(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) **1-0051148**

(51)[2020.01] **C07D 207/267**; A61K 31/4025; A61P 31/14; C07D 497/04; C07D 401/12; C07D 403/12; C07D 403/14; A61K 31/4015

(13) **B**

(21) 1-2021-07603 (22) 06/08/2021

(86) PCT/IB2021/057281 06/08/2021 (87) WO2021/250648 A1 16/12/2021

(30) 63/073,982 03/09/2020 US; 63/143,435 29/01/2021 US; 63/170,158 02/04/2021 US; 63/194,241 28/05/2021 US

(45) 25/09/2025 450 (43) 25/04/2022 409A

(73) PFIZER INC. (US)
66 Hudson Boulevard East, New York, NY 10001-2192, United States of America

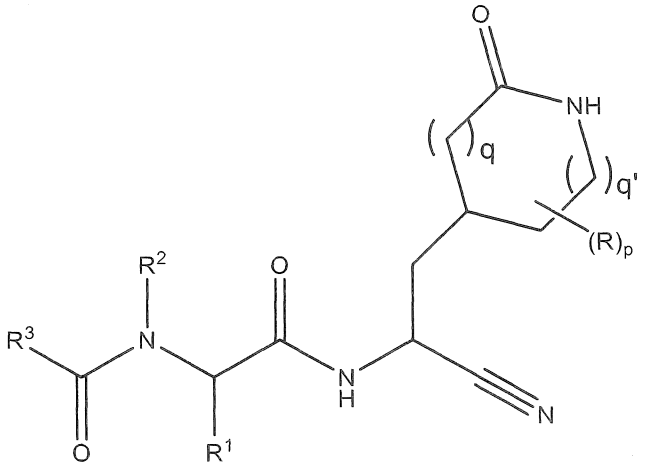
(72) OWEN, Dafydd Rhys (US); PETTERSSON, Martin Youngjin (US); REESE, Matthew Richard (US); SAMMONS, Matthew Forrest (US); TUTTLE, Jamison Bryce (US); VERHOEST, Patrick Robert (US); WEI, Liuqing (CN); YANG, Xiaojing (US); YANG, Qingyi (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT KHÁNG VIRUT CHỨA NITRIL VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2021-07603

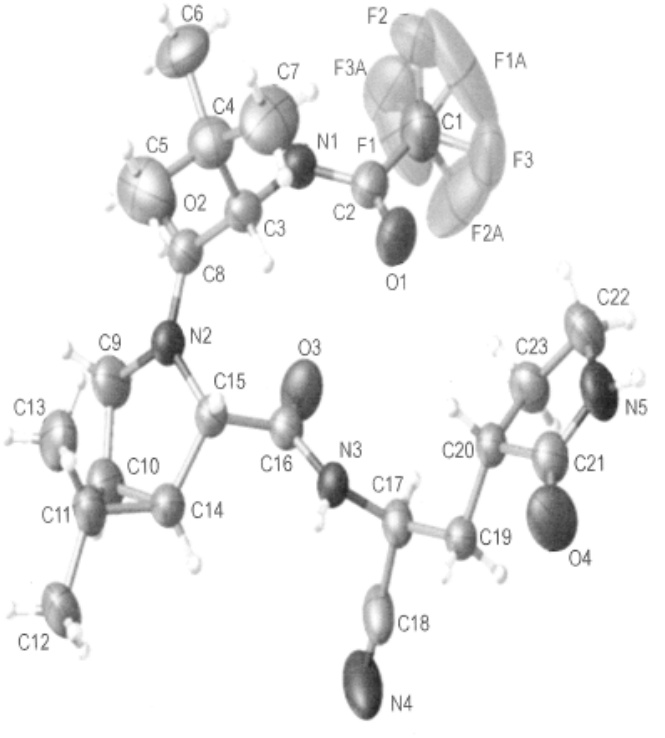
(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I”



I”

trong đó R, R^1, R^2, R^3, p, q và q’ là như được xác định ở đây, dược phẩm bao gồm các hợp chất này. Các hợp chất này là hữu ích để điều trị nhiễm coronavirut như COVID-19 ở bệnh nhân, và để ức chế hoặc ngăn ngừa quá trình sao chép của coronavirut như SARS-CoV-2.

FIG. 4



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất và các phương pháp ức chế hoạt tính sao chép virut bao gồm việc cho proteinaza tương tự 3C ("3CL" - 3C-like) liên quan tới SARS-CoV-2 tiếp xúc với lượng hữu hiệu trị liệu của chất ức chế proteaza tương tự 3C liên quan tới SARS-CoV-2. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp điều trị bệnh do Coronavirut 2019 (Coronavirus Disease 2019 - "COVID-19") gây ra ở bệnh nhân bằng cách dùng lượng hữu hiệu trị liệu của chất ức chế proteaza tương tự 3C liên quan tới SARS-CoV-2 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh. Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp điều trị COVID-19 ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của chất ức chế proteaza tương tự 3C liên quan tới SARS-CoV-2 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sự bùng phát trên toàn thế giới của bệnh do Coronavirut 2019 ("COVID-19") gây ra liên quan tới sự xuất hiện của nó bắt nguồn từ cuối năm 2019 ở Vũ Hán, tỉnh Hồ Bắc, Trung Quốc. Đến giữa năm 2020, sự bùng phát của COVID-19 đã phát triển thành dịch bệnh toàn cầu với hàng triệu người được xác định là đã mắc bệnh và dẫn đến hàng trăm trong số hàng nghìn người tử vong. Tác nhân gây ra bệnh COVID-19 được xác định là coronavirut mới có tên gọi là Virut Corona gây ra hội chứng đường hô hấp cấp tính nghiêm trọng (Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 - "SARS-CoV-2"). Trình tự bộ gen của SARS-CoV-2 được giải trình tự từ việc phân lập thu được từ chín bệnh nhân ở Vũ Hán, Trung Quốc và đã nhận thấy rằng nó là phân nhóm *Sarbecovirut* của nhóm *Betacoronavirut*. Lu, R. et al. The Lancet, 395, 10224, 565-574; trên trực tuyến vào ngày 29 tháng 1 năm 2020. Đã nhận thấy rằng trình tự của SARS-CoV-2 có mức tương đồng là 88% so với hai coronavirut tương tự SARS bắt nguồn từ dơi, bat-SL-CoVZC45 và bat-SL-CoVZXC21, mà được thu gom vào năm 2018 ở Chu Sơn, phía đông Trung Quốc. SARS-CoV-2 cũng được nhận thấy là có mức tương đồng khoảng 79% với Virut Corona gây ra hội chứng đường hô hấp cấp tính nghiêm trọng ("SARS-CoV"), tác nhân gây ra bệnh

SARS bùng phát vào năm 2002-2003, và có mức tương đồng khoảng 50% với Coronavirut gây ra hội chứng hô hấp Trung Đông (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus - "MERS-CoV"), tác nhân gây ra bệnh của virut đường hô hấp bùng phát bắt nguồn ở Trung Đông năm 2012. Trên cơ sở phân tích gần đây của 103 bộ gen được giải trình tự của SARS-CoV-2, đã gợi ý rằng SARS-CoV-2 có thể được chia thành hai loại chính (loại L và S) với loại S là do di truyền và loại L được phát triển từ loại S. Lu, J.; Cui, J. et al. On the origin và continuing evolution of SARS-CoV-2; *National Science Review*, 7(6), June 2020, 1012-1023, http://doi.org/10,1093/nsr/nwaa036. Loại S và L có thể được xác định rõ ràng chỉ bởi hai SNP được liên kết chặt chẽ ở các vị trí 8.782 (đồng nghĩa với *orf1ab*:T8517C) và 28.144 (*ORF8*: C251T, S84L). Trong 103 bộ gen được phân tích, loại L chiếm xấp xỉ 70% và loại S chiếm xấp xỉ 30%. Không nhận thấy rõ ràng rằng sự phát triển loại L từ loại S xuất hiện ở người hoặc thông qua động vật trung gian lây bệnh nhưng nhận thấy rằng loại L xâm lấn mạnh hơn so với loại S và ngăn cản con người trong việc nỗ lực để ngăn sự bùng phát có thể làm dịch chuyển tỷ lệ tương đối của loại L và loại S ngay sau khi bắt đầu bùng phát SARS-CoV-2. Việc phát hiện ra các phân nhóm S và L được gợi ý về SARS-CoV-2 đưa ra khả năng rằng cá thể có khả năng bị nhiễm đồng thời cả hai phân nhóm này. Xem xét mối đe dọa về sự phát triển này, cần có nhu cầu cấp bách trong lĩnh vực kỹ thuật để điều trị hiệu quả COVID-19 và các phương pháp ức chế quá trình sao chép coronavirut SARS-CoV-2.

Bằng chứng gần đây rõ ràng chỉ ra rằng coronavirut SARS-CoV-2 mới xuất hiện là tác nhân gây ra bệnh COVID-19 (Trung tâm kiểm soát bệnh - Centers for Disease Control (CDC)) có khả năng truyền bệnh từ người sang người dẫn đến sự lan tràn của virut này trong cộng đồng. Trình tự của SARS-CoV-2 làm tăng miền gắn kết thụ thể protein (protein receptor-binding domain - "RBD"), bao gồm môtyp gắn kết thụ thể (receptor-binding motif - RBM) của nó tiếp xúc trực tiếp thụ thể enzym chuyển hóa angiotensin 2, ACE2 (the angiotensin-converting enzyme 2 receptor), là tương tự với RBD và RBM của SARS-CoV, gợi ý chắc chắn rằng SARS-CoV-2 sử dụng ACE2 làm thụ thể của nó. Wan, Y.; Shang, J.; Graham, R.; Baric, R.S.; Li, F.; Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus; J. Virol. 2020; doi:10.1128/JVI.00127-20. Một vài gốc quan trọng trong RBM của SARS-CoV-2 (đặc biệt là Gln^{493}) tạo ra sự tương tác thích hợp với ACE2 người, tương đồng với khả năng lây nhiễm tế bào người của SARS-CoV-2. Một vài gốc quan trọng khác trong

RBM của SARS-CoV-2 (đặc biệt là Asn^{501}) là tương hợp với, nhưng không lý tưởng để, gắn kết ACE2 người, gợi ý rằng SARS-CoV-2 sử dụng quá trình gắn kết ACE2 trong một số khả năng truyền bệnh từ người sang người.

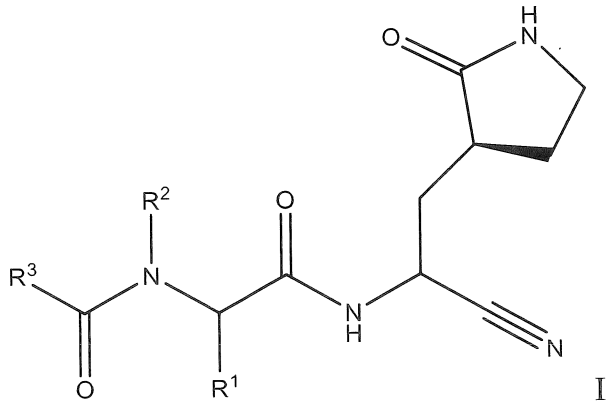
Chức năng sao chép và phiên mã Coronavirut được mã hóa bởi gen được gọi là "replicaza" (Ziebuhr, J., Snijder, E.J., and Gorbalenya, A.E.; Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the *Nidovirales*. J. Gen. Virol. 2000, 81, 853-879; and Fehr, A.R.; Perlman, S.; Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis, Methods Mol. Biol. 2015; 1282: 1–23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1), mà cấu thành từ hai polyprotein xếp chồng được xử lý phổ biến bởi virut proteaza. Vùng gần C được xử lý ở mười một nhóm chức bên trong miền được bảo toàn bởi miền coronavirut hoặc proteaza "tương tự 3C" (Ziebuhr, Snijder, Gorbalenya, 2000 and Fehr, Perlman et al., 2015). Tên gọi proteaza "tương tự 3C" xuất phát từ các tương đồng nhất định giữa enzym coronavirut và picornavirut 3C proteaza đã biết rõ. Các tương đồng này bao gồm các ưu tiên cơ chất, sử dụng xystein làm vị trí hoạt tính ái nhân trong quá trình xúc tác, và các tương đồng trong các gấp nếp polypeptit toàn phần giả định của chúng. Nhận thấy rằng trình tự 3CL proteaza của SARS-CoV-2 (Số truy cập YP_009725301.1) có cùng mức tương đồng 96,08% khi được so sánh với 3CL proteaza của SARS-CoV (Số truy cập YP_009725301.1) Xu, J.; Zhao, S.; Teng, T.; Abdalla, A.E.; Zhu, W.; Xie, L.; Wang, Y.; Guo, X.; Systematic Comparison of Two Animal-to-Human Transmitted Human Coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV; Viruses 2020, 12, 244; doi:10.3390/v12020244. Mới đây, Hilgenfeld và các đồng nghiệp đã công bố cấu trúc tia X rửa giải mức cao của proteaza chính của coronavirut SARS-CoV-2 (3CL) Zhang, L.; Lin, D.; Sun, X.; Rox, K.; Hilgenfeld, R.; X-ray Structure of Main Protease of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2 Enables Design of α-Ketoamide Inhibitors; bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.17.952879. Cấu trúc này chỉ ra rằng có sự khác nhau khi so sánh 3CL proteaza của SARS-CoV-2 và SARS-CoV. Trong SARS-CoV chứ không phải trong dime 3CL proteaza của SARS-CoV-2, có sự tương tác phân cực giữa hai miền III liên quan đến liên kết hydro 2,60-Å giữa các nhóm hydroxyl mạch bên của gốc Thr^{285} của mỗi gen thúc đẩy, và được hỗ trợ bởi phần tiếp xúc kỵ nước giữa mạch bên của Ile^{286} và Thr^{285} $C\gamma_2$. Trong 3CL của SARS-CoV-2, threonin được thay thế bằng alanin, và isoleuxin bằng leuxin khi được so sánh với các gốc tương tự trong 3CL của SARS-CoV. Việc thay thế Thr285Ala được quan sát trong 3CL proteaza của SARS-CoV-2 cho phép

hai miền III tiếp cận với nhau với mức gần nhau hơn (khoảng cách giữa các nguyên tử Cα của các gốc 285 trong các phân tử A và B là 6,77 Å trong 3CL proteaza của SARS-CoV và 5,21 Å trong 3CL proteaza của SARS-CoV-2 và khoảng cách giữa các tâm của khối của hai miền III rút ngắn từ 33,4 Å xuống 32,1 Å). Ở vị trí hoạt động 3CL của SARS-CoV-2, Cys^{145} và His^{41} tạo ra bộ đôi xúc tác, mà khi cùng với phân tử nước bị vùi được liên kết hydro với His^{41} có thể được coi là tạo nên bộ ba xúc tác của 3CL proteaza của SARS-CoV-2. Đối với sự lan tràn của SARS-CoV-2 gây ra sự bùng phát của COVID-19 trên toàn cầu, mong muốn có các phương pháp ức chế quá trình sao chép virut SARS-CoV-2 và điều trị COVID-19 mới ở bệnh nhân.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các hợp chất mới có tác dụng ức chế hoặc ngăn ngừa quá trình sao chép virut SARS-CoV-2 và do đó là hữu ích để điều trị COVID-19. Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm bao gồm các hợp chất và các phương pháp điều trị COVID-19 và ức chế quá trình sao chép virut SARS-CoV-2 bằng cách dùng các hợp chất theo sáng chế hoặc dược phẩm bao gồm các hợp chất theo sáng chế. Cần hiểu rằng mỗi phương pháp của các phương án điều trị dưới đây cũng có thể tạo nên như phương án về loại sử dụng tương ứng. Ví dụ, bất kỳ trong số các hợp chất, hoặc các muối dược dụng, hoặc các solvat hoặc hydrat của chúng, hoặc các muối dược dụng của các hợp chất, các solvat hoặc hydrat như được nêu trong phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83 có thể được sử dụng để dùng làm thuốc hoặc theo cách khác để sử dụng trong phương pháp điều trị như được mô tả trong phương án bất kỳ trong số các phương án từ E36 đến E41, E47 đến E49, E52 đến E58a, E69 đến E74, E77 đến R79, E85 đến E93 và E95 đến E98.

E1 là hợp chất của E45 hoặc E59, dưới đây, có công thức **I**



I ;

hoặc muối dược dụng của nó; trong đó R^1 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_6 alkyl mà tùy ý được thế bằng xyano hoặc bằng một đến năm flo; C_2-C_6 alkynyl; và (C_3-C_6 xycloalkyl)-C_1-C_3 alkyl mà tùy ý được thế bằng một đến hai phần tử thế được chọn từ triflometyl và C_1-C_3 alkyl hoặc bằng một đến năm flo; R^2 là hydro hoặc R^2 và R^1 cùng với nguyên tử nitơ và nguyên tử cacbon mà chúng được gắn vào là vòng pyrolidin hoặc piperidin mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2a}; R^{2a} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, C_1-C_6 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo và C_1-C_6 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào các cacbon liền kề và cùng với các cacbon mà chúng được gắn vào là C_3-C_6 xycloalkyl được ngưng tụ mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào cùng một cacbon và cùng với cacbon mà chúng được gắn vào là spiro C_3-C_6 xycloalkyl mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; R^{2b} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ flo, C_1-C_3 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo, và C_1-C_3 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo; R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_8 alkyl, C_1-C_8 alkoxy, (C_1-C_6 alkoxy)-C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkynyl, C_2-C_6 alkynyloxy, C_3-C_{12} xycloalkyl tuỳ ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl, (C_3-C_{12} xycloalkyl)-C_1-C_6 alkyl, C_3-C_{12} xycloalkoxy, (C_3-C_{12} xycloalkoxy)-C_1-C_6 alkyl, heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh mà tùy ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl và trong đó heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, (heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, C_6-C_{10} aryl tuỳ ý được ngưng tụ với C_4-C_6 xycloalkyl hoặc heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh, (C_6-C_{10} aryl)-C_1-C_6 alkyl, heteroaryl có 5 đến 10 cạnh bao gồm một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, mà tùy ý được ngưng tụ với C_5-C_6 xycloalkyl; (heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (C_6-C_{10} aryl)-(heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)- trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, (heteroaryloxy có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)-(heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)- trong đó mỗi gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)-(heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và gốc heteroaryl chứa

một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)-(heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; trong đó mỗi nhóm R^3 tuỳ ý được thế bằng một đến năm R^4; R^4 mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm oxo, halo, hydroxy, xyano, phenyl, benzyl, amino, (C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, di(C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến mười flo, C_1-C_6 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_3 alkoxy-C_1-C_3 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_3-C_6 xycloalkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo hoặc C_1-C_3 alkyl, C_1-C_6 alkyl-C(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-$S(O)_2NH$- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-C(O)- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-$S(O)_n$- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo; và

n mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ 0, 1 và 2.

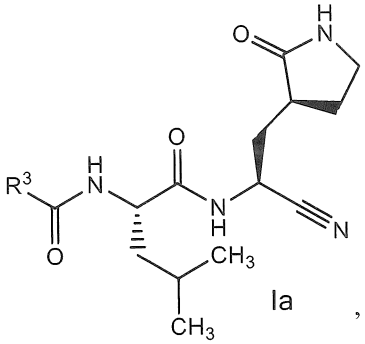
E2 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E45 và E59 trong đó R^1 được chọn từ nhóm bao gồm $(CH_3)_2CHCH_2$-, $(CH_3)_3CCH_2$-, xyanometyl, 2-xyanoetyl, 2,2-difloetyl, 2,2,2-trifloetyl, 3,3-diflopropyl, 3,3,3-triflopropyl, 3,3,3-triflo-2-metylpropyl, xyclopropylmetyl, (2,2-difloxyclopropyl)metyl, [1-(triflometyl) xyclopropyl]metyl, (2-metylxyclopropyl)metyl, (3,3-difloxyclobutyl)metyl, xyclopentylmetyl và propynyl; và R^2 là hydro; hoặc muối dược dụng của nó.

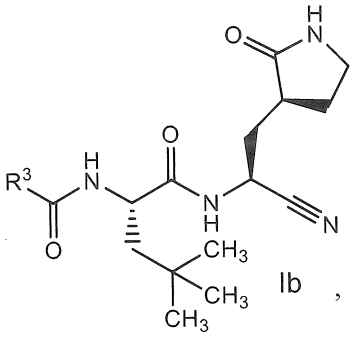
E3 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E45 và E59 trong đó R^2 và R^1 cùng với nguyên tử nitơ và nguyên tử cacbon mà chúng được gắn vào là vòng pyrolidin hoặc piperidin mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2a}; hoặc muối dược dụng của nó.

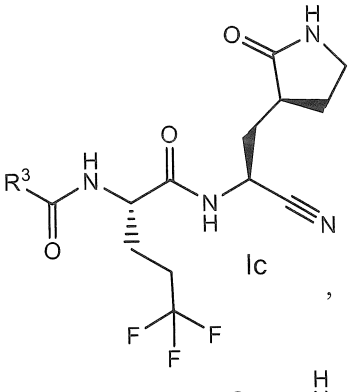
E4 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E45, E59 và E3 trong đó R^{2a} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, metyl, isopropyl, triflometyl và *tert*-butoxy; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào các cacbon liền kề và cùng với các cacbon mà chúng được gắn vào là xyclopentan hoặc xyclopropan được ngưng tụ mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào cùng một cacbon và cùng với cacbon mà chúng được gắn vào là vòng spiroxyclopropan mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; hoặc muối dược dụng của nó.

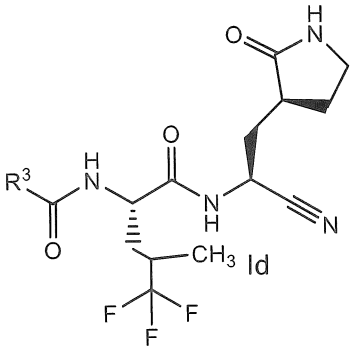
E5 là hợp chất của E1, E3, E4, E45 và E59 trong đó R^{2b} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, metyl và metoxy; hoặc muối dược dụng của nó.

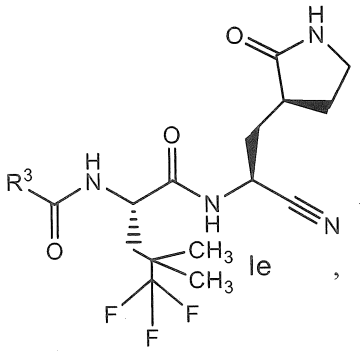
E6 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E2, E45 và E59 được chọn từ nhóm bao gồm công thức từ Ia đến Ig

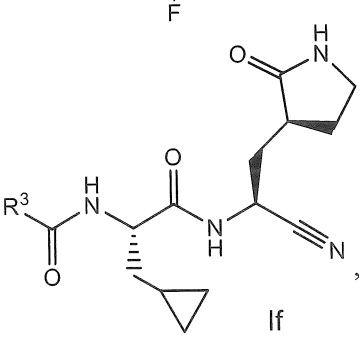

Ia ,

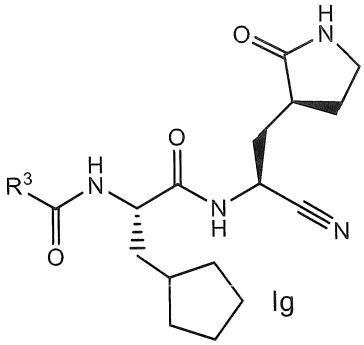

Ib ,


Ic ,


Id ,

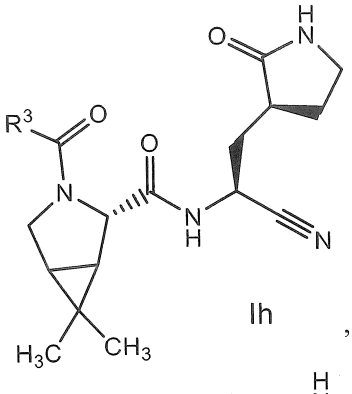

Ie ,


If ,

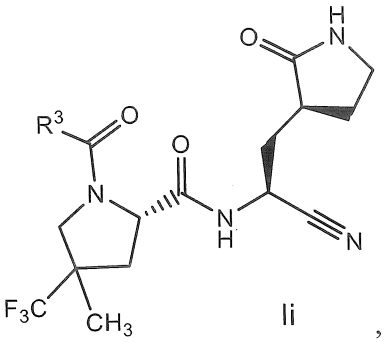
và 
Ig ;

hoặc muối dược dụng của nó.

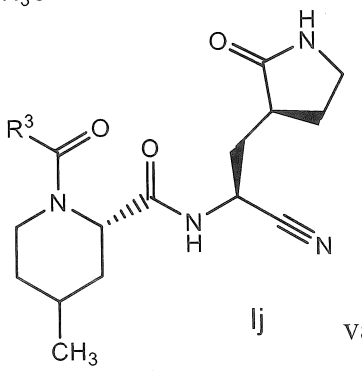
E7 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E45 và E59 được chọn từ nhóm bao gồm công thức từ Ih đến Ik



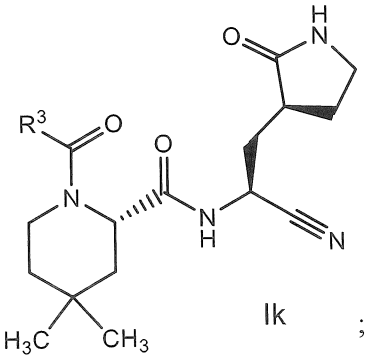
Ih ,



Ii ,



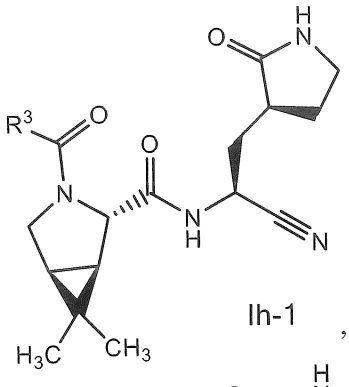
Ij và



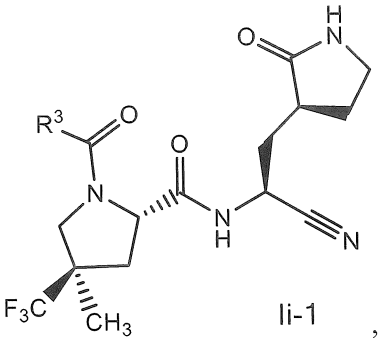
Ik ;

hoặc muối dược dụng của nó.

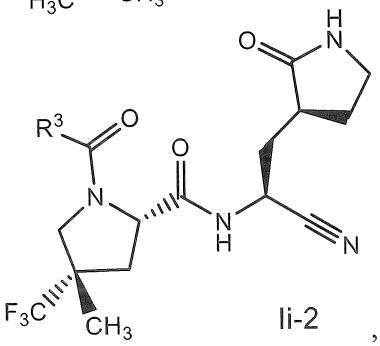
E8 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7, E45 và E59 được chọn từ nhóm bao gồm



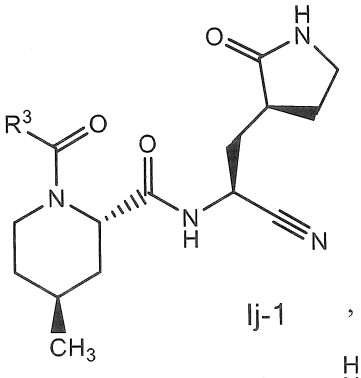
Ih-1 ,



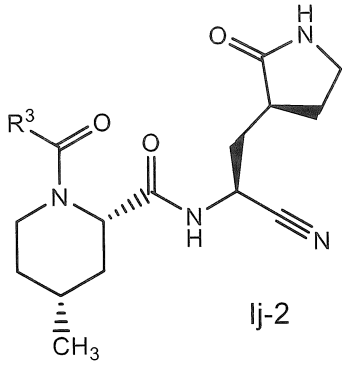
Ii-1 ,



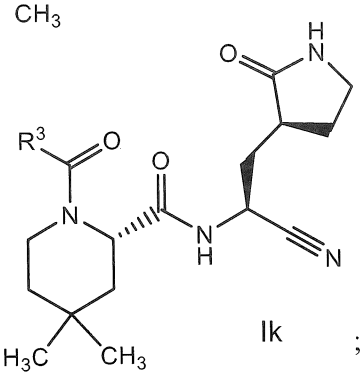
Ii-2 ,



Ij-1 ,



Ij-2 và



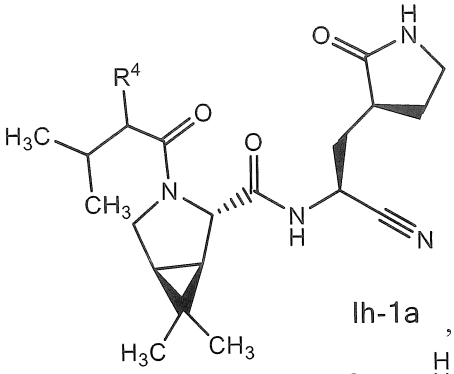
Ik ;

hoặc muối dược dụng của nó.

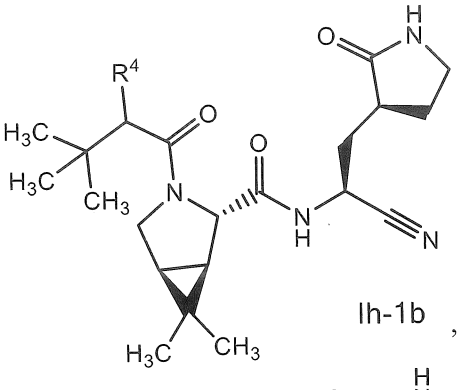
E9 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7, E8, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_6 alkyl và (C_3-C_6 xycloalkyl)-C_1-C_3 alkyl; mỗi nhóm trong số đó được thế bằng một đến bốn R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E10 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7 đến E9, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm $(CH_3)_2CHCH(R^4)$-, $(CH_3)_3CCH(R^4)$- và (xyclohexyl)$CH(R^4)$-; hoặc muối dược dụng của nó.

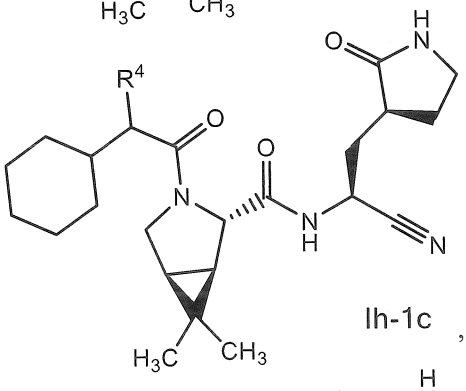
E11 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7 đến E10, E45 và E59 được chọn từ nhóm bao gồm



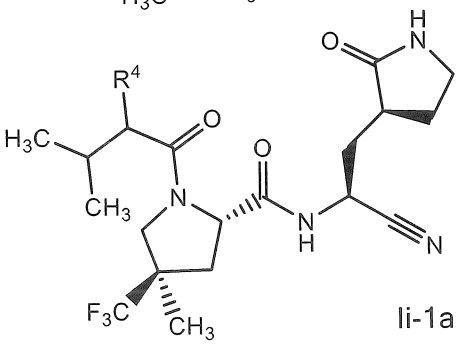
Ih-1a ,



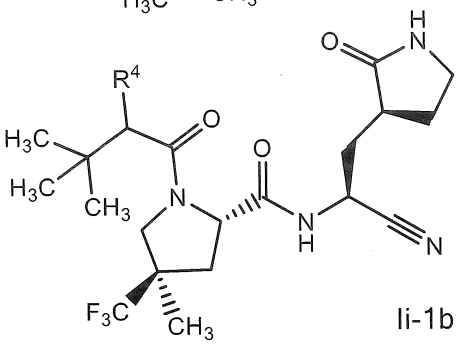
Ih-1b ,



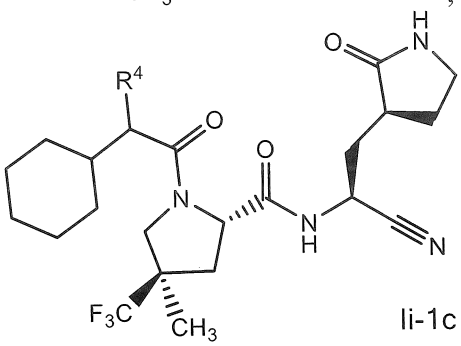
Ih-1c ,



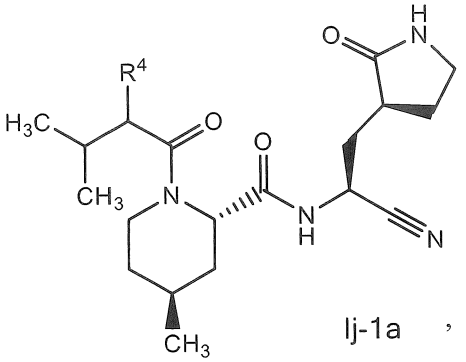
Ii-1a ,



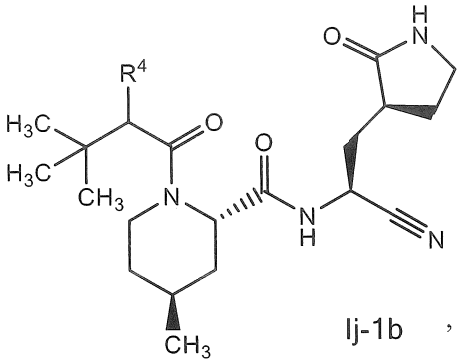
Ii-1b ,



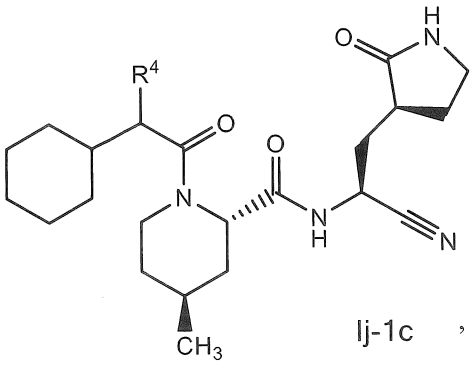
Ii-1c ,



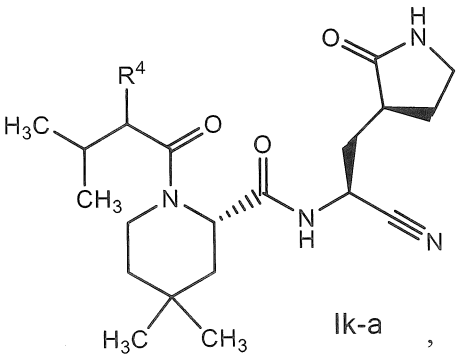
Ij-1a ,



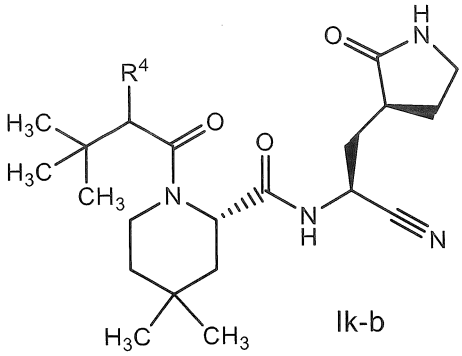
Ij-1b ,



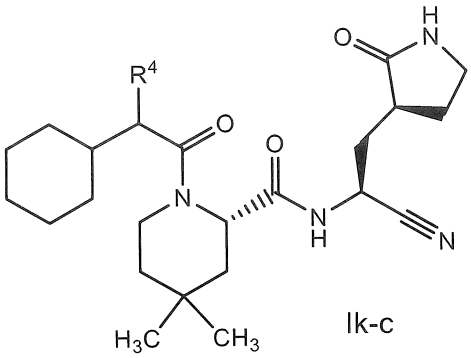
Ij-1c ,



Ik-a ,



Ik-b và



Ik-c ;

hoặc muối dược dụng của nó.

E12 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7 đến E11, E45 và E59 trong đó R^4 được chọn từ nhóm bao gồm (C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-C(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, và C_1-C_6 alkyl-$S(O)_2NH$- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo; hoặc muối dược dụng của nó.

E13 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7 đến E12, E45 và E59 trong đó R^4 được chọn từ nhóm bao gồm $CF_3C(O)NH$-, $CF_3S(O)_2NH$-, $CH_3C(O)NH$-, $CH_3CH_2C(O)NH$- và CF_3CH_2NH-; hoặc muối dược dụng của nó.

E14 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E3, E4, E7 đến E13, E45 và E59 trong đó R^4 là $CF_3C(O)NH$- hoặc $CF_3S(O)_2NH$-; hoặc muối dược dụng của nó.

E15 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E45 và E59 trong đó R^3 là heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh mà tùy ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl và trong đó heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc

lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, hoặc là (heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$; mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến năm R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E16 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E15, E45 và E59 trong đó gốc heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh trong R^3 được chọn từ nhóm bao gồm azetidinyl, pyrolidinyl, piperidinyl, piperazinyl, morpholinyl, oxetanyl, tetrahydrofuranyl, pyranyl, 2-oxo-1,3-oxazolidinyl, oxabixyclo[2.2.1]heptyl, 1-oxa-8-azaspiro[4.5]dexyl, 1,1-dioxido-1,2-thiazolidinyl và 1,1-dioxido-1,2-thiazinanyl; mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến ba R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E17 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, benzyl, phenetyl, heteroaryl có 5 đến 10 cạnh bao gồm một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; và (heteroaryloxy có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến năm R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

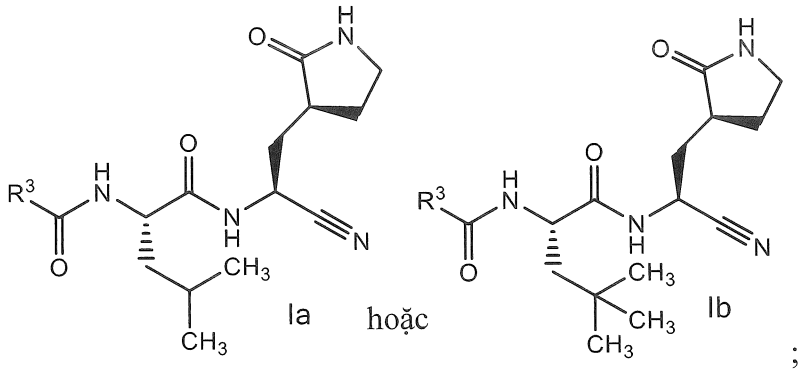
E18 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E17, E45 và E59 trong đó gốc heteroaryl có 5 đến 10 cạnh trong R^3 được chọn từ nhóm bao gồm imidazolyl, pyrazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, oxadiazolyl, triazolyl, pyridinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, indolyl, benzimitazolyl, pyridinopyrolyl, quinolinyl, quinoxalinyl, benzotriazolyl, imidazo[1,2-a]pyridinyl, imidazo[2,1-b][1,3]thiazolyl, 4H-furo[3,2-b]pyrolyl, 4H-thieno[3,2-b]pyrolyl, [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidinyl, [1,2,3]triazolo[1,5-a]pyridinyl và naphtyridinyl; mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến bốn R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E19 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E17 đến E18, E45 và E59 trong đó R^3 là indolyl; mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E20 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E17 đến E19, E45 và E59 trong đó R^3 là indol-2-yl; mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^4; và R^4 mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, brom, hydroxy, metyl, etyl, propyl, isopropyl,

1-metylpropyl, butyl, *tert*-butyl, axetyl, metoxy, etoxy, propoxy, butoxy, triflometyl, triflometoxy, xyclohexyl và dietylamino; hoặc muối dược dụng của nó.

E21 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E2, E6, E9 đến E10, E12 đến E20, E45 và E59 có công thức



;

hoặc muối dược dụng của nó.

E22 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E2, E6, E9 đến E10, E12 đến E21, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm 1H-indol-2-yl, 7-flo-4-metoxy-1H-indol-2yl, 4-metoxy-7-(triflometyl)-1H-indol-2-yl, 4-metoxy-1H-indol-2-yl, 4-(triflometoxy)-1H-indol-2-yl, 6-(triflometyl)-1H-indol-2-yl, 4-metoxy-3,6,7-tris(triflometyl)-1H-indol-2-yl, 3-flo-4-metoxy-1H-indol-2-yl và 3,5-diflo-4-metoxy-1H-indol-2-yl; hoặc muối dược dụng của nó.

E23 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E21, E45 và E59 trong đó R^3 là C_1-C_6 alkoxy; hoặc muối dược dụng của nó.

E24 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E21, E23, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm metoxy, etoxy và prop-2-oxy; hoặc muối dược dụng của nó.

E25 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E21, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_3-C_{12} xycloalkyl tuỳ ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl, (C_3-C_{12} xycloalkyl)-C_1-C_6 alkyl, C_3-C_{12} xycloalkoxy và (C_3-C_{12} xycloalkoxy)-C_1-C_6 alkyl; mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến ba R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E26 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E21, E25, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, 1-(xyclohexyloxy)etyl, xyclohexoxymetyl, xyclopropylmetyl, xyclopropyletyl, xyclobutylmetyl, xyclobutyletyl, xyclopentylmetyl, xyclopentyletyl, xyclohexylmetyl và

xyclohexyletyl; mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến ba R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E27 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E17, E45 và E59 trong đó R^3 được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, benzyl và phenetyl, mỗi nhóm trong số đó tùy ý được thế bằng một đến ba R^4; hoặc muối dược dụng của nó.

E28 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E8, E17, E27, E45 và E59 trong đó R^4 được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, dimetylamin, triflometyl, $CF_3C(O)NH$- và $CF_3S(O)_2NH$-; hoặc muối dược dụng của nó.

