetoxy **5** cũng đạt tương tự như phương pháp dung TMSOTf (42%). Để nâng cao hiệu suất, chúng tôi khảo sát phương pháp *one-pot* dựa theo tư liệu [14], đi trực tiếp từ methyl este **2** tới oxazoline **4**, mà không qua *O*-pentaacetoxy **3**.

Bảng 1 trình bày hiệu suất tổng của các quá trình tổng hợp oxazoline **4** từ axit shikimic mà chúng tôi thu được khi tiến hành theo 3 phương pháp: phương pháp theo Chandler (3 bước), Phương pháp cải tiến (3 bước, sử dụng Dowex-H^+ và $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$), và phương pháp ứng dụng kỹ thuật *one-pot* (2 bước). Kết quả chứng minh phương pháp *one-pot* là phương pháp có hiệu quả và rẻ tiền nhất.

Bảng 1. Hiệu suất tổng của các quá trình tổng hợp oxazoline **4** từ axit shikimic

Phương pháp	Tác nhân sử dụng	Hiệu suất tổng
Chandler (3 bước)	MeOH/HCl, Ac_2O /DMAP, TMSOTf	17,6%
Cải tiến (3 bước)	MeOH/ Dowex-H^+ , Ac_2O / $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$,	39,5%
One-pot (2 bước)	MeOH/ Dowex-H^+ , Ac_2O / AcOH / H_2SO_4 (10:10:1)	73,3%

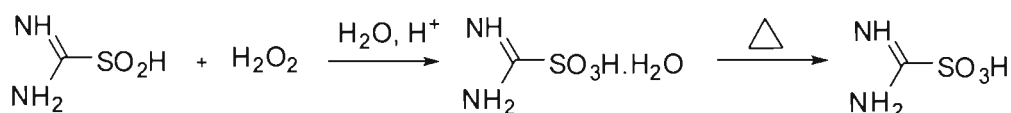
Như vậy, oxazoline **4** đã được tổng hợp từ axit sialic (**1**) theo 3 phương pháp khác nhau. Hai phương pháp tổng hợp qua giai đoạn tạo hợp chất penta-acetoxy **3** (3 bước từ axit sialic) tỏ ra không có hiệu quả vì hiệu suất thấp và cần đến các xúc tác tương đối đắt tiền (TMSOTf hoặc $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$). Phương pháp thứ ba, áp dụng kỹ thuật *one-pot* và không qua giai đoạn tạo hợp chất *O*-pentaacetoxy **3** (2 bước từ axit sialic), cho hiệu suất cao nhất (73,3%) và có hiệu quả kinh tế nhất.

Tổng hợp zanamivir từ hợp chất trung gian oxazoline 4 [15]:

Tiếp theo chúng tôi nghiên cứu các phản ứng đi từ hợp chất trung gian oxazoline 4 tới sản phẩm cuối cùng Zanamivir (9) (Hình 2).

Trước hết, oxazoline 4 được xử lý bằng trimethylsilyl azide (TMSN₃) ở 80 °C trong *t*-butanol trong khoảng 10 h. Phản ứng thế đã xảy ra với sự đảo ngược cấu hình ở C-4, cho ta hợp chất azide 5 mong muốn với hiệu suất 62%. Tiếp theo, các nhóm acetyl bảo vệ được loại bỏ trong điều kiện tương đối êm dịu bằng cách sử dụng NaOMe trong methanol khan ở điều kiện khí quyển trơ. Sau khi tinh chế bằng cách kết tinh lại, azido-este 6 thu được dưới dạng tinh thể màu trắng (hiệu suất 70%). Hợp chất 6 được thủy phân về dạng axit 7 (tồn tại dưới dạng muối với Et₃N) khi xử lý với triethylamine trong môi trường nước. Hydro hóa chọn lọc hợp chất 7 với xúc tác Lindlar trong 21 h sẽ cho amine 8, hiệu suất đạt 52% sau 2 bước.

Trong bước phản ứng cuối cùng, nhóm guanidine tại C-4 của zanamivir sẽ được tạo ra nhờ phản ứng của amine 8 với tác nhân AIMSOA (axit aminoiminomethanesulfonic). Theo tư liệu, tác nhân AIMSOA có thể được điều chế từ axit formamidinesulfonic (axit aminoiminomethanesulfonic, AIMSA) bởi tác dụng của axit peracetic 35% với hiệu suất 95-97% [16]. Tuy nhiên axit peracetic không có ở Việt Nam vì các nhà cung cấp từ chối vận chuyển do nguy hiểm. Gần đây, nhóm nghiên cứu của Pan [17] đã công bố phương pháp oxy hóa tạo AIMSOA bằng cách sử dụng một nguyên liệu sẵn có và rẻ tiền là H₂O₂ với quy trình đơn giản, dễ thực hiện.



Sơ đồ 4: Phương pháp điều chế AIMSOA theo Pan [17].