E29 là hợp chất theo bất kỳ một trong số E1, E45 và E59 được chọn từ nhóm bao gồm

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{(2R)-2-(dimetylamin)-2-[4-(triflometyl)phenyl]axetyl}-4-metyl-L-leuxinamit;

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{(2R)-2-(dimetylamin)-2-[3-(triflometyl)phenyl]axetyl}-4-metyl-L-leuxinamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,6,7-tris(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometoxy)-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometoxy)-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3,5-diflo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,5,7-tris(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,7-bis(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
7-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
6-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
4-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
4,6-diclo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
7-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
6-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
4-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;

5,7-diclo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
4,6-diclo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metyl-5-(triflometyl)imidazo[2,1-b][1,3]thiazol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[4-metyl-2-(triflometyl)-1,3-thiazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[5-metyl-2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N^2-[(4-bromo-1-etyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit;
N^2-[(4-clo-1,3-dimetyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit;
3-axetyl-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3R)-2,5-dioxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-hydroxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-hydroxy-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(3,3-difloxyclobutyl)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N^2-[(trans-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;

N^2-[(trans-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-N-{(1R)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[2-(xyclohexyloxy)propanoyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2S)-2-(dimetylamin)-2-phenylaxetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2R)-2-(dimetylamin)-2-phenylaxetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N^2-[(4-clo-1,3-dimetyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,7-bis(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,5-bis(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,6-bis(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(xyclohexylcarbonyl)-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(xyclohexylcarbonyl)-4-metyl-L-leuxinamit;

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-[(propan-2-yloxy)axetyl]-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(xyclohexyloxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(4,4,4-triflo-3-metylbutanoyl)-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metylimidazo[2,1-b][1,3]thiazol-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
N^2-[(4-bromo-1-etyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(2,6-diclobenzoyl)-4-metyl-L-leuxinamit;
(2S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4,4-dimetyl-1-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-4-(triflometyl)-L-prolinamit;

(2S,4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-{3-metyl-N-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2S)-2-(dimetylamin)-2-phenylaxetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N^2-[(trans-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N^2-[(trans-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-N-{(1R)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1R)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[2-(xyclohexyloxy)propanoyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
(2S,4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
5-(butan-2-yl)-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(4,5-diclo-1H-imidazol-2-yl)carbonyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(4,5-diclo-1H-pyrazol-3-yl)carbonyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-2,3-dimetyl-4H-furo[3,2-b]pyrol-5-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometyl)-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metoxy-1H-pyrolo[3,2-b]pyridin-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-pyrolo[3,2-b]pyridin-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-flo-1H-benzimitazol-2-carboxamit;

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[3-(propan-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5,6-diflo-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4H-thieno[3,2-b]pyrol-5-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[3-(2-metylpropyl)-1H-pyrazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N^2-{[4-(3-clophenyl)-1H-imidazol-2-yl]carbonyl}-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N^2-[(3-tert-butyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
6-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metyl-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4,5,6,7-tetrahydro-1H-indazol-3-carboxamit;
4,6-diclo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-benzimitazol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(1-metylxyclopropyl)-4-(triflometyl)-1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-2-carboxamit;
N^2-{[5-(2-clophenyl)-4-flo-1H-pyrazol-3-yl]carbonyl}-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-2-metyl-4H-thieno[3,2-b]pyrol-5-carboxamit;

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{[3-(4-metoxyphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]carbonyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{[3-(2-metoxyphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]carbonyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{[4-(4-metoxyphenyl)-1H-imidazol-2-yl]carbonyl}-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[3-(4-metylphenyl)-1H-pyrazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
7-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
7-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
(2S,4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[3-metyl-N-(metylsulfonyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
(2S,4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
(2S,4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
(2S,4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
5-[(2S)-butan-2-yl]-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3',3',3'-triflo-N-(trifloaxetyl)-L-isoleuxyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{(2S)-2-xyclohexyl-2-[(trifloaxetyl)amino]axetyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{(2S)-2-xyclopentyl-2-[(trifloaxetyl)amino]axetyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[4-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-leuxyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;

(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{(2S)-2-(4,4-difloxyclohexyl)-2-[(trifloaxetyl)amino]axetyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclopentyl-N-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclohexyl-N-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-leuxyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[6,6-diflo-N-(trifloaxetyl)-L-norleuxyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-{(2S)-4,4,4-triflo-2-[(trifloaxetyl)amino]butanoyl}-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-flo-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{(2S)-2-xyclopropyl-2-[(trifloaxetyl)amino]axetyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-(3,3-difloxyclobutyl)-N-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-O-(triflometyl)-L-seryl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-{(2S)-2-phenyl-2-[(trifloaxetyl)amino]axetyl}-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-phenylalanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3,5-diflo-N-(trifloaxetyl)-L-phenylalanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-3-(triflometyl)-L-phenylalanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(2,2,2-trifloetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;

(2S,4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-{(2S)-3-metyl-2-[(trifloaxetyl)amino]butyl}piperidin-2-carboxamit;
(2S,4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-{(2S)-3-metyl-2-[(2,2,2-trifloetyl)amino]butyl}piperidin-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(3,3,3-triflopropanoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-(N-propanoyl-L-valyl)-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(2S,4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[N-(2,2,2-trifloetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
N^2-[(4-clo-1-etyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-xyclohexyl-1H-indol-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3,5-dimetyl-1H-indol-2-carboxamit;
5-tert-butyl-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(propan-2-yl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
4-butoxy-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometoxy)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(dietylamino)-1H-indol-2-carboxamit;
4-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
5-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
6-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-propoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-flo-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4,5-dimetoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-[(4-metyl-1,3-thiazol-5-yl)carbonyl]-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(etoxycarbonyl)-L-leuxinamit;

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(etoxycarbonyl)-4-metyl-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-oxazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[3-(triflometyl)-1,2-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[3-(triflometyl)-1,2-oxazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-5,5,5-triflo-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-norvalinamit;
(4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-5,5,5-triflo-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
(4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-5,5,5-triflo-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-3-xyclopentyl-1-oxopropan-2-yl]-2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[5-(triflometyl)-1,2-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[5-(triflometyl)-1,2-oxazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-oxazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-5,5,5-triflo-4-metyl-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[(2S)-2-metyltetrahydrofuran-2-yl]carbonyl}-L-leuxinamit;

N-[(2S,4R)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S,4S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-3-xyclopentyl-1-oxopropan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
5,7-diclo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-xyclohexyl-1H-indol-2-carboxamit;
5-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3,5-dimetyl-1H-indol-2-carboxamit;
5-tert-butyl-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(propan-2-yl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-(propan-2-yl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-etyl-1H-indol-2-carboxamit;
4-butoxy-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometoxy)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(dietylamino)-1H-indol-2-carboxamit;
4-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
5-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
6-bromo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-propoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-flo-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4,5-dimetoxy-1H-indol-2-carboxamit;
5-(butan-2-yl)-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-(propan-2-yl)-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-metyl-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
5-(butan-2-yl)-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2R)-2-xyclohexyl-2-metoxyaxetyl]-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2R)-2-(xyclohexyloxy)propanoyl]-L-leuxinamit;
N-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(4,4,4-triflo-3-metylbutanoyl)-L-leuxinamit;
N^2-[(trans-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(1-etyl-4-metyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(xyclohexylcarbonyl)-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(xyclohexyloxy)axetyl]-L-leuxinamit;

N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(3,3-difloxyclobutyl)axetyl]-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(propan-2-yloxy)axetyl]-L-leuxinamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metylimidazo[2,1-b][1,3]thiazol-2-carboxamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2R)-2-xyclohexyl-2-metoxyaxetyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(1-etyl-4-metyl-1H-pyrazol-5-yl)carbonyl]-4-metyl-L-leuxinamit;
N^2-[2-clo-4-(metylsulfonyl)benzoyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit;
N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(2,6-diclobenzoyl)-L-leuxinamit;
(1R,2S,5S)-3-[N-(tert-butylsulfonyl)-3-metyl-L-valyl]-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-3-{[(3R)-1-benzyl-5-oxopyrolidin-3-yl]carbonyl}-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-{[(3R)-5-oxo-1-phenylpyrolidin-3-yl]carbonyl}-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-3-{[(3R)-1-tert-butyl-5-oxopyrolidin-3-yl]carbonyl}-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[(3-metylimidazo[2,1-b][1,3]thiazol-2-yl)carbonyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-3-xyclopropyl-1-oxopropan-2-yl]-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit; và
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-3-xyclopropyl-1-oxopropan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit;
hoặc muối dược dụng của nó.

E30 là hợp chất theo phương án bất kỳ trong số E1, E45 và E59 được chọn từ nhóm bao gồm

N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1H-indol-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1H-indol-2-carboxamit;
(2S,4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
(2S,4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{(2S)-2-xyclohexyl-2-[(trifloaxetyl)amino]axetyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit;
(2S,4S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-1-{3-metyl-N-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit;
3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4R)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-4-(triflometyl)-L-prolinamit; và
(2S)-N-{(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4,4-dimetyl-1-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]piperidin-2-carboxamit;
hoặc muối dược dụng của chúng.

E31 là dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất bất kỳ trong số E1 đến E30 hoặc muối dược dụng của nó, cùng với chất mang dược dụng.

E32 là dược phẩm theo E31 trong đó dược phẩm này ở dạng liều dùng theo đường tĩnh mạch, dưới da, hít hoặc đường miệng.

E33 là dược phẩm theo E31 hoặc E32 trong đó dược phẩm này ở dạng liều dùng theo đường miệng.

E34 là dược phẩm theo bất kỳ một trong số E31 đến E33 còn bao gồm tác nhân trị liệu bổ sung.

E35 là dược phẩm theo bất kỳ một trong số E31 đến E34 trong đó dược phẩm này còn bao gồm một hoặc nhiều dexamethasone, azithromycin, và remdesivir.

E36 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30 hoặc muối dược dụng của nó cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E37 là phương pháp theo E36 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E38 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng dược phẩm theo bất kỳ một trong số E31 đến E35 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E39 là phương pháp theo E38 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E40 là phương pháp ức chế hoặc ngăn ngừa quá trình sao chép virut SARS-CoV-2 bao gồm việc cho 3CL proteaza của coronavirut SARS-CoV-2 tiếp xúc với lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất hoặc muối dược dụng của nó theo bất kỳ một trong số E1 đến E30.

E41 là phương pháp ức chế hoặc ngăn ngừa quá trình sao chép virut SARS-CoV-2 ở bệnh nhân bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất hoặc muối dược dụng của nó theo bất kỳ một trong số E1 đến E30 cho bệnh nhân có nhu cầu ức chế hoặc ngăn ngừa quá trình sao chép virut SARS-CoV-2.

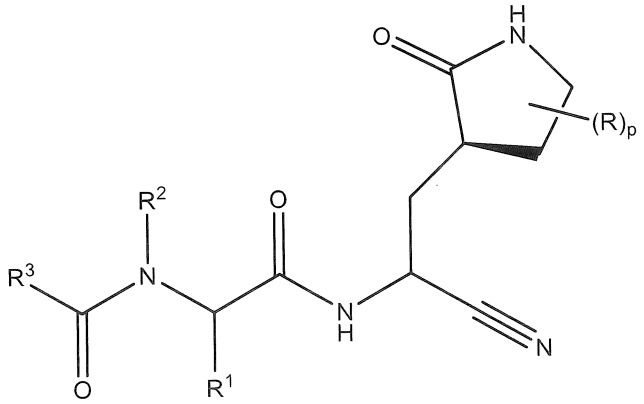
E42 là việc sử dụng hợp chất hoặc muối dược dụng của nó theo bất kỳ một trong số E1 đến E30 để điều trị nhiễm coronavirut.

E43 là việc sử dụng E42 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E44 là việc sử dụng hợp chất hoặc muối dược dụng của nó theo bất kỳ một trong số E1 đến E30 để bào chế thuốc là hữu ích để điều trị nhiễm coronavirut.

E44a là việc sử dụng E44 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E45 là hợp chất có công thức **I'**



I' ;

hoặc muối dược dụng của nó; trong đó R mỗi khi có mặt độc lập là hydroxy hoặc oxo; p bằng 0, 1 hoặc 2; R^1 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_6 alkyl mà tùy ý được thế bằng xyano hoặc bằng một đến năm flo; C_2-C_6 alkynyl; và (C_3-C_6 xycloalkyl)-C_1-C_3 alkyl mà tùy ý được thế bằng một đến hai phần tử thế được chọn từ triflometyl và C_1-C_3 alkyl hoặc bằng một đến năm flo; R^2 là hydro hoặc R^2 và R^1 cùng với nguyên tử nitơ và nguyên tử cacbon mà chúng được gắn vào là vòng pyrolidin hoặc piperidin mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2a}; R^{2a} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, hydroxy, C_1-C_6 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo và C_1-C_6 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo; hoặc hai R^{2a} các nhóm khi được gắn vào các cacbon liền kề và cùng với các cacbon mà chúng được gắn vào là C_3-C_6 xycloalkyl được ngưng tụ mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào cùng một cacbon và cùng với cacbon mà chúng được gắn vào là spiro C_3-C_6 xycloalkyl mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; R^{2b} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ flo, hydroxy, C_1-C_3 alkyl tuỳ ý độc lập được thế bằng một đến ba flo hoặc hydroxy và C_1-C_3 alkoxy tuỳ ý độc lập được thế bằng một đến ba flo hoặc hydroxy; R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_8 alkyl, C_1-C_8 alkoxy, (C_1-C_6 alkoxy)-C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkynyl, C_2-C_6 alkynyloxy, C_3-C_{12} xycloalkyl tuỳ ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl, (C_3-C_{12} xycloalkyl)-C_1-C_6 alkyl, C_3-C_{12} xycloalkoxy, (C_3-C_{12} xycloalkoxy)-C_1-C_6 alkyl, heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh mà tùy ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl và trong đó heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, (heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, C_6-C_{10} aryl tuỳ ý được ngưng tụ vớiC_4-C_6 xycloalkyl hoặc heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh, (C_6-C_{10} aryl)-C_1-C_6 alkyl, heteroaryl có 5 đến 10 cạnh bao gồm một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, mà tùy ý được ngưng tụ với C_5-C_6 xycloalkyl; (heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (C_6-C_{10} aryl)-(heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)- trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, (heteroaryloxy có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)-(heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)- trong đó mỗi gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)-(heteroaryl

có 5 đến 6 cạnh)- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)-(heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; trong đó mỗi nhóm R^3 tuỳ ý được thế bằng một đến năm R^4; R^4 mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm oxo, halo, hydroxy, xyano, phenyl, benzyl, amino, (C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, di(C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến mười flo, C_1-C_6 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_3 alkoxy-C_1-C_3 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_3-C_6 xycloalkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo hoặc C_1-C_3 alkyl, C_1-C_6 alkyl-C(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-OC(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-NHC(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-$S(O)_2$NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-C(O)- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-$S(O)_n$- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5; R^5 được chọn từ phenyl, phenoxy, C_3-C_6 xycloalkyl, C_3-C_6 xycloalkoxy, heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và heteroaryl có 5 đến 6 cạnh- trong đó gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; trong đó mỗi R^5 tuỳ ý độc lập được thế bằng một đến ba halo, C_1-C_3 alkyl và C_1-C_3 alkoxy; và n mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ 0, 1 và 2.

E46 là hợp chất của được chọn từ nhóm bao gồm (2*S*,4*R*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit; (2*R*,4*S*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit; 3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit; (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; metyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat; và *N*-

(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit; hoặc muối dược dụng của nó.

E47 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E45 và E46 hoặc muối dược dụng của nó cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E48 là phương pháp theo E47 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E49 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30 và E45 đến E46 hoặc muối dược dụng của nó trong đó tác nhân trị liệu bổ sung được dùng và tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm remdesivir, galidesivir, favilavir/avifavir, molnupiravir, AT-527, AT-301, BLD-2660, favipiravir, camostat, SLV213, emtrictabine/tenofivir, clevudine, dalcetrapib, boceprevir, ABX464, dexamethasone, hydrocortison, huyết tương dưỡng (convalescent plasma), gelsolin (Rhu-p65N), regdanvimab (Regkirova), ravulizumab (Ultomiris), VIR-7831/VIR-7832, BRII-196/BRII-198, COVI-AMG/COVI DROPS (STI-2020), bamlanivimab (LY-CoV555), mavrilimab, leronlimab (PRO140), AZD7442, lenzilumab, infliximab, adalimumab, JS 016, STI-1499 (COVIGUARD), lanadelumab (Takhzyro), canakinumab (Ilaris), gimsilumab, otilimab, casirivimab/imdevimab (REGN-Cov2), MK-7110 (CD24Fc/SACCOVID), heparin, apixaban, tocilizumab (Actemra), sarilumab (Kevzara), apilimod dimesylat, DNL758, DC402234, PB1046, dapaglifozin, abivertinib, ATR-002, bemcentinib, acalabrutinib, baricitinib, tofacitinib, losmapimod, Famotidin, ritonavir, niclosamide và diminazene.

E50 là hợp chất (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó.

E50a là hợp chất (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit.

E51 là dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó cùng với chất mang dược dụng.

E51a là dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit cùng với chất mang dược dụng.

E52 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E52a là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E53 là phương pháp theo E52 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E53a là phương pháp theo E52a trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E54 là phương pháp theo E52 hoặc E53 trong đó (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó được dùng qua đường miệng.

E54a là phương pháp theo E52a hoặc E53a trong đó (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit được dùng qua đường miệng.

E55 là phương pháp theo E54 trong đó 50 mg đến 1500 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó được dùng mỗi ngày.

E55a là phương pháp theo E54a trong đó 50 mg đến 1500 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit được dùng mỗi ngày.

E56 là phương pháp theo E55 trong đó 380 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó được dùng ba lần một ngày.

E56a là phương pháp theo E55a trong đó 380 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó được dùng ba lần một ngày.

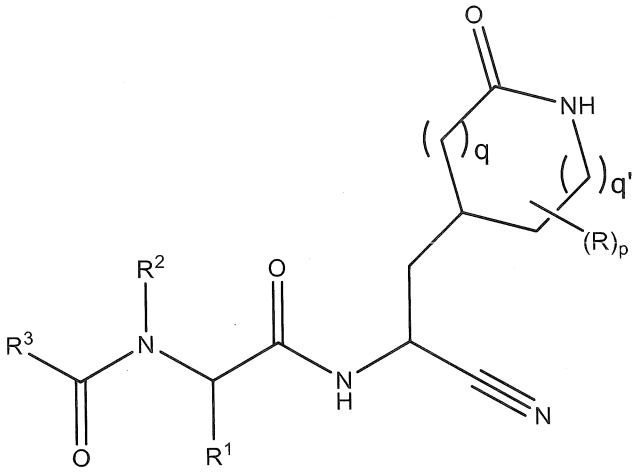
E57 là phương pháp theo E55 trong đó 50 mg đến 1500 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó được dùng mỗi ngày làm huyền phù, viên nang hoặc viên nén dùng qua đường miệng.

E57a là phương pháp theo E55a trong đó 50 mg đến 1500 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc muối dược dụng của nó được dùng mỗi ngày ở dạng huyền phù, viên nang hoặc viên nén dùng qua đường miệng.

E58 là phương pháp theo E57 trong đó viên nén được dùng.

E58a là phương pháp theo E57a trong đó viên nén được dùng.

E59 là hợp chất có công thức **I”**



I” ;

hoặc solvat hoặc hydrat của chúng, hoặc muối dược dụng của hợp chất này, solvat hoặc hydrat của chúng;

trong đó

R mỗi khi có mặt độc lập là hydroxy hoặc oxo;

mỗi q và q’ độc lập được chọn từ 0, 1 và 2;

p bằng 0, 1 hoặc 2;

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_6 alkyl mà tùy ý được thế bằng xyano hoặc bằng một đến năm flo; C_2-C_6 alkynyl; và (C_3-C_6 xycloalkyl)-C_1-C_3 alkyl mà tùy ý được thế bằng một đến hai phần tử thế được chọn từ triflometyl và C_1-C_3 alkyl hoặc bằng một đến năm flo;

R^2 là hydro hoặc R^2 và R^1 cùng với nguyên tử nitơ và nguyên tử cacbon mà chúng được gắn vào là vòng pyrolidin hoặc piperidin mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2a};

R^{2a} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, hydroxy, C_1-C_6 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo và C_1-C_6 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào các cacbon liền kề và cùng với các cacbon mà chúng được gắn vào là C_3-C_6 xycloalkyl được ngưng tụ mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b}; hoặc hai nhóm R^{2a} khi được gắn vào cùng một cacbon và cùng với cacbon mà chúng được gắn vào là spiro C_3-C_6 xycloalkyl mà tùy ý được thế bằng một đến bốn R^{2b};

R^{2b} mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ flo, hydroxy, C_1-C_3 alkyl tuỳ ý độc lập được thế bằng một đến ba flo hoặc hydroxy và C_1-C_3 alkoxy tuỳ ý độc lập được thế bằng một đến ba flo hoặc hydroxy;

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_1-C_8 alkyl, C_1-C_8 alkoxy, (C_1-C_6 alkoxy)-C_1-C_6 alkyl, C_2-C_6 alkynyl, C_2-C_6 alkynyloxy, C_3-C_{12} xycloalkyl tuỳ ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl, (C_3-C_{12} xycloalkyl)-C_1-C_6 alkyl, C_3-C_{12} xycloalkoxy, (C_3-C_{12} xycloalkoxy)-C_1-C_6 alkyl, heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh mà tùy ý được ngưng tụ với heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc phenyl và trong đó heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, (heteroxycloalkyl có 4 đến 12 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroxycloalkyl này chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, C_6-C_{10} aryl tuỳ ý được ngưng tụ với C_4-C_6 xycloalkyl hoặc heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh, (C_6-C_{10} aryl)-C_1-C_6 alkyl, heteroaryl có 5 đến 10 cạnh bao gồm một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, mà tùy ý được ngưng tụ với C_5-C_6 xycloalkyl; (heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (C_6-C_{10} aryl)-(heteroaryl có 5 đến 10 cạnh)- trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, (heteroaryloxy có 5 đến 10 cạnh)-C_1-C_6 alkyl trong đó gốc heteroaryl chứa một đến năm nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)-(heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)- trong đó mỗi gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)-(heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)-(heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)- trong đó gốc

heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; trong đó mỗi nhóm R^3 tuỳ ý được thế bằng một đến năm R^4;

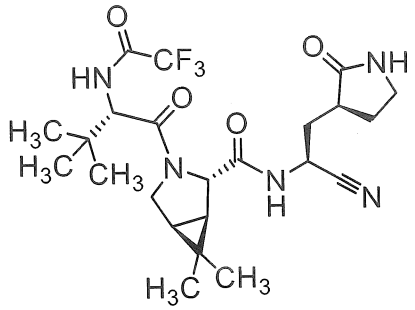
R^4 mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ nhóm bao gồm oxo, halo, hydroxy, xyano, phenyl, benzyl, amino, (C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, di(C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến mười flo, C_1-C_6 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, (heteroaryl có 5 đến 6 cạnh)amino- trong đó gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; (heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh)amino- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$, C_1-C_6 alkoxy tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_3 alkoxy-C_1-C_3 alkyl tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_3-C_6 xycloalkyl tuỳ ý được thế bằng một đến ba flo hoặc C_1-C_3 alkyl, C_1-C_6 alkyl-C(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-OC(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-NHC(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-$S(O)_2$NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-C(O)- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5, C_1-C_6 alkyl-$S(O)_n$- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo hoặc bằng một R^5;

R^5 được chọn từ phenyl, phenoxy, C_3-C_6 xycloalkyl, C_3-C_6 xycloalkoxy, heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh- trong đó gốc heteroxycloalkyl chứa một đến ba nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và $S(O)_n$ và heteroaryl có 5 đến 6 cạnh- trong đó gốc heteroaryl chứa một đến bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S; trong đó mỗi R^5 tuỳ ý độc lập được thế bằng một đến ba halo, C_1-C_3 alkyl và C_1-C_3 alkoxy; và

n mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ 0, 1 và 2.

E60 là hợp chất của E59 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc solvat hoặc hydrat của chúng, hoặc muối dược dụng của hợp chất, solvat hoặc hydrat này.

E61 là hợp chất (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit có cấu trúc



;

hoặc solvat hoặc hydrat của chúng.

E62 là hợp chất của E61 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng tinh thể.

E63 là hợp chất của E62 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng tinh thể, Dạng rắn 1.

E64 là hợp chất của E62 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng tinh thể, Dạng rắn 4.

E65 là hợp chất của E61 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng vô định hình.

E66 là hợp chất của E61 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl solvat.

E67 là hợp chất của E66 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng dạng tinh thể, metyl *tert*-butyl solvat.

E68 là hợp chất của E67 mà là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng tinh thể, metyl *tert*-butyl solvat, Dạng rắn 2.

E69 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E61 đến E68 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E70 là phương pháp theo E69 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E71 là phương pháp theo E70 trong đó ritonavir cũng được dùng cho bệnh nhân.

E72 là phương pháp theo E71 theo bất kỳ một trong số E61 đến E68 và ritonavir được dùng cho bệnh nhân qua đường miệng.

E73 là phương pháp theo E72 trong đó khoảng 10 mg đến khoảng 1500 mg/ngày của hợp chất theo bất kỳ một trong số E61 đến E68 và khoảng 10 mg đến khoảng 1000 mg/ngày của ritonavir được dùng.

E74 là phương pháp theo E73 trong đó khoảng 50 mg hợp chất theo bất kỳ một trong số E61 đến E68 và khoảng 100 mg ritonavir, mỗi hợp chất này được dùng cho bệnh nhân hai lần một ngày.

E75 là dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc solvat hoặc hydrat của chúng, hoặc muối dược dụng của hợp chất, solvat hoặc hydrat này cùng với chất mang dược dụng.

E75a là dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit; hoặc solvat hoặc hydrat của chúng cùng với chất mang dược dụng.

E76 là dược phẩm theo E75a bao gồm hợp chất theo bất kỳ một trong số E62 đến E68.

E77 là phương pháp theo E69 hoặc E70 trong đó khoảng 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg hoặc 750 mg hợp chất theo bất kỳ một trong số E61 đến E68 được dùng qua đường miệng cho bệnh nhân hai lần một ngày.

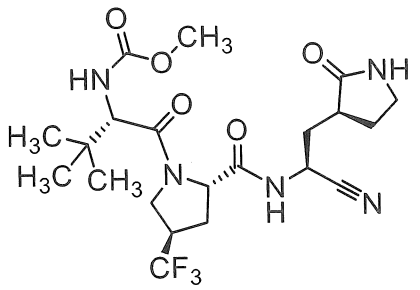
E78 là phương pháp theo E77 trong đó ritonavir được dùng đồng thời qua đường miệng cho bệnh nhân hai lần một ngày.

E79 là phương pháp theo E78 trong đó khoảng 300 mg hợp chất theo bất kỳ một trong số E61 đến E68 và khoảng 100 mg ritonavir được dùng đồng thời cho bệnh nhân hai lần một ngày.

E80 là hợp chất theo E63 mà được đặc trưng bởi đỉnh ^{19}F với dịch chuyển hóa học ở -73,3 ± 0,1ppm và các đỉnh ^{13}C với các dịch chuyển hóa học ở 31,0 ± 0,1ppm, 27,9 ± 0,1ppm và 178,9 ± 0,2ppm.

E81 là hợp chất theo E64 mà được đặc trưng bởi một hoặc nhiều đỉnh được chọn từ nhóm bao gồm đỉnh ^{19}F với dịch chuyển hóa học ở -73,6 ± 0,1ppm và các đỉnh ^{13}C ở 26,9 ± 0,1ppm, 21,6 ± 0,1ppm và 41,5 ± 0,1ppm.

E82 là hợp chất *N*-(Metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit có cấu trúc



;

hoặc solvat hoặc hydrat của chúng.

E83 là hợp chất theo E82 mà là *N*-(Metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit.

E84 là dược phẩm bao gồm lượng hữu hiệu trị liệu của *N*-(Metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit; hoặc solvat hoặc hydrat của chúng cùng với chất mang dược dụng.

E85 là phương pháp điều trị nhiễm coronavirut ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo E82 hoặc E83 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E86 là phương pháp theo E85 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E87 là phương pháp theo E85 hoặc E86 trong đó 10 mg đến 1500 mg /ngày của hợp chất theo E82 hoặc E83 được dùng.

E88 là phương pháp theo bất kỳ một trong số E85 đến E87 trong đó hợp chất được dùng qua đường miệng.

E89 là phương pháp theo E88 trong đó 200 mg hợp chất được dùng hai lần một ngày.

E90 là phương pháp hướng đích ức chế SARS-CoV-2 dùng hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83 làm cách thức điều trị các chỉ định gây ra bởi việc nhiễm virut liên quan tới SARS-CoV-2.

E91 là phương pháp xác định con đường tế bào hoặc virut cản trở chức năng của các thành phần mà có thể được sử dụng để điều trị các chỉ định gây ra bởi việc nhiễm SARS-CoV-2 bằng cách dùng hợp chất ức chế SARS-CoV-2 proteaza theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83.

E92 là phương pháp sử dụng hợp chất ức chế SARS-CoV-2 proteaza theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83 làm các công cụ để hiểu được cơ chế tác động của các chất ức chế SARS-CoV-2 khác.

E93 là phương pháp sử dụng hợp chất ức chế proteaza tương tự 3C của SARS-CoV-2 theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83 để tiến hành các thử nghiệm định hình gen để kiểm soát sự điều hòa xuôi hoặc ngược của các gen nhằm mục đích xác định các chất ức chế để điều trị các chỉ định gây ra bởi việc nhiễm SARS-CoV-2 như COVID-19.

E94 là dược phẩm điều trị COVID-19 ở động vật có vú chứa lượng của hợp chất ức chế proteaza tương tự 3C của SARS-CoV-2 theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83 là hữu hiệu để điều trị COVID-19 cùng với chất mang dược dụng.

E95 là phương pháp điều trị MERS ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, E45 đến E46, E50, E50a, E59 đến E68 và E80 đến E83 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E96 là phương pháp điều trị MERS ở bệnh nhân, phương pháp này bao gồm việc dùng dược phẩm theo bất kỳ một trong số E31 đến E35, E51, E51a, E75, E75a, E84 và E94 cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị bệnh.

E97 là phương pháp ức chế hoặc ngăn ngừa sự sao chép virut MERS bao gồm việc cho 3CL proteaza của coronavirut SARS-CoV-2 tiếp xúc với lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, 45-46, 50, 50a, 59-68 và 80-83.

E98 là phương pháp ức chế hoặc ngăn ngừa sự sao chép virut MERS ở bệnh nhân bao gồm việc dùng cho bệnh nhân có nhu cầu ức chế hoặc ngăn ngừa sự sao chép virut MERS lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, 45-46, 50, 50a, 59-68 và 80-83.

E99. Sử dụng hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, 45-46, 50, 50a, 59-68 và 80-83 để điều trị nhiễm coronavirut.

E100. Sử dụng E99 trong đó việc nhiễm coronavirut là COVID-19.

E101. Sử dụng hợp chất theo bất kỳ một trong số E1 đến E30, 45-46, 50, 50a, 59-68 và 80-83 trong bào chế thuốc.

E102 là hợp chất theo phương án bất kỳ một trong số các phương án E1 đến E30, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng làm thuốc.

E103 là hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án E1 đến E30, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong phương pháp điều trị, trong đó phương pháp này là như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án E36 đến E41.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2, từ quy trình tổng hợp khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo dạng rắn 2.

Fig. 2: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2, từ quy trình tổng hợp thứ hai khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo dạng rắn 2.

Fig. 3: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của Ví dụ 13, Dạng rắn 1, từ quy trình tái kết tinh của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 1.

Fig. 4: Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 1. Biểu đồ ORTEP được thể hiện bằng các thông số hoán đổi với 50% khả năng.

Fig. 5: Sự xếp chồng mẫu bột thu được của Ví dụ 13, Dạng rắn 1, từ quy trình tái kết tinh của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 1 (Fig. 3) và mẫu bột được tính toán, tạo ra qua phần mềm Mercury, từ dữ liệu đơn tinh thể của tia X được phân phải của Dạng 1 (xem cách xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 1).

Fig. 6: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của Ví dụ 13, Dạng rắn 4, từ quy trình tái kết tinh khác của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 4.

Fig. 7: Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 4. Biểu đồ ORTEP được thể hiện bằng các thông số hoán đổi với 50% khả năng.

Fig. 8: Sự xếp chồng mẫu bột thu được đối với ví dụ 13, Dạng rắn 4, từ quy trình tái kết tinh khác của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 4 (Fig. 6) và mẫu bột được tính toán, tạo ra nhờ phần mềm Mercury, từ dữ liệu đơn tinh thể của tia X được phân phải của Dạng 4 (xem cách xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 4).

Fig. 9: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của Ví dụ 13, Dạng rắn 5, từ Ví dụ 96.

Fig. 10: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của hợp chất trung gian C16, muối HCl.

Fig. 11: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của hợp chất trung gian C91.

Fig. 12: Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của hợp chất trung gian C91. Biểu đồ ORTEP được thể hiện bằng các thông số hoán đổi với 50% khả năng.

Fig. 13: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của hợp chất trung gian C92.

Fig. 14: Mẫu bột nhiễu xạ tia X của hợp chất trung gian C42.

Fig. 15: Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của hợp chất trung gian C42. Biểu đồ ORTEP được thể hiện bằng các thông số hoán đổi với 50% khả năng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Nhằm mục đích sáng chế, như mô tả và được yêu cầu bảo hộ ở đây, các thuật ngữ dưới đây được xác định là như sau:

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ "bao gồm" và "gồm" được sử dụng với nghĩa mở, không giới hạn của chúng. Thuật ngữ "điều trị", như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có chỉ dẫn khác, có nghĩa là đảo ngược, thuyên giảm, ức chế sự tiến triển của, hoặc ngăn ngừa rối loạn hoặc tình trạng mà các thuật ngữ này áp dụng, hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của rối loạn hoặc tình trạng này. Trong các phương pháp điều trị COVID-19, cần phải hiểu rằng COVID-19 là bệnh gây ra ở các bệnh nhân bị nhiễm virut SARS-CoV-2. Virut SARS-CoV-2 cần được hiểu là bao hàm chủng được phát hiện ban đầu của virut cũng như các chủng đột biến mà xuất hiện, như nhưng không chỉ giới hạn ở, các chủng như B.1.1.7 (biến thể Anh), B.1.351 (biến thể Nam Phi), P.1 (biến thể Braxin) và B.1.427/B.1.429 (các biến thể Califonia). Thuật ngữ "việc điều trị", như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có chỉ dẫn khác, dùng để chỉ hành động điều trị như thuật ngữ "điều trị" được xác định ngay trên đây.

Thuật ngữ "bệnh nhân" dùng để chỉ các động vật máu nóng như, ví dụ, chuột đồng, chuột nhắt, chuột, chuột nhảy, mèo, thỏ, chó, gia súc, dê, cừu, ngựa, khỉ, tinh tinh, và người. Đối với việc điều trị COVID-19, các phương pháp theo sáng chế là đặc biệt hữu ích để điều trị bệnh nhân là người.

Thuật ngữ "dược dụng" có nghĩa là chất hoặc chế phẩm phải tương hợp, về mặt hóa học và/hoặc độc tính, với các thành phần khác bao gồm chế phẩm, và/hoặc động vật có vú cần được điều trị cùng với.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu trị liệu" có nghĩa là lượng hợp chất theo sáng chế mà (i) điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, tình trạng, hoặc rối loạn cụ thể, (ii) làm giảm, cải thiện, hoặc loại trừ một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng, hoặc rối loạn cụ thể, hoặc (iii) ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự khởi phát của một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng, hoặc rối loạn cụ thể được mô tả ở đây.

Thuật ngữ "alkyl" như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ phần tử thế hydrocarbyl bão hòa mạch thẳng hoặc mạch nhánh (tức là, phần tử thế thu được từ

hydrocacbon bằng cách loại bỏ hydro); theo một phương án chứa từ một đến tám nguyên tử cacbon, theo phương án khác một đến sáu nguyên tử cacbon và theo phương án khác nữa một đến ba nguyên tử cacbon. Ví dụ không giới hạn về các phần tử thế này bao gồm metyl, etyl, propyl (bao gồm *n*-propyl và isopropyl), butyl (bao gồm *n*-butyl, isobutyl, *sec*-butyl và *tert*-butyl), pentyl, isoamyl, hexyl, heptyl, octyl và tương tự. Theo phương án khác chứa một đến ba cacbon và bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl và isopropyl.

Thuật ngữ "alkynyl" như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ phần tử thế hydrocarbyl bão hòa mạch thẳng hoặc mạch nhánh mà chứa liên kết ba cacbon-cacbon (tức là, phần tử thế thu được từ hydrocacbon chứa liên kết ba bằng cách loại bỏ hydro); theo một phương án chứa từ hai đến sáu nguyên tử cacbon. Ví dụ không giới hạn về các phần tử thế này bao gồm prop-2-yn-1-yl, but-3-yn-1-yl, pent-4-yn-1-yl và hex-5-yn-1-yl.

Thuật ngữ "alkoxy" dùng để chỉ phần tử thế hydrocarbyl bão hòa mạch thẳng hoặc mạch nhánh được gắn vào gốc oxy (tức là, phần tử thế thu được từ rượu hydrocacbon bằng cách loại bỏ hydro khỏi OH); theo một phương án chứa từ một đến sáu nguyên tử cacbon. Ví dụ không giới hạn về các phần tử thế này bao gồm metoxy, etoxy, propoxy (bao gồm *n*-propoxy và isopropoxy), butoxy (bao gồm *n*-butoxy, isobutoxy, *sec*-butoxy và *tert*-butoxy), pentoxy, hexoxy và tương tự. Theo phương án khác có một đến ba cacbon và bao gồm metoxy, etoxy, *n*-propoxy và isopropoxy. Nhóm alkoxy mà được gắn vào nhóm alkyl được gọi là alkoxyalkyl. Ví dụ về nhóm alkoxyalkyl là metoxymetyl.

Thuật ngữ "alkynyloxy" dùng để chỉ phần tử thế hydrocarbyl bão hòa mạch thẳng hoặc mạch nhánh chứa liên kết ba cacbon-cacbon được gắn vào gốc oxy (tức là, phần tử thế thu được từ rượu hydrocacbon chứa liên kết ba bằng cách loại bỏ hydro khỏi OH); theo một phương án chứa từ ba đến sáu nguyên tử cacbon. Ví dụ không giới hạn về các phần tử thế này bao gồm propynyloxy, butynyloxy và pentynyloxy và tương tự.

Trong một số trường hợp, số lượng nguyên tử cacbon trong phần tử thế hydrocarbyl (tức là, alkyl, xycloalkyl, v.v.) được chỉ ra bởi tiền tố "C_x-C_y-" hoặc "C_{x-y}", trong đó x là số tối thiểu và y là số tối đa của nguyên tử cacbon trong phần tử thế. Do đó, ví dụ, "C_1-C_8 alkyl" hoặc "C_{1-8} alkyl" dùng để chỉ phần tử thế alkyl chứa từ 1 đến 8 nguyên tử cacbon, "C_1-C_6 alkyl" hoặc "C_{1-6} alkyl" dùng để chỉ phần tử thế alkyl chứa từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon, "C_1-C_3 alkyl" hoặc "C_{1-3} alkyl" dùng để chỉ phần tử thế alkyl chứa từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Bằng cách minh họa tiếp, C_3-C_6 xycloalkyl hoặc C_{3-6}-xycloalkyl dùng để chỉ nhóm xycloalkyl bão hòa chứa từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon trên vòng.

Thuật ngữ "xycloalkyl" dùng để chỉ phần tử thế cacbon trên vòng thu được bằng cách loại bỏ hydro từ phân tử cacbon vòng bão hòa, ví dụ phần tử thế có ba đến bảy nguyên tử cacbon. Thuật ngữ "xycloalkyl" bao gồm vòng cacbon bão hòa một vòng. Thuật ngữ "C_3-C_7 xycloalkyl" có nghĩa là gốc của hệ vòng có ba đến bảy cạnh mà bao gồm các nhóm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, và xycloheptyl. Thuật ngữ "C_3-C_6 xycloalkyl" có nghĩa là gốc của hệ vòng có ba đến sáu cạnh mà bao gồm các nhóm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl và xyclohexyl. Các nhóm xycloalkyl cũng có thể là vòng cacbon hai vòng hoặc vòng xoắn. Ví dụ, thuật ngữ "C_3-C_{12} xycloalkyl" bao gồm các vòng cacbon một vòng và các gốc xycloalkyl hai vòng và vòng xoắn như bixyclopentyl, bixyclohexyl, bixycloheptyl, bixyclooctyl, bixyclononyl, spiropentyl, spirohexyl, spiroheptyl, spirooctyl và spirononyl.

Thuật ngữ "C_3-C_6 xycloalkoxy" dùng để chỉ nhóm xycloalkyl có ba đến sáu cạnh được gắn vào gốc oxy. Ví dụ bao gồm xyclopropoxy, xyclobutoxy, xyclopentoxy và xyclohexoxy.

Thuật ngữ "aryl" dùng để chỉ hệ vòng cacbon thơm. Thuật ngữ "C_6-C_{10} aryl" dùng để chỉ hệ vòng cacbon thơm có 3 đến 10 nguyên tử và bao gồm phenyl và naphtyl.

Trong một số trường hợp, số lượng các nguyên tử trong phần tử thế vòng chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại (tức là, heteroaryl hoặc heteroxycloalkyl) được chỉ định bởi tiền tố "x đến y cạnh", trong đó x là số tối thiểu và y là số tối đa của các nguyên tử tạo gốc vòng của phần tử thế. Do đó, ví dụ, "heteroxycloalkyl có 4 đến 6 cạnh" dùng để chỉ heteroxycloalkyl chứa từ 4 đến 6 nguyên tử, bao gồm một đến ba nguyên tử khác loại, trong gốc vòng của heteroxycloalkyl. Tương tự, cụm từ "heteroaryl có 5 đến 6 cạnh" dùng để chỉ heteroaryl chứa từ 5 đến 6 nguyên tử, và "heteroaryl có 5 đến 10 cạnh" dùng để chỉ heteroaryl chứa từ 5 đến 10 nguyên tử, mỗi bao gồm một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, trong gốc vòng của heteroaryl. Hơn thế nữa, các cụm từ "heteroaryl có 5 cạnh" và "heteroaryl có 6 cạnh" để chỉ hệ vòng thơm dị vòng có 5 cạnh và hệ vòng thơm dị vòng có sáu cạnh, một cách tương ứng. Nguyên tử khác loại có mặt trong các hệ vòng này được chọn từ N, O và S.

Thuật ngữ "hydroxy" hoặc "hydroxyl" dùng để chỉ –OH. Khi được sử dụng kết hợp với (các) thuật ngữ khác, tiền tố "hydroxy" chỉ ra rằng phần tử thế mà tiền tố được gắn vào được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế hydroxy. Các hợp chất mang cacbon mà với một hoặc nhiều phần tử thế hydroxy bao gồm, ví dụ, các rượu, enol và phenol. Các thuật

ngữ xyano và nitril để chỉ nhóm -CN. Thuật ngữ "oxo" có nghĩa là oxy được gắn vào cacbon bởi liên kết đôi (tức là, khi R^4 là oxo sau đó R^4 cùng với cacbon mà nó được gắn vào là gốc C=O).

Thuật ngữ "halo" hoặc "halogen" dùng để chỉ flo (mà có thể được mô tả là -F), clo (mà có thể được mô tả là -Cl), brom (mà có thể được mô tả là -Br), hoặc iot (mà có thể được mô tả là -I).

Thuật ngữ "heteroxycloalkyl" dùng để chỉ phần tử thế thu được bằng cách loại bỏ hydro từ cấu trúc vòng bão hòa hoặc bão hòa một phần chứa tổng số nguyên tử cụ thể, như 4 đến 6 nguyên tử trên vòng hoặc 4 đến 12 nguyên tử, trong đó ít nhất một trong số các nguyên tử trên vòng là nguyên tử khác loại (tức là, oxy, nitơ, hoặc lưu huỳnh), với nguyên tử trên vòng còn lại độc lập được chọn từ nhóm bao gồm cacbon, oxy, nitơ, và lưu huỳnh. Lưu huỳnh có thể được oxy hóa [tức là, S(O) hoặc $S(O)_2$] hoặc không. Trong nhóm có phần tử thế heteroxycloalkyl, nguyên tử trên vòng của phần tử thế heteroxycloalkyl mà được gắn kết với nhóm có thể là nguyên tử khác loại nitơ, hoặc nó có thể là nguyên tử cacbon trên vòng. Tương tự, nếu phần tử thế heteroxycloalkyl lần lượt được thế bằng nhóm hoặc phần tử thế, thì nhóm hoặc phần tử thế có thể được gắn kết với nguyên tử khác loại nitơ, hoặc nó có thể được gắn kết với nguyên tử cacbon trên vòng. Cần phải hiểu rằng nhóm dị vòng có thể là một vòng, hai vòng, đa vòng hoặc vòng xoắn.

Thuật ngữ "heteroaryl" dùng để chỉ cấu trúc nhân thơm chứa số nguyên tử trên vòng cụ thể trong đó ít nhất một trong số các nguyên tử trên vòng là nguyên tử khác loại (tức là, oxy, nitơ, hoặc lưu huỳnh), với nguyên tử trên vòng còn lại độc lập được chọn từ nhóm bao gồm cacbon, oxy, nitơ, và lưu huỳnh. Ví dụ về các phần tử thế heteroaryl bao gồm các phần tử thế heteroaryl có 6 cạnh như pyridyl, pyrazyl, pyrimidinyl, và pyridazinyl; và các phần tử thế heteroaryl có 5 cạnh như triazolyl, imidazolyl, furanyl, thiophenyl, pyrazolyl, pyrolyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, 1,2,3-, 1,2,4-, 1,2,5-, hoặc 1,3,4-oxadiazolyl và isothiazolyl. Nhóm heteroaryl cũng có thể là nhóm dị thơm hai vòng như indolyl, benzofuranyl, benzothienyl, benzimitazolyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, benzoisoxazolyl, oxazolopyridinyl, imidazopyridinyl, imidazopyrimidinyl và tương tự. Trong nhóm có phần tử thế heteroaryl, nguyên tử trên vòng của phần tử thế heteroaryl mà được gắn kết với nhóm có thể là một trong số các nguyên tử khác loại, hoặc nó có thể là nguyên tử cacbon trên vòng. Tương tự, nếu phần tử thế heteroaryl lần lượt được thế bằng nhóm hoặc phần tử thế, thì nhóm hoặc phần tử thế có thể được gắn kết với một trong số

các nguyên tử khác loại, hoặc nó có thể được gắn kết với nguyên tử cacbon trên vòng. Thuật ngữ "heteroaryl" cũng bao gồm pyridyl *N*-oxit và các nhóm chứa vòng pyridin *N*-oxit. Ngoài ra, nhóm heteroaryl có thể chứa nhóm oxo như nhóm có mặt trong nhóm pyridon. Ví dụ khác bao gồm furyl, thienyl, oxazolyl, thiazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, isoxazolyl, isothiazolyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, pyridinyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, pyridin-2(1*H*)-onyl, pyridazin-2(1*H*)-onyl, pyrimidin-2(1*H*)-onyl, pyrazin-2(1*H*)-onyl, imidazo[1,2-*a*]pyridinyl, và pyrazolo[1,5-*a*]pyridinyl. Heteroaryl có thể còn được thế như được xác định ở đây.

Ví dụ về heteroaryl và heteroxycloalkyl một vòng bao gồm furanyl, dihydrofuranyl, tetrahydrofuranyl, thiophenyl, dihydrothiophenyl, tetrahydrothiophenyl, pyrolyl, isopyrolyl, pyrolinyl, pyrolidinyl, imidazolyl, isoimidazolyl, imidazolinyl, imidazolidinyl, pyrazolyl, pyrazolinyl, pyrazolidinyl, triazolyl, tetrazolyl, dithiolyl, oxathiolyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, thiazolinyl, isothiazolinyl, thiazolidinyl, isothiazolidinyl, thiaoxadiazolyl, oxathiazolyl, oxadiazolyl (bao gồm oxadiazolyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,2,5-oxadiazolyl, hoặc 1,3,4-oxadiazolyl), pyranyl (bao gồm 1,2-pyranyl hoặc 1,4-pyranyl), dihydropyranyl, pyridinyl, piperidinyl, diazinyl (bao gồm pyridazinyl, pyrimidinyl, piperazinyl, triazinyl (bao gồm s-triazinyl, as-triazinyl và v-triazinyl), oxazinyl (bao gồm 2*H*-1,2-oxazinyl, 6*H*-1,3-oxazinyl, hoặc 2*H*-1,4-oxazinyl), isoxazinyl (bao gồm *o*-isoxazinyl hoặc *p*-isoxazinyl), oxazolidinyl, isoxazolidinyl, oxathiazinyl (bao gồm 1,2,5-oxathiazinyl hoặc 1,2,6-oxathiazinyl), oxadiazinyl (bao gồm 2*H*-1,2,4-oxadiazinyl hoặc 2*H*-1,2,5-oxadiazinyl), và morpholinyl.

Thuật ngữ "heteroaryl" có thể cũng bao gồm, khi được mô tả cụ thể như vậy, các hệ vòng có hai vòng trong đó các vòng như vậy có thể được ngưng tụ và trong đó một vòng là thơm và vòng còn lại không phải là phần đầy đủ của hệ thơm được tiếp hợp (tức là, vòng dị vòng thơm có thể được ngưng tụ thành vòng xycloalkyl hoặc heteroxycloalkyl). Ví dụ không giới hạn về các hệ vòng này bao gồm 5,6,7,8-tetrahydroisoquinolinyl, 5,6,7,8-tetrahydroquinolinyl, 6,7-dihydro-5*H*-xyclopenta[*b*]pyridinyl, 6,7-dihydro-5*H*-xyclopenta[*c*]pyridinyl, 1,4,5,6-tetrahydroxyclopenta[*c*]pyrazolyl, 2,4,5,6-tetrahydroxyclopenta[*c*]pyrazolyl, 5,6-dihydro-4*H*-pyrolo[1,2-*b*]pyrazolyl, 6,7-dihydro-5*H*-pyrolo[1,2-*b*][1,2,4]triazolyl, 5,6,7,8-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridinyl, 4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[1,5-*a*]pyridinyl, 4,5,6,7-tetrahydro-1*H*-indazolyl và 4,5,6,7-tetrahydro-2*H*-indazolyl. Cần phải hiểu rằng nếu gốc vòng cacbon hoặc dị vòng có thể

được liên kết hoặc bằng cách khác được gắn vào cơ chất được chỉ định thông qua các nguyên tử trên vòng khác nhau mà không chú ý tới điểm gắn cụ thể, thì tất cả các điểm có thể được dự định, liệu có thông qua nguyên tử cacbon hoặc, ví dụ, nguyên tử nitơ hóa trị ba. Ví dụ, thuật ngữ "pyridyl" có nghĩa là 2-, 3- hoặc 4-pyridyl, thuật ngữ "thienyl" có nghĩa là 2- hoặc 3-thienyl, và v.v..

Nếu các phần tử thế được mô tả là "độc lập" có nhiều hơn một biến, thì mỗi trường hợp về phần tử thế được chọn độc lập của (các) phần tử thế khác từ danh sách các biến có sẵn. Mỗi phần tử thế do đó có thể là giống hoặc khác so với (các) phần tử thế khác.

Nếu các phần tử thế được mô tả là "độc lập được chọn" từ nhóm, thì mỗi trường hợp về phần tử thế được chọn độc lập của (các) phần tử thế khác. Mỗi phần tử thế do đó có thể là giống hoặc khác nhau từ (các) phần tử thế khác.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "Công thức **I**" , "Công thức **I'** " hoặc "Công thức **I"** " có thể dưới đây được gọi là "(các) hợp chất theo sáng chế", "sáng chế," và "(các) hợp chất có công thức **I, I'** hoặc **I"**. Các thuật ngữ này cũng được xác định để bao gồm tất cả các dạng của hợp chất có công thức **I, I'** và **I"** bao gồm các hydrat, các solvat, các chất đồng phân, tinh thể và dạng không kết tinh, dạng đồng hình, dạng đa hình, và các chất chuyển hóa của chúng. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của chúng, có thể tồn tại ở dạng không được solvat hóa và được solvat hóa. Khi dung môi hoặc nước được gắn kết chặt chẽ, thì phức hợp sẽ có tính độc lập hóa lập thể về độ ẩm được xác định rõ. Tuy nhiên, khi dung môi hoặc nước được gắn kết yếu, như ở kênh các solvat và các hợp chất hút ẩm, hàm lượng nước/dung môi sẽ phụ thuộc vào điều kiện độ ẩm và làm khô. Trong các trường hợp như vậy, không phải hóa lập thể sẽ là tiêu chuẩn.

Các hợp chất theo sáng chế có thể có mặt ở dạng lưới hoặc các phức hợp khác. Được bao gồm trong phạm vi theo sáng chế là các phức hợp như dạng lưới, các phức hợp thể vùi thuốc-vật chủ trong đó thuốc và vật chủ có mặt với hệ số tỷ lượng hoặc không phải hệ số tỷ lượng. Cũng bao gồm là các phức hợp của các hợp chất theo sáng chế chứa hai hoặc nhiều hợp phần hữu cơ và/hoặc vô cơ, mà có thể là ở hệ số tỷ lượng hoặc không phải hệ số tỷ lượng. Các phức hợp thu được có thể được ion hóa, được ion hóa một phần, hoặc không được ion hóa. Khi xem xét các phức hợp này, xem J. Pharm. Sci., 64 (8), 1269-1288 by Haleblian (August 1975).

Các hợp chất theo sáng chế có nguyên tử cacbon không đối xứng. Các liên kết cacbon-cacbon của các hợp chất theo sáng chế có thể được mô tả ở đây sử dụng đường nét

liền (———), dạng hình nêm liền (◥), hoặc dạng hình nêm nét đứt (⋯⋯). Việc sử dụng đường nét liền để mô tả các liên kết với nguyên tử cacbon không đối xứng có nghĩa là chỉ ra tất cả các chất đồng phân lập thể có thể có (ví dụ, các chất đồng phân đối ảnh cụ thể, hỗn hợp raxemic, v.v.) ở nguyên tử cacbon được bao gồm. Việc sử dụng dạng hình nêm nét liền hoặc dạng hình nêm nét đứt để mô tả các liên kết với nguyên tử cacbon không đối xứng có nghĩa là chỉ ra rằng chỉ có các chất đồng phân lập thể được thể hiện có nghĩa là được bao gồm. Có thể rằng các hợp chất có công thức **I**, **I'** và **I"** có thể chứa nhiều hơn một nguyên tử cacbon không đối xứng. Trong các hợp chất đó, việc sử dụng đường nét liền để mô tả liên kết với nguyên tử cacbon không đối xứng có nghĩa là chỉ ra tất cả các chất đồng phân lập thể có thể có nghĩa là được bao gồm. Ví dụ, trừ khi có chỉ dẫn khác, được dự định rằng các hợp chất có công thức **I**, **I'** và **I"** có thể có mặt ở dạng các chất đồng phân đối ảnh và các chất đồng phân không đối quang hoặc làm chất triệt quang và hỗn hợp của chúng. Việc sử dụng đường nét liền để mô tả liên kết với một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đối xứng trong hợp chất có công thức **I**, **I'** và **I"** và việc sử dụng dạng hình nêm nét liền hoặc dạng hình nêm nét đứt để mô tả liên kết với nguyên tử cacbon không đối xứng khác trong cùng một hợp chất có nghĩa là chỉ ra rằng hỗn hợp chứa các chất đồng phân không đối quang có mặt.

Các chất đồng phân lập thể có công thức **I**, **I'** và **I"** bao gồm các chất đồng phân cis và trans, các chất đồng phân dị cấu quang học như các chất đồng phân đối ảnh *R* và *S*, các chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân dị hình, chất đồng phân quay, chất đồng phân cấu dạng, và chất hỗ biến của các hợp chất theo sáng chế, bao gồm các hợp chất có nhiều hơn một loại đồng phân; và hỗn hợp của chúng (như chất triệt quang và cặp đồng phân không đối quang). Cũng bao gồm là các muối cộng axit hoặc cộng bazơ trong đó ion là quang hoạt, ví dụ, D-lactat hoặc L-lysin, hoặc raxemic, ví dụ, DL-tartrat hoặc DL-arginin.

Khi các tinh thể triệt quang bất kỳ, tinh thể của hai loại khác nhau có thể có mặt. Loại thứ nhất là hợp chất raxemic (chất triệt quang thực) để chỉ hợp chất nêu trên trong đó một dạng đồng nhất của tinh thể được tạo ra chứa cả hai chất đồng phân đối ảnh với các lượng đẳng phân tử. Loại thứ hai là hỗn hợp raxemic hoặc khối kết trong đó hai dạng tinh thể được tạo ra với các lượng đẳng phân tử, mỗi dạng bao gồm một chất đồng phân đối ảnh.

Các hợp chất theo sáng chế như các hợp chất có công thức **I**, **I'** và **I"** có thể có hiện tượng hỗ biến; các chất hỗ biến này cũng được coi là các hợp chất theo sáng chế. Tất cả các dạng hỗ biến như vậy, và hỗn hợp của chúng, được bao gồm trong phạm vi của các hợp chất có công thức **I**, **I'** và **I"**. Chất hỗ biến có mặt ở dạng hỗn hợp của nhóm hỗ biến trong dung dịch. Ở dạng rắn, thông thường một chất hỗ biến chiếm ưu thế. Mặc dù một chất hỗ biến có thể được mô tả, nhưng sáng chế bao gồm tất cả các chất hỗ biến của các hợp chất có công thức **I**, **I'** và **I"** và các muối của chúng.

Cụm từ "(các) muối dược dụng", như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có chỉ dẫn khác, bao gồm các muối của nhóm axit hoặc bazơ mà có thể có mặt trong các hợp chất được mô tả ở đây. Các hợp chất được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế có bản chất bazơ có khả năng tạo ra nhiều loại muối với các axit vô cơ và axit hữu cơ khác nhau. Các axit mà có thể được sử dụng để điều chế muối cộng axit dược dụng của các hợp chất bazơ như vậy là các muối tạo ra muối cộng axit không độc, nghĩa là, các muối chứa anion có thể chấp nhận được trong dược lý, như các muối axetat, benzensulfonat, benzoat, bicacbonat, bisulfat, bitartrat, borat, bromua, canxi edetat, camsylat, cacbonat, clorua, clavulanat, xitrat, dihydroclorua, edetat, edislyat, estolat, esylat, etylsuxinat, fumarat, gluceptat, gluconat, glutamat, hexylresorcinat, hydrabamin, hydrobromua, hydroclorua, iodua, isethionat, lactat, lactobionat, laurat, malat, maleat, mandelat, mesylat, metylsulfat, mucat, napsylat, nitrat, oleat, oxalat, pamoat (embonat), palmitat, pantothenat, phosphat/diphosphat, polygalacturonat, salixilat, stearat, subaxetat, suxinat, tanat, tartrat, teoclat, tosylat, triethiodod, và các muối valerat.

Đối với các hợp chất theo sáng chế được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế, nếu các hợp chất cũng có mặt ở dạng hỗ biến, sau đó sáng chế này đề cập đến các chất hỗ biến và việc sử dụng tất cả các chất hỗ biến như vậy và hỗn hợp của chúng.

Sáng chế cũng bao gồm các hợp chất và các phương pháp điều trị nhiễm coronavirut như COVID-19 và các phương pháp ức chế SARS-CoV-2 với các hợp chất được đánh dấu đồng vị, là giống các hợp chất được đưa ra ở đây, nhưng trên thực tế rằng một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác so với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường thấy trong tự nhiên. Ví dụ về các chất đồng vị có thể được kết hợp vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, flo và clo, như ^{2}H, ^{3}H, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{17}O, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{18}F, và ^{36}CI, một cách tương ứng. Các hợp chất theo sáng chế, các tiền dược chất của chúng,

và các muối dược dụng của các hợp chất này hoặc của các tiền dược chất này chứa các chất đồng vị trên đây và/hoặc các chất đồng vị của các nguyên tử khác là nằm trong phạm vi theo sáng chế này. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị nhất định theo sáng chế, ví dụ các hợp chất mà các chất đồng vị phóng xạ như ^{3}H và ^{14}C được két hợp vào, là hữu ích trong các thử nghiệm phân bố thuốc và/hoặc mô cơ chất. Được tritiat hóa, nghĩa là, ^{3}H, và cacbon-14, nghĩa là, ^{14}C, các chất đồng vị đặc biệt được ưu tiên để dễ điều chế và phát hiện. Ngoài ra, việc thay thế bằng các chất đồng vị nặng hơn như đơteri, nghĩa là, ^{2}H, có thể thu được các lợi ích điều trị nhất định thu được từ độ ổn định trao đổi chất lớn hơn, ví dụ yêu cầu thời gian bán thải in vivo tăng lên hoặc giảm liều lượng và, do đó, có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế và các tiền dược chất của chúng có thể nói chung được điều chế bằng cách tiến hành các phương pháp để điều chế các hợp chất được bộc lộ trong lĩnh vực kỹ thuật này bằng cách thế một cách dễ dàng chất phản ứng được đánh dấu đồng vị có sẵn đối với chất phản ứng không được đánh dấu chất đồng vị.

Sáng chế này cũng bao hàm các phương pháp sử dụng các dược phẩm và các phương pháp điều trị nhiễm coronavirut như nhiễm COVID-19 thông qua việc dùng các tiền dược chất của các hợp chất theo sáng chế. Các hợp chất có các nhóm amino, amido hoặc hydroxy tự do có thể được chuyển hóa thành các tiền dược chất. Các tiền dược chất bao gồm các hợp chất trong đó gốc axit amin, hoặc chuỗi polypeptit gồm hai hoặc nhiều (ví dụ, hai, ba hoặc bốn) gốc axit amin được liên kết cộng hóa trị thông qua liên kết este với hydroxy của các hợp chất được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế này. Các gốc axit amin bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở 20 axit amin xuất hiện trong tự nhiên thường được chỉ định bởi ba ký hiệu chữ và cũng bao gồm 4-hydroxyprolin, hydroxylysin, desmosin, isodesmosin, 3-metylhistidin, norvalin, beta-alanin, axit gamma-aminobutyric, xitrullin, homoxystein, homoserin, ornithin và methionin sulfon. Các loại tiền dược chất khác cũng được bao hàm. Ví dụ, các nhóm hydroxy tự do có thể được tạo dẫn xuất sử dụng các nhóm bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở hemisuxinat, phosphat este, dimetylaminaxetat, và phosphoryloxymetyloxycarbonyl, như được đưa ra trong *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1996, 19, 115. Các tiền dược chất carbamat của nhóm hydroxy và nhóm amino cũng được bao gồm, là các tiền dược chất cacbonat, sulfonat este và sulfat este của nhóm hydroxy. Dẫn xuất của các nhóm hydroxy như (axyloxy)metyl và (axyloxy)etyl ete trong đó nhóm axyl có thể là alkyl este, tuỳ ý được thế bằng các nhóm

bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các nhóm chức ete, amin và axit carboxylic, hoặc trong đó nhóm axyl là este của axit amin như được mô tả trên đây, cũng được bao hàm. Các tiền dược chất thuộc loại này được mô tả trong *J. Med. Chem.*, 1996, 29, 10. Các amin tự do cũng có thể được tạo dẫn xuất như các amit, sulfonamit hoặc phosphonamit. Tất cả các gốc tiền dược chất này có thể kết hợp các nhóm bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các nhóm chức ete, amin và axit carboxylic.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế kết hợp với các thuốc khác. Ví dụ, cho bệnh nhân nhiễm coronavirut SARS-CoV-2 (tức là, bệnh nhân bị COVID-19) dùng chất ức chế 3CL proteaza của coronavirut SARS-CoV-2 theo sáng chế và interferon, như interferon alpha, hoặc interferon được pegylat hóa, như PEG-Intron hoặc Pegasus, có thể tạo ra lợi ích lâm sàng lớn hơn so với khi dùng liều interferon, interferon được pegylat hóa hoặc chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 riêng lẻ. Các tác nhân bổ sung khác mà có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm dexamethasone, azithromycin và remdesivir. Ví dụ về các lợi ích lâm sàng lớn hơn có thể bao gồm giảm mạnh các triệu chứng COVID-19, thời gian thuyên giảm nhanh hơn của các triệu chứng, bệnh phổi giảm, giảm mạnh lượng coronavirut SARS-CoV-2 ở bệnh nhân (tải lượng virut), và giảm tỷ lệ tử vong.

Coronavirut SARS-CoV-2 nhiễm vào các tế bào biểu hiện P-glycoprotein. Một số chất ức chế coronavirut 3CL proteaza của SARS-CoV-2 theo sáng chế là chất nền P-glycoprotein. Các hợp chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 cũng là chất nền P-glycoprotein có thể được dùng liều với chất ức chế P-glycoprotein. Ví dụ về các chất ức chế P-glycoprotein là verapamil, vinblastine, ketoconazol, nelfinavir, ritonavir hoặc xyclosporin. Các chất ức chế P-glycoprotein tác động bằng cách ức chế dòng các chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 theo sáng chế nằm ngoài tế bào. Quá trình ức chế dòng trên cơ sở P-glycoprotein sẽ ngăn ngừa việc giảm các nồng độ nội bào của chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 do dòng P-glycoprotein. Quá trình ức chế dòng P-glycoprotein sẽ làm tăng nồng độ nội bào của các chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2. Cho bệnh nhân nhiễm coronavirut SARS-CoV-2 dùng chất ức chế coronavirut 3CL proteaza của SARS-CoV-2 theo sáng chế và chất ức chế P-glycoprotein có thể làm giảm lượng chất ức chế coronavirut 3CL proteaza SARS-CoV-2 cần để đạt được liều hiệu quả bằng cách làm tăng nồng độ nội bào của chất ức chế 3CL proteaza của coronavirut SARS-CoV-2.

Trong số các tác nhân mà có thể được sử dụng để tăng khả năng tiếp xúc của động vật có vú với hợp chất theo sáng chế thì tác nhân có thể có tác dụng làm các chất ức chế ít nhất một dạng đồng phân của enzyme sắc tố tế bào P450 (CYP450 - cytochrome P450). Các dạng đồng phân của CYP450 có thể được ức chế theo cách có lợi bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 và CYP3A4. Các hợp chất được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm các hợp chất có thể là cơ chất CYP3A4 và được chuyển hoá bởi CYP3A4. Cho bệnh nhân nhiễm coronavirut SARS-CoV-2 dùng chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 mà là cơ chất CYP3A4, như chất ức chế coronavirut 3CL proteaza SARS-CoV-2, và chất ức chế CYP3A4, như ritonavir, nelfinavir hoặc delavirdine, làm giảm quá trình chuyển hóa của chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 bởi CYP3A4. Điều này sẽ làm giảm độ thanh thải của chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 và tăng nồng độ của chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2 trong huyết tương. Độ thanh thải giảm và nồng độ trong huyết tương cao hơn có thể làm giảm liều hiệu quả của chất ức chế coronavirut SARS-CoV-2.

Các tác nhân trị liệu bổ sung mà có thể được sử dụng kết hợp với các chất ức chế SARS-CoV-2 trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm các tác nhân sau:

Các chất ức chế PLpro, Apilomod, EIDD-2801, Ribavirin, Valganciclovir, *β*-Thymidine, Aspartam, Oxprenolol, Doxycyclin, Axetophenazin, Iopromit, Riboflavin, Reproterol, 2,2′ -Xycloxytidin, Chloramphenicol, Chlorphenesin carbamat, Levodropropizin, Cefamandol, Floxuridin, Tigecyclin, Pemetrexed, axit L(+)-ascorbic, Glutathion, Hesperetin, Ademetionin, Masoprocol, Isotretinoin, Dantvai tròn, Sulfasalazin Kháng khuẩn, Silybin, Nicardipin, Sildenafil, Platycodin, Chrysin, Neohesperidin, Baicalin, Sugetriol-3,9-diaxetat, (–)-Epigallocatechin galat, Phaitanthrin D, 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-[[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-5,7-dihydroxy-2*H*-1-benzopyran-3-yl]oxy]-3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-3,4,5,7-tetrol, 2,2-di(3-indolyl)-3-indolon, (*S*)-(1*S*,2*R*,4a*S*,5*R*,8a*S*)-1-Formamido-1,4a-dimetyl-6-metylen-5-((*E*)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)etenyl)decahydronaphtalen-2-yl-2-amino-3-phenylpropanoat, Piceatannol, Axit Rosmarinic, và Magnolol.

Các chất ức chế 3CLpro, Lymecyclin, Chlorhexidin, Alfuzosin, Cilastatin, Famotidin, Almitrin, Progabide, Nepafenac, Carvedilol, Amprenavir, Tigecyclin, Montelukast, Axit Carminic, Mimosin, Flavin, Lutein, Cefpiramit, Phenethicillin,

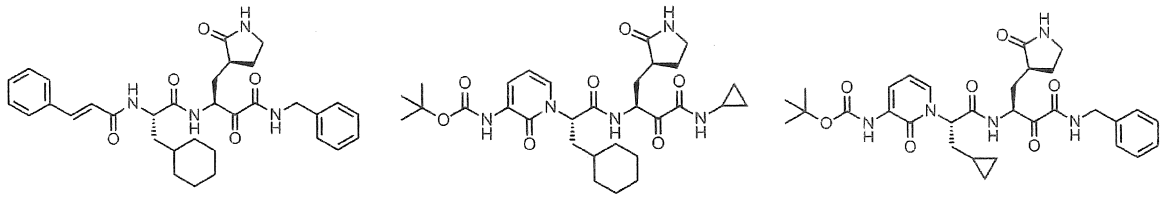
Candoxatril, Nicardipin, Estradiol valerat, Pioglitazon, Conivaptan, Telmisartan, Doxycyclin, Oxytetracyclin, (1*S*,2*R*,4a*S*,5*R*,8a*S*)-1-Formamido-1,4a-dimetyl-6-metylen-5-((*E*)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)etenyl)decahydronaphtalen-2-yl5-((*R*)-1,2-dithiolan-3-yl) pentanoat, Betulonal, Chrysin-7-*O*-*β*-glucuronit, axit Andrographisit, (1*S*,2*R*,4a*S*,5*R*,8a*S*)-1-Formamido-1,4a-dimetyl-6-metylen-5-((*E*)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)etenyl)decahydronaphtalen-2-yl 2-nitrobenzoat, 2*β*-Hydroxy-3,4-seco-friedelolacton-27-oic (*S*)-(1*S*,2*R*,4a*S*,5*R*,8a*S*)-1-Formamido-1,4a-dimetyl-6-metylen-5-((*E*)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)etenyl) decahydronaphtalen-2-yl-2-amino-3-phenylpropanoat, Isodecortinol, Cerevisterol, Hesperidin, Neohesperidin, Andrograpanin, 2-((1*R*,5*R*,6*R*,8a*S*)-6-Hydroxy-5-(hydroxymetyl)-5,8a-dimetyl-2-metylendecahydronaphtalen-1-yl)etyl benzoat, Cosmosiin, Cleistocalton A, 2,2-Di(3-indolyl)-3-indolon, Biorobin, Gnidicin, Phyllaemblinol, Theaflavin 3,3′-di-*O*-galat, axit Rosmarinic, Kouitchensit I, axit Oleanolic, Stigmast-5-*en*-3-ol, Deaxetylcentapicrin, và Berchemol.

Các chất ức chế RdRp, Valganciclovir, Chlorhexidin, Ceftibuten, Fenoterol, Fludarabine, Itraconazol, Cefuroxim, Atovaquone, axit Chenodeoxycholic, Cromolyn, Pancuroni bromua, Cortison, Tibolon, Novobiocin, Silybin, Idarubicin Bromocriptin, Diphenoxylat, Benzylpenicilloyl G, Dabigatran etexilat, Betulonal, Gnidicin, 2*β*,30*β*-Dihydroxy-3,4-seco-friedelolacton-27-lacton, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolit, Gniditrin, Theaflavin 3,3′-di-*O*-galat, (*R*)-((1*R*,5a*S*,6*R*,9a*S*)-1,5a-dimetyl-7-metylen-3-oxo-6-((*E*)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)etenyl)decahydro-1*H*-benzo[*c*]azepin-1-yl)metyl2-amino-3-phenylpropanoat, axit 2*β*-Hydroxy-3,4-seco-friedelolacton-27-oic, 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-[[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-5,7-dihydroxy-2*H*-1-benzopyran-3-yl]oxy]-3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-3,4,5,7-tetrol, Phyllaemblicin B, 14-hydroxyxyperotundon, Andrographisit, 2-((1*R*,5*R*,6*R*,8a*S*)-6-Hydroxy-5-(hydroxymetyl)-5,8a-dimetyl-2-metylendecahydro naphtalen-1-yl)etyl benzoat, Andrographolit, Sugetriol-3,9-diaxetat, Baicalin, (1*S*,2*R*,4a*S*,5*R*,8a*S*)-1-Formamido-1,4a-dimetyl-6-metylen-5-((*E*)-2-(2-oxo-2,5-dihydrofuran-3-yl)etenyl)decahydronaphtalen-2-yl 5-((*R*)-1,2-dithiolan-3-yl)pentanoat, 1,7-Dihydroxy-3-metoxyxanthon, 1,2,6-trimetoxy-8-[(6-*O*-*β*-D-xylopyranosyl-*β*-D-glucopyranosyl)oxy]-9*H*-xanthen-9-on, và 1,8-Dihydroxy-

6-metoxy-2-[(6-*O*-*β*-D-xylopyranosyl-*β*-D-glucopyranosyl)oxy]-9*H*-xanthen-9-on, 8-(*β*-D-Glucopyranosyloxy)-1,3,5-trihydroxy-9*H*-xanthen-9-on,

Các tác nhân trị liệu bổ sung có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm Diosmin, Hesperidin, MK-3207, Venetoclax, Dihydroergocristine, Bolazine, R428, Ditercalinium, Etoposide, Teniposide, UK-432097, Irinotecan, Lumacaftor, Velpatasvir, Eluxadoline, Ledipasvir, Lopinavir / Ritonavir + Ribavirin, Alferon, và prednison. Các tác nhân bổ sung khác hữu ích trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm dexamethasone, azithromycin và remdesivir cũng như boceprevir, umifenovir và favipiravir.

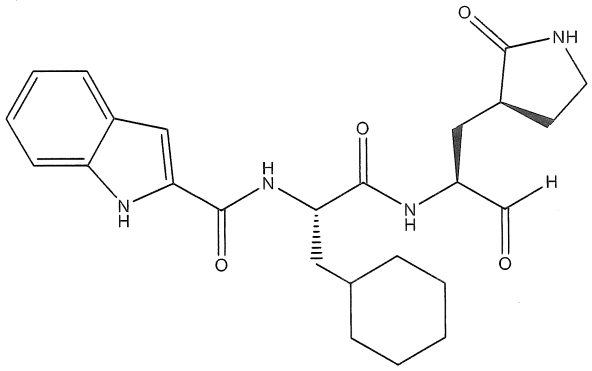
Các tác nhân bổ sung khác có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm các hợp chất α-ketoamit được chỉ ra là 11r, 13a và 13b, được thể hiện dưới đây, như được mô tả trong Zhang, L.; Lin, D.; Sun, X.; Rox, K.; Hilgenfeld, R.; X-ray Structure of Main Protease of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2 Enables Design of α-Ketoamide Inhibitors; bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2020.02.17.952879



11r **13a** **13b**

Các tác nhân bổ sung có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm các chất hoạt hóa con đường RIG 1 như các chất được mô tả trong Patent Mỹ số 9,884,876.

Các tác nhân trị liệu bổ sung khác bao gồm chất ức chế proteaza như các chất được mô tả trong Dai W, Zhang B, Jiang X-M, et al. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science*. 2020;368(6497):1331-1335 bao gồm các hợp chất như hợp chất được thể hiện dưới đây và hợp chất được chỉ ra là DC402234



Phương án khác theo sáng chế là phương pháp điều trị COVID-19 ở bệnh nhân trong đó ngoài việc dùng hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức **I, I'** hoặc **I"** hoặc solvat hoặc hydrat của chúng hoặc muối dược dụng của hợp chất hoặc solvat hoặc hydrat của chúng) tác nhân bổ sung được dùng và tác nhân bổ sung được chọn từ các tác nhân kháng virut như remdesivir, galidesivir, favilavir/avifavir, molnupiravir (MK-4482/EIDD 2801), AT-527, AT-301, BLD-2660, favipiravir, camostat, SLV213 emtrictabine/tenofivir, clevudine, dalcetrapib, boceprevir và ABX464, các glucocorticoit như dexamethasone và hydrocortison, huyết tương dưỡng, huyết tương tái tổ hợp của người như gelsolin (Rhu-p65N), các kháng thể đơn dòng như regdanvimab (Regkirova), ravulizumab (Ultomiris), VIR-7831/VIR-7832, BRII-196/BRII-198, COVI-AMG/COVI DROPS (STI-2020), bamlanivimab (LY-CoV555), mavrilimab, leronlimab (PRO140), AZD7442, lenzilumab, infliximab, adalimumab, JS 016, STI-1499 (COVIGUARD), lanadelumab (Takhzyro), canakinumab (Ilaris), gimsilumab và otilimab, hỗn hợp kháng thể như casirivimab/imdevimab (REGN-Cov2), protein dung hợp tái tổ hợp như MK-7110 (CD24Fc/SACCOVID), các chất chống đông như heparin và apixaban, Các chất chủ vận thụ thể IL-6 như tocilizumab (Actemra) và sarilumab (Kevzara), các chất ức chế PIKfyve như apilimod dimesylat, các chất ức chế RIPK1 như DNL758, DC402234, chất chủ vận thụ thể VIP như PB1046, các chất ức chế SGLT2 như dapaglifozin, các chất ức chế TYK như abivertinib, các chất ức chế kinaza như ATR-002, bemcentinib, acalabrutinib, losmapimod, baricitinib và tofacitinib, chất phong bế H2 như Famotidin, chất trừ giun sán như niclosamide, các chất ức chế furin như diminazene.

Thuật ngữ "tác nhân ức chế SARS-CoV-2" có nghĩa là hợp chất ức chế proteaza tương tự 3C của coronavirut liên quan đến SARS-CoV-2 bất kỳ được mô tả ở đây hoặc

muối dược dụng, hydrat, tiền dược chất, chất chuyển hóa hoạt tính hoặc solvat của chúng hoặc hợp chất ức chế quá trình sao chép của SARS-CoV-2 theo cách bất kỳ.

Thuật ngữ "cản trở hoặc ngăn ngừa" quá trình sao chép của coronavirut liên quan đến SARS-CoV-2 ("SARS-CoV-2") trong tế bào có nghĩa là làm giảm quá trình sao chép SARS-nCoV-2 hoặc tạo ra các hợp phần SARS-CoV-2 cần thiết cho virut đời sau trong tế bào được điều trị bằng hợp chất theo sáng chế này như được so sánh với tế bào không được điều trị bằng hợp chất theo sáng chế. Các thử nghiệm đơn giản và thông thường để xác định xem quá trình sao chép virut SARS-CoV-2 có giảm hay không bao gồm thử nghiệm ELISA đối với sự có mặt, vắng mặt, hoặc có mặt giảm của các kháng thể kháng SARS-CoV-2 trong máu của đối tượng (Nasoff, et al., PNAS 88:5462-5466, 1991), RT-PCR (Yu, et al., in Viral Hepatitis and Liver Disease 574-577, Nishioka, Suzuki and Mishiro (Eds.); Springer-Verlag, Tokyo, 1994). Các phương pháp như vậy là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo cách khác, ARN toàn phần từ các tế bào "đối chứng" được chuyển nhiễm và nhiễm có thể được phân lập và đem phân tích bằng cách thấm điểm hoặc thấm northern và được dò bằng ADN đặc hiệu SARS-CoV-2 để xác định xem quá trình sao chép SARS-nCoV-2 có giảm hay không. Theo cách khác, mức giảm sự biểu hiện protein của SARS-CoV-2 cũng có thể được sử dụng làm chất chỉ dấu của sự ức chế quá trình sao chép SARS-nCoV-2. Hơn năm mươi phần trăm giảm trong quá trình sao chép SARS-nCoV-2 được so sánh với các tế bào đối chứng thường định lượng khả năng ngăn ngừa quá trình sao chép SARS-nCoV-2.

Nếu hợp chất ức chế SARS-CoV-2 được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế là bazơ, thì muối mong muốn có thể được điều chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm việc xử lý bazơ tự do bằng axit vô cơ (như axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric, và tương tự), hoặc với axit hữu cơ (như axit axetic, axit maleic, axit sucxinic, axit mandelic, axit fumaric, axit malonic, axit pyruvic, axit oxalic, axit glycolic, axit salixylic, axit pyranosidyl (như axit glucuronic hoặc axit galacturonic), axit alpha-hydroxy (như axit xitric hoặc axit tartric), axit amin (như axit aspartic hoặc axit glutamic), axit thơm (như axit benzoic hoặc axit xinnamic), axit sulfonic (như axit p-toluenulfonic hoặc axit etansulfonic), và tương tự.

Nếu hợp chất ức chế SARS-CoV-2 được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế là axit, thì muối mong muốn có thể được điều chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm việc xử lý axit tự do bằng bazơ vô cơ hoặc hữu

cơ [như amin (bậc một, bậc hai, hoặc bậc ba)], hydroxit kim loại kiềm, hoặc hydroxit kim loại kiềm thổ. Ví dụ minh họa về các muối thích hợp bao gồm các muối hữu cơ có nguồn gốc từ axit amin (như glyxin và arginin), amoniac, amin bậc một, amin bậc hai, amin bậc ba, và amin vòng (như piperidin, morpholin, và piperazin), cũng như các muối vô cơ có nguồn gốc từ natri, canxi, kali, magie, mangan, sắt, đồng, kẽm, nhôm và lithi.

Trong trường hợp các hợp chất ức chế SARS-CoV-2, các tiền dược chất, các muối, hoặc các solvat ở dạng rắn, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng hợp chất, các tiền dược chất, các muối, và các solvat được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế, có thể tồn tại ở các dạng đa hình hoặc tinh thể khác nhau, tất cả chúng được dự định để bao hàm trong phạm vi theo sáng chế và các công thức cụ thể. Ngoài ra, hợp chất, các muối, các tiền dược chất và các solvat được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế có thể có mặt ở dạng chất hỗ biến, tất cả chúng được dự định nằm trong phạm vi rộng theo sáng chế.

Chất hoà tan cũng có thể được sử dụng với các hợp chất theo sáng chế để làm tăng độ hòa tan của các hợp chất trong nước của dung dịch được chấp nhận về mặt sinh lý. Các chất hòa tan này bao gồm xyclodextrin, propylen glycol, dietylaxetamit, polyetylen glycol, Tween, etanol và tác nhân tạo mixen. Các chất hoà tan được đưa ra là xyclodextrin, đặc biệt là beta-xyclodextrin và cụ thể là hydroxypropyl beta-xyclodextrin và sulfobutylete beta-xyclodextrin.