Theo phương pháp này, axit formamidinesulfonic được oxy hóa bằng H₂O₂ trong môi trường nước với xúc tác H₂SO₄ 0,5 N, sau đó đun nóng ở 60 °C để dehydrat hóa. Áp dụng phương pháp này, chúng tôi đã nhận được AIMSA dưới dạng tinh thể màu trắng với hiệu suất 93%.

Zanamivir (9) được điều chế từ amine 8 nhờ tác dụng với tác nhân AIMSOA, xúc tác NaOH và K₂CO₃ trong 16 h ở 20 °C. Sản phẩm được tinh chế qua cột nhựa trao đổi ion Dowex-H và kết tinh lại trong propanol-2 (hiệu suất 40%). Như vậy Zanamivir được tổng hợp thành công từ hợp chất trung gian oxazoline 4. Sản phẩm zanamivir có các dữ kiện phổ IR và NMR đúng với cấu trúc. Tuy nhiên hiệu suất chúng tôi thu được ở các giai đoạn này còn thấp hơn so với tư liệu.

VI. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã xây dựng được một qui trình ổn định gồm 7 bước chính, tổng hợp thành công zanamivir từ axit sialic với hiệu suất tổng thể là 6,6% (hiệu suất công bố của thế giới là 8,3%). Đặc biệt các giai đoạn đầu tiên, từ axit sialic đến oxazolin (4) đã được tối ưu hóa và cho hiệu suất tổng đạt 74%, cao hơn hiệu suất công bố của GSK (61,7%). Tuy nhiên hiệu suất chúng tôi thu được ở các giai đoạn sau còn thấp.

Lời cảm ơn

Các nghiên cứu trên được thực hiện nhờ kinh phí của đề tài cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam năm 2008 và 2009.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Quyết Chiến, "Chọn lựa một hướng đi trong nghiên cứu tổng hợp Oseltamivir (Tamiflu) ở Việt Nam", *Tạp chí Hoá học*, **45**(2), 199-206 (2007).
2. Nguyen Quyet Chien, Tran Thu Thuy, Doan Thi Mai Huong, Nguyen Van Hung, "Studies on the synthesis of the antiviral drug oseltamivir from Vietnamese raw materials", *Advances in Natural Sciences*, **9**(1), 81-88 (2008).
3. M. E. Harrod, S. Emery, D. E. Dwyer, *Medical Journal of Australia*, **2006**, *185*(10), 58-61.
4. M. Von Itzstein, W.-Y. Wu, G. B. Kok, et al., *Nature (London)*, **1993**, *363*, 418-423.
5. D. J. Tindal, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 1655-1658.
6. J. M. Eustache, Extraction of glycoproteins and sialic acid from whey, USP 4,042,576 (1977).
7. M. Von Itzstein, W. Y. Wu, B. Jin, *Carbohydr. Res.* **1994**, *259*, 301.
8. M. Chandler, et al., *J. Chem. Soc. Perkins Trans. I*, **1995**, 1173-1180 & 1189-1197.
9. K. G. Liu, S. Yan, Y. L. Wu, Z. L. Yao, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2269.
10. Trần Thị Thu Thủy, Trần Quốc Toàn, Nguyễn Thị Minh Hằng, Ngô Ngọc Thắng, Nguyễn Quyết Chiến, "Tổng hợp methyl 5-N-acetyl-2,6,7,8,9-penta-O-acetylneuraminat", *Tạp chí Hóa học*, **47** (6B), 264-268 (2009).
11. G. W. Thomas, S. O. John, *Biochemistry* **1979**, *18* (13), 2783-2787.
12. P. Tiwari, G. Agnihotri, A. K. Misra, *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, *24*, 723-732.
13. Trần Thị Thu Thủy, Trần Quốc Toàn, Nguyễn Thị Minh Hằng, Ngô Ngọc Thắng, Nguyễn Quyết Chiến, "Tổng hợp thuốc chống cúm zanamivir từ axit sialic, Phần II: Dẫn xuất oxazoline của Neu5Ac2en", Bài gửi đăng Hội nghị Hóa học Toàn Quốc 2010.
14. G. B. Kok, M. Campbell, B. Mackey, and M. von Itzstein, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 2811-2815 (1996).
15. Trần Thị Thu Thủy, Trần Quốc Toàn, Nguyễn Thị Minh Hằng, Ngô Ngọc Thắng, Nguyễn Quyết Chiến, "Tổng hợp thuốc chống cúm zanamivir từ axit sialic, Phần III: Từ dẫn xuất oxazoline tới zanamivir", Bài gửi đăng Hội nghị khoa học kỷ niệm 40 năm thành lập Viện Hóa học chất thiên nhiên 2010.
16. K. Kim, Y.-T. Lin, H. S. Mosher, *Tetrahedr. Lett.* **1988**, *29* (26), 3183-3186.
17. F. Pan, Z. Pan, *Synthetic Commun.* **2001**, *31* (19), 2891-2893.