Trong một số trường hợp, các hợp chất ức chế SARS-CoV-2, các muối, các tiền dược chất và các solvat được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế có thể có các tâm không đối xứng. Khi tâm không đối xứng có mặt, thì hợp chất, các muối, các tiền dược chất và các solvat có thể có mặt ở dạng các chất đồng phân lập thể, chất triệt quang riêng lẻ, và/hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân đối ảnh và/hoặc các chất đồng phân không đối quang. Tất cả các chất đồng phân lập thể, chất triệt quang riêng lẻ này, và hỗn hợp của chúng được dự định nằm trong phạm vi rộng theo sáng chế.

Nhìn chung, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng hợp chất tinh khiết quang là hợp chất đồng phân đối ảnh tinh khiết. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tinh khiết quang" được dự định có nghĩa là hợp chất bao gồm ít nhất có hoạt tính đủ. Tốt hơn, nếu lượng tinh khiết quang của chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ để tạo ra hợp chất có hợp chất tinh khiết về mặt dược lý mong muốn theo sáng chế bao gồm ít nhất 90% chất đồng phân riêng lẻ (quá 80% chất đồng phân đối ảnh (e.e.)), tốt hơn nữa là ít nhất 95%

(90% e.e.), còn tốt hơn nữa là ít nhất 97,5% (95% e.e.), và tốt nhất là ít nhất 99% (98% e.e.).

Thuật ngữ "điều trị", như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có chỉ dẫn khác, có nghĩa là đảo ngược, thuyên giảm, ức chế sự tiến triển của, hoặc ngăn ngừa rối loạn hoặc tình trạng mà các thuật ngữ này được áp dụng, hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của rối loạn hoặc tình trạng này. Thuật ngữ "việc điều trị", như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi có chỉ dẫn khác, dùng để chỉ tác động của việc điều trị khi "điều trị" được xác định ngay ở trên. Theo một phương án được ưu tiên theo sáng chế, "điều trị" hoặc "việc điều trị" có nghĩa là ít nhất làm nhẹ tình trạng bệnh ở người, tức là làm thuyên giảm bằng cách ức chế hoạt tính của 3C proteaza tương tự SARS-CoV-2 là proteaza chính của SARS-CoV-2, tác nhân gây ra bệnh COVID-19. Đối với các bệnh nhân bị COVID-19, sốt, mệt mỏi, và ho khan là các biểu hiện chính của bệnh, trong khi đó các triệu chứng nghẹt mũi, chảy nước mũi, và các triệu chứng khác của đường hô hấp trên là hiếm gặp. Trung tâm kiểm soát và ngăn ngừa bệnh ở Bắc Kinh đã chỉ ra rằng trường hợp điển hình mắc COVID-19 có có quá trình tiến triển bệnh trầm trọng. COVID-19 có thể được phân loại thành các loại nhẹ, bình thường, trầm trọng và nặng dựa vào mức độ nghiêm trọng của bệnh. Ủy ban sức khỏe Quốc gia Trung Quốc (National Health Commission of the People's Republic of China) đưa ra cách chẩn đoán và điều trị bệnh viêm phổi gây ra bởi 2019-nCoV (phiên bản thử nghiệm 4). Có sẵn trực tuyến: http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/573340613ab243b3a7f61df260551dd4/files/c791e5a7ea5149f680fdcb34dac0f54e.pdf : (1) Các trường hợp nhẹ—các triệu chứng lâm sàng là nhẹ, và không phát hiện thấy bệnh viêm phổi trên chụp cắt lớp vi tính ở ngực (CT - computed tomography); (2) Các trường hợp bình thường— các triệu chứng, sốt, hô hấp và các bệnh nhân có biểu hiện của bệnh viêm phổi bằng hình ảnh; (3) Các trường hợp trầm trọng—một trong số ba tình trạng sau: Suy hô hấp, tốc độ hô hấp ≥ 30 lần/phút (ở trạng thái nghỉ, dùng để chỉ độ bão hòa oxy ≤ 93%), áp suất của thành phần oxy trong máu động mạch (PaO2)/nồng độ hấp thu oxy (FiO2) ≤300 mmHg (1 mm Hg = 0,133 kPa); (4) Các trường hợp nặng—một trong số ba tình trạng sau: Suy giảm hô hấp và cần thở máy, sốc, hoặc suy giảm liên quan của các cơ quan khác đòi hỏi đơn vị chăm sóc chuyên sâu. Dữ liệu lâm sàng hiện nay chỉ ra rằng phần lớn các ca tử vong xảy ra ở các bệnh nhân lớn tuổi. Tuy nhiên, các trường hợp trầm trọng đã được ghi trong tài liệu ở người trưởng thành trẻ tuổi có các yếu tố đơn nhất, đặc biệt là các bệnh nhân bị các bệnh mãn tính, như bệnh đái

tháo đường hoặc bệnh viêm gan B. Các bệnh nhân sử dụng hormon hoặc thuốc ức chế miễn dịch trong thời gian dài, và chức năng miễn dịch giảm sút, có thể bị mắc bệnh trầm trọng.

Các phương pháp điều trị để làm nhẹ tình trạng bệnh do coronavirut như COVID-19 bao gồm việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế theo cách có thể chấp nhận được thông thường bất kỳ. Theo các phương án được ưu tiên nhất định theo sáng chế, hợp chất hoặc các hợp chất được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế được dùng cho động vật có vú, như người, có nhu cầu điều trị bệnh. Tốt hơn, nếu động vật có vú có nhu cầu điều trị bệnh bị nhiễm coronavirut như tác nhân gây ra bệnh COVID-19, tức là SARS-CoV-2.

Sáng chế cũng bao gồm các phương pháp phòng ngừa, bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của chất ức chế SARS-CoV-2 theo sáng chế, hoặc muối dược dụng, tiền dược chất, chất chuyển hóa hoạt tính dùng trong dược phẩm, hoặc solvat của chúng cho động vật có vú, như người có nguy cơ nhiễm SARS-CoV-2. Theo các phương án được ưu tiên nhất định, lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng, tiền dược chất, chất chuyển hóa hoạt tính dùng trong dược phẩm, hoặc solvat của chúng được dùng cho người có nguy cơ nhiễm SARS-CoV-2, tác nhân gây ra bệnh COVID-19. Các phương pháp phòng ngừa theo sáng chế bao gồm việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế theo cách có thể chấp nhận được thông thường bất kỳ.

Các hợp chất nhất định được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế, ví dụ dexamethasone, azithromycin và remdesivir là đã biết và có thể được tạo ra bởi các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Bằng chứng gần đây chỉ ra rằng coronavirut SARS-CoV-2 mới là tác nhân gây ra bệnh COVID-19. Trình tự nucleotit của coronavirut SARS-CoV-2 cũng như các phân nhóm L- và S- được xác định gần đây mới được xác định và được tạo ra một cách công khai.

Hoạt tính của các hợp chất ức chế làm các chất ức chế hoạt tính virut SARS-CoV-2 có thể đo được bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp thích hợp có sẵn trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các thử nghiệm *in vivo* và *in vitro*. Hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế làm các chất ức chế hoạt tính proteaza tương tự 3C của coronavirut (như proteaza tương tự 3C của coronavirut SARS-CoV-2) có thể đo được bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp thích hợp đã biết đối với người có hiểu biết trung

bình trong lĩnh vực này, bao gồm các thử nghiệm *in vivo* và *in vitro*. Ví dụ về thử nghiệm thích hợp để đo hoạt tính bao gồm thử nghiệm nuôi cấy tế bào kháng virut được mô tả ở đây cũng như các thử nghiệm kháng proteaza được mô tả ở đây, như các thử nghiệm được mô tả trong phần thử nghiệm.

Việc dùng các hợp chất ức chế SARS-CoV-2 và các tiền dược chất dược dụng của chúng, các muối, chất chuyển hóa hoạt tính, và các solvat có thể được tiến hành theo đường dùng bất kỳ trong số các đường dùng được chấp nhận có sẵn đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ minh họa về đường dùng thích hợp bao gồm đường miệng, mũi, phổi, ngoài đường tiêu hóa, khu trú, tĩnh mạch, được tiêm, qua da, và trực tràng. Phân phối qua đường miệng, tĩnh mạch, dưới da và mũi được ưu tiên.

Tác nhân ức chế SARS-CoV-2 có thể được dùng làm dược phẩm ở dạng dược phẩm thích hợp bất kỳ. Dạng dược phẩm thích hợp bao gồm dược phẩm dạng rắn, bán rắn, lỏng, hoặc đông khô nhanh, như viên nén, bột, viên nang, thuốc đạn, huyền phù, liposom, và dạng khí dung. Tác nhân ức chế SARS-CoV-2 có thể được điều chế làm dung dịch sử dụng phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp. Ví dụ, tác nhân ức chế SARS-CoV-2 có thể được hòa tan với axit (ví dụ, 1 M HCI) và được pha loãng bằng thể tích đủ của dung dịch chứa 5% dextroza trong nước (D5W) để tạo nồng độ cuối mong muốn của tác nhân ức chế SARS-CoV-2 (ví dụ, khoảng 15 mM). Theo cách khác, dung dịch chứa D5W chứa khoảng 15 mM HCI có thể được sử dụng để tạo ra dung dịch chứa tác nhân ức chế SARS-CoV-2 ở nồng độ thích hợp. Ngoài ra, tác nhân ức chế SARS-CoV-2 có thể được điều chế làm huyền phù sử dụng, ví dụ, 1% dung dịch carboxymetylxenluloza (CMC).

Các phương pháp bào chế dạng dược phẩm thích hợp có thể chấp nhận được là đã biết hoặc có thể được xác định thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, dược phẩm có thể được bào chế theo kỹ thuật hóa dược thông thường gồm các bước như trộn, tạo hạt, và nén nếu cần đối với dạng viên nén, hoặc trộn, nạp và hòa tan các thành phần nếu thích hợp, để tạo ra các sản phẩm mong muốn để dùng qua đường tĩnh mạch, miệng, ngoài đường tiêu hóa, khu trú, trong âm đạo, qua mũi, trong phế quản, trong mắt, trong tai, và/hoặc trực tràng.

Thông thường, hợp chất theo sáng chế được dùng với lượng hữu hiệu để điều trị tình trạng bệnh như mô tả ở đây. Các hợp chất theo sáng chế được dùng theo đường thích hợp bất kỳ ở dạng dược phẩm được làm thích ứng với đường dùng như vậy, và với liều hữu hiệu để điều trị được dự định. Liều hữu hiệu điều trị của các hợp chất cần để điều trị

sự tiến triển của tình trạng bệnh được xác định chắc chắn một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sử dụng cách tiếp cận tiền lâm sàng và lâm sàng tương tự lĩnh vực y khoa.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng. Việc dùng qua đường miệng có thể bao gồm nuốt, sao cho hợp chất đi vào đường dạ dày-ruột, hoặc đường dùng trong má hoặc dưới lưỡi có thể được dùng, mà hợp chất đi vào dòng máu trực tiếp từ miệng.

Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng trực tiếp vào dòng máu, vào cơ, hoặc vào cơ quan bên trong. Các đường dùng thích hợp để dùng ngoài đường ruột bao gồm tĩnh mạch, trong động mạch, trong màng bụng (IP), trong vỏ, trong tâm thất, trong niệu đạo, trong xương ức, trong sọ, trong cơ và dưới da. Các thiết bị thích hợp để dùng ngoài đường ruột bao gồm thiết bị tiêm gồm kim tiêm (bao gồm vi kim tiêm), thiết bị tiêm không có kim tiêm và các kỹ thuật truyền.

Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng tại chỗ cho da hoặc niêm mạc, tức là, da hoặc qua da. Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng qua mũi hoặc bằng cách ngửi. Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng theo đường trực tràng hoặc âm đạo. Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng trực tiếp cho mắt hoặc tai.

Phác đồ dùng liều đối với các hợp chất và/hoặc chế phẩm chứa các hợp chất là dựa trên nhiều yếu tố, bao gồm loại, tuổi, thể lượng, giới tính và tình trạng bệnh của bệnh nhân; mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh; đường dùng; và hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng. Do đó, phác đồ dùng liều có thể thay đổi trong một khoảng rộng. Mức liều của thứ tự dùng khoảng từ 0,01 mg đến khoảng 100 mg/kilogam thể trọng/ngày là hữu ích để điều trị các tình trạng được chỉ định nêu trên. Theo một phương án, tổng liều lượng hằng ngày của hợp chất theo sáng chế (được dùng dạng liều đơn hoặc được chia nhỏ) là thường từ khoảng 0,01 đến khoảng 100 mg/kg. Theo phương án khác, tổng liều lượng hằng ngày của hợp chất theo sáng chế là khoảng từ 0,1 đến khoảng 50 mg/kg, và theo phương án khác, khoảng từ 0,5 đến khoảng 30 mg/kg (tức là, mg hợp chất theo sáng chế/kg thể trọng). Theo một phương án, liều là từ 0,01 đến 10 mg/kg/ngày. Theo phương án khác, liều là từ 0,1 đến 1,0 mg/kg/ngày. Chế phẩm đơn vị liều có thể chứa lượng như vậy hoặc ước số của chúng để tạo nên liều lượng hằng ngày. Trong nhiều trường hợp, việc dùng hợp chất sẽ được lặp lại nhiều lần trong ngày (thông thường không lớn hơn 4 lần). Nhiều

liều/ngày thông thường có thể được sử dụng để làm tăng tổng liều lượng hằng ngày, nếu muốn.

Để dùng qua đường miệng, chế phẩm có thể được cung cấp ở dạng viên nén chứa khoảng từ 0,01 mg đến khoảng 500 mg hoạt chất, hoặc theo phương án khác, khoảng từ 1 mg đến khoảng 100 mg hoạt chất. Trong tĩnh mạch, các liều có thể nằm trong khoảng từ 0,1 đến khoảng 10 mg/kg/phút trong quá trình truyền với tốc độ ổn định.

Các bệnh nhân thích hợp theo sáng chế bao gồm bệnh nhân là động vật có vú. Động vật có vú theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chó, mèo, bò, dê, ngựa, cừu, lợn, loài gặm nhấm, động vật gặm nhấm, loài linh trưởng, và tương tự, và bao hàm động vật có vú còn trong bụng. Theo một phương án, người là bệnh nhân thích hợp. Các bệnh nhân là người có thể là nam nữ và ở giai đoạn phát triển bất kỳ.

Theo phương án khác, sáng chế bao gồm việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế để bào chế thuốc điều trị các tình trạng được đưa ra ở đây.

Việc điều trị các tình trạng được đề cập ở trên, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng ở dạng bản thân hợp chất. Theo cách khác, các muối dược dụng là thích hợp cho các ứng dụng y khoa do độ hòa tan trong nước lớn hơn của chúng so với hợp chất gốc.

Theo phương án khác, sáng chế bao gồm dược phẩm. Các dược phẩm như vậy bao gồm hợp chất theo sáng chế có mặt với chất mang dược dụng. Chất mang dược dụng bao hàm dạng liều lượng thích hợp bất kỳ tức là có thể chấp nhận được để dùng cho bệnh nhân. Chất mang có thể là dạng rắn, lỏng, hoặc cả hai, và có thể được bào chế với hợp chất làm chế phẩm liều đơn vị, ví dụ, viên nén, có thể chứa từ 0,05% đến 95% tính theo khối lượng của hoạt chất. Hợp chất theo sáng chế có thể được liên hợp với polyme thích hợp làm chất mang dược chất có thể hướng đích. Các hoạt chất dược lý khác cũng có thể có mặt.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng theo đường thích hợp bất kỳ, tốt hơn là ở dạng dược phẩm được làm thích ứng với đường dùng như vậy, và với liều hữu hiệu để điều trị đã được dự định. Các hoạt chất và chế phẩm, ví dụ, có thể được dùng qua đường miệng, theo đường trực tràng, ngoài đường ruột, hoặc tại chỗ.

Việc dùng qua đường miệng dạng liều rắn có thể là, ví dụ, có mặt trong đơn vị riêng rẽ, như viên nang cứng hoặc mềm, viên tròn, viên nhện, viên hình thoi, hoặc viên nén, mỗi dạng chứa lượng xác định sẵn của ít nhất một hợp chất theo sáng chế. Theo phương án khác, việc dùng qua đường miệng có thể là ở dạng bột hoặc hạt. Theo phương án khác, dạng liều dùng qua đường miệng là dạng dùng dưới lưỡi, như, ví dụ, viên hình thoi. Ở các

dạng liều rắn như vậy, các hợp chất theo sáng chế được kết hợp thông thường với một hoặc nhiều chất bổ trợ. Viên nang hoặc viên nén như vậy có thể chứa chế phẩm giải phóng có kiểm soát. Trong trường hợp viên nang, viên nén, và viên tròn, dạng liều lượng cũng có thể chứa chất đệm hoặc có thể được điều chế với các lớp bao tan trong ruột.

Theo phương án khác, việc dùng qua đường miệng có thể là ở dạng liều lỏng. Dạng liều lỏng để dùng qua đường miệng bao gồm, ví dụ, nhũ tương, các dung dịch, huyền phù, sirô, và cồn ngọt dược dụng chứa chất pha loãng trơ thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, nước). Các chế phẩm như vậy cũng có thể chứa chất bổ trợ, như chất làm ẩm, chất tạo nhũ tương, chất tạo huyền phù, chất tạo hương (ví dụ, làm ngọt), và/hoặc chất tạo mùi thơm.

Theo phương án khác, sáng chế bao gồm dạng liều dùng ngoài đường ruột. "Dùng ngoài đường ruột" bao gồm, ví dụ, tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, tiêm trong màng bụng, tiêm trong cơ, tiêm trong xương ức, và truyền. Chế phẩm có thể tiêm (ví dụ, huyền phù tiêm trong nước hoặc dầu vô trùng) có thể được bào chế theo lĩnh vực kỹ thuật đã biết sử dụng chất phân tán, chất gây ẩm, và/hoặc chất tạo huyền phù thích hợp.

Theo phương án khác, sáng chế bao gồm dạng liều dùng tại chỗ. "Dùng tại chỗ" bao gồm, ví dụ, dùng trên da, như qua miếng dán trên da hoặc thiết bị điện chuyển ion, dùng trong mắt, hoặc qua mũi hoặc ngửi. Chế phẩm để dùng tại chỗ cũng bao gồm, ví dụ, gel dùng tại chỗ, thuốc phun xịt, thuốc mỡ, và kem bôi. Chế phẩm dùng tại chỗ có thể bao gồm hợp chất tăng cường mức độ hấp thu hoặc thẩm thấu của hoạt chất thông qua da hoặc các vùng bị nhiễm bệnh khác. Khi các hợp chất theo sáng chế này được dùng bằng thiết bị dùng trên da, việc dùng sẽ được tiến hành sử dụng miếng dán của vùng lớn và loại màng có lỗ hoặc có nền rắn khác nhau. Các chế phẩm dùng tại chỗ nhằm mục đích này bao gồm gel, hydrogel, nước thơm, dung dịch, kem bôi, thuốc mỡ, bột rắc mịn, dạng hồ, bọt, màng, miếng dán trên da, lát mỏng, các vật cấy ghép, cao su xốp, các xơ, băng và vi nhũ tương. Liposom cũng có thể được sử dụng. Các chất mang tại chỗ bao gồm rượu, nước, dầu khoáng, vazơlin lỏng, vazơlin trắng, glyxerin, polyetylen glycol và propylen glycol. Chất tăng cường thẩm thấu có thể được kết hợp; xem, ví dụ, J. Pharm. Sci., 88 (10), 955-958, by Finnin and Morgan (October 1999).

Chế phẩm thích hợp để dùng tại chỗ cho mắt bao gồm, ví dụ, giọt nhỏ mắt trong đó hợp chất theo sáng chế này được hoà tan hoặc tạo huyền phù trong chất mang thích hợp. Chế phẩm tại chỗ thích hợp để dùng cho mắt hoặc tai có thể là ở dạng nhỏ giọt của huyền

phù được micro hóa hoặc dung dịch trong nước muối đẳng trương, được điều chỉnh độ pH, vô trùng. Các chế phẩm khác thích hợp để dùng cho mắt và tai bao gồm thuốc mỡ, các vật cấy ghép dễ bị vi sinh vật phá hủy (ví dụ, cao su xốp dạng gel có thể hấp thu, colagen) và không bị vi sinh vật phá hủy (ví dụ, silicon), lát mỏng, dạng áp tròng và hệ dạng hạt hoặc túi, như niosom hoặc liposom. Polyme như axit polyacrylic được liên kết ngang, rượu polyvinylic, axit hyaluronic, polyme xenluloza, ví dụ, hydroxypropylmetyl xenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hoặc metyl xenluloza, hoặc polyme heteropolysacarit, ví dụ, gôm gelan, có thể được kết hợp cùng với chất bảo quản, như benzalkoni clorua. Các chế phẩm như vậy cũng có thể được phân phối bằng cách điện chuyển ion.

Để dùng qua mũi hoặc dùng bằng cách ngửi, các hoạt chất theo sáng chế được phân phối thuận tiện ở dạng dung dịch hoặc huyền phù từ đồ chứa phun bơm tức là được ép hoặc được bơm bởi bệnh nhân hoặc ở dạng phun khí dung từ đồ chứa được tạo áp hoặc máy phun mù, với việc sử dụng chất đẩy thích hợp. Chế phẩm thích hợp để dùng qua mũi thường được dùng ở dạng bột khô (riêng lẻ, ở dạng hỗn hợp, ví dụ, ở hỗn hợp khô với lactoza, hoặc là hợp phần hạt được trộn, ví dụ, được trộn với phospholipit, như phosphatidylcholin) từ máy xông bột khô hoặc ở dạng phun khí dung từ đồ chứa được tạo áp, bơm, phun, máy phun tán (tốt hơn là máy phun tán sử dụng điện thủy động học để tạo ra sương mù mịn), hoặc máy phun mù, có hoặc không sử dụng chất đẩy thích hợp, như 1,1,1,2-tetrafloetan hoặc 1,1,1,2,3,3,3-heptaflopropan. Để dùng qua mũi, bột có thể chứa tác nhân kết dính sinh học, ví dụ, chitosan hoặc xyclodextrin.

Theo phương án khác, sáng chế bao gồm dạng liều dùng theo đường trực tràng. Dạng liều dùng theo đường trực tràng như vậy có thể là ở dạng, ví dụ, viên đạn. Bơ dừa là nền viên đạn truyền thống, nhưng các dạng khác nhau có thể được sử dụng nếu thích hợp.

Các nguyên liệu mang và đường dùng khác đã biết trong lĩnh vực dược phẩm cũng có thể được sử dụng. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bởi kỹ thuật bất kỳ trong số các kỹ thuật dùng trong dược phẩm đã biết, như chế phẩm hữu hiệu và phương pháp dùng. Các mối quan tâm nêu trên liên quan đến chế phẩm hữu hiệu và phương pháp dùng đã biết trong lĩnh vực này và được mô tả trong sách tiêu chuẩn. Chế phẩm thuốc được thảo luận trong, ví dụ, Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman et al., Eds., Pharmaceutical Dosage Các Dạng, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; and Kibbe et al., Eds., Handbook of

Pharmaceutical Excipients (3rd Ed.), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng, riêng lẻ hoặc kết hợp với các tác nhân trị liệu khác, để điều trị các điều kiện hoặc tình trạng bệnh khác nhau. (Các) hợp chất theo sáng chế và (các) tác nhân trị liệu khác có thể được dùng đồng thời (ở cùng dạng liều lượng hoặc ở các dạng liều lượng riêng rẽ) hoặc lần lượt. Hai hoặc nhiều hợp chất có thể được dùng đồng thời, đồng thời hoặc lần lượt. Ngoài ra, việc dùng đồng thời có thể được thực hiện bằng cách trộn các hợp chất trước khi dùng hoặc bằng cách dùng các hợp chất ở cùng một điểm đúng giờ nhưng ở các vị trí giải phẫu khác nhau hoặc sử dụng các đường dùng khác nhau. Cụm từ "dùng cùng lúc", "dùng cùng thời điểm", "dùng đồng thời", và "được dùng đồng thời" có nghĩa là các hợp chất được dùng được kết hợp với nhau.

Sáng chế bao gồm việc sử dụng dạng kết hợp của hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung. Nếu dạng kết hợp của hoạt chất được dùng, sau đó chúng có thể được dùng lần lượt hoặc đồng thời, ở các dạng liều lượng riêng rẽ hoặc kết hợp ở dạng liều lượng đơn lẻ. Do đó, sáng chế cũng bao gồm dược phẩm bao gồm lượng của: (a) tác nhân thứ nhất bao gồm hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng hợp chất; (b) tác nhân trị liệu thứ hai; và (c) chất mang dược dụng. Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể bao gồm các tá dược, các chất pha loãng, tá dược lỏng, và chất mang thích hợp, cũng như các dược chất khác, tùy thuộc vào việc sử dụng dự định. Chất mang dược dụng rắn hoặc lỏng, các chất pha loãng, tá dược lỏng, hoặc các tá dược có thể được dùng trong dược phẩm. Các chất mang rắn minh họa bao gồm tinh bột, lactoza, canxi sulfat dihydrat, thạch cao, sucroza, bột talc, gelatin, pectin, acaxia, magie stearat, và axit stearic. Các chất mang lỏng minh họa bao gồm sirô, dầu đậu phộng, dầu ôliu, dung dịch nước muối, và nước. Chất mang hoặc chất pha loãng có thể bao gồm nguyên liệu giải phóng kéo dài thích hợp, như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat, riêng lẻ hoặc với sáp. Khi chất mang lỏng được sử dụng, thì chế phẩm có thể là ở dạng sirô, cồn ngọt, nhũ tương, viên nang gelatin mềm, dịch lỏng tiêm vô trùng (ví dụ, dung dịch), hoặc huyền phù lỏng trong nước hoặc không trong nước.

Liều của dược phẩm có thể chứa ít nhất lượng hữu hiệu trị liệu của tác nhân ức chế SARS-CoV-2 và tốt hơn là được tạo ra từ một hoặc nhiều đơn vị liều dùng cho dược dùng. Liều được chọn có thể được dùng cho động vật có vú, ví dụ, bệnh nhân là người, có nhu cầu điều trị qua trung gian bằng cách ức chế hoạt tính coronavirut liên quan đến SARS-

CoV-2, bằng phương pháp dùng liều đã biết hoặc thích hợp bất kỳ, bao gồm dùng tại chỗ, ví dụ, ở dạng thuốc mỡ hoặc kem; qua đường miệng; theo đường trực tràng, ví dụ, ở dạng viên đạn; ngoài đường ruột bằng cách tiêm; trong tĩnh mạch; hoặc liên tục bằng cách truyền trong âm đạo, qua mũi, trong phế quản, trong tai, hoặc trong mắt.

Các cụm từ "lượng hữu hiệu trị liệu" và "lượng hữu hiệu" được dự định để có nghĩa là lượng của tác nhân theo sáng chế mà, khi được dùng cho động vật có vú có nhu cầu điều trị, là đủ để tác động đến việc điều trị đối với tổn thương hoặc các tình trạng bệnh được thuyên giảm bằng cách ức chế quá trình sao chép virut SARS-CoV-2. Lượng tác nhân ức chế SARS-CoV-2 đã nêu được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế sẽ là hữu hiệu điều trị thay đổi tùy thuộc vào các yếu tố như tác nhân ức chế SARS-CoV-2 cụ thể, tình trạng bệnh và mức độ nghiêm trọng của chúng, tính đồng nhất và các đặc điểm của động vật có vú có nhu cầu điều trị bệnh, mà lượng có thể được xác định thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Cần phải hiểu rằng liều lượng thực của tác nhân ức chế SARS-CoV-2 được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế này sẽ được chọn theo các đặc tính của tấc nhân cụ thể cần sử dụng, chế phẩm cụ thể được bào chế, đường dùng và vị trí dùng, và vật chủ và tình trạng cần điều trị. Liều lượng tối ưu đối với các nhóm tình trạng đưa ra có thể được xác định chắc chắn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sử dụng các thử nghiệm xác định liều lượng thông thường. Để dùng qua đường miệng, ví dụ, liều có thể được dùng là khoảng từ 0,01 đến khoảng 1000 mg/kg thể trọng, tốt hơn là khoảng từ 0,1 đến khoảng 500 mg/kg thể trọng, và còn tốt hơn nữa là khoảng từ 1 đến khoảng 500 mg/kg thể trọng, với liệu trình điều trị lặp lại ở các khoảng thích hợp. Để dùng theo đường tĩnh mạch, liều lên tới 5 gam/ngày có thể được dùng. Việc dùng tĩnh mạch có thể xảy ra trong khoảng thời gian gián đoạn trong ngày hoặc liên tục trong khoảng thời gian 24 giờ.

Thuật ngữ "lượng ức chế sắc tố tế bào P450" và "lượng ức chế hoạt tính enzym của sắc tố tế bào P450", như được sử dụng trong bản mô tả này, để chỉ lượng của hợp chất cần để làm giảm hoạt tính của enzym của sắc tố tế bào P450 hoặc dạng đồng phân của enzym của sắc tố tế bào P450 cụ thể với sự có mặt của hợp chất như vậy. Xem liệu hợp chất cụ thể có làm giảm hoạt tính enzym của sắc tố tế bào P450, và lượng của hợp chất này cần để làm giảm hoạt tính này, có thể được xác định bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và phương pháp được mô tả ở đây.

Các chức năng protein cần để sao chép và phiên mã coronavirut được mã hóa bởi gen được gọi là "replicaza". Hai polyprotein xếp chồng được dịch mã từ gen này và được xử lý chuyên sâu bởi virut proteaza. Vùng gần C được xử lý ở mười một vùng nối trong miền được bảo toàn bởi miền coronavirut hoặc proteaza "tương tự 3C". Tên gọi proteaza "tương tự 3C" xuất phát từ sự tương đồng nhất định giữa enzym coronavirut và picornavirut 3C proteaza đã biết. Các chất này bao gồm các ưu tiên cơ chất, sử dụng xystein làm vị trí hoạt tính ái nhân trong quá trình xúc tác, và các tương đồng trong các gấp nếp polypeptit toàn phần giả định của chúng. So sánh trình tự axit amin của proteaza tương tự 3C của coronavirut liên quan tới SARS-CoV-2 với trình tự của các coronavirut khác đã biết như SARS-CoV chỉ ra rằng trình tự axit amin có mức tương đồng xấp xỉ 96%.

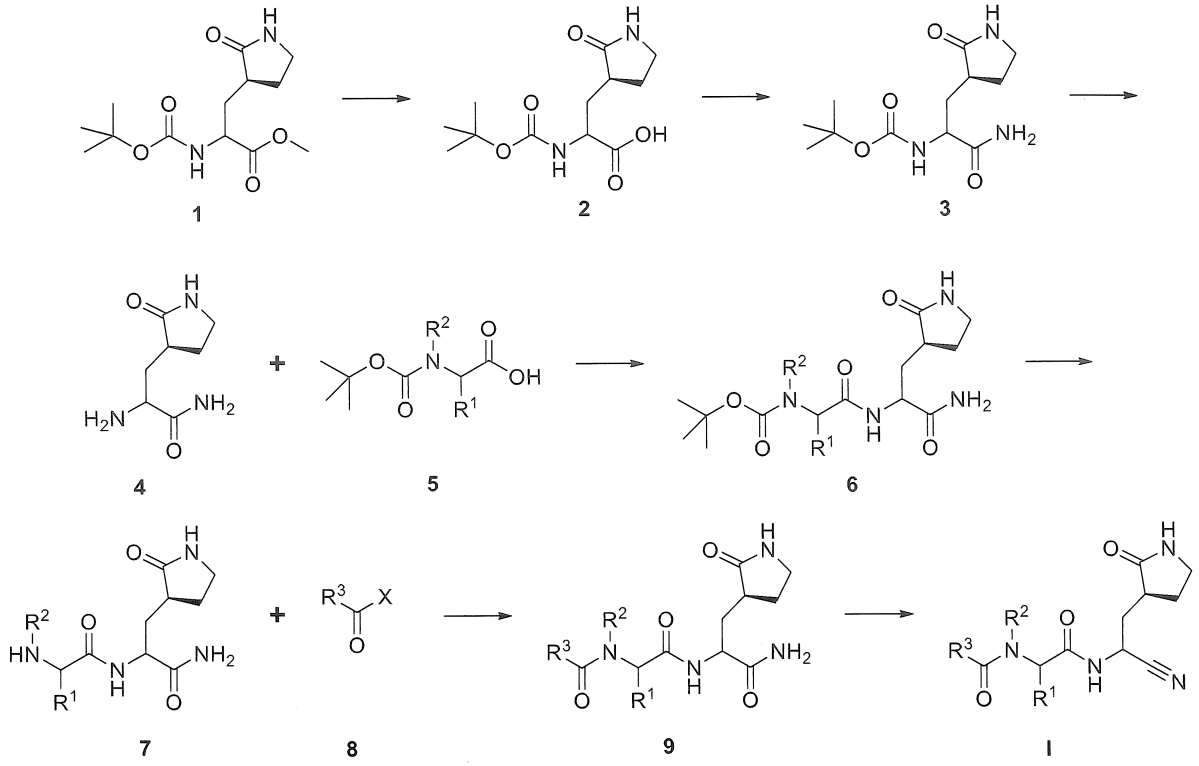
Axit amin của cơ chất ở vị trí phân cắt proteaza được đánh số từ đầu tận cùng N đến C là như sau: -P3-P2-P1-P1'-P2'-P3', với vị trí phân cắt xảy ra giữa các gốc P1 và P1' (Schechter & Berger, 1967). Tính đặc hiệu cơ chất chủ yếu được xác định bởi các vị trí P2, P1 và P1'. Tính đặc hiệu vị trí phân cắt của proteaza chính của coronavirut được bảo toàn cao với yêu cầu glutamin ở P1 và axit amin nhỏ ở P1' [*Journal of General Virology*, 83, pp. 595-599 (2002)].

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo các phương pháp nêu trong các Sơ đồ phản ứng từ 1 đến 3 dưới đây.

Các sơ đồ được đưa ra dưới đây còn minh họa và làm ví dụ cho các hợp chất theo sáng chế và các phương pháp điều chế các hợp chất này. Cần phải hiểu rằng phạm vi theo sáng chế không bị giới hạn theo cách bất kỳ bởi phạm vi của các Ví dụ và quy trình điều chế sau đây. Trong Ví dụ sau đây, các phân tử có một tâm không đối xứng có thể có mặt ở dạng chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ hoặc hỗn hợp raxemic. Các phân tử có hai hoặc nhiều tâm không đối xứng có thể có mặt ở dạng chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ, raxemic hoặc bằng cách khác hỗn hợp chứa hai chất đồng phân đối ảnh, hoặc ở dạng các hỗn hợp khác nhau của các chất đồng phân không đối quang. Các chất đồng phân đối ảnh, chất triệt quang, và các chất đồng phân không đối quang như vậy có thể thu được và / hoặc được tách bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này rằng các thao tác tổng hợp nhất định có thể epime hóa hoặc raxemic hóa tâm lập thể, và các điều kiện tổng hợp có thể được chọn để thúc đẩy hoặc khuyến khích quá trình epime hoá hoặc raxemic hóa này.

Sơ đồ 1 minh họa trình tự tổng hợp để điều chế các hợp chất có công thức **I** như được thể hiện, trong đó N-BOC metyl este có công thức **1** (WO 2005/113580) được chuyển hóa thành amit bậc một có công thức 3 (N-BOC là N-*tert*-butoxycarbonyl). Quy trình này có thể được tiến hành trực tiếp, ví dụ bằng cách xử lý với amoniac (NH_3) trong bình được đậy kín trong dung môi như metanol hoặc etanol, ví dụ, tuỳ ý với sự có mặt của chất phụ gia như canxi clorua ($CaCl_2$) hoặc magie dimetoxit, $Mg(OMe)_2$.

Sơ đồ 1



Sự chuyển hóa của hợp chất có công thức **1** thành hợp chất có công thức **3** cũng có thể được thực hiện bằng cách chuyển hóa trước thành axit carboxylic có công thức **2** (WO 2005/113580). Trong trường hợp này hợp chất có công thức **2** có thể được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **3** sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, hợp chất có công thức **2** có thể được xử lý với chất phản ứng như *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU), isobutyl cloroformat, 1-[3-(dimetylamin)propyl]-3-etylcarbodiimit hydroclorua (EDCI) và hydroxybenzotriazol (HOBt), hoặc 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), tuỳ ý với sự có mặt của bazơ như N,N-diisopropyletylamin (DIEA), 4-metylmorpholin (NMM), hoặc trietylamin (TEA), tiếp đó là xử lý với NH_3 được dùng ở dạng khí hoặc dung dịch trong dung môi phản ứng tương hợp, hoặc với muối của NH_3 như amoni axetat hoặc amoni

clorua với sự có mặt của bazơ như N,N-diisopropyletylamin, 4-metylmorpholin, hoặc trietylamin. Các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, diclometan (CH_2Cl_2), N,N-dimetylformamit (DMF), tetrahydrofuran (THF), hoặc axetonitril (CH_3CN).

Hợp chất có công thức **3** có thể được khử bảo vệ *N* để tạo ra amin có công thức **4** sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để tác động đến quá trình khử bảo vệ này. Các chất phản ứng axit thông thường như hydro clorua, axit metanesulfonic, hoặc axit trifloaxetic được sử dụng, thông thường trong dung môi phản ứng tương hợp như CH_2Cl_2, 1,4-dioxan, 1,2-dicloetan, hoặc CH_3CN. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rõ rằng hợp chất có công thức **4** thường sẽ thu được ở dạng muối cộng axit. Hợp chất có công thức **4** có thể sau đó được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **6** bằng cách cho xử lý với hợp chất axit amin được bảo vệ *N* có công thức **5** trong các điều kiện thích hợp. Các phương pháp như vậy là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và nói chung các điều kiện liên hợp peptit tiêu chuẩn có thể được chọn.

Hợp chất có công thức **6** có thể được khử bảo vệ *N* để tạo ra amin có công thức **7** sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để tác động đến quá trình khử bảo vệ này. Các chất phản ứng axit thông thường như hydro clorua, axit metanesulfonic, hoặc axit trifloaxetic được sử dụng, thông thường trong dung môi phản ứng tương hợp như CH_2Cl_2, 1,4-dioxan, 1,2-dicloetan, hoặc CH_3CN. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng hợp chất có công thức **7** thường sẽ thu được ở dạng muối cộng axit. Hợp chất có công thức **7** có thể sau đó được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **9** bằng cách cho xử lý với hợp chất axit carboxylic có công thức **8** trong các điều kiện thích hợp. Các phương pháp như vậy là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, khi X = nguyên tử clo, hợp chất axit carboxylic đã biết là clorua axit và phản ứng được tiến hành với sự có mặt của bazơ để sử dụng hydro halogenua HX đã được tạo ra làm sản phẩm phụ của phản ứng. Ví dụ về các bazơ thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các amin bậc ba như 4-metylmorpholin, 2,6-dimetylpyridin, hoặc N,N-diisopropyletylamin, hoặc các bazơ vô cơ như magie oxit (MgO), natri cacbonat (Na_2CO_3), hoặc kali bicacbonat ($KHCO_3$). Các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CH_2Cl_2, DMF, THF, hoặc CH_3CN. Khi X = OH, thường dùng chất phản ứng hoặc dạng kết hợp của các chất phản ứng để tạo

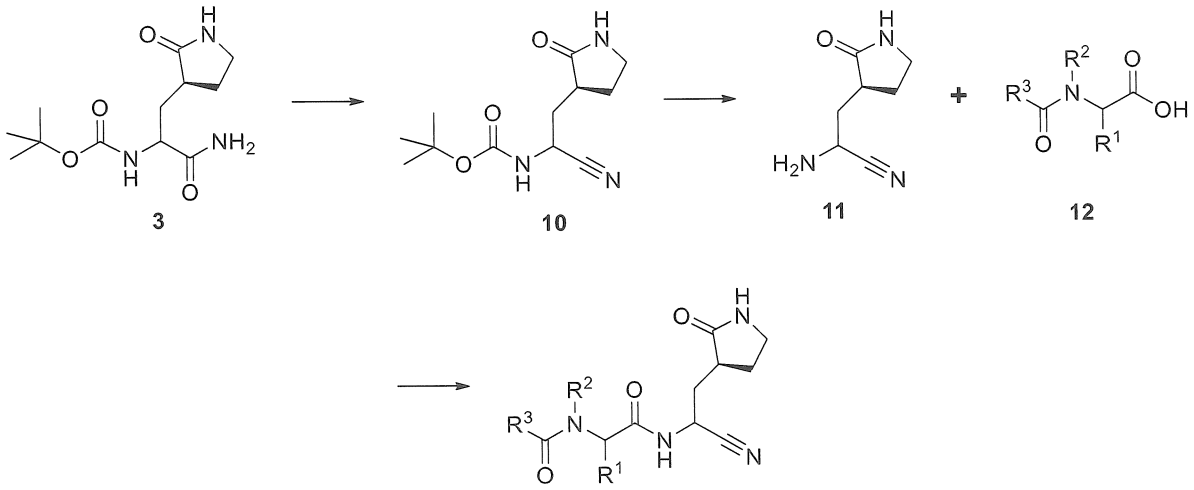
điều kiện thuận lợi cho phản ứng của hợp chất axit carboxylic có công thức **8**. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể lựa chọn để dùng, ví dụ, chất phản ứng carbodiimit như 1-[3-(dimetylamin)propyl]-3-etylcarbodiimit hydroclorua (EDCI) hoặc N,N'-dixyclohexyl carbodiimit (DCC), tuỳ ý với sự có mặt của chất ái nhân bổ trợ như hydroxybenzotriazol (HOBt) hoặc 2-hydroxypyridin-N-oxit (HOPO). Ngoài ra, khi X = OH, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể lựa chọn để dùng các chất phản ứng là thích hợp để tạo ra carboxyl / cacbonic anhydrit được trộn, như CDI, isobutyl hoặc etyl cloroformat,thường với sự có mặt của bazơ như được mô tả trên đây. Các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CH_2Cl_2, THF, hoặc CH_3CN. Cách tiếp cận khác thường được sử dụng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này khi X = OH là để xử lý hợp chất axit carboxylic có công thức **8** với clorua của axit carboxylic, ví dụ như Me_3CCOCl, với sự có mặt của bazơ như được mô tả trên đây để tạo ra carboxylic anhydrit được trộn có công thức $R_3C(O)O(O)CCMe_3$. Các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CH_2Cl_2, THF, hoặc CH_3CN. Trong một số trường hợp có thể sử dụng anhydrit đối xứng của hợp chất axit carboxylic mong muốn có công thức **8** để tiến hành phản ứng, tuỳ ý với sự có mặt của bazơ như được mô tả trên đây, trong đó trường hợp X = $O(O)CR_3$ và do đó hợp chất axit carboxylic có công thức **8** là $R_3C(O)O(O)CR_3$. Các dung môi thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CH_2Cl_2, THF, hoặc CH_3CN.

Hợp chất có công thức **9** có thể được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **I** bằng cách xử lý trong điều kiện loại nước đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Thông thường, bước loại nước này có thể được tiến hành sử dụng lượng dư trifloaxetic anhydrit hoặc phospho oxyclorua, nói chung với sự có mặt của bazơ như pyridin, N,N-diisopropyletylamin, 4-metylmorpholin, hoặc trietylamin.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ biết rằng axit amin được bảo vệ N-BOC có công thức **5** đã biết trong tài liệu hoá học, đang có trên thị trường, và có thể được điều chế từ axit amin đang có trên thị trường và đã biết tương ứng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sử dụng các phương pháp đã được thiết lập để tổng hợp axit amin được bảo vệ N. Tương tự, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các hợp chất axit carboxylic có công thức **8** có thể là đã biết trong tài liệu hoá học, và / hoặc đang có trên thị trường, và / hoặc có thể được điều chế bằng các phương pháp đã được công bố hoặc bằng cách tương đồng với các phương pháp đã được công bố.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng bước tạo liên kết trong Sơ đồ 1 có thể được tiến hành theo thứ tự khác nhau với các cách xem xét thích hợp, ví dụ như được thể hiện trong Sơ đồ 2.

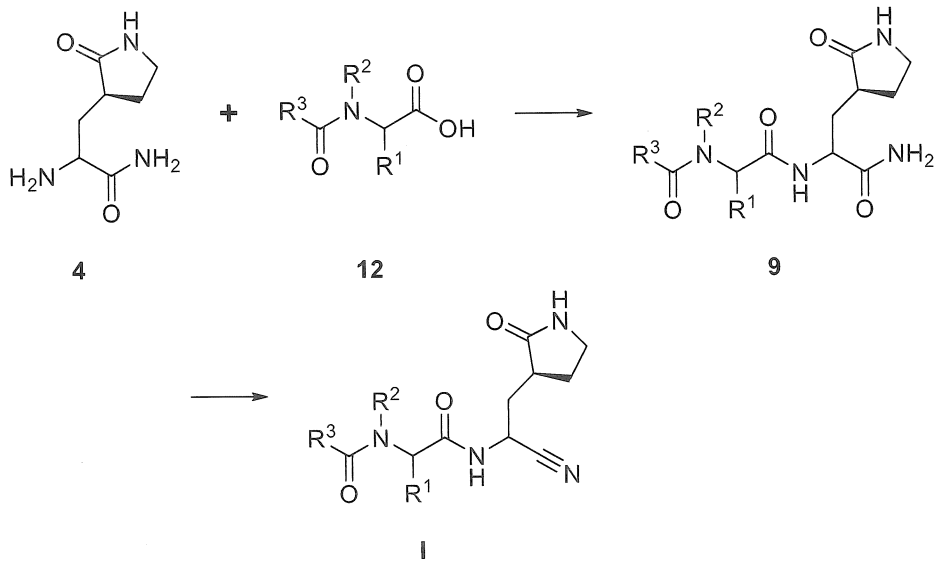
Sơ đồ 2



Trong Sơ đồ 2, hợp chất có công thức **3** được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **10** bằng cách xử lý trong điều kiện loại nước đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Thông thường, bước loại nước này có thể được tiến hành sử dụng lượng dư trifloaxetic anhydrit hoặc phospho oxyclorua, nói chung với sự có mặt của bazơ như pyridin, N,N-diisopropyletylamin, 4-metylmorpholin, hoặc trietylamin. Hợp chất có công thức **10** được khử bảo vệ *N* để tạo ra amin có công thức **11** sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để tác động đến quá trình khử bảo vệ này. Thông thường, các chất phản ứng axit như hydro clorua, axit metanesulfonic, hoặc axit trifloaxetic được sử dụng, thông thường trong dung môi tương hợp phản ứng như CH_2Cl_2, 1,4-dioxan, 1,2-dicloetan, hoặc CH_3CN. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng hợp chất có công thức **11** thường sẽ thu được ở dạng muối cộng axit. Hợp chất có công thức **11** có thể sau đó được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **I** bằng cách cho xử lý với hợp chất có công thức **12** trong các điều kiện thích hợp. Các phương pháp như vậy là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và nói chung các điều kiện liên hợp peptit tiêu chuẩn có thể được chọn. Các hợp chất có công thức **12** đã biết theo cách ngoại lệ trong tài liệu hoá học, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể chọn để điều chế hợp chất có công thức **12** đã đưa ra bất kỳ sử dụng các phương pháp tương tự như các phương pháp được mô tả trong tài liệu hoá học.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng bước tạo liên kết trong các Sơ đồ 1 và 2 có thể được tiến hành theo các thứ tự còn khác nhau nữa cùng với các cách xem xét thích hợp, ví dụ như được thể hiện trong Sơ đồ 3.

Sơ đồ 3



Trong Sơ đồ 3, hợp chất có công thức **4** có thể sau đó được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **9** bằng cách cho xử lý với hợp chất có công thức **12** trong các điều kiện thích hợp. Các phương pháp như vậy là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và nói chung các điều kiện liên hợp peptit tiêu chuẩn có thể được chọn. Các hợp chất có công thức **12** đã biết theo cách ngoại lệ trong tài liệu hoá học, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể chọn để điều chế hợp chất có công thức **12** đưa ra bất kỳ sử dụng các phương pháp tương tự như phương pháp được mô tả trong tài liệu hoá học. Hợp chất có công thức **9** sau đó được chuyển hóa thành hợp chất có công thức **I** bằng cách xử lý trong điều kiện loại nước đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Thông thường, bước loại nước này có thể được tiến hành sử dụng lượng dư trifloaxetic anhydrit hoặc phospho oxyclorua, nói chung với sự có mặt của bazơ như pyridin, N,N-diisopropyletylamin, 4-metylmorpholin, hoặc trietylamin.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các hoán vị khác nữa của bước tạo liên kết và các thao tác xử lý nhóm chức trong các Sơ đồ 1, 2 và 3 có thể được áp dụng cùng với các cách xem xét thích hợp. Các hoán vị như vậy trong việc lựa chọn thứ tự các bước là đã biết trong tài liệu hoá học và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể tra cứu tài liệu hoá học để hướng dẫn thêm nếu muốn. Người có hiểu

biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng có thể tiến hành các lựa chọn khác của các nhóm bảo vệ và các chất phản ứng để tác động vào các chuyển hóa khác nhau.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương pháp thử nghiệm

Dưới đây minh họa quy trình tổng hợp các hợp chất khác nhau theo sáng chế. Các hợp chất bổ sung nằm trong phạm vi theo sáng chế này có thể được điều chế sử dụng các phương pháp được minh họa trong các ví dụ này, riêng lẻ hoặc kết hợp với kỹ thuật nói chung đã biết trong lĩnh vực này. Tất cả các nguyên liệu ban đầu trong các chế phẩm và Ví dụ là đang có trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này hoặc như mô tả ở đây.

Tất cả các phản ứng được thực hiện sử dụng quá trình khuấy liên tục trong điều kiện khí nitơ hoặc agon trừ khi có chỉ dẫn khác. Nếu thích hợp, các thiết bị phản ứng được làm khô trong điều kiện chân không động lực sử dụng súng sấy, và các dung môi khan (các sản phẩm Sure-Seal™ từ Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin hoặc các sản phẩm DriSolv™ từ EMD Chemicals, Gibbstown, NJ) được sử dụng. Trong một số trường hợp, các dung môi thương mại được cho đi qua các cột được đóng gói bằng sàng phân tử 4Å, cho tới khi thu được tiêu chuẩn QC cho nước: a) <100ppm đối với diclometan, toluen, *N,N*-dimetylformamit, và tetrahydrofuran; b) <180ppm đối với metanol, etanol, 1,4-dioxan, và diisopropylamin. Đối với các phản ứng rất nhạy, các dung môi còn được xử lý tiếp với natri kim loại, canxi hydrua, hoặc sàng phân tử, và được chưng cất ngay trước khi sử dụng. Các dung môi thương mại và các chất phản ứng khác được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Để tổng hợp các phương pháp tham chiếu trong các Ví dụ hoặc các phương pháp khác, các điều kiện phản ứng (thời gian phản ứng và nhiệt độ) có thể thay đổi. Các sản phẩm nói chung được làm khô trong chân không trước khi tiến hành các phản ứng khác hoặc được dùng để thử nghiệm sinh học.

Khi được chỉ định, các phản ứng được gia nhiệt bằng cách chiếu xạ vi sóng sử dụng lò vi sóng Biotage Initiator hoặc Personal Chemistry Emrys Optimizer. Quy trình phản ứng được kiểm tra sử dụng các phân tích sắc ký bản mỏng (TLC - thin-layer chromatography), sắc ký lỏng phổ khối (LCMS - liquid chromatography-mass spectrometry), sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC - high-performance liquid chromatography), và/hoặc phổ khối sắc ký khí (GCMS - gas chromatography-mass

spectrometry). TLC được thực hiện trên các đĩa silicagel được phủ sẵn với chất chỉ dẫn phát huỳnh quang (bước sóng kích thích 254 nm) và được quan sát dưới ánh sáng cực tím và/hoặc với I_2, $KMnO_4$, $CoCl_2$, axit phosphomolybdic, và/hoặc thuốc nhuộm xêri amoni molypdat. Dữ liệu LCMS thu được trên thiết bị dãy Agilent 1100 với thiết bị lấy mẫu tự động Leap Technologies, cột Gemini C18, gradien axetonitril/nước, và axit trifloaxetic, axit formic, hoặc chất cải biến amoni hydroxit. Dịch rửa giải cột được phân tích sử dụng quang phổ khối kế Waters ZQ quét ở cả hai đầu ion dương và âm từ 100 đến 1200 Da. Các thiết bị tương tự khác cũng được sử dụng. Dữ liệu HPLC nói chung thu được trên thiết bị dãy Agilent 1100, sử dụng các cột được chỉ định, gradien axetonitril/nước, và axit trifloaxetic hoặc chất cải biến amoni hydroxit. Dữ liệu GCMS thu được sử dụng lò Hewlett Packard 6890 với thiết bị phun HP 6890, cột HP-1 (12 m x 0,2 mm x 0,33 μm), và khí mang heli. Mẫu được phân tích trên bộ dò chọn lọc khối HP 5973 quét từ 50 đến 550 Da sử dụng quá trình ion hóa điện tử. Quá trình tinh chế được tiến hành bằng sắc ký lỏng hiệu năng trung bình (MPLC) sử dụng các thiết bị Isco CombiFlash Companion, AnaLogix IntelliFlash 280, Biotage SP1, hoặc Biotage Isolera One và hộp silic oxit được đóng gói sẵn Isco RediSep hoặc Biotage Snap. Quy trình tinh chế không đối xứng được tiến hành bằng cách sắc ký lỏng không đối xứng siêu đến hạn (SFC), nói chung sử dụng thiết bị Berger hoặc Thar; các cột như các cột ChiralPAK-AD, -AS, -IC, Chiralcel-OD, hoặc -OJ; và hỗn hợp CO_2 với metanol, etanol, 2-propanol, hoặc axetonitril, riêng lẻ hoặc được cải biến sử dụng axit trifloaxetic hoặc propan-2-amin. Việc phát hiện UV được sử dụng để khởi đầu việc thu gom phân đoạn. Để tổng hợp các phương pháp tham chiếu trong Ví dụ hoặc các phương pháp khác, quy trình tinh chế có thể thay đổi: nói chung, các dung môi và tỷ lệ dung môi sử dụng cho dung môi rửa giải/gradien được chọn để tạo ra R_fs hoặc thời gian lưu thích hợp.

Dữ liệu phổ khối được báo cáo từ việc phân tích LCMS. Phổ khối (MS) được thực hiện bởi các nguồn ion hóa học áp suất khí quyển (APCI - atmospheric pressure chemical ionization), ion hóa phun điện (ESI - electrospray ionization), ion hóa va chạm điện tử (EI - electron impact) hoặc ion hóa tán xạ điện tử (ES - electron scatter). Sự dịch chuyển hóa học của phổ cộng hưởng từ điện từ hạt proton (^{1}H NMR) được đưa ra ở dạng các phần trên một triệu trường thấp từ tetrametylsilan và được ghi lại trên quang phổ kế 300, 400, 500, hoặc 600 MHz Varian, Bruker, hoặc Jeol. Dịch chuyển hóa học được biểu hiện ở dạng các phần/triệu (ppm, δ) được viện dẫn đến các đỉnh dư dung môi được đơtơri hóa (cloroform,

7,26ppm; CD_2HOD, 3,31ppm; axetonitril-d_2, 1,94ppm; dimetyl sulfoxit-d_5, 2,50ppm; DHO, 4,79ppm). Hình dạng đỉnh được mô tả như sau: s, vạch đơn; d, vạch đôi; t, là vạch ba; q, là vạch bốn; quin, vạch năm; m, vạch bội; br s, vạch đơn rộng; app, biểu kiến. Dữ liệu SFC phân tích nói chung thu được trên thiết bị phân tích Berger như được mô tả trên đây. Dữ liệu quay quang thu được trên máy đo phân cực PerkinElmer loại 343 sử dụng ô 1 dm. Phân tích cỡ micro được tiến hành bởi Định lượng Technologies Inc. và nằm trong 0,4% giá trị tính toán.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, các phản ứng hóa học được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng (khoảng 23°C).

Trừ khi có chỉ dẫn khác, tất cả các chất phản ứng thu được thương mại và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm, hoặc được điều chế sử dụng các phương pháp đã biết trong tài liệu chuyên ngành.

Các thuật ngữ "được cô", "được làm bay hơi", và "được cô trong chân không" để chỉ việc loại dung môi ở áp suất thấp trên thiết bị bay hơi kiểu quay với nhiệt độ bể nhỏ hơn 60°C. Các chữ viết tắt "phút" và "h" để chỉ "phút" và "giờ," một cách tương ứng. Thuật ngữ "TLC" dùng để chỉ sắc ký bản mỏng, "nhiệt độ trong phòng hoặc nhiệt độ môi trường" có nghĩa là nhiệt độ nằm giữa 18 đến 25°C, "GCMS" dùng để chỉ sắc ký khí–phổ khối, "LCMS" dùng để chỉ lỏng sắc ký–phổ khối, "UPLC" dùng để chỉ sắc ký lỏng siêu hiệu năng, "HPLC" dùng để chỉ sắc ký lỏng hiệu năng cao, và "SFC" dùng để chỉ sắc ký lỏng siêu đến hạn.

Hydro hóa có thể được tiến hành trong máy lắc Parr trong điều kiện khí hydro được nén áp, hoặc trong thiết bị hydro hóa dòng Thales-nano H-Cube với toàn bộ hydro và ở tốc độ chảy từ 1–2mL/phút ở nhiệt độ cụ thể.

Thời gian lưu HPLC, UPLC, LCMS, GCMS, và SFC được đo sử dụng phương pháp được lưu ý trong các phương pháp.

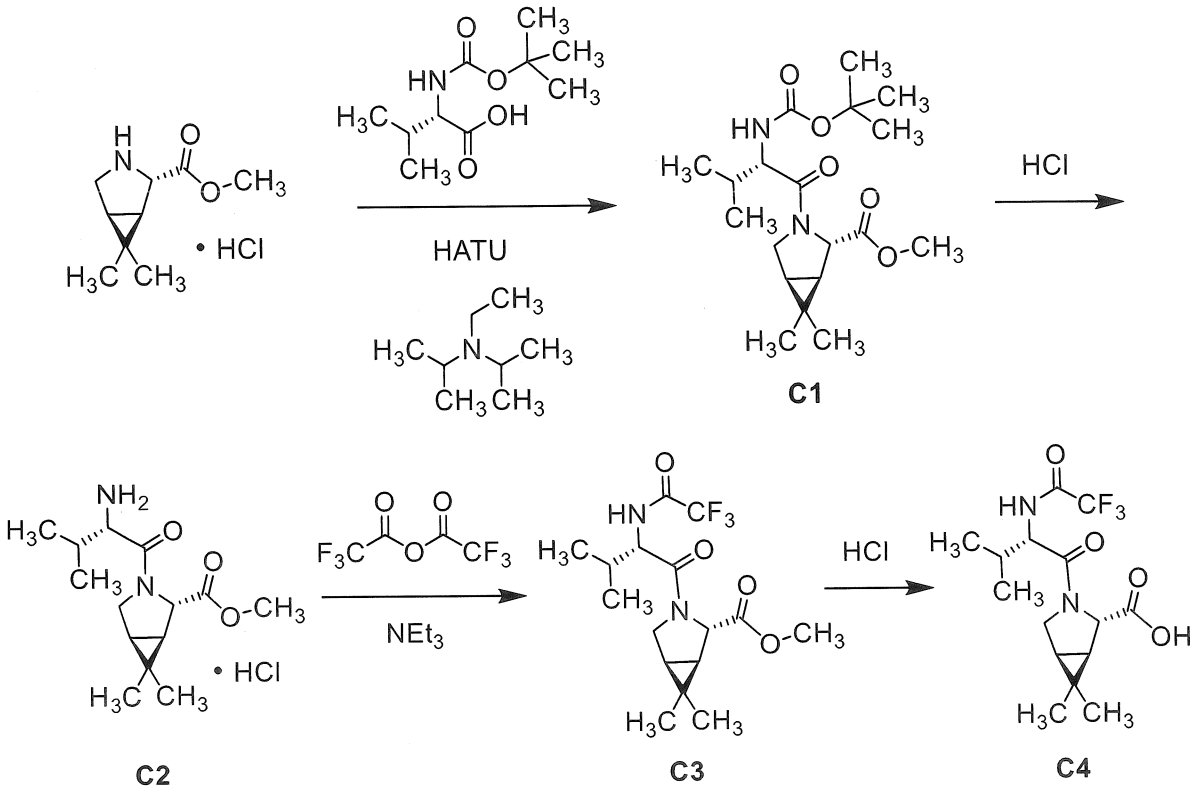
Trong một số ví dụ, việc tác không đối xứng được thực hiện để tách các chất đồng phân đối ảnh hoặc các chất đồng phân không đối quang của các hợp chất nhất định theo sáng chế (trong một số ví dụ, các chất đồng phân đối ảnh đã được tách được chỉ ra là ENT-1 và ENT-2, theo thứ tự rửa giải của chúng; Tương tự, các chất đồng phân không đối quang đã được tách được chỉ ra là DIAST-1 và DIAST-2, theo thứ tự rửa giải của chúng). Trong một số ví dụ, sự quay quang của chất đồng phân đối ảnh được đo sử dụng máy đo phân cực. Theo dữ liệu quay đã được quan sát của nó (hoặc dữ liệu quay cụ thể của nó), chất

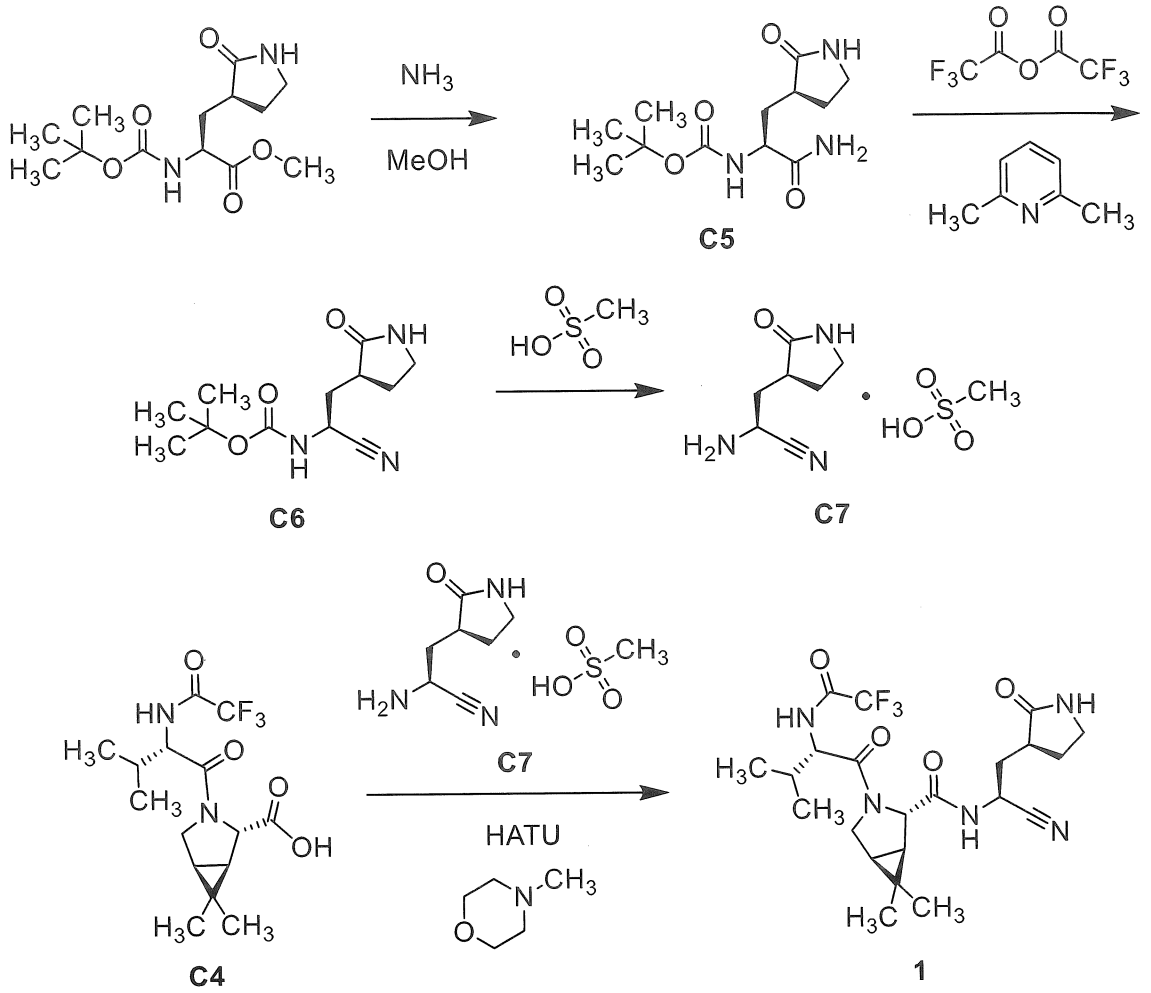
đồng phân đối ảnh với chiều quay cùng chiều kim đồng hồ được chỉ ra là (+)-chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân đối ảnh với chiều quay ngược chiều kim đồng hồ được chỉ ra là (-)-chất đồng phân đối ảnh. Các hợp chất raxemic được chỉ định bởi sự không có mặt của hóa học lập thể được vẽ hoặc được mô tả, hoặc bởi sự có mặt của (+/-) gắn liền với cấu trúc; trong trường hợp sau, hóa học lập thể được chỉ định thể hiện chỉ một trong số hai chất đồng phân đối ảnh mà tạo ra hỗn hợp raxemic.

Các hợp chất và sản phẩm trung gian được mô tả dưới đây được gọi tên sử dụng quy ước gọi tên được đưa ra bởi ACD/ChemSketch 2019.1.1, File Version C05H41, Build 110712 (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Ontario, Canada). Quy ước gọi tên được đưa ra bởi ACD/ChemSketch 2019.1.1 là đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và tin rằng quy ước gọi tên được đưa ra bởi ACD/ChemSketch 2019.1.1 nói chung phù hợp với các kiến nghị IUPAC (International Union for Pure and Applied Chemistry) về các quy tắc danh pháp của Hoá hữu cơ và chỉ số CAS.

Ví dụ 1

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**1**)





Bước 1. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C1**).

Dung dịch 0°C gồm *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valin (69,7 g, 321mmol) trong hỗn hợp chứa axetonitril và *N,N*-dimetylformamit (10:1, 1,10 L) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 122 g, 321mmol), tiếp đó là *N,N*-diisopropyletylamin (127mL, 729mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút, muối hydroclorua của metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, (60,0 g, 292mmol) được bổ sung, và khuấy liên tục ở 0°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng dung dịch nước axit xitric (1 N; 50mL) và nước (100mL), được khuấy trong 2 phút, và được cô trong chân không tới xấp xỉ một phần hai thể tích ban đầu. Hỗn hợp thu được được phân bố giữa etyl axetat và nước, và lớp nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ gom lại sau đó được rửa ba lần bằng nước và một lần bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được khuấy với lượng tối thiểu của etyl axetat, và sau đó được lọc; nguyên liệu không tan được rửa

bằng etyl axetat cho đến khi nó màu trắng. Các phần dịch lọc gom lại được cô trong điều kiện áp suất thấp và sau đó được sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: 1:1 etyl axetat / heptan), thu được **C1** ở dạng dầu màu vàng. Hiệu suất: 109 g, định lượng. LCMS *m/z* 369,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 5,08 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,45 (s, 1H), 4,11 (dd, *J* = 9,7, 7,8 Hz, 1H), 3,95 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,86 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,2, 4,8 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,04 – 1,93 (m, 1H), 1,50 – 1,41 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,04 (s, 3H), 1,00 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,95 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,93 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-L-valyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (**C2**).

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 15mL, 60mmol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C1** (1,00 g, 2,71mmol) trong etyl axetat (50mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2 giờ, trong khi đó bổ sung hydro clorua trong dung dịch 1,4-dioxan (4 M; 10mL, 40mmol) được bổ sung, và khuấy liên tục ở 0°C trong 3 giờ, sau đó ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được xử lý bằng dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 10mL, 40mmol) và metanol (15mL) và để khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Cô trong chân không tạo ra **C2** ở dạng gôm; nguyên liệu này được sử dụng trong quy trình hóa học tiếp theo mà không cần tinh thế thêm, và phản ứng được đem định lượng. LCMS *m/z* 269,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,24 (br s, 3H), 4,27 (s, 1H), 3,81 – 3,61 (m, 3H), 3,67 (s, 3H), 2,21 – 2,06 (m, 1H), 1,63 – 1,55 (m, 1H), 1,49 (d, hợp phần của vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,09 – 0,88 (m, 12H).

Bước 3. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C3**).

Trietylamin (1,55mL, 11,1mmol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C2** (1,0 g, 3,3mmol) trong diclometan (37mL), tiếp đó là từng giọt bổ sung trifloaxetic anhydrit (0,57mL, 4,0mmol) trong hơn 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 30 phút, trong khi đó nó được pha loãng bằng diclometan (100mL), được rửa liên tiếp bằng 10% dung dịch nước kali bisulfat (50mL) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (30mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C3** ở dạng dầu màu vàng sáng. Hiệu suất: 1,2 g, 3,3mmol, định lượng. LCMS *m/z* 365,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 7,04 (br d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,54 (dd, *J* = 8,9, 6,3 Hz, 1H),

4,46 (s, 1H), 3,91 (dd, J = 10,1, 5,0 Hz, 1H), 3,80 – 3,73 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,25 – 2,13 (m, 1H), 1,55 – 1,47 (m, 2H), 1,09 – 1,03 (m, 6H), 0,94 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,92 (s, 3H).

Bước 4. Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C4**).

Axit clohydric đậm đặc (0,57mL, 6,6mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C3** (1,25 g, 3,43mmol) trong hỗn hợp chứa axit axetic (40,8mL) và nước (8,2mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 55°C trong 3 ngày, trong khi đó nó được phân bố giữa nước (50mL) và etyl axetat (100mL). Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 50mL), và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (50mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để cho **C4** ở dạng bọt trắng. Hiệu suất: 1,00 g, 2,85mmol, 83%. LCMS *m/z* 351,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*), các đỉnh đặc trưng: δ 4,56 – 4,44 (m, 2H), 2,24 – 2,12 (m, 1H), [1,66 (d, hợp phần của vạch bốn AB, J = 7,5 Hz) và 1,59 – 1,47 (m), tổng 2H], 1,10 – 1,01 (m, 6H), 0,96 – 0,91 (m, 6H).

Bước 5. Tổng hợp *tert*-butyl {(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamat (**C5**).

Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 150mL, 1,0 mol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm metyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (5,00 g, 17,5mmol) trong metanol (25mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 ngày, nó được cô trong chân không; phần lắng cặn được pha loãng và được cô lại lần lượt bằng hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:1, 4 x 50mL) tiếp đó là heptan (50mL) để tạo ra **C5** ở dạng chất rắn (5,27 g, được đem định lượng) mà chứa dung môi dư. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 216,2 $[(M - 2\text{-metylprop-1-en})+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,16 – 3,96 (m, 1H), 3,40 – 3,27 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,55 – 2,42 (m, 1H), 2,35 (dddd, J = 12,2, 8,6, 6,8, 3,3 Hz, 1H), 2,03 (ddd, J = 14,0, 11,0, 4,4 Hz, 1H), 1,93 – 1,81 (m, 1H), 1,74 (ddd, J = 14,2, 10,1, 4,3 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

Bước 6. Tổng hợp *tert*-butyl {(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamat (**C6**).

2,6-dimetylpyridin (2mL, 17mmol) và trifloaxetic anhydrit (0,94mL, 6,6mmol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C5** (từ bước trên đây; 1,0 g, ≤3,3mmol) trong diclometan (12mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ,

trong khi đó nó được xử lý bằng axit clohydric (1 M; 30mL) và diclometan (60mL). Lớp hữu cơ được rửa liên tiếp bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (30mL) và dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL), được làm khô trên natri sulfat, và được cô trong chân không; sắc ký trên silicagel (Gradien: 40% đến 100% etyl axetat trong heptan) tạo ra **C6** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 737 mg, 2,91mmol, 88% qua 2 bước. LCMS *m/z* 254,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,72 (dd, J = 9,3, 6,8 Hz, 1H), 3,39 – 3,27 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,57 – 2,46 (m, 1H), 2,36 (dddd, J = 12,2, 8,6, 6,3, 3,4 Hz, 1H), 2,21 (ddd, J = 13,8, 9,3, 5,6 Hz, 1H), 1,92 – 1,79 (m, 2H), 1,47 (s, 9H).

Bước 7. Tổng hợp (2*S*)-2-amino-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propannitril, muối metansulfonat (**C7**).

Dung dịch chứa **C6** (317 mg, 1,25mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (3mL) được bổ sung axit metanesulfonic (81,2 µL, 1,25mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 45 phút, nó được cô trong chân không, sau đó được hấp thụ lại trong hỗn hợp chứa các dung môi và được cô lại: axetonitril và etyl axetat (1:1, 2 x 10mL) tiếp đó là etyl axetat và heptan (1:1, 2 x 10mL). **C7** thu được ở dạng thủy tinh (423 mg), không chứa epime nitril bằng cách phân tích ^{1}H và ^{13}C NMR. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong phản ứng khác mà không cần tinh chế thêm. LCMS *m/z* 154,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,78 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 3,42 – 3,36 (m, 2H), 2,82 – 2,68 (m, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,50 – 2,39 (m, 1H), 2,20 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 2,07 – 1,80 (m, 2H).

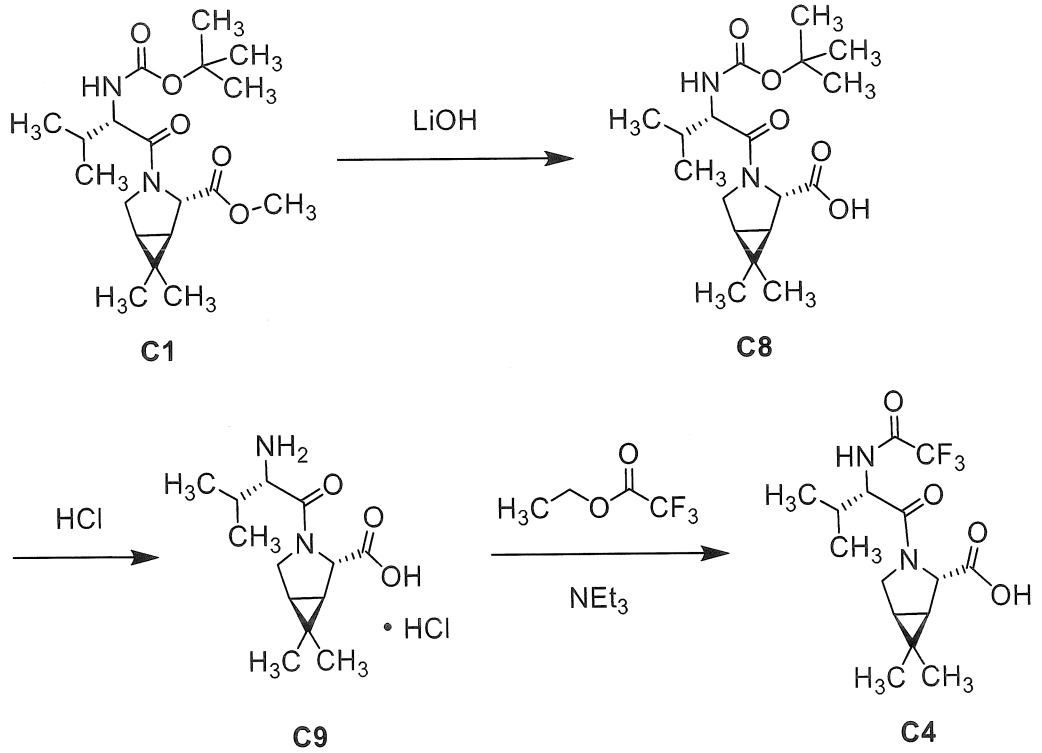
Bước 8. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**1**).

Hỗn hợp chứa **C7** (từ bước trên đây; 98,8 mg, ≤0,292mmol) và **C4** (100 mg, 0,285mmol) trong axetonitril (1,5mL) được làm lạnh đến 0°C. *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU, 97%; 112 mg, 0,286mmol) được bổ sung, tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (94,0 µL, 0,855mmol) trong axetonitril (0,5mL), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong xấp xỉ 2 giờ. Dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL) sau đó được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng 0°C, tiếp đó là diclometan (50mL), và lớp hữu cơ được rửa bằng axit clohydric (1 M; 30mL). Các lớp nước gom lại được chiết bằng diclometan (60mL), trong khi đó lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được cô trong chân không, và được tiến hành sắc ký

silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong etyl axetat). Vì nguyên liệu thu được được đánh giá bằng phân tích NMR và LCMS có lẫn epime của sản phẩm, nên sau đó nó được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5% đến 95% B trong 8,54 phút, sau đó 95% B trong 1,46 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**1**). Hiệu suất: 14,6 mg, 30,1 µmol, 11%. LCMS *m/z* 486,5 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,33 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis C18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích). gradien: 5% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút. Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Tổng hợp **C4** theo cách khác

Axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C4**)



Bước 1. Tổng hợp axit (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C8**).

Dung dịch nước chứa lithi hydroxit (2,0 M; 436mL, 872mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C1** (107 g, 290mmol) trong tetrahydrofuran (730mL). Sau khi hỗn hợp thu được

được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong xấp xỉ 2 giờ, nó được pha loãng bằng nước và etyl axetat, sau đó được xử lý bằng 1 M dung dịch nước natri hydroxit. Lớp nước được rửa bằng etyl axetat, và các lớp hữu cơ gom lại được chiết ba lần bằng 1 M dung dịch nước natri hydroxit, cho tới khi phân tích LCMS đã chỉ ra rằng **C8** được loại hoàn toàn ra khỏi lớp hữu cơ. Axit hóa các lớp nước gom lại đến độ pH = 2 được thực hiện bằng cách bổ sung axit clohydric đậm đặc, trong khi đó hỗn hợp được chiết ba lần bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô; nghiền phần lắng cặn bằng heptan tạo ra **C8** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 92,8 g, 262mmol, 90%. LCMS *m/z* 355,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,32 (s, 1H), 4,05 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 4,01 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,88 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,4, 5,3 Hz, 1H), 2,03 – 1,91 (m, 1H), 1,57 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,5, 5,2 Hz, 1H), 1,50 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,5 Hz, 1H), 1,41 (s, 9H), 1,08 (s, 3H), 0,99 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,97 – 0,94 (m, 6H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-L-valyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-axit carboxylic, muối hydroclorua (**C9**).

Dung dịch chứa **C8** (82,8 g, 234mmol) trong diclometan (230mL) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4,0 M; 409mL, 1,64 mol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, trong khi đó nó được cô trong chân không, tạo ra **C9** ở dạng bọt trắng. Nguyên liệu này được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo. LCMS *m/z* 255,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,42 (s, 1H), 4,05 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,89 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,5, 5,2 Hz, 1H), 3,74 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 2,36 – 2,25 (m, 1H), 1,62 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,5, 5,1 Hz, 1H), 1,57 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,16 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 1,10 (s, 3H), 1,04 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,01 (s, 3H).

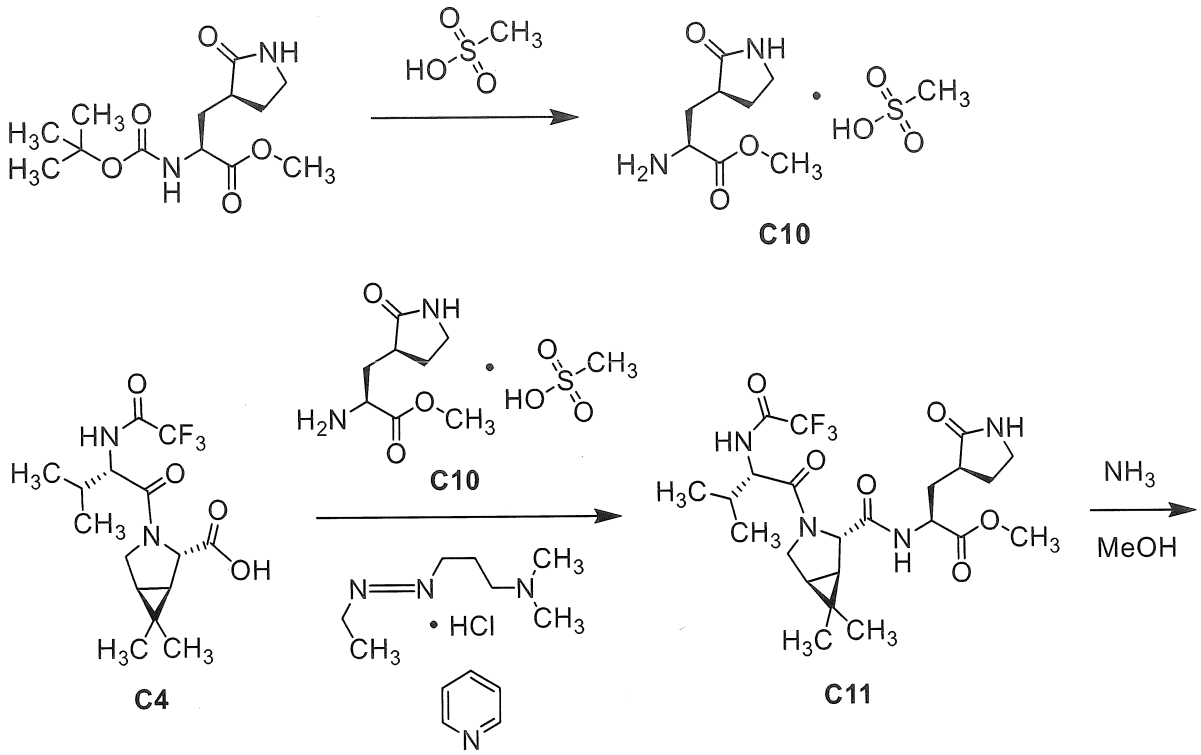
Bước 3. Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C4**).

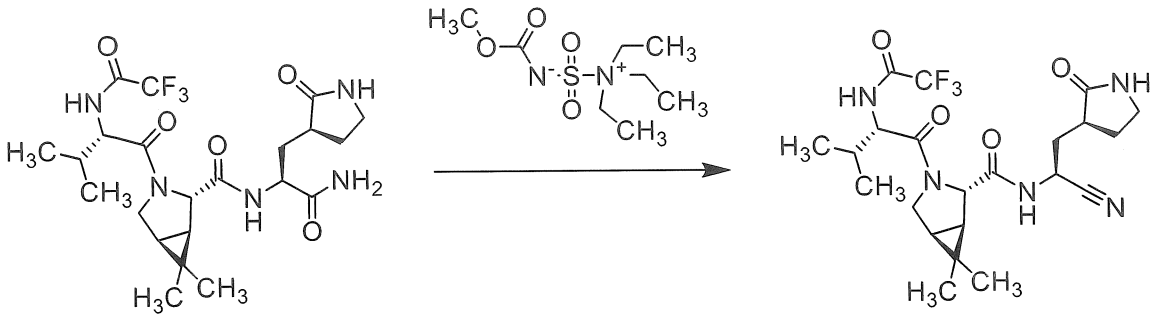
Dung dịch chứa **C9** (từ bước trên đây; ≤234mmol) trong metanol (230mL) được làm lạnh đến 0°C, được xử lý bằng trietylamin (66,7mL, 479mmol), và được khuấy trong 5 phút, trong khi đó etyl trifloaxetat (36,1mL, 303mmol) được bổ sung từ từ. Sau đó hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 90 phút, nó được cô trong chân không. Phần cặn lắng được pha loãng bằng nước, 1 M dung dịch nước natri hydroxit, và etyl axetat, và lớp hữu cơ thu được được chiết hai lần bằng 1 M dung dịch nước natri hydroxit. Các lớp

nước gom lại được axit hóa đến độ pH = 2 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M, sau đó được chiết ba lần bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng nước và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, thu được **C4** ở dạng bọt trắng. Hiệu suất: 73,4 g, 210mmol, 90% qua 2 bước. LCMS *m/z* 351,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12,65 (v br s, 1H), 9,82 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,16 (dd, *J* = 9,9, 7,9 Hz, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,86 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,81 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,5, 5,0 Hz, 1H), 2,18 – 2,05 (m, 1H), 1,54 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,7, 4,6 Hz, 1H), 1,42 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,5 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,95 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,84 (s, 3H).

Tổng hợp theo cách khác của Ví dụ 1

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**1**)





C12 1

Bước 1. Tổng hợp metyl 3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat, muối metansulfonat (**C10**).

Dung dịch chứa metyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (10,1 g, 35,3mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (70mL) được bổ sung axit metanesulfonic (2,30mL, 35,4mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 70 phút, phân tích LCMS đã chỉ ra rằng nguyên liệu ban đầu được chuyển hóa thành **C10**: LCMS *m/z* 187,2 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không, và phần lắng cặn được tái hòa tan hai lần, tiếp đó là nồng độ trong điều kiện áp suất thấp, trong hỗn hợp chứa axetonitril và etyl axetat (1:1, 2 x 20mL). Nguyên liệu thu được được hấp thụ trong hỗn hợp chứa axetonitril và etyl axetat (1:1, 30mL), được cô, sau đó hai lần được tái hòa tan trong etyl axetat (2 x 40mL) và được cô. Phần lắng cặn được nghiền bằng etyl axetat (60mL) để cho **C10**. Hiệu suất: 9,87 g, 35,0mmol, 99%. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,22 (dd, *J* = 9,7, 3,6 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,41 – 3,36 (m, 2H), 2,84 – 2,74 (m, 1H), 2,70 (s, 3H), 2,41 (dddd, *J* = 12,3, 8,6, 5,1, 3,6 Hz, 1H), 2,25 (ddd, *J* = 15,1, 4,5, 3,6 Hz, 1H), 1,98 (ddd, *J* = 15,1, 9,6, 9,6 Hz, 1H), 1,87 (dddd, *J* = 12,6, 10,9, 9,2, 9,2 Hz, 1H).

Bước 2. Tổng hợp metyl *N*-({(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-yl}carbonyl)-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (**C11**).

Dung dịch 0°C gồm **C10** (2,76 g, 9,78mmol) và **C4** (3,43 g, 9,79mmol) trong axetonitril (40mL) được bổ sung 1-[3-(dimetylamin)propyl]-3-etylcarbodiimit hydroclorua (1,88 g, 9,81mmol), tiếp đó là từng giọt bổ sung pyridin (2,37mL, 29,3mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2,25 giờ, trong khi đó nó được xử lý bằng axit clohydric (1 M; 50mL) và được chiết bằng etyl axetat (150mL). Lớp hữu cơ được rửa liên tiếp bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (50mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (50mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa (50mL), được làm khô trên natri

sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được hấp thụ trong metyl *tert*-butyl ete (30mL) và được cô trong điều kiện áp suất thấp, và thủy tinh thu được được khuấy bằng metyl *tert*-butyl ete (50mL) ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau khi lọc, bánh lọc được rửa bằng metyl *tert*-butyl ete (3 x 6mL) để cho **C11** ở dạng chất rắn, trong đó phân tích ^{1}H NMR chứa metyl tert-butyl ete về cơ bản là dư. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. Hiệu suất: 3,74 g; được hiệu chỉnh đối với metyl tert-butyl ete dư: 2,94 g, 5,67mmol, 58%. LCMS *m/z* 519,5 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,55 (dd, J = 12,0, 3,8 Hz, 1H), 4,34 (s, 1H), 4,29 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,97 (d, J = 3,1 Hz, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,37 – 3,23 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,73 – 2,62 (m, 1H), 2,32 (dddd, J = 12,4, 8,8, 6,7, 2,4 Hz, 1H), 2,21 – 2,10 (m, 2H), 1,86 – 1,74 (m, 2H), 1,60 (dt, thành phần của hệ ABX_2, J = 7,7, 3,1 Hz, 1H), 1,49 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,09 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,99 – 0,95 (m, 6H).

Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C12**).

Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 5mL, 40mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C11** (từ bước trên đây: 205 mg, 0,311mmol) trong metanol (1mL). Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, trong khi đó dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 5mL, 40mmol) được bổ sung lại, và khuấy liên tục qua đêm. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được xử lý trong lần thứ ba với cùng lượng amoniac trong methanol; sau đó 8 giờ phản ứng nữa, nó được cô trong chân không. Phần lắng cặn được pha loãng và được cô lại lần lượt bằng etyl axetat (2 x 20mL) và hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:1, 2 x 20mL). Nguyên liệu thu được được hoà tan trong diclometan (50mL), được rửa bằng axit clohydric (1 M; 30mL) và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (30mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C12** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 87 mg, 0,17mmol, 55%. LCMS *m/z* 504,5 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 8,68 (d, J = 7,9 Hz, <1H, được trao đổi không hoàn toàn bằng dung môi), 4,44 (ddd, J = 11,9, 7,9, 4,0 Hz, 1H), 4,37 – 4,26 (m, 2H), 4,01 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,3, 5,1 Hz, 1H), 3,94 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,2 Hz, 1H), 3,39 – 3,24 (m, 2H, được giả định; bị che phần lớn bởi đỉnh dung môi), 2,72 – 2,62 (m, 1H), 2,38 – 2,28 (m, 1H), 2,21 – 2,08 (m, 2H), 1,90 – 1,72 (m, 2H), 1,58 (dd, hợp phần

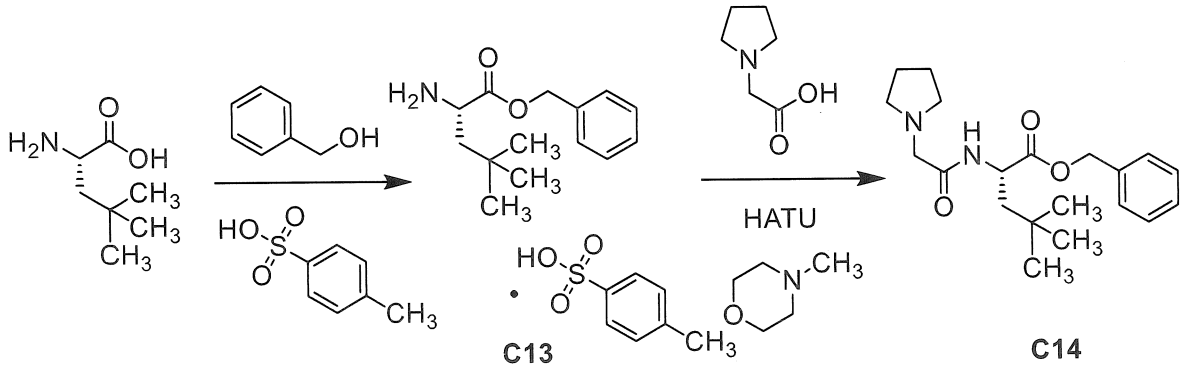
của hệ ABX, J = 7,5, 5 Hz, 1H), 1,54 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,7 Hz, 1H), 1,08 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,97 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,96 (s, 3H).

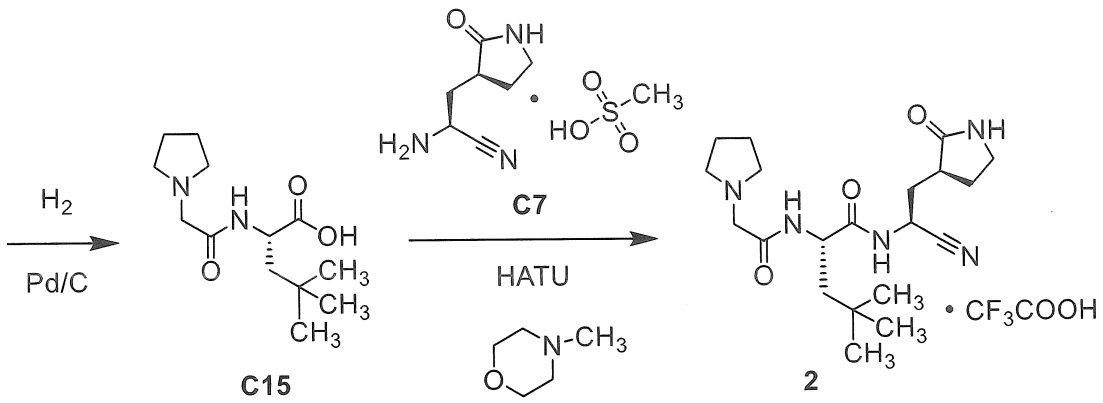
Bước 4. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**1**).

Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 88,4 mg, 0,371mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C12** (85,0 mg, 0,17mmol) trong diclometan (4,0mL), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó 3 giờ, metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 20 mg, 84 µmol) được bổ sung lại; 30 phút sau, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (60mL), được rửa liên tiếp bằng axit clohydric (1 M; 30mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa (30mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được hấp thụ trong heptan và được cô lại trước khi tinh chế qua sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 5% metanol trong etyl axetat). (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**1**) được phân lập ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 35 mg, 72 µmol, 42%. LCMS *m/z* 486,5 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 5,04 (dd, J = 10,7, 5,4 Hz, 1H), 4,28 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,25 (s, 1H), 4,03 – 3,94 (m, 2H), 3,35 – 3,23 (m, 2H, được giả định; bị che phần lớn bởi đỉnh dung môi), 2,72 – 2,62 (m, 1H), 2,37 – 2,26 (m, 2H), 2,19 – 2,08 (m, 1H), 1,93 – 1,75 (m, 2H), 1,64 (ddd, J = 7,6, 4,2, 2,1 Hz, 1H), 1,41 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 1,09 (s, 3H), 1,02 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,00 – 0,95 (m, 6H).

Ví dụ 2

N-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxinamit, muối trifloaxetat (**2**)





Bước 1. Tổng hợp benzyl 4-metyl-L-leuxinat, muối của axit p-toluenulfonic (**C13**).

Huyền phù chứa 4-metyl-L-leuxin (9,5 g, 65mmol), rượu benzylic (28,3 g, 262mmol), và monohydrat của axit p-toluenulfonic (14,9 g, 78,3mmol) trong toluen (200mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ hồi lưu qua đêm; ống Dean-Stark chữ U được sử dụng để loại đẳng phí nước thu được. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không, trong khi đó phần cặn lắng được pha loãng bằng dietyl ete (200mL) và etyl axetat (100mL). Huyền phù thu được được khuấy trong 1,5 giờ và được lọc; bánh lọc được rửa bằng dietyl ete để tạo ra **C13** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 24,9 g, 61,1mmol, 94%. LCMS *m/z* 236,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,30 (br s, 3H), 7,47 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,44 – 7,36 (m, 5H), 7,11 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 5,23 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 12,3 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 13,7 Hz, 2H), 4,02 (dd, J = 7,3, 4,5 Hz, 1H), 2,29 (s, 3H), 1,81 (dd, J = 14,5, 7,3 Hz, 1H), 1,57 (dd, J = 14,5, 4,6 Hz, 1H), 0,90 (s, 9H).

Bước 2. Tổng hợp benzyl 4-metyl-*N*-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxinat (**C14**).

Hỗn hợp 0°C chứa **C13** (800 mg, 1,96mmol) và axit pyrolidin-1-ylaxetic (254 mg, 1,97mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (4mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 746 mg, 1,96mmol), tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (0,496mL, 4,51mmol) trong diclometan (1mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2 giờ, dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL) được bổ sung ở 0°C; hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (2 x 60mL), và lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel được thực hiện hai lần (Gradien: 0% đến 20% etyl axetat trong heptan, tiếp đó là sắc ký tinh chế lần thứ hai sử dụng 0% đến 10% etyl axetat trong heptan), để cho **C14** ở dạng gôm (761 mg). Nguyên liệu này được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo. LCMS *m/z* 347,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,40 – 7,29 (m, 5H), 5,16 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 12,2 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 11,1 Hz, 2H), 4,56 (dd, J = 9,0, 3,1 Hz,

1H), 3,76 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 15,6 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 13,6 Hz, 2H), 3,17 – 3,06 (m, 4H), 2,03 – 1,93 (m, 4H), 1,81 (dd, *J* = 14,5, 3,1 Hz, 1H), 1,60 (dd, *J* = 14,5, 9,0 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H).

Bước 3. Tổng hợp 4-metyl-*N*-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxin (**C15**).

Dung dịch chứa **C14** (từ bước trên đây; 760 mg, ≤1,96mmol) trong metanol (5mL) được bổ sung paladi trên cacbon (76,0 mg). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong điều kiện hydro (50 psi) qua đêm, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra rằng có sự chuyển hoá thành **C15**: LCMS *m/z* 257,4 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được lọc hai lần thông qua thiết bị lọc 0,15 µm, và phần lọc được cô trong chân không. Phần lắng cặn được hòa tan hai lần trong hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:1, 2 x 20mL), tiếp đó là nồng độ trong điều kiện áp suất thấp; quy trình này tạo ra **C15** ở dạng chất rắn (646 mg). Các phần của nguyên liệu này được sử dụng trong quy trình hóa học tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,46 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,31 (ddd, *J* = 8,9, 8,6, 3,0 Hz, 1H), 3,74 – 3,60 (m, 2H), 3,00 br (s, 4H), 1,90 – 1,79 (m, 4H), 1,70 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,3, 3,0 Hz, 1H), 1,56 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,3, 9,2 Hz, 1H), 0,90 (s, 9H).

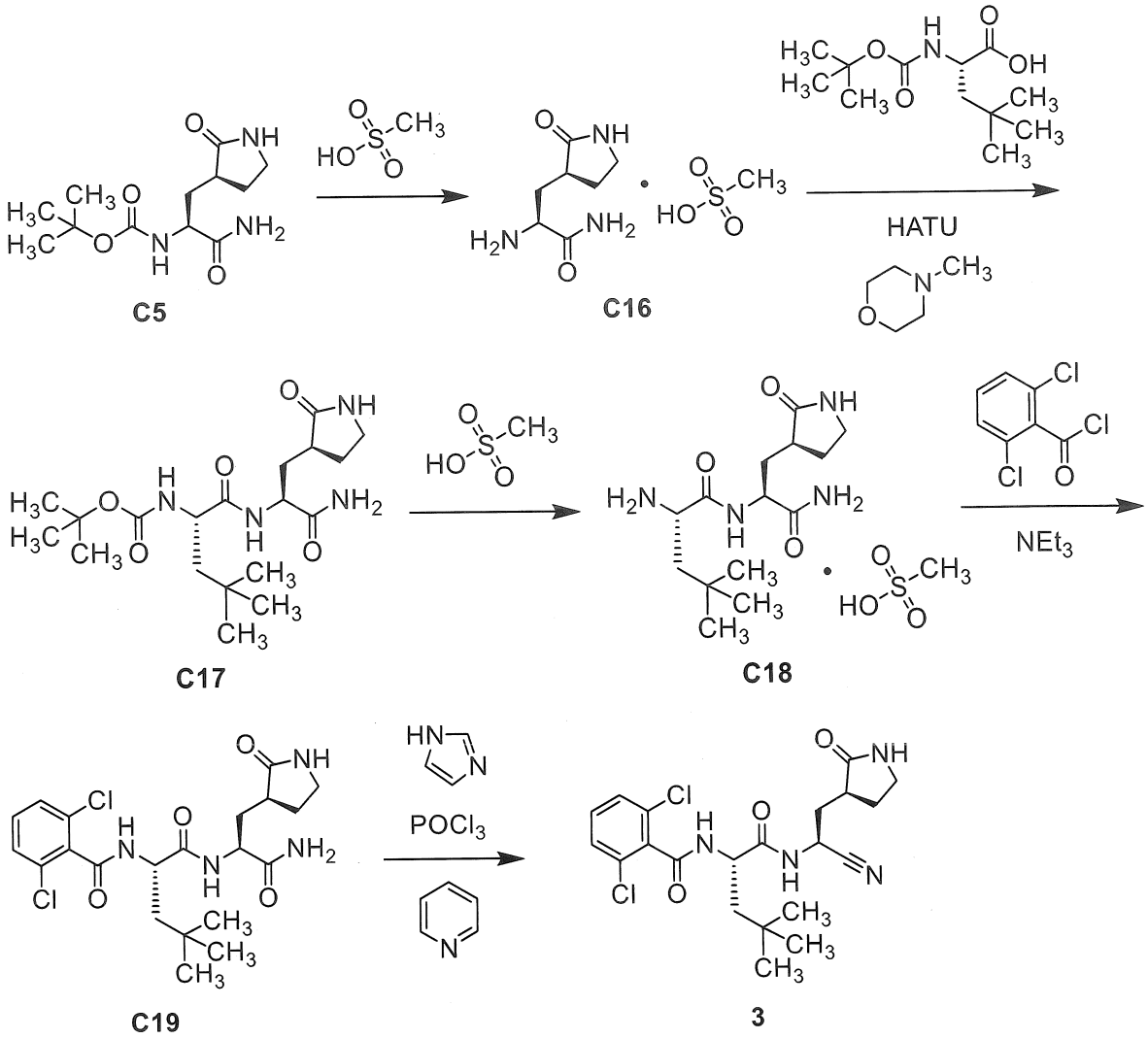
Bước 4. Tổng hợp *N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxinamit, muối trifloaxetat (**2**).

Hỗn hợp chứa **C15** (từ bước trên đây; 30 mg, ≤91 µmol) và **C7** (từ Bước 7 của Ví dụ 1; 35,3 mg, ≤0,104mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (1mL) được làm lạnh đến 0°C và được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU, 97%; 39,9 mg, 0,102mmol), tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (28,0 µL, 0,255mmol) trong diclometan (0,25mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong khoảng 1,5 giờ, nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3mL) ở 0°C và được chiết bằng diclometan (4 x 4mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5% đến 25% B trong 8,5 phút, sau đó 25% đến 95% axetonitril trong 0,5 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho *N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxinamit, muối trifloaxetat (**2**) ở dạng gôm. Hiệu suất: 8,1 mg, 16 µmol, 18% trong 3 bước. LCMS *m/z* 392,6 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 1,47 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis

C18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích). gradien: 5% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút. Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 3

N-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(2,6-diclobenzoyl)-4-metyl-L-leuxinamit (**3**)



Bước 1. Tổng hợp 3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối metansulfonat, (**C16**).

Dung dịch chứa **C5** (6,13 g, ≤19mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (40mL) được bổ sung axit metanesulfonic (1,83 g, 19mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không, được tạo huyền phù lại trong hỗn hợp chứa toluen và heptan, và được cô một lần nữa, tạo ra thủy tinh hút ẩm (7,47 g). Một phần nguyên liệu này (6,47 g) được pha loãng và được cô lại lần lượt như sau: hỗn hợp chứa diclometan và etanol (2:3, 2 x 50mL); etyl axetat và etanol

(2:3, 50mL); etyl axetat, heptan, và diclometan (4:4:1, 2 x 50mL). Nguyên liệu thu được được hoà tan trong hỗn hợp chứa axetonitril và nước (1:1, 22mL) và đông khô nhanh trong 2 ngày để cho **C16** ở dạng thủy tinh. Hiệu suất: 3,23 g, 12,1mmol, 73% qua 2 bước. LCMS *m/z* 172,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,03 (dd, *J* = 9,1, 4,6 Hz, 1H), 3,43 – 3,35 (m, 2H), 2,82 – 2,72 (m, 1H), 2,71 (s, 3H), 2,49 – 2,38 (m, 1H), 2,12 – 1,96 (m, 2H), 1,94 – 1,81 (m, 1H).

Bước 2. Tổng hợp *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-metyl-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C17**).

Dung dịch 0°C gồm **C16** (1,34 g, 5,02mmol) và *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-metyl-L-leuxin (1,28 g, 5,22mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (7,0mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU, 97%; 2,04 g, 5,20mmol), tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (1,43mL, 13,0mmol) trong diclometan (3mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2,25 giờ, nó được làm nguội ở 0°C bằng cách bổ sung axit clohydric (1 M; 30mL) và sau đó được pha loãng bằng diclometan (50mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL), và các lớp nước gom lại được chiết bằng diclometan (60mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và tạo huyền phù / được cô bằng heptan (3 x 10mL). Tinh chế phần lắng cặn bằng cách sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong etyl axetat) tạo ra **C17** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 1,42 g, 3,56mmol, 71%. LCMS *m/z* 399,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 6,83 (d, *J* = 7,4 Hz, <1H, được trao đổi không hoàn toàn bằng dung môi), 4,43 (dd, *J* = 11,2, 4,2 Hz, 1H), 4,11 – 4,05 (m, 1H), 3,38 – 3,24 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,52 – 2,41 (m, 1H), 2,40 – 2,30 (m, 1H), 2,13 (ddd, *J* = 14,0, 11,2, 4,5 Hz, 1H), 1,91 – 1,75 (m, 2H), 1,71 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,4, 3,2 Hz, 1H), 1,51 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,4, 9,3 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 0,97 (s, 9H).

Bước 3. Tổng hợp 4-metyl-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối metansulfonat (**C18**).

Axit metanesulfonic (32,6 µL, 0,502mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C17** (200 mg, 0,502mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (1,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút, trong khi đó nó được cô trong chân không, được hòa tan trong etyl axetat và được cô một lần nữa, tạo ra **C18** ở dạng chất rắn (238 mg). Hầu hết nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 299,4

$[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,53 (dd, J = 10,3, 5,0 Hz, 1H), 3,91 (dd, J = 7,6, 5,5 Hz, 1H), 3,41 – 3,27 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,70 (s, 3H), 2,57 – 2,47 (m, 1H), 2,41 (dddd, J = 12,0, 8,6, 7,0, 3,2 Hz, 1H), 2,15 (ddd, J = 14,0, 10,3, 5,0 Hz, 1H), 2,01 (dd, J = 14,4, 7,5 Hz, 1H), 1,96 – 1,85 (m, 1H), 1,78 (ddd, J = 14,1, 9,1, 5,0 Hz, 1H), 1,59 (dd, J = 14,3, 5,5 Hz, 1H), 1,01 (s, 9H).

Bước 4. Tổng hợp *N*-(2,6-diclobenzoyl)-4-metyl-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C19**).

Huyền phù 0°C chứa **C18** (từ bước trên đây: 234 mg, ≤0,49mmol) trong diclometan (2mL) được xử lý bằng trietylamin (170 µL, 1,2mmol) tiếp đó là từng giọt bổ sung dung dịch chứa 2,6-diclobenzoyl clorua (130 mg, 0,621mmol) trong diclometan (0,2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng diclometan (60mL), sau đó được rửa bằng axit clohydric (1 M; 30mL) tiếp đó là dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL). Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tiến hành sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% metanol trong etyl axetat) để cho **C19**. Hiệu suất: 120 mg, 0,255mmol, 52% qua 2 bước. LCMS *m/z* 471,4 (dạng chất đồng phân diclo được quan sát) $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 8,45 (d, J = 7,9 Hz, <1H, được trao đổi không hoàn toàn bằng dung môi), 7,45 – 7,35 (m, 3H), 4,59 (dd, J = 7,8, 4,5 Hz, 1H), 4,52 – 4,44 (m, 1H), 3,37 – 3,24 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,65 – 2,55 (m, 1H), 2,37 (dddd, J = 12,5, 8,8, 6,6, 2,8 Hz, 1H), 2,19 (ddd, J = 13,9, 11,3, 4,5 Hz, 1H), 1,91 – 1,72 (m, 3H), 1,66 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 14,4, 7,8 Hz, 1H), 1,03 (s, 9H).

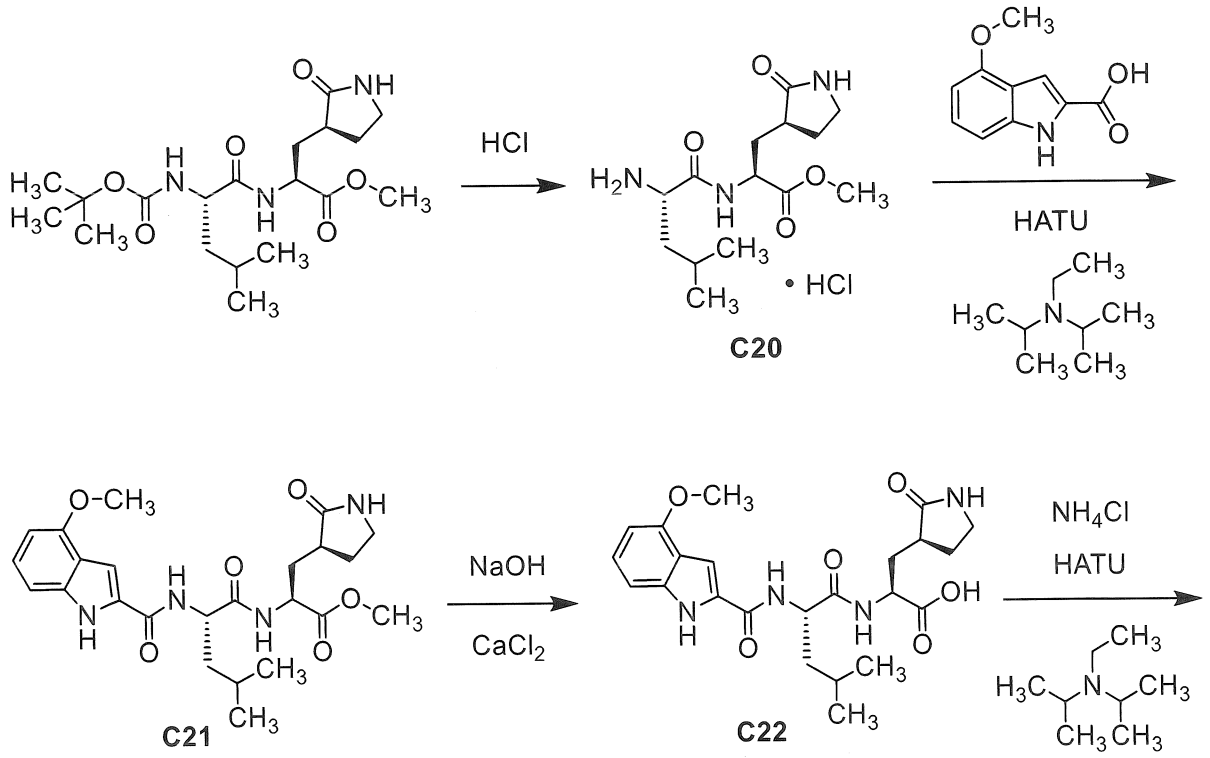
Bước 5. Tổng hợp *N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(2,6-diclobenzoyl)-4-metyl-L-leuxinamit (**3**).

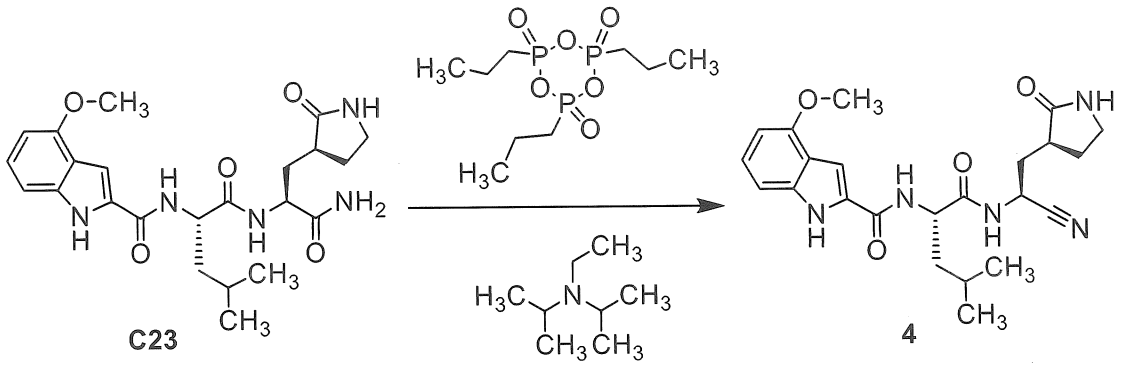
Dung dịch chứa **C19** (90 mg, 0,19mmol) và 1*H*-imidazol (33,8 mg, 0,496mmol) trong pyridin (1mL) được làm lạnh trong bể axetonitril / băng khô (−35°C). Dung dịch này được bổ sung phospho oxyclorua (0,100mL, 1,07mmol), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở −30°C đến −20°C. Sau 30 phút, pyridin (2mL) được bổ sung để thuận tiện cho việc khuấy; sau đó 1 giờ, diclometan (2mL) được bổ sung cho cùng một lí do. Ở 2 giờ phản ứng, phospho oxyclorua (0,100mL, 1,07mmol) được bổ sung lại, và khuấy liên tục trong 30 phút ở −30°C, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến 0°C và được khuấy trong 40 phút nữa. Sau đó, nó được xử lý bằng axit clohydric (1 M; 30mL) và được chiết bằng diclometan (2 x 60mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc,

được cô trong chân không, và được tiến hành sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 15% metanol trong etyl axetat) để tạo ra chất rắn (67 mg). Nguyên liệu này được kết hợp với sản phẩm (12 mg) từ phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C19** (30 mg, 64 µmol) và hai lần được hấp thụ trong etyl axetat (2 x 3mL) tiếp đó là cô trong điều kiện áp suất thấp. Phần lắng cặn được khuấy với hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:3, 4mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút và được lọc; bánh lọc được rửa bằng hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:3, 5 x 2mL), để tạo ra *N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(2,6-diclobenzoyl)-4-metyl-L-leuxinamit (**3**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất gộp: 70 mg, 0,15mmol, 59%. LCMS *m/z* 453,3 (dạng chất đồng phân diclo được quan sát) $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,45 – 7,34 (m, 3H), 5,05 (dd, *J* = 10,7, 5,4 Hz, 1H), 4,56 (dd, *J* = 7,0, 5,7 Hz, 1H), 3,37 – 3,23 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,70 – 2,59 (m, 1H), 2,42 – 2,29 (m, 2H), 1,95 – 1,77 (m, 3H), 1,67 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,4, 7,0 Hz, 1H), 1,04 (s, 9H).

Ví dụ 4

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**4**)





Bước 1. Tổng hợp metyl L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat, muối hydroclorua (**C20**).

Dung dịch chứa metyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (xem Prior, A.M., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6317–6320; 2,0 g, 5,0mmol) trong hỗn hợp chứa metanol (2mL) và dung dịch chứa hydro clorua trong etyl axetat (4 M; 20mL) được khuấy ở 25°C trong 1 giờ. Cô trong chân không tạo ra **C20** ở dạng chất rắn màu trắng (1,92 g, được đem định lượng). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 9,09 – 8,98 (m, 1H), 8,39 (br s, 3H), 7,69 (s, 1H), 4,44 – 4,31 (m, 1H), 3,22 – 3,07 (m, 2H), 2,5 – 2,38 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,24 – 2,11 (m, 1H), 2,11 – 1,99 (m, 1H), 1,78 – 1,48 (m, 5H), 0,92 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H).

Bước 2. Tổng hợp metyl *N*-(4-metoxy-1*H*-indol-2-carbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (**C21**).

O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 494 mg, 1,30mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (388 mg, 3,00mmol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C20** (từ thử nghiệm quy mô nhỏ hơn tương tự với Bước 1; 336 mg, ≤0,840mmol) và axit 4-metoxy-1H-indol-2-carboxylic (159 mg, 0,832mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (6mL). Dung dịch được khuấy ở 0°C trong 1,5 giờ, trong khi đó nó được rót vào nước / băng (10mL) và được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: 10:1 diclometan / metanol) tạo ra **C21** ở dạng dầu màu vàng. Hiệu suất: 380 mg, 0,804mmol, 97%. LCMS *m/z* 473,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,59 – 11,53 (m, 1H), 8,53 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,37 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,37 – 7,33 (m, 1H), 7,09 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,00 (d, hợp phần của vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,50 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H),

4,56 – 4,47 (m, 1H), 4,40 – 4,31 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,18 – 3,05 (m, 2H), 2,41 – 2,29 (m, 1H), 2,15 – 2,03 (m, 2H), 1,78 – 1,49 (m, 5H), 0,93 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

Bước 3. Tổng hợp *N*-(4-metoxy-1*H*-indol-2-carbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alanin (**C22**).

Hỗn hợp khuấy chứa canxi clorua (0,887 g, 7,99mmol) và natri hydroxit (0,168 g, 4,20mmol) trong 2-propanol (7mL) và nước (3mL) được bổ sung **C21** (1,8 g, 3,8mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 6 giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không, được pha loãng bằng nước (4mL), được điều chỉnh đến độ pH = 4 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M, và được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: 10:1:0,1 diclometan / metanol / axit axetic) tạo ra **C22** ở dạng chất rắn màu vàng. Hiệu suất: 1,76 g, 3,84mmol, 100%. LCMS *m/z* 459,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*), các đỉnh đặc trưng: δ 6,51 – 6,43 (m, 1H), 4,80 – 4,66 (m, 1H), 4,60 – 4,45 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,36 – 3,18 (m, 2H), 2,59 – 2,44 (m, 1H).

Alternate Bước 3. Tổng hợp *N*-(4-metoxy-1*H*-indol-2-carbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alanin (**C22**).

Dung dịch chứa **C21** (20 mg, 42 μmol) trong tetrahydrofuran (0,4mL) được xử lý bằng dung dịch nước chứa lithi hydroxit (14,2 mg, 0,593mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2,5 giờ, nó được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng 10% dung dịch nước kali bisulfat. Lớp hữu cơ sau đó được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, thu được **C22** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 20 mg, định lượng. LCMS *m/z* 459,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,27 (s, 1H), 7,14 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 8, 8 Hz, 1H), 7,02 (d, hợp phần của vạch bốn AB, J = 8,3 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,66 (dd, J = 9,0, 5,9 Hz, 1H), 4,52 (dd, J = 11,7, 3,9 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,30 – 3,18 (m, 2H), 2,65 – 2,52 (m, 1H), 2,38 – 2,26 (m, 1H), 2,21 (ddd, J = 14,0, 11,7, 4,1 Hz, 1H), 1,90 – 1,70 (m, 5H), 1,02 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,99 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

Bước 4. Tổng hợp *N*-(4-metoxy-1*H*-indol-2-carbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C23**).

Dung dịch 0°C gồm **C22** (1,76 g, 3,84mmol) và amoni clorua (0,246 g, 4,60mmol) trong N,N-dimetylformamit (15mL) được bổ sung vào *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 1,90 g, 5,00mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (1,49 g, 11,5mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1,5 giờ, *N,N*-diisopropyletylamin (2,3 g, 18mmol) được sử dụng để điều chỉnh độ pH đến 8. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 30 phút nữa, trong khi đó nó được rót vào hỗn hợp chứa axit clohydric (1 M; 20mL, 20mmol) và băng. Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL); lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng axit clohydric (1 M; 10mL) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (10mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: 10:1 diclometan / metanol), thu được **C23** ở dạng chất rắn màu vàng. Hiệu suất: 1,09 g, 2,38mmol, 62%. LCMS *m/z* 458,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,62 – 11,55 (m, 1H), 8,42 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,04 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,60 (br s, 1H), 7,38 – 7,26 (m, 2H), 7,10 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,06 (br s, 1H), 7,00 (d, hợp phần của vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,54 – 4,41 (m, 1H), 4,34 – 4,22 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,17 – 3,01 (m, 2H), 2,31 – 1,95 (m, 3H), 1,76 – 1,45 (m, 5H), 0,92 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H), 0,88 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H).

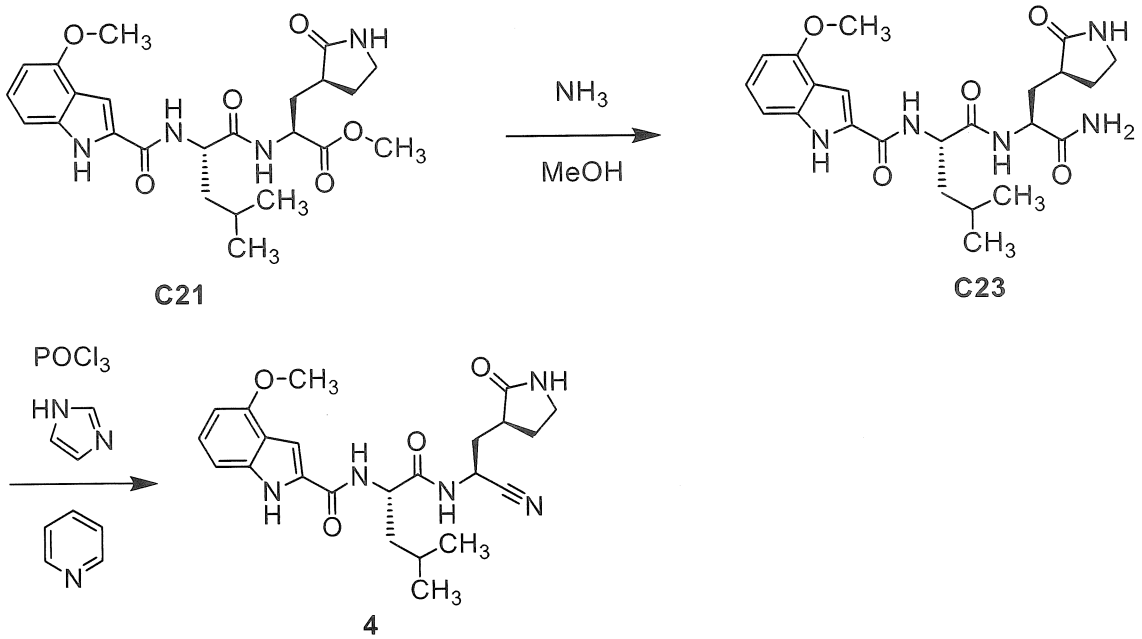
Bước 5. Tổng hợp *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**4**).

Hỗn hợp 0°C chứa **C23** (500 mg, 1,09mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (565 mg, 4,37mmol) trong tetrahydrofuran (8mL) được bổ sung 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit (50% dung dịch theo khối lượng trong etyl axetat; 2,78 g, 4,37mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50°C trong 3 giờ, nó được cô trong chân không, được pha loãng bằng nước (5mL), và được chiết bằng etyl axetat (3 x 5mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không; sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: 10:1 diclometan / metanol) tiếp đó là tinh chế HPLC pha đảo (Cột: YMC-Actus Triart C18, 50 x 250 mm, 7 μm; Pha động A: nước chứa 0,225% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 18% đến 58% B; Tốc độ chảy: 25mL/phút) tạo ra *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**4**) ở dạng chất rắn màu vàng. Hiệu suất: 130 mg, 0,296mmol, 27%. LCMS *m/z* 440,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,58 (br s, 1H), 8,90 (d, *J* = 8,0 Hz,

1H), 8,47 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,71 (br s, 1H), 7,38 – 7,35 (m, 1H), 7,09 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 8, 8 Hz, 1H), 7,00 (d, hợp phần của vạch bốn AB, J = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,02 – 4,93 (m, 1H), 4,49 – 4,40 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,19 – 3,05 (m, 2H), 2,41 – 2,29 (m, 1H), 2,20 – 2,06 (m, 2H), 1,85 – 1,62 (m, 4H), 1,58 – 1,47 (m, 1H), 0,94 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

Tổng hợp theo cách khác của Ví dụ 4

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**4**)



Bước 1. Tổng hợp *N*-[(4-metoxy-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C23**).

Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 21mL, 150mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C21** (500 mg, 1,06mmol) trong metanol (2,0mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ, dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 7,0mL, 49mmol) được bổ sung lại, và khuấy liên tục qua đêm. Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 7,0mL, 49mmol) được bổ sung lại, và khuấy liên tục trong 24 giờ, trong khi đó việc xử lý cuối với dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 7,0mL, 49mmol) được thực hiện. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian hơn một ngày, tại thời điểm đó nó được cô trong chân không. Phần lắng cặn được kết hợp với sản phẩm của phản ứng tương tự (350 mg trong số 512 mg được phân lập) được thực hiện sử dụng **C21** (500 mg, 1,06mmol), và hỗn hợp được hòa tan lặp lại trong etyl axetat (5 x 10mL) và được cô trong điều kiện áp suất thấp, tạo ra **C23** (835 mg). Nguyên liệu này

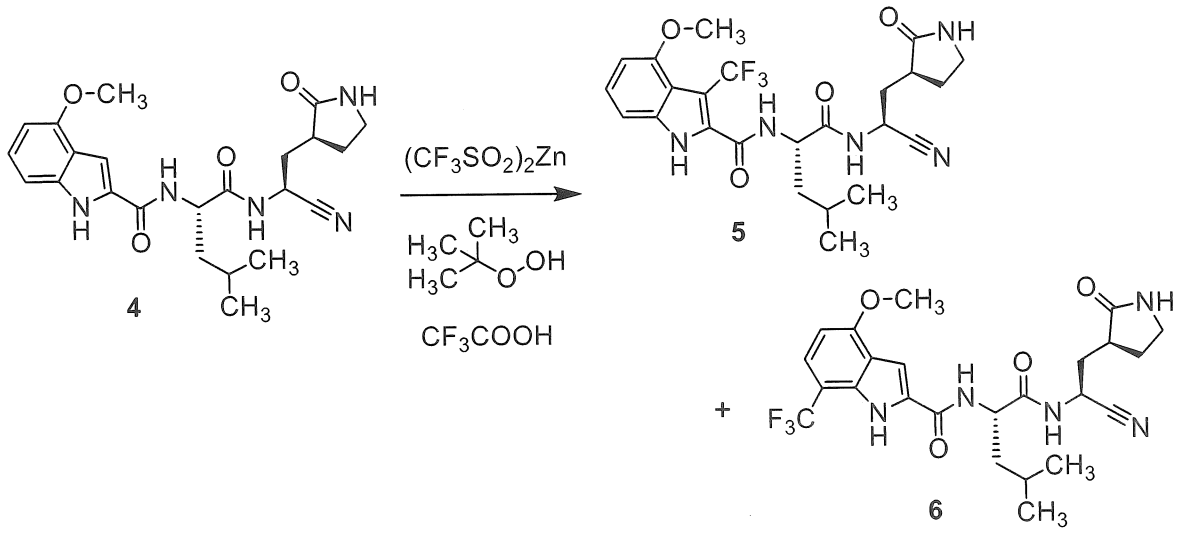
được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo. LCMS *m/z* 458,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,29 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,15 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,03 (br d, hợp phần của vạch bốn AB, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,59 (dd, *J* = 9,7, 5,0 Hz, 1H), 4,45 (dd, *J* = 11,3, 4,2 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,34 – 3,19 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,57 – 2,47 (m, 1H), 2,31 (dddd, *J* = 12,6, 8,5, 6,8, 2,8 Hz, 1H), 2,15 (ddd, *J* = 14,0, 11,4, 4,6 Hz, 1H), 1,88 – 1,67 (m, 5H), 1,02 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H), 0,98 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H).

Bước 2. Tổng hợp *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**4**).

Dung dịch chứa **C23** (từ bước trên đây; 835 mg, ≤1,78mmol) và 1*H*-imidazol (323 mg, 4,74mmol) trong hỗn hợp chứa pyridin (4mL) và diclometan (4mL) được làm lạnh đến −35°C sử dụng bể axetonitril / băng khô, trong khi đó phospho oxyclorua (0,956mL, 10,2mmol) được bổ sung từng giọt trong 5 phút. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ −30°C đến −20°C trong khoảng 1,5 giờ, sau đó được xử lý bằng axit clohydric (1 M; 50mL) và được khuấy trong 1 giờ. Sau đó chiết bằng diclometan (3 x 60mL), các lớp hữu cơ thu được được kết hợp, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được kết hợp với hợp chất **4** đã được tinh chế từ mẻ khác nhau (75 mg, 0,17mmol) và được tiến hành sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 5% metanol trong etyl axetat) để tạo ra **4** ở dạng chất rắn (800 mg). Nguyên liệu này được kết hợp với sản phẩm (80 mg) từ phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C23** (161 mg, 0,352mmol); nguyên liệu thu được được khuấy trong dietyl ete (25mL) trong 3 ngày, trong khi đó nó được lọc. Bánh lọc được rửa bằng hỗn hợp chứa dietyl ete và heptan (1:1, 4 x 2mL) để cho *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**4**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất gộp: 519 mg, 1,18mmol, xấp xỉ 50% qua 2 bước. LCMS *m/z* 440,5 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,57 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 8,90 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,46 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,37 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,10 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,00 (d, hợp phần của vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 5,03 – 4,92 (m, 1H), 4,51 – 4,39 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,19 – 3,05 (m, 2H), 2,42 – 2,30 (m, 1H), 2,20 – 2,06 (m, 2H), 1,80 (ddd, *J* = 13,2, 9,3, 6,7 Hz, 1H), 1,75 – 1,63 (m, 3H), 1,58 – 1,47 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H).

Ví dụ 5 và 6

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit (**5**) và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit (**6**)



Lọ giải phóng áp suất chứa kẽm(II) triflometansulfinat (98%, 2,44 mg, 7,21 μmol) được bổ sung lần lượt dung dịch chứa **4** (0,79 mg, 1,8 μmol) trong dimetyl sulfoxit (60 μL), axit trifloaxetic (0,56 μL, 7,3 μmol), và *tert*-butyl hydroperoxit (70% trong nước; 1,25 uL, 9,03 μmol). Lọ được đậy và được gia nhiệt đến 50°C qua đêm, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được làm lạnh và được pha loãng bằng axetonitril và 1% dung dịch của axit formic trong nước, đến thể tích của xấp xỉ 2 đến 3mL. Chế phẩm dung môi cuối là chế phẩm sao cho hỗn hợp thu được trở nên trong suốt, nói chung khoảng 20% đến 30% axetonitril. Toàn bộ hỗn hợp được tiến hành HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18 ,10 x 250 mm, 10 μm; Pha động A: 0,5% axit axetic trong nước; Pha động B: 9:1 axetonitril / metanol; gradien: 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 70% gradien tuyến tính B trong 84 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 1 phút, sau đó 95% B trong 9 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút). Dịch rửa giải được cho đi qua bộ phát hiện UV/VIS và sau đó được chia ở xấp xỉ 15:1 giữa bộ gom phân đoạn và quang phổ kế bẫy ion. Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây và chúng có thể chứa các sản phẩm quan tâm được đánh giá bằng UHPLC-UV-HRMS trước khi gom lại. Hai sản phẩm được rửa giải ở xấp xỉ 71 và 75 phút. Sản phẩm rửa giải thứ nhất là **5** {*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit}, và sản phẩm rửa giải thứ hai là **6** {*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-

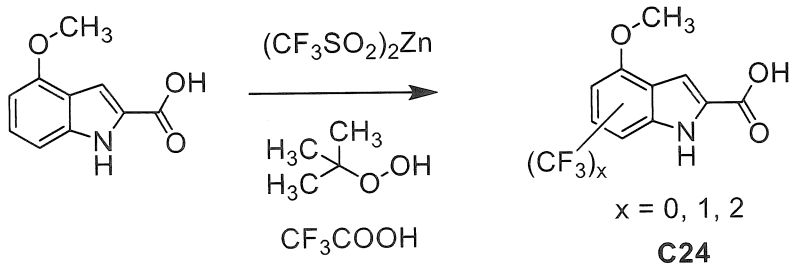
oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit}.

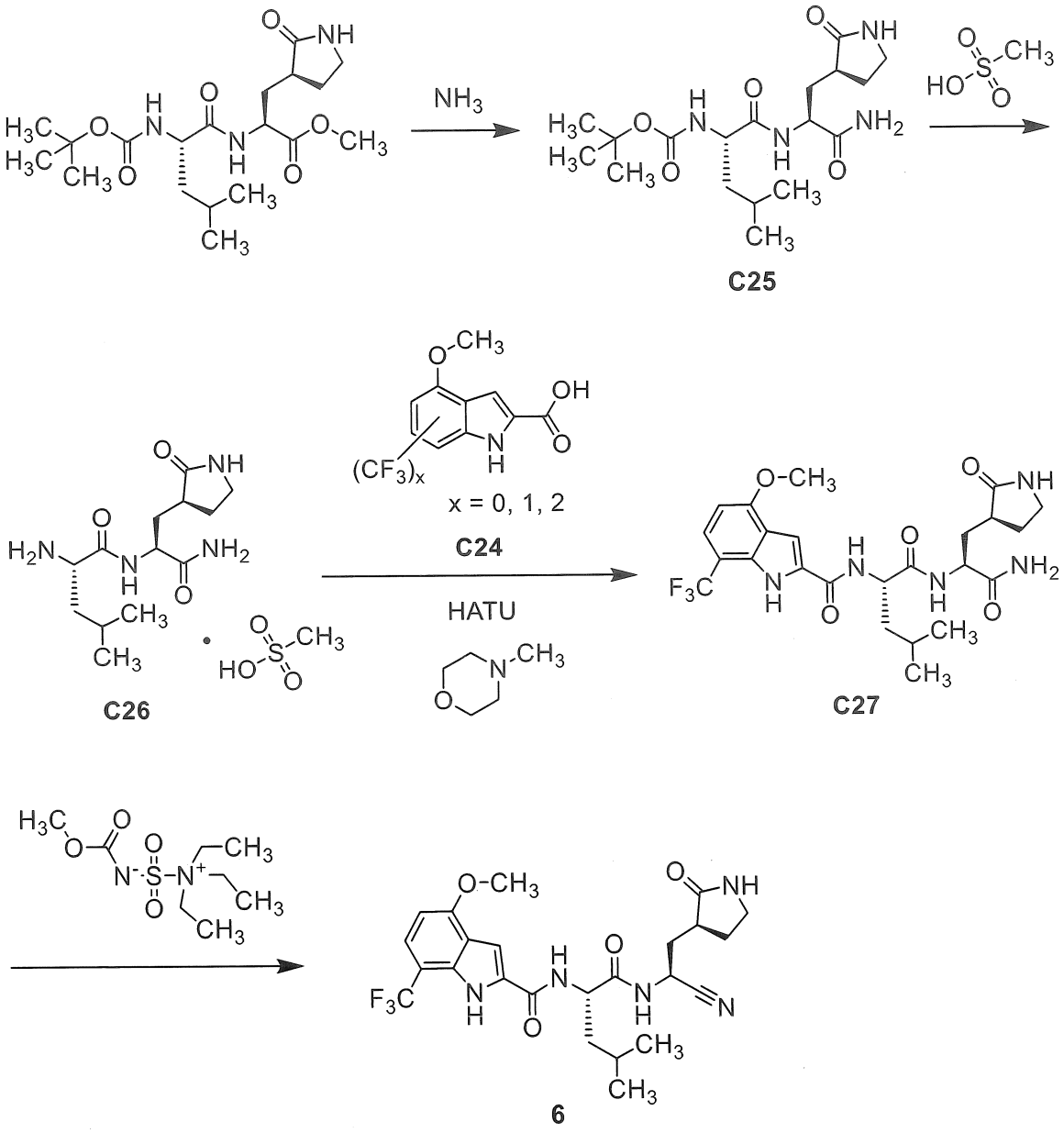
5 – Hiệu suất: 0,101 mg, 0,199 µmol, 11%. MS rửa giải cao *m/z* 508,2171 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{24}H_{29}F_3N_5O_4$, 508,2172. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 12,22 (br s, 1H), 9,01 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 8,96 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,21 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,69 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,03 – 4,95 (m, 1H), 4,49 – 4,40 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,22 – 3,08 (m, 2H), 2,43 – 2,34 (m, 1H), 2,23 – 2,10 (m, 2H), 1,82 (ddd, *J* = 13,7, 9,3, 6,8 Hz, 1H), 1,78 – 1,66 (m, 2H), 1,62 (ddd, *J* = 14,6, 9,7, 5,2 Hz, 1H), 1,49 (ddd, *J* = 13,8, 8,8, 5,5 Hz, 1H), 0,97 – 0,88 (m, 6H). Thời gian lưu: 8,43 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 5% B trong 0,5 phút, sau đó 5% đến 70% B trong 10,5 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 2 phút; Tốc độ chảy: 0,4mL/phút).

6 – Hiệu suất: 14,7 µg, 0,029 µmol, 1,6%. MS rửa giải cao *m/z* 508,2178 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{24}H_{29}F_3N_5O_4$, 508,2172. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,47 (br s, 1H), 9,00 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,79 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 6,72 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 5,02 – 4,94 (m, 1H), 4,56 – 4,48 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,18 – 3,05 (m, 2H), 2,39 – 2,30 (m, 1H), 2,18 – 2,08 (m, 2H), 1,86 – 1,77 (m, 1H), 1,75 – 1,64 (m, 3H), 1,61 – 1,52 (m, 1H), 0,95 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H), 0,90 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). Thời gian lưu: 8,92 phút (Các điều kiện phân tích giống các điều kiện được sử dụng đối với **5**).

Tổng hợp theo cách khác của Ví dụ 6

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit (**6**)





Bước 1. Tổng hợp axit 4-metoxy-1H-indol-2-carboxylic được triflometylat hóa (**C24**).

Hỗn hợp chứa axit 4-metoxy-1H-indol-2-carboxylic (100 mg, 0,523mmol) và kẽm(II) triflometansulfinat (120 mg, 0,362mmol) được xử lý bằng dimetyl sulfoxit (1,5mL) tiếp đó là axit trifloaxetic (56 µL, 0,727mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến 0°C, *tert*-butyl hydroperoxit (70% trong nước; 143 µL, 1,03mmol) được bổ sung, và khuấy liên tục ở 0°C trong 20 phút, sau đó ở nhiệt độ trong phòng trong 25 phút. Hỗn hợp phản ứng sau đó được gia nhiệt ở 52°C trong 2 giờ, trong khi đó nó được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và được xử lý từng giọt với dung dịch nước natri bicacbonat cho tới khi hết bong bóng. Sau đó hỗn hợp thu được được phân bố giữa dung dịch nước natri bicacbonat và etyl axetat, lớp nước được chiết một lần bằng etyl axetat và lớp hữu cơ

được bỏ đi. Sau đó lớp nước được axit hóa đến độ pH = 7 với axit clohydric 1M; etyl axetat được bổ sung, và hỗn hợp được khuấy đồng thời độ pH được điều chỉnh đến 1 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M. Sau đó hỗn hợp hai pha được khuấy trong 10 phút, lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Bằng cách phân tích LCMS, phần lắng cặn (115 mg) chứa hỗn hợp chứa nguyên liệu ban đầu và các sản phẩm được mono-triflometylat hóa, cũng như lượng nhỏ nguyên liệu được di-triflometylat hóa. Khối hỗn hợp này được sử dụng trong Bước 4. Hiệu suất: 115 mg, <0,4mmol. LCMS *m/z* 189,8, 257,8, 325,8 (lượng nhỏ) $[M-H]^-$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4), các đỉnh đặc trưng từ ba hợp phần chính: δ 7,07 (br d, *J* = 8,4 Hz), 7,02 (br d, *J* = 8,4 Hz), 6,81 (d, *J* = 7,8 Hz), 6,66 (d, *J* = 7,8 Hz), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz), 4,06 (s, -OMe), 3,93 (s, -OMe), 3,92 (s, -OMe).

Bước 2. Tổng hợp *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C25**).

Dung dịch 0°C gồm metyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (xem Prior, A.M., et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 6317–6320; 1,5 g, 3,8mmol) trong metanol (5mL) được bổ sung dung dịch chứa amoniac trong metanol (7 M; 43mL, 300mmol). Sau đó lọ phản ứng được đậy, hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7 M; 10,7mL, 74,9mmol) được bổ sung lại, và phản ứng được tiếp tục tiến hành ở nhiệt độ trong phòng trong 3 ngày, trong khi đó nó được cô trong chân không. Phần lắng cặn được hấp thụ hai lần trong dietyl ete (40mL) và được cô trong điều kiện áp suất thấp, thu được **C25** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 1,46 g, 3,80mmol, định lượng. LCMS *m/z* 385,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,29 – 8,17 (m, 1H), 7,23 (br s, 1H), 5,64 (br s, 1H), 5,32 (br s, 1H), 5,02 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 4,50 – 4,38 (m, 1H), 4,05 (ddd, *J* = 10,3, 6,3, 4,5 Hz, 1H), 3,44 – 3,32 (m, 2H), 2,51 – 2,35 (m, 2H), 2,16 – 1,98 (m, 2H), 1,97 – 1,83 (m, 1H), 1,76 – 1,6 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 1,49 – 1,39 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 0,94 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,94 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H).

Bước 3. Tổng hợp L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối metansulfonat (**C26**).

Dung dịch chứa axit metanesulfonic (0,861mL, 13,3mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (5mL) được bổ sung từ từ vào dung dịch chứa **C25** (5,1 g, 13mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (43mL). Sau đó 30 phút, phân tích LCMS chỉ ra rằng

có sự chuyển hoá thành **C26**: LCMS *m/z* 285,3 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không, sau đó được hấp thụ trong các hỗn hợp dung môi sau và được cô lại: hỗn hợp chứa axetonitril và etyl axetat (1:1, 2 x 20mL), sau đó hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan, (1:1, 2 x 20mL). Chất rắn thu được được chưng cất đẳng phí hai lần bằng hỗn hợp chứa axetonitril và etyl axetat, sau đó hai lần bằng hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan, thu được **C26** ở dạng chất rắn màu trắng (6,05 g) được giữ lại các dung môi bằng cách phân tích ^{1}H NMR. Hiệu suất: được đem định lượng. ^{1}H NMR (600 MHz, metanol-d_4) δ 4,50 (dd, J = 10,7, 4,9 Hz, 1H), 3,91 (dd, J = 8,6, 5,5 Hz, 1H), 3,39 – 3,28 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,70 (s, 3H), 2,53 – 2,46 (m, 1H), 2,43 – 2,36 (m, 1H), 2,14 (ddd, J = 14,0, 10,7, 5,0 Hz, 1H), 1,95 – 1,86 (m, 1H), 1,82 – 1,71 (m, 3H), 1,70 – 1,64 (m, 1H), 1,02 (d, J = 6,3 Hz, 3H), 1,01 (d, J = 6,1 Hz, 3H).

Bước 4. Tổng hợp *N*-{[4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-yl]carbonyl}-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C27**).

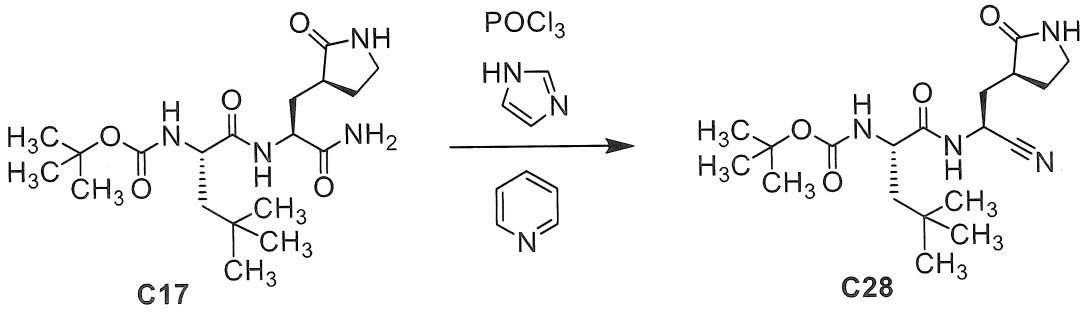
Dung dịch chứa **C24** (từ Bước 1; 101 mg, <0,35mmol) và **C26** (từ bước trên đây; 204 mg, ≤0,438mmol) trong axetonitril (1,7mL) và *N,N*-dimetylformamit (1mL) được làm lạnh đến 0°C và được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 163 mg, 0,429mmol) tiếp đó là 4-metylmorpholin (0,129mL, 1,17mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 40 phút, trong khi đó hỗn hợp 1:1 chứa dung dịch nước natri bicacbonat và băng được bổ sung từ từ cho đến khi kết tủa đục được tạo thành. Etyl axetat sau đó được bổ sung, và hỗn hợp hai pha được khuấy trong 5 phút. Lớp nước được chiết một lần bằng etyl axetat, và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel được thực hiện hai lần (Gradien #1: 0% đến 10% metanol trong diclometan; gradien #2: 5% đến 10% metanol trong diclometan) để cho **C27**. Hóa lập thể nguyên liệu này được xác nhận bằng các thử nghiệm 2D NMR. Hiệu suất: 19 mg, 36 μmol, xấp xỉ 10%. LCMS *m/z* 526,5 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,53 (br d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,41 (s, 1H), 6,68 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,60 (dd, J = 9,5, 5,1 Hz, 1H), 4,45 (dd, J = 11,4, 4,2 Hz, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,3 – 3,21 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,60 – 2,49 (m, 1H), 2,36 – 2,26 (m, 1H), 2,15 (ddd, J = 14,1, 11,5, 4,6 Hz, 1H), 1,89 – 1,68 (m, 5H), 1,03 (d, J = 6,1 Hz, 3H), 0,99 (d, J = 6,2 Hz, 3H).

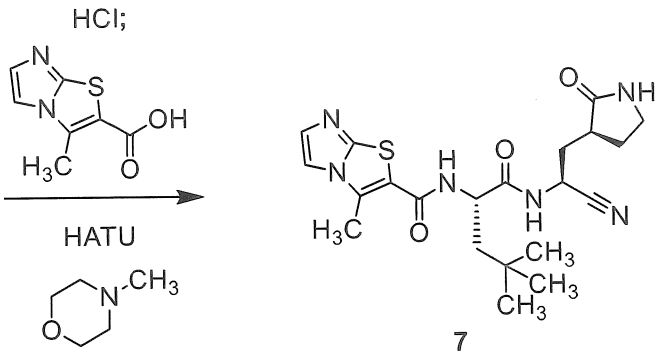
Bước 5. Tổng hợp *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit (**6**).

Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 17,2 mg, 72,2 µmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C27** (19 mg, 36 µmol) trong hỗn hợp chứa diclometan (0,5mL) và axetonitril (0,2mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, nó được pha loãng bằng etyl axetat và được rửa bằng hỗn hợp 1:1 chứa dung dịch nước natri bicacbonat và băng. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat, và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, và được cho đi qua hộp chiết pha rắn được đóng gói bằng magie sulfat. Cô phần lọc trong chân không tạo ra cặn, mà được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 25% đến 65% B trong 8,5 phút, sau đó 65% đến 95% B trong 0,5 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit (**6**). Hiệu suất: 4,3 mg, 8,5 µmol, 24%. LCMS *m/z* 508,6 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,83 phút (Cột: Waters Atlantis C18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 7

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metylimidazo[2,1-*b*][1,3]thiazol-2-carboxamit (**7**)





Bước 1. Tổng hợp N^2-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit (**C28**).

Dung dịch chứa **C17** (560 mg, 1,41mmol) và 1*H*-imidazol (249 mg, 3,65mmol) trong hỗn hợp chứa pyridin (3mL) và diclometan (3mL) được làm lạnh đến −35°C sử dụng bể axetonitril / băng khô. Phospho oxyclorua (0,74mL, 7,94mmol) được bổ sung từng giọt, trong 4 phút, tiếp đó là bổ sung diclometan (2mL), và khuấy liên tục ở −30°C đến −20°C. Sau đó 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng diclometan (2mL). Sau đó xấp xỉ 1,5 giờ, axit clohydric (1 M; 30mL) được bổ sung; hỗn hợp thu được được khuấy trong 30 phút, và sau đó được chiết bằng diclometan (2 x 60mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, thu được **C28** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 492 mg, 1,29mmol, 91%. LCMS *m/z* 381,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 5,03 (dd, *J* = 10,4, 5,7 Hz, 1H), 4,09 (dd, *J* = 8,7, 4,2 Hz, 1H), 3,39 – 3,25 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,64 – 2,52 (m, 1H), 2,40 – 2,27 (m, 2H), 1,97 – 1,78 (m, 2H), 1,70 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,3, 4,1 Hz, 1H), 1,54 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,3, 8,7 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,00 (s, 9H).

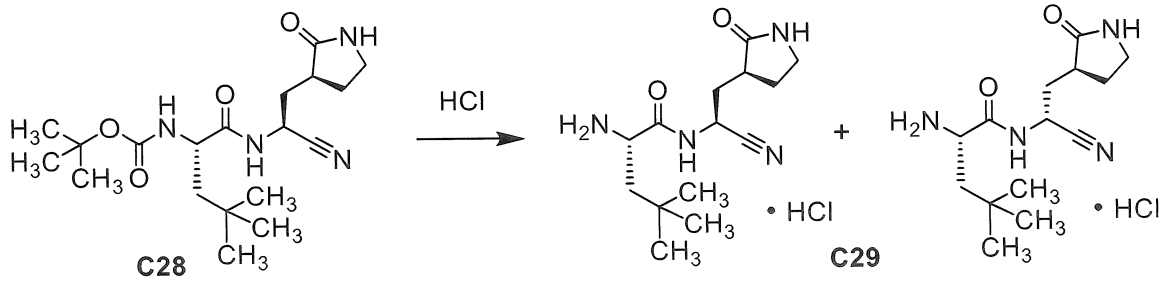
Bước 2. Tổng hợp *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metylimidazo[2,1-*b*][1,3]thiazol-2-carboxamit (**7**).

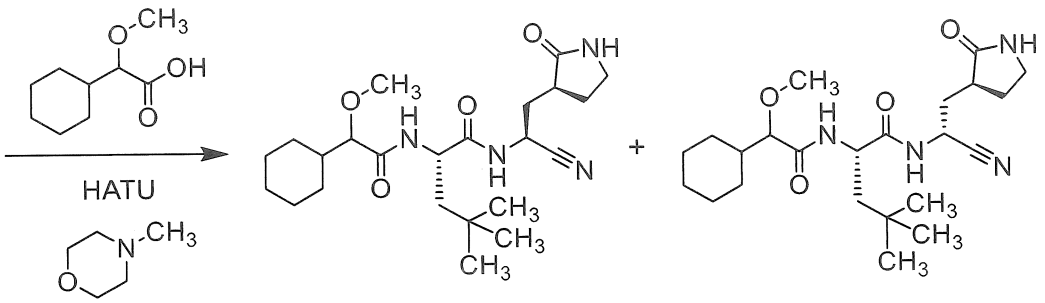
Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4,0 M; 0,3mL, 1,2mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C28** (100 mg, 0,263mmol) trong hỗn hợp chứa axetonitril (1,5mL) và metanol (1,0mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, trong khi đó nó được xử lý bằng 4-metylmorpholin (0,144mL, 1,31mmol). Sau đó, các dung môi được loại bỏ trong chân không, phần lắng cặn được tạo huyền phù lại hai lần trong hỗn hợp chứa diclometan và heptan (1:1, 2 x 10mL) và được cô trong điều kiện áp suất thấp. Phần lắng cặn được kết hợp với axit 3-metylimidazo[2,1-b][1,3]thiazol-2-carboxylic (47,9 mg, 0,263mmol) trong N,N-dimetylformamit (3,3mL), được làm nguội

đến 0°C, và được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 99,9 mg, 0,263mmol) tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (72 µL, 0,655mmol) trong diclometan (0,2mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong xấp xỉ 2 giờ, nó được xử lý ở 0°C với axit clohydric (1 M; 30mL), và hỗn hợp thu được được chiết bằng diclometan (2 x 60mL). Sau đó, lớp nước được bazơ hóa đến độ pH = 9 bằng cách bổ sung dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa, trong khi đó nó được chiết bằng diclometan (3 x 60mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa (50mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phân tích ^{1}H NMR của nguyên liệu này chỉ ra sự có mặt của lượng nhỏ epime, được xem là quá trình raxemic hóa một phần ở tâm mang nitril. Sản phẩm chính được phân lập sử dụng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong etyl axetat), thu được *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metylimidazo[2,1-*b*][1,3]thiazol-2-carboxamit (**7**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 56 mg, 0,13mmol, 49%. LCMS *m/z* 445,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,73 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,37 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 5,04 (dd, *J* = 10,3, 5,9 Hz, 1H), 4,53 (dd, *J* = 7,8, 5,0 Hz, 1H), 3,36 – 3,24 (m, 2H; được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,70 (s, 3H), 2,67 – 2,57 (m, 1H), 2,38 – 2,27 (m, 2H), 1,93 (ddd, *J* = 14,0, 9,4, 6,0 Hz, 1H), 1,88 – 1,78 (m, 3H), 1,03 (s, 9H).

Ví dụ 8 và 9

N-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-*N*^{2}-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-1 (**8**) và *N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-*N*^{2}-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-2 (**9**)





Bước 1. Tổng hợp *N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit (**C29**).

Dung dịch chứa **C28** (114 mg, 0,300mmol) trong hỗn hợp chứa axetonitril (1mL) và metanol (1mL) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 0,4mL, 1,6mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút , trong khi đó 4-metylmorpholin (0,165mL, 1,50mmol) được bổ sung, thu được độ pH đến 7 đến 8. Sau đó, các dung môi được loại ra *trong chân không*, phần lắng cặn được hấp thụ hai lần trong hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:1, 2 x 10mL) và được cô trong điều kiện áp suất thấp để tạo ra **C29** ở dạng chất rắn (269 mg); bằng cách phân tích ^{1}H NMR, đây được coi là hỗn hợp chứa epime, được xem là ở tâm mang nitril, theo tỷ lệ là 2–3 đến 1. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 281,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4), các đỉnh đặc trưng: δ [5,11 (dd, *J* = 8,8, 7,3 Hz, chính) và 5,01 (dd, *J* = 6,5, 6,5 Hz, lượng nhỏ), tổng 1H], [2,75 – 2,65 (m, lượng nhỏ) và 2,64 – 2,54 (m, chính), tổng 1H], 2,48 – 2,38 (m, 1H), 2,30 – 2,20 (m, 1H), 2,06 – 1,83 (m, 3H), 1,64 (dd, *J* = 14,1, 4,8 Hz, 1H), [1,04 (s, chính), 1,01 (s, lượng nhỏ), tổng 9H].

Bước 2. Tổng hợp *N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-1 (**8**) và *N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-2 (**9**).

Dung dịch 0°C gồm **C29** (từ bước trên đây; 83,4 mg, ≤93 μmol) và axit xyclohexyl(metoxy)axetic (17,2 mg, 99,9 μmol) trong N,N-dimetylformamit (1mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 38,0 mg, 0,100mmol), tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (30,8 μL, 0,280mmol) trong diclometan (0,2mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong khoảng 2 giờ, nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3mL) ở 0°C, và được chiết bằng diclometan (4 x 4mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không;

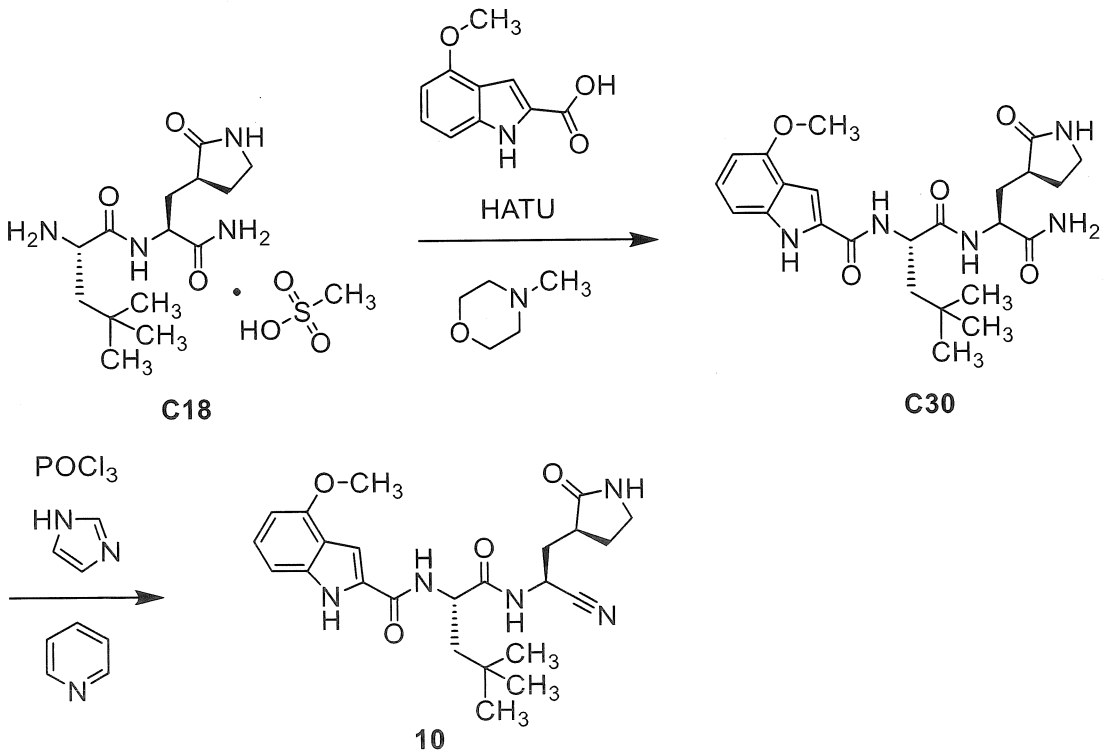
bằng cách phân tích LCMS, phần lắng cặn bao gồm hai hợp phần, được giả định là tương ứng với hai epime ở tâm mang nitril. Các chất đồng phân không đối quang này được tách bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters XBridge C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước; Pha động B: axetonitril; gradien: 5% đến 95% B trong 8,54 phút, sau đó 95% B trong 1,46 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút). Chất đồng phân không đối quang rửa giải lần thứ nhất được chỉ ra là **8** (*N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-1), và chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai là **9** (*N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-2).

8 – Hiệu suất: 12,8 mg, 29,4 µmol, 32% qua 2 bước. LCMS *m/z* 435,6 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,63 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis C18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích). gradien: 5% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút. Tốc độ chảy: 2mL/phút).

9 – Hiệu suất: 10 mg, 23,0 µmol, 25% qua 2 bước. LCMS *m/z* 435,6 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,72 phút (Các điều kiện phân tích giống các điều kiện được sử dụng đối với **8**).

Ví dụ 10

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**10**)



Bước 1. Tổng hợp *N*-[(4-metoxy-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]-4-metyl-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C30**).

Dung dịch 0°C gồm **C18** (200 mg, ≤0,46mmol) và axit 4-metoxy-1H-indol-2-carboxylic (88,2 mg, 0,460mmol) trong axetonitril (2mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 175 mg, 0,460mmol), tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (0,127mL, 1,16mmol) trong axetonitril (0,2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2,5 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL) ở 0°C, sau đó được chiết bằng diclometan (50mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng axit clohydric (1 M; 30mL), và các lớp nước được chiết bằng diclometan (60mL). Sau đó các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, phần lắng cặn được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% metanol trong etyl axetat) để tạo ra **C30** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 148 mg, 0,314mmol, 68% qua 2 bước. LCMS *m/z* 472,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,25 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,15 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,03 (br d, hợp phần của vạch bốn AB, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,65 (dd, *J* = 9,2, 3,4 Hz, 1H), 4,44 (dd, *J* = 11,2, 4,2 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,29 – 3,15 (m, 2H), 2,54 – 2,44 (m, 1H), 2,29 (dddd, *J* = 12,6, 8,6, 7,0, 2,7 Hz, 1H), 2,14 (ddd, *J* = 14,0, 11,2, 4,6 Hz, 1H), 1,89 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,5, 3,4 Hz, 1H), 1,85 – 1,74 (m, 3H), 1,02 (s, 9H).

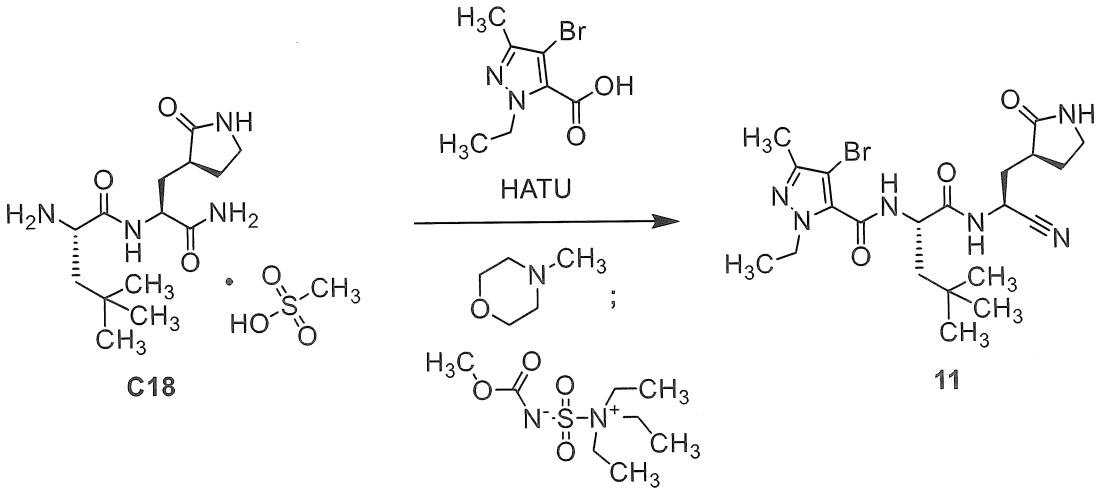
Bước 2. Tổng hợp *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**10**).

Dung dịch chứa **C30** (143 mg, 0,303mmol) và 1*H*-imidazol (53,7 mg, 0,789mmol) trong hỗn hợp chứa pyridin (1mL) và diclometan (1mL) được làm lạnh trong bể axetonitril / băng khô (−35°C). Phospho oxyclorua (0,159mL, 1,71mmol) được bổ sung từng giọt trong 5 phút, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở −30°C đến −20°C trong 2 giờ, trong khi đó nó được xử lý bằng axit clohydric (1 M; 30mL), được khuấy trong 20 phút, và được chiết bằng diclometan (2 x 60mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong etyl axetat) tạo ra *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**10**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 68 mg, 0,15mmol, 50%. LCMS *m/z* 454,5 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,24 (d, *J* = 0,9 Hz, 1H), 7,14 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,02 (br d,

hợp phần của vạch bốn AB, J = 8,3 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 5,03 (dd, J = 10,1, 6,0 Hz, 1H), 4,64 (dd, J = 8,6, 4,3 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,30 – 3,17 (m, 2H), 2,63 – 2,52 (m, 1H), 2,37 – 2,21 (m, 2H), 1,95 – 1,74 (m, 4H), 1,03 (s, 9H).

Ví dụ 11

N^2-[(4-bromo-1-etyl-3-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit (**11**)

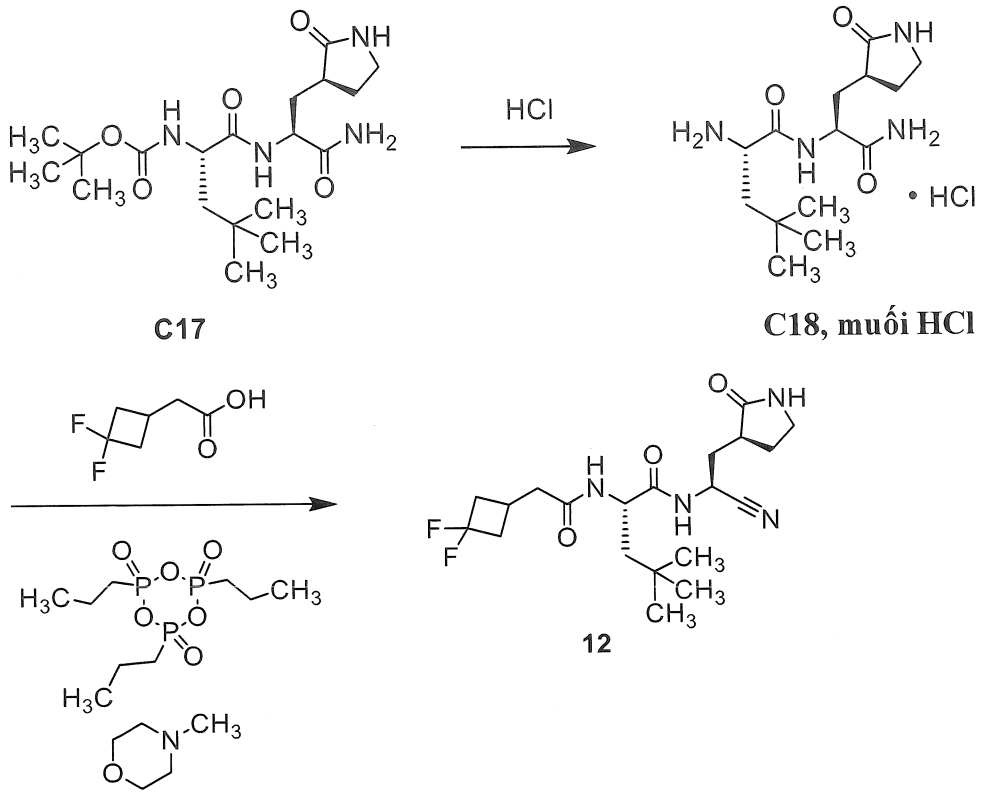


Huyền phù đặc 0°C của **C18** (43,4 mg, ≤0,10mmol) và 4-bromo-1-etyl-3-metyl-1*H*-pyrazol-5-axit carboxylic (23,3 mg, 0,100mmol) trong axetonitril (1,0mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 38,0 mg, 0,100mmol), tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (30 µL, 0,27mmol) trong axetonitril (0,2mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong xấp xỉ 80 phút, metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 71,5 mg, 0,300mmol) được bổ sung, và khuấy liên tục. Sau đó xấp xỉ 2,75 giờ, metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 71,5 mg, 0,300mmol) được bổ sung lại, và phản ứng được tiến hành trong 1,5 giờ, trong khi đó nó được xử lý bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3mL) ở 0°C, và được chiết bằng diclometan (2 x 8mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không, sau đó được hòa tan trong axetonitril (4mL) và được cô lại sử dụng thiết bị làm bay hơi Genevac để tạo ra sản phẩm thô (138 mg). Một phần nguyên liệu này (80 mg) được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5% đến 95% B trong 8,54 phút, sau đó 95% B trong 1,46 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho N^2-[(4-bromo-1-etyl-3-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-

xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit (**11**). Hiệu suất: 24,7 mg, 49,8 μmol, 86% qua 2 bước. LCMS *m/z* 495,5 (mẫu đồng vị brom được quan sát) $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,48 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis C18, 4,6 x 50 mm, 5 μm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích). gradien: 5% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút. Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 12

N-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(3,3-difloxyclobutyl)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit (**12**)



Bước 1. Tổng hợp 4-metyl-L-leuxyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối hydroclorua (**C18, muối HCl**).

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 1,7mL, 6,8mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C17** (260 mg, 0,652mmol) trong axetonitril (3mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không, sau đó được hòa tan lặp lại trong hỗn hợp chứa diclometan và heptan (1:1, 3 x 10mL) và được cô lại, thu được **C18, muối** HCl (242 mg) ở dạng thủy tinh. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 299,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,53 (dd, *J* = 10,3, 5,0 Hz, 1H), 3,91 (dd, *J* = 7,5, 5,4 Hz, 1H),

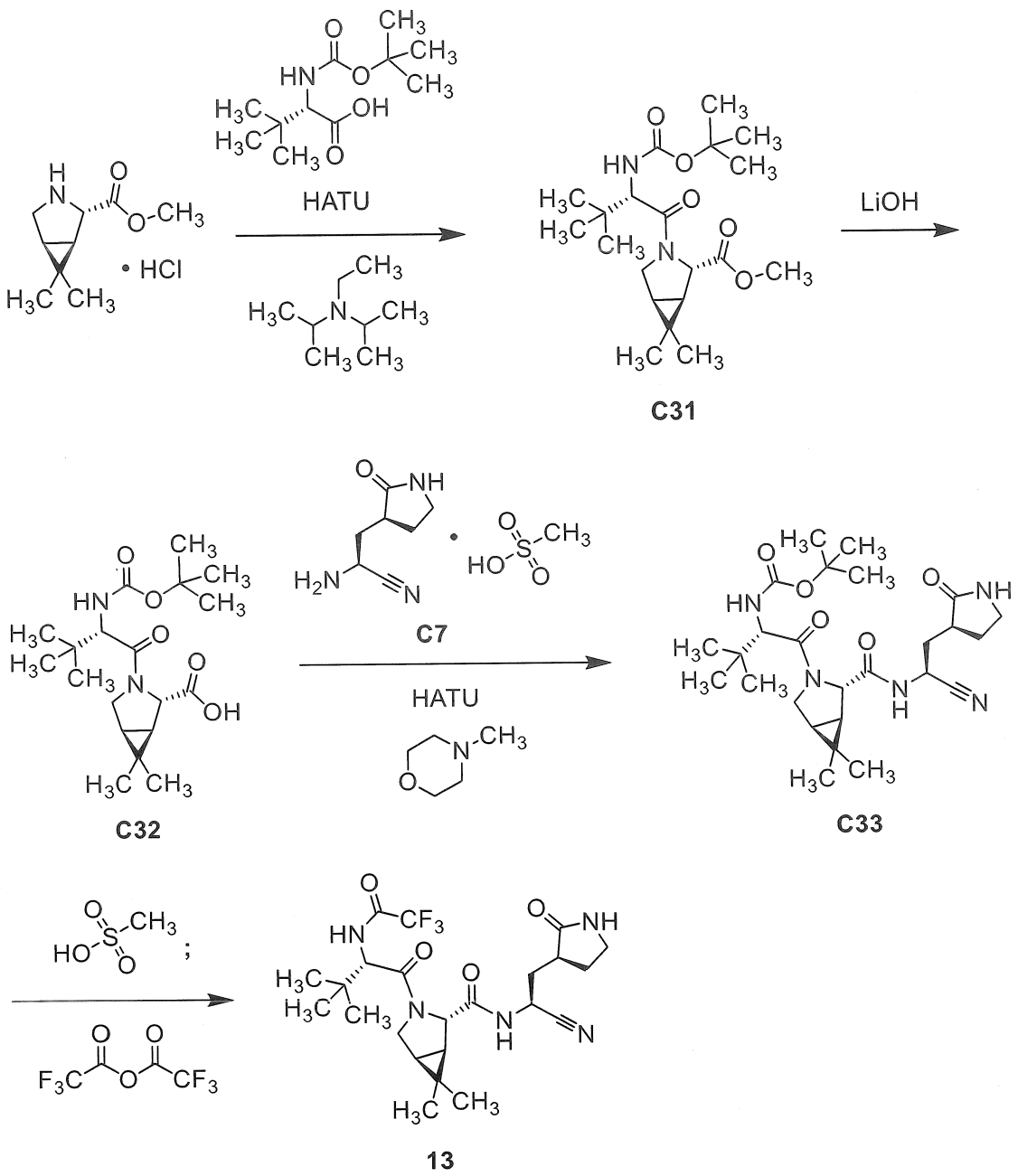
3,41 – 3,26 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,57 – 2,47 (m, 1H), 2,41 (dddd, J = 12,0, 8,7, 7,0, 3,1 Hz, 1H), 2,15 (ddd, J = 13,9, 10,3, 4,9 Hz, 1H), 2,05 – 1,97 (m, 1H), 1,97 – 1,85 (m, 1H), 1,78 (ddd, J = 14,1, 9,1, 5,0 Hz, 1H), 1,60 (dd, J = 14,3, 5,4 Hz, 1H), 1,01 (s, 9H).

Bước 2. Tổng hợp *N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(3,3-difloxyclobutyl)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit (**12**).

Huyền phù đặc của C18, muối HCl (từ bước trên đây; 37,2 mg, ≤0,100mmol) và axit (3,3-difloxyclobutyl)axetic (15,8 mg, 0,105mmol) trong tetrahydrofuran (1,0mL) được xử lý bằng 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit trioxit (50% dung dịch theo khối lượng trong etyl axetat; 65,5 µL, 0,110mmol) và 4-metylmorpholin (27,5 µL, 0,250mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, nó được gia nhiệt ở 50°C trong 4,5 giờ, trong khi đó 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit trioxit (50% dung dịch theo khối lượng trong etyl axetat; 2,2 đương lượng) và 4-metylmorpholin (5 đương lượng) được bổ sung lại. Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50°C trong 3 bổ sung ngày, nó được xử lý bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3mL) và được chiết bằng diclometan (4 x 4mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters XBridge C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước; Pha động B: axetonitril; gradien: 20% đến 40% B trong 8,5 phút, sau đó 40% đến 95% B trong 0,5 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho *N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(3,3-difloxyclobutyl)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit (**12**). Hiệu suất: 10,1 mg, 24,5 µmol, 24% qua 2 bước. LCMS *m/z* 413,5 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 1,96 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis C18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích). gradien: 5% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút. Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 13

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**)



Bước 1. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C31**).

O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 7,92 g, 20,8mmol) được bổ sung vào hỗn hợp 0°C chứa *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valin (4,38 g, 18,9mmol) và metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (3,9 g, 19mmol) trong N,N-dimetylformamit (95mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút, *N,N*-diisopropyletylamin (8,25mL, 47,4mmol) được bổ sung; khuấy liên tục ở 0°C trong 2 giờ, trong khi đó dung dịch nước axit xitric (1 N, 20mL) và nước (40mL) được bổ sung vào. Hỗn hợp thu được được khuấy

trong 2 phút, và sau đó được pha loãng bằng etyl axetat (250mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (3 x 150mL) và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 100% etyl axetat trong heptan) tạo ra **C31** ở dạng dầu. Hiệu suất: 3,60 g, 9,41mmol, 50%. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 6,42 (d, J = 9,7 Hz, <1H; được trao đổi không hoàn toàn bằng dung môi), 4,35 (s, 1H), 4,21 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 4,02 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,4 Hz, 1H), 3,91 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,3, 5,3 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 1,57 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 7,5, 5,1 Hz, 1H), 1,47 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,5 Hz, 1H), 1,41 (s, 9H), 1,07 (s, 3H), 1,02 (s, 9H), 0,93 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-3-[N-(tert-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C32**).

Dung dịch nước lithi hydroxit (1,0 M; 14,7mmol, 14,7mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch 0°C gồm **C31** (3,60 g, 9,41mmol) trong hỗn hợp chứa tetrahydrofuran và metanol (1:1, 30mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1 giờ, nó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 1 giờ, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra rằng có sự chuyển hoá thành **C32**: LCMS *m/z* 367,3 $[M-H]^-$. Điều chỉnh đến độ pH = 3 được tiến hành bằng cách bổ sung axit clohydric 1M, sau đó hỗn hợp được pha loãng bằng nước (30mL). Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 75mL), và lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong điều kiện áp suất thấp để tạo ra **C32** ở dạng chất rắn nhờ màu trắng. Hiệu suất: 3,10 g, 8,41mmol, 89%. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 6,39 (d, J = 9,7 Hz, xấp xỉ 0,5H; được trao đổi không hoàn toàn bằng dung môi), 4,33 (s, 1H), [4,21 (d, J = 9,6 Hz) và 4,21 (s), tổng 1H], 4,01 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,5 Hz, 1H), 3,91 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,4, 5,2 Hz, 1H), 1,56 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 7,5, 5,0 Hz, 1H), 1,50 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,07 (s, 3H), 1,02 (s, 9H), 0,93 (s, 3H).

Bước 3. Tổng hợp *tert*-butyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**C33**).

Hỗn hợp 0°C chứa **C7** (31,9 mg, ≤94 μmol) và **C32** (34 mg, 92 μmol) trong axetonitril (1mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU, 97%; 36,2 mg, 92,3 μmol) tiếp đó là dung dịch chứa 4-metylmorpholin (25 μL, 0,23mmol) trong axetonitril (0,25mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng

được khuấy ở 0°C trong xấp xỉ 1 giờ, nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3mL) ở 0°C, và được chiết bằng diclometan (4 x 4mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không để tạo ra **C33** ở dạng gôm (48 mg). Hầu hết nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 504,6 $[M+H]^+$.

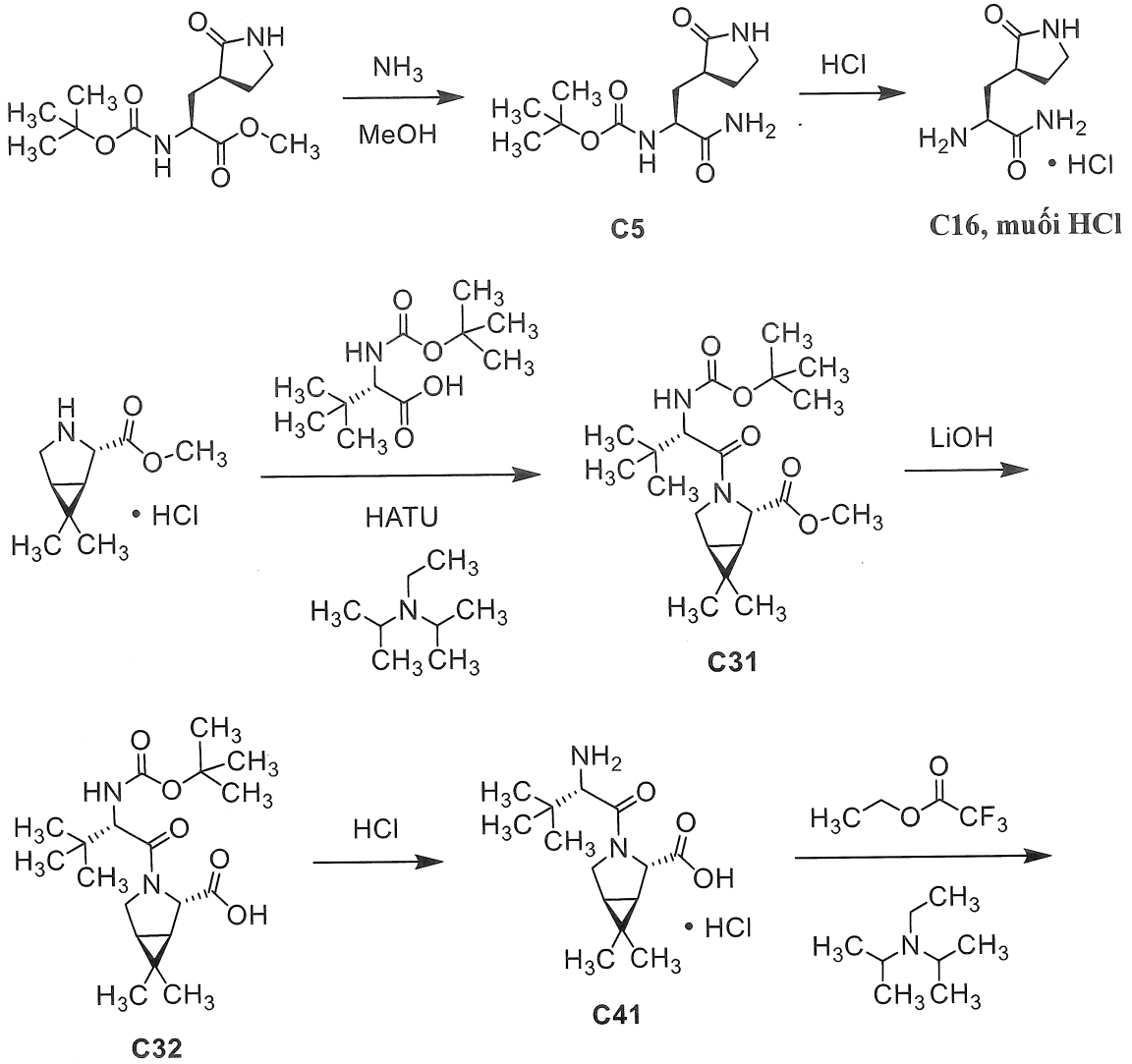
Bước 4. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**).

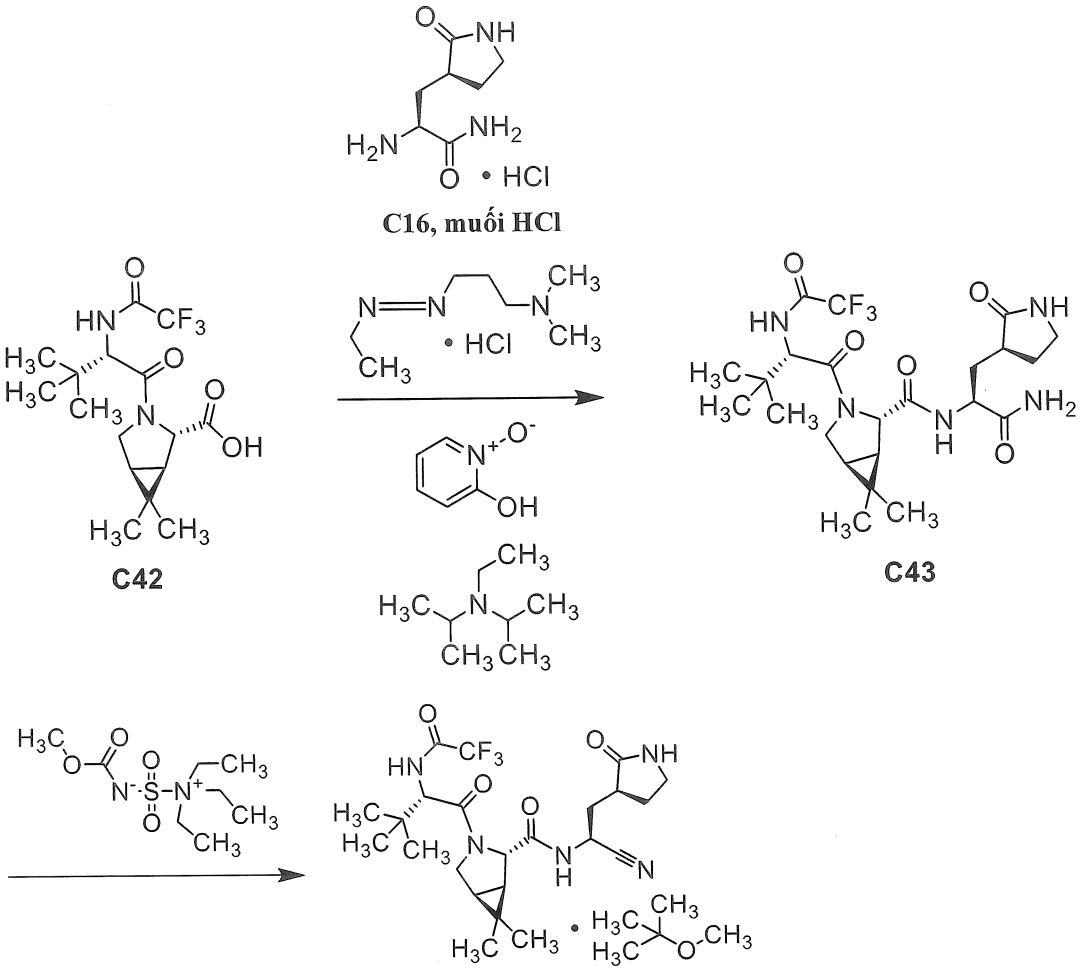
Dung dịch gốc chứa axit metanesulfonic (60 µL) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (940 µL) được điều chế. Dung dịch chứa **C33** (từ bước trên đây; 47 mg, ≤90 µmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (1mL) được bổ sung một phần của dung dịch gốc axit metanesulfonic (0,1mL; 100 µmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, nó được cô trong chân không, sau đó được hấp thụ trong các hỗn hợp dung môi sau và được cô lại: hỗn hợp chứa axetonitril và etyl axetat (1:1, 2 x 10mL), và sau đó hỗn hợp chứa etyl axetat và heptan (1:1, 2 x 10mL). Phần lắng cặn được hoà tan trong diclometan (1mL) và được xử lý bằng 4-metylmorpholin (30,8 µL, 0,280mmol), tiếp đó là trifloaxetic anhydrit (0,143mL, 1,01mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút, trong khi đó nó được xử lý bằng 4-metylmorpholin (30,8 µL, 0,280mmol) tiếp đó là trifloaxetic anhydrit (0,143mL, 1,01mmol); sau đó 30 phút, 4-metylmorpholin (30,8 µL, 0,280mmol) được bổ sung lại, tiếp đó là trifloaxetic anhydrit (0,143mL, 1,01mmol). Sau đó khuấy 15 phút nữa, hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng axit clohydric (1 M; 3mL), và hỗn hợp thu được được chiết bằng diclometan (3 x 4mL); các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế sử dụng HPLC pha đảo (Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích). gradien: 20% đến 60% B trong 8,5 phút, sau đó 60% đến 95% B trong 0,5 phút, sau đó 95% B trong 1 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**). Hiệu suất: 7,5 mg, 15 µmol, 17% qua 2 bước. LCMS *m/z* 500,5 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,66 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: 0,05% axit trifloaxetic trong nước (thể tích/thể tích); Pha động B: 0,05% axit trifloaxetic trong axetonitril (thể tích/thể tích);

gradien: 5,0% đến 95% B trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo ra 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**), Dạng rắn 2





Bước 1. Tổng hợp *tert*-butyl {(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamat (**C5**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 2 mẻ song song. Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7 M; 2,4 L, 17 mol) được bổ sung vào metyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninat (600 g, 2,10 mol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 40 giờ. Cô trong chân không và dạng kết hợp của 2 mẻ tạo ra **C5** ở dạng chất rắn màu vàng. Hiệu suất gộp: 1,10 kg, 4,05 mol, 96%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,63 (br s, 1H), 7,29 (br s, 1H), 7,01 (br s, 1H), 6,89 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,96 – 3,85 (m, 1H), 3,22 – 3,06 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 2,28 – 2,08 (m, 2H), 1,89 (ddd, J = 14,6, 10,8, 4,0 Hz, 1H), 1,74 – 1,60 (m, 1H), 1,56 – 1,43 (m, 1H), 1,36 (s, 9H).

Bước 2. Tổng hợp 3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối hydroclorua (**C16, muối HCl**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 3 mẻ song song. Dung dịch 0°C gồm **C5** (840 g, 3,10 mol) trong diclometan (2,0 L) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 2 L, 8 mol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 2 giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không; dạng kết hợp của 3 mẻ tạo ra C16, muối HCl ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất gộp: 1,20 kg, 5,78 mol, 62%. MS *m/z* 172,1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,52 – 8,35 (br s, 3H), 8,12 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 3,88 – 3,76 (m, 1H), 3,24 – 3,10 (m, 2H), 2,59 – 2,5 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,35 – 2,24 (m, 1H), 2,01 (ddd, J = 14,9, 9,2, 6,1 Hz, 1H), 1,80 – 1,68 (m, 2H).

Mẫu C16, muối HCl được nghiền trong 2-propanol trong 1,5 giờ, trong khi đó nó được thu gom bằng cách lọc và được rửa bằng 2-propanol. Chất rắn đã được thu gom được làm khô qua đêm trong môi trường có độ chân không cao để thu được mẫu để nghiên cứu nhiễu xạ bột tia X. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với nguyên liệu này được thể hiện trên Fig. 10; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng Q.

Thu gom dữ liệu nhiễu xạ bột tia X

Phân tích nhiễu xạ bột tia X được tiến hành sử dụng nhiễu xạ kế Bruker AXS D4 Endeavor được trang bị nguồn bức xạ Cu. Khe phân kỳ được thiết lập ở 0,6 mm trong khi đó quang học thứ cấp được sử dụng khe biến thiên. Bức xạ được nhiễu xạ được phát hiện bởi bộ dò PSD-Lynx Eye. Điện thế và ampe ống tia X được thiết lập lần lượt tới 40 kV và 40 mA. Dữ liệu được thu gom trong máy đo góc Theta-2Theta ở bước sóng Cu từ 3,0 đến 40,0 độ 2-Theta sử dụng cỡ bước là 0,020 độ và thời gian bước là 0,3 giờ. Các mẫu được điều chế bằng cách đặt chúng trong bộ phận giữ mẫu nền thấp silicon và được quay trong quá trình thu gom.

Phân tích nhiễu xạ bột tia X được tiến hành sử dụng nhiễu xạ kế Bruker AXS D8 Advance được trang bị nguồn bức xạ Cu. Bức xạ được nhiễu xạ được phát hiện bởi bộ dò LYNXEYE_EX với các khe được lắp động cơ. Cả hai bức xạ sơ cấp và thứ cấp được trang bị 2,5 khe Soller. Điện thế và ampe ống tia X được thiết lập lần lượt ở 40kV và 40 mA. Dữ liệu được thu gom trong máy đo góc Theta-Theta trong bộ quét cặp được khóa ở bước sóng Cu K-alpha (trung bình) từ 3,0 đến 40,0 độ 2-Theta với số gia là 0,02 độ, sử dụng tốc

độ quét là 0,5 giây/bước. Các mẫu được điều chế bằng cách đặt trong bộ phận giữ mẫu nền thấp silicon.

Dữ liệu được thu gom bằng cả hai thiết bị sử dụng phần mềm Bruker DIFFRAC Plus và phân tích được thực hiện bởi phần mềm EVA DIFFRAC Plus. Hồ sơ dữ liệu PXRD không được xử lý trước khi tìm kiếm đỉnh. Sử dụng thuật toán tìm kiếm đỉnh trong phần mềm EVA, các đỉnh được chọn với giá trị ngưỡng là 1 được sử dụng để tạo ra các phép gán đỉnh sơ bộ. Để đảm bảo tính xác thực, việc điều chỉnh được tiến hành thủ công; đầu ra của các phép gán tự động được kiểm tra bằng mắt thường, và vị trí đỉnh được điều chỉnh đến độ cao tối đa của đỉnh. Các đỉnh với mật độ tương đối là ≥ 3% thường được chọn. Thông thường, các đỉnh không được phân giải hoặc được đồng nhất với nhiễu không được chọn. Sai số thông thường có liên quan với vị trí đỉnh từ PXRD được đề cập trong USP lên tới +/- 0,2° 2-Theta (USP-941).

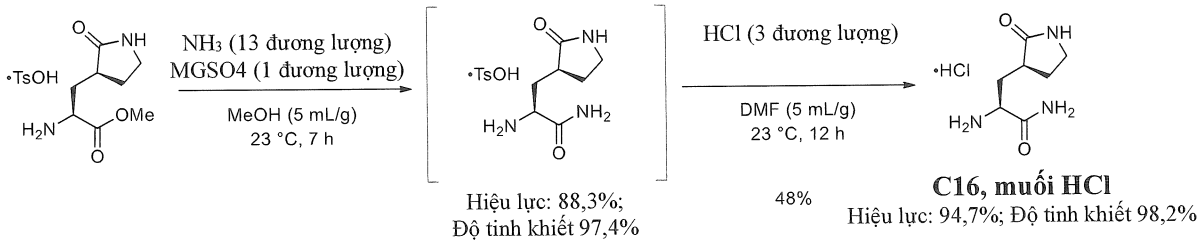
Bảng Q. Các đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn đối với **C16, muối HCl**

Góc (°2 theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2 theta)	Mật độ tương đối
9,97	3	29,24	13
11,67	1	30,98	6
14,17	1	31,78	2
16,08	1	32,32	23
16,35	1	32,79	10
17,10	14	33,10	1
17,27	3	33,50	6
18,23	24	33,70	4
19,21	4	33,90	3
20,83	20	35,27	3
22,20	58	36,20	3
22,97	12	36,42	6
23,35	34	36,75	6
23,79	2	36,95	7
24,62	3	37,83	3
25,10	100	38,58	2

26,85	11	39,44	7
28,39	14	39,75	1

Tổng hợp 3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối hydroclorua, **C16 Muối HCl** theo cách khác

Việc điều chế theo cách khác của hợp chất **C16, muối HCl** được mô tả trong sơ đồ phản ứng dưới đây.



Dung dịch chứa amoniac trong metanol (7,0 M; 100mL, 725,4mmol) được bổ sung metyl (S)-2-amino-3-((S)-2-oxopyrolidin-3-yl)propanoat 4-metylbenzensulfonat (20 g, 55,8mmol) và magie sulfat (6,7 g, 55,8mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng trong 7 giờ ở nhiệt độ trong phòng, nitơ được sục vào phản ứng trong 1 giờ để rửa amoniac dư. Sau đó, phản ứng được lọc qua đệm Xelit® và sau đó được cô trong chân không và (S)-2-amino-3-((S)-2-oxopyrolidin-3-yl)propanamit 4-metylbenzensulfonat thu được được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Dung dịch chứa dimetylformamit (50mL, 647mmol) được bổ sung một phần của (S)-2-amino-3-((S)-2-oxopyrolidin-3-yl)propanamit 4-metylbenzensulfonat (10 g, 25,9mmol) và dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4,0 M; 19,4mL, 77,7mmol). Sau khi khuấy trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng huyền phù đặc được lọc và được rửa bằng dimetylformamit (15mL, 190mmol). Chất rắn thu được được làm khô trong tủ sấy chân không ở 40°C trong 12 giờ để cho 3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit, muối hydroclorua, **C16 Muối HCl** (2,7 g, 12,4mmol) ở dạng chất rắn màu nâu vàng (tổng hiệu suất là 48%).

Bước 3. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C31**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 3 mẻ song song. Dung dịch 0°C gồm metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (237 g, 1,15 mol) và *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valin (293 g, 1,27 mol) trong hỗn hợp chứa *N,N*-dimetylformamit (400mL) và axetonitril (3,6 L) được bổ sung *O*-(7-

azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 481 g, 1,26 mol), tiếp đó là từng giọt bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (601mL, 3,45 mol). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 25°C và được khuấy trong 16 giờ, trong khi đó nó được rót vào hỗn hợp chứa nước đá (1 L) và axit clohydric (0,5 M; 1 L), có độ pH xấp xỉ 5, và được khuấy trong 6 phút. Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (2 L), và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 L), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được tinh chế sử dụng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 50% etyl axetat trong ete dầu mỏ), thu được, sau đó dạng kết hợp của 3 mẻ, **C31** ở dạng dầu không màu. Hiệu suất gộp: 1,17 kg, 3,06 mol, 89%. LCMS *m/z* 383,3 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 5,10 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,20 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,98 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,89 – 3,82 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 1,48 – 1,41 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,89 (s, 3H).

Bước 4. Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-3-[N-(tert-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C32**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 3 mẻ song song. Dung dịch chứa **C31** (668 g, 1,75 mol) trong tetrahydrofuran (2,5 L) được bổ sung lithi hydroxit monohydrat (220 g, 5,24 mol) và nước (500mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 2 giờ, nó được cô trong chân không để loại bỏ hầu hết tetrahydrofuran; phần lắng cặn sau đó được điều chỉnh đến độ pH 2 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M. Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (2 x 500mL), và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (500mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C32** ở dạng chất rắn màu trắng (2,0 kg) sau đó dạng kết hợp của 3 mẻ. Nguyên liệu này được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo. LCMS *m/z* 313,2 [(M – 2-metylprop-1-en)+H]$^+$. ^1H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 5,14 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,24 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 4,06 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,82 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,5, 5,5 Hz, 1H), 1,75 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,49 (dd, *J* = 7,7, 5,4 Hz, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,06 (s, 3H), 1,00 (s, 9H), 0,89 (s, 3H).

Bước 5. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-(3-metyl-L-valyl)-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-axit carboxylic, muối hydroclorua (**C41**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 2 mẻ song song. Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 4,0 L, 16 mol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C32** (từ bước trên đây; 1,00 kg, ≤2,62 mol) trong diclometan (1,0 L), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. Loại các dung môi trong chân không ở 50°C tạo ra **C41** ở dạng chất rắn màu trắng (1,8 kg) sau đó dạng kết hợp của 2 mẻ. Nguyên liệu này được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 4,42 (s, 1H), 4,00 (s, 1H), 3,94 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,7, 5,4 Hz, 1H), 3,80 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,7 Hz, 1H), 1,62 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 7,7, 5,2 Hz, 1H), 1,56 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,15 (s, 9H), 1,09 (s, 3H), 1,03 (s, 3H).

Bước 6. Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C42**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 3 mẻ song song. Dung dịch 0°C gồm **C41** (từ bước trên đây; 600 g, ≤1,75 mol) trong metanol (2 L) được bổ sung trietylamin (1,64 L, 11,8 mol), tiếp đó là etyl trifloaxetat (699 g, 4,92 mol), trong khi đó hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 25°C, và được khuấy trong 16 giờ. Sau đó, nó được cô trong chân không ở 50°C, và phần cặn lắng được pha loãng bằng etyl axetat (3 L) và được điều chỉnh đến độ pH = 3 đến 4 bằng cách bổ sung axit clohydric 2M. Sau đó chiết lớp nước bằng etyl axetat (1 L), lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (3 L), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong điều kiện áp suất thấp. 3 mẻ được kết hợp ở thời điểm này, được xử lý bằng hỗn hợp chứa dầu mỏ ete và etyl axetat (5:1, 3 L), và được khuấy ở 25°C trong 2 giờ. Bước lọc tạo ra **C42** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất gộp: 1,90 kg, 5,21 mol, 99% trong hơn 3 bước. LCMS m/z 365,1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 8,88 (d, J = 8,8 Hz, <1H; incompletely exchanged), [4,60 (d, J = 8,9 Hz) và 4,59 (s), tổng 1H], 4,35 (s, 1H), 3,96 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,5, 5,1 Hz, 1H), 3,90 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,4 Hz, 1H), 1,58 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 7,6, 4,9 Hz, 1H), 1,52 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,08 (s, 12H), 0,92 (s, 3H).

Bước 7. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C43**).

Thử nghiệm này được thực hiện ở 4 mẻ song song. 2-Hydroxypyridin 1-oxit (33,9 g, 305mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C42** (445 g, 1,22 mol) và **C16, muối HCl** (256 g, 1,23 mol) trong butan-2-on (2,5 L), và hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C. *N,N*-Diisopropyletylamin (638mL, 3,66 mol) sau đó được bổ sung, tiếp đó là từng giọt bổ sung 1-[3-(dimetylamin)propyl]-3-etylcarbodiimit hydroclorua (351 g, 1,83 mol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 16 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng etyl axetat (1 L) và được xử lý bằng hỗn hợp chứa axit clohydric (1 M; 1,5 L, 1,5 mol) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (1 L). Lớp hữu cơ được rửa bằng hỗn hợp chứa dung dịch nước natri hydroxit (1 M; 1,5 L, 1,5 mol) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (1 L), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Dạng kết hợp của 4 mẻ tạo ra **C43** ở dạng chất rắn màu trắng (2,3 kg). Hiệu suất gộp: 2,1 kg (được hiệu chỉnh đối với etyl axetat dư), 4,1 mol, 84%. LCMS *m/z* 518,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,41 (br d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 8,30 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,32 (br s, 1H), 7,04 (br s, 1H), 4,43 (br d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 4,35 – 4,25 (m, 1H), 4,28 (s, 1H), 3,89 (dd, *J* = 10,3, 5,5 Hz, 1H), 3,67 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,17 – 3,09 (m, 1H), 3,07 – 2,98 (m, 1H), 2,46 – 2,35 (m, 1H), 2,19 – 2,10 (m, 1H), 1,99 – 1,89 (m, 1H), 1,70 – 1,58 (m, 1H), 1,55 – 1,44 (m, 2H), 1,38 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

Bước 8. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**), Dạng rắn 2.

Thử nghiệm này được thực hiện ở 3 mẻ song song. Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 552 g, 2,32 mol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C43** (600 g, 1,16 mol) trong etyl axetat (3 L). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 3 giờ, nó được xử lý bằng bổ sung metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 27,6 g, 116mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 1 giờ. Sau đó, nó được lọc; bánh lọc được rửa bằng etyl axetat (2 x 500mL), và các phần dịch lọc gom lại được rửa lần lượt bằng dung dịch nước natri bicacbonat (1 M; 2 L), dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 L), axit clohydric (1 M; 2 L), và dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 L). Lớp hữu cơ sau đó được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn

được xử lý bằng hỗn hợp chứa etyl axetat và metyl *tert*-butyl ete (1:10, 2,5 L) và được gia nhiệt đến 50°C; sau khi khuấy trong 1 giờ ở 50°C, nó được làm lạnh đến 25°C và được khuấy trong 2 giờ. Phần rắn được thu lại bằng cách lọc, và 3 mẻ được kết hợp trong etyl axetat (8 L) và được lọc thông qua silicagel (3,0 kg); sau đó silicagel được rửa bằng etyl axetat (2 x 2 L). Sau đó nước rửa giải được gom lại được cô trong chân không, phần lắng cặn được hấp thụ trong etyl axetat (900mL) và metyl *tert*-butyl ete (9 L). Hỗn hợp này được gia nhiệt đến 50°C trong 1 giờ, được làm nguội đến 25°C, và được khuấy trong 2 giờ. Bước lọc tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**) ở dạng chất rắn màu trắng. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với nguyên liệu này, được chỉ ra là Dạng rắn 2, được thể hiện trên Fig. 1; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng A. Hiệu suất gộp: 1,41 kg, 2,82 mol, 81%. LCMS *m/z* 500,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 9,03 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 4,97 (ddd, *J* = 10,9, 8,5, 5,1 Hz, 1H), 4,41 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,16 (s, 1H), 3,91 (dd, *J* = 10,4, 5,5 Hz, 1H), 3,69 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,18 – 3,10 (m, 1H), 3,08 – 2,99 (m, 1H), 2,46 – 2,34 (m, 1H), 2,20 – 2,03 (m, 2H), 1,78 – 1,65 (m, 2H), 1,57 (dd, *J* = 7,6, 5,4 Hz, 1H), 1,32 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H).

Thu gom dữ liệu nhiễu xạ bột tia X

Phân tích nhiễu xạ bột tia X được tiến hành sử dụng nhiễu xạ kế Bruker AXS D8 Endeavor được trang bị nguồn bức xạ Cu (K-α trung bình). Khe phân kỳ được thiết lập ở ánh sáng liên tục 15 mm. Bức xạ được nhiễu xạ được phát hiện bởi bộ dò PSD-Lynx Eye, với độ mở bộ dò PSD thiết lập ở 2,99 độ. Điện thế và ampe ống tia X được thiết lập lần lượt đến 40 kV và 40 mA. Dữ liệu được thu gom trong máy đo góc Theta-Theta ở bước sóng Cu từ 3,0 đến 40,0 độ 2-Theta sử dụng cỡ bước 0,00998 độ và thời gian bước là 1,0 giờ. Màn chống phân tán được thiết lập tới khoảng cách cố định là 1,5 mm. Các mẫu được quay ở 15/phút trong quá trình thu gom. Các mẫu được điều chế bằng cách đặt chúng trong thiết bị giữ mẫu nền thấp silicon và được quay trong quá trình thu gom. Dữ liệu được thu gom sử dụng phần mềm Bruker DIFFRAC Plus và phân tích được thực hiện bởi phần mềm EVA DIFFRAC Plus. Sử dụng thuật toán tìm kiếm đỉnh trong phần mềm EVA, các đỉnh được chọn với giá trị ngưỡng là 1 được sử dụng để tạo ra các phép gán đỉnh sơ bộ. Để đảm bảo tính xác thực, việc điều chỉnh được tiến hành thủ công; đầu ra của các phép gán tự

động được kiểm tra bằng mắt thường và vị trí đỉnh được điều chỉnh đến độ cao tối đa của đỉnh. Các đỉnh với mật độ tương đối là ≥ 3% thường được chọn. Các đỉnh không được phân giải hoặc được đồng nhất với nhiễu không được chọn. Sai số thông thường có liên quan với vị trí đỉnh từ PXRD được đề cập trong USP lên tới +/- 0,2° 2-Theta (USP-941).

Bảng A. Các đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn trong **13, metyl *tert*-butyl ete solvat**, Dạng rắn 2, từ quy trình tổng hợp khác Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo ra 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2

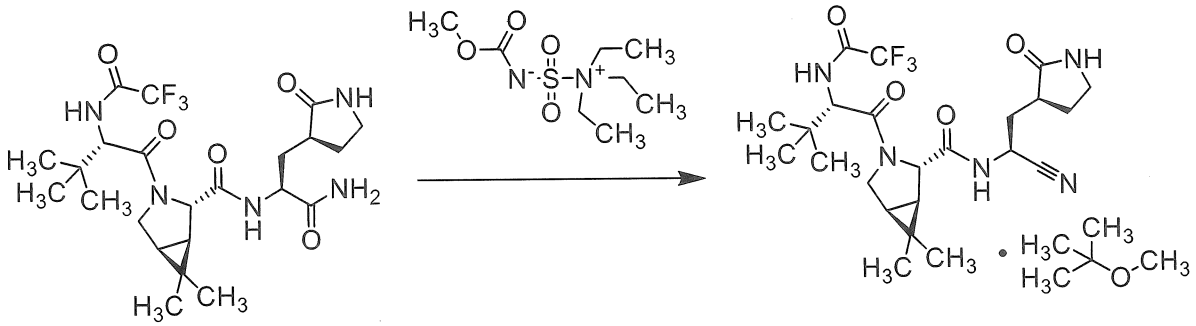
Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)
7,1	78	22,7	9
10,5	8	22,9	10
11,3	15	23,1	5
11,8	36	23,4	6
12,5	49	23,7	22
12,9	4	25,3	14
14,2	34	27,3	3
15,7	10	27,9	6
16,0	24	28,3	9
16,8	100	28,5	4
17,0	41	29,1	3
18,5	50	29,4	6
18,8	7	30,2	3
19,1	25	30,8	5
19,9	11	32,0	4
20,2	8	33,3	7
20,8	14	33,8	4
21,1	9	35,4	7
21,4	4	36,4	6
21,7	4	38,1	3

22,2	24		

Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C42**) theo cách khác

Tổng hợp theo cách khác thứ hai của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo ra 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**), Dạng rắn 2



C43 **13, metyl *tert*-butyl ete solvat**

Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 392 g, 1,64 mol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C43** (415 g, 802mmol) trong etyl axetat (2,0 L). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 3 giờ, trong khi đó metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 86,0 g, 361mmol) được bổ sung lại. Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ, nó được lọc, và phần lọc được rửa liên tiếp bằng dung dịch nước natri bicacbonat (1 M; 1,5 L), dung dịch nước natri clorua bão hòa (1,5 L), axit clohydric (1 M; 1,5 L), và dung dịch nước natri clorua bão hòa (1,5 L), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được xử lý bằng hỗn hợp chứa etyl axetat và metyl *tert*-butyl ete (1:10, 2,5 L) và được gia nhiệt đến 50°C; sau khi khuấy trong 1 giờ ở 50°C, nó được làm lạnh đến 25°C và được khuấy trong 2 giờ. Thu gom chất rắn bằng cách lọc tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**) ở dạng tinh thể rắn màu trắng. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với nguyên liệu này, được chỉ ra là Dạng rắn 2, được thể hiện trên Fig. 2; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng B. Hiệu suất: 338 g, 575mmol, 72%. LCMS *m/z* 500,3 $[M+H]^+$. ^1H NMR

(400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,43 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 9,04 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 4,97 (ddd, J = 10,9, 8,5, 5,0 Hz, 1H), 4,41 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,91 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,4, 5,5 Hz, 1H), 3,69 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,4 Hz, 1H), 3,18 – 3,10 (m, 1H), 3,08 – 2,98 (m, 1H), 2,46 – 2,34 (m, 1H), 2,20 – 2,02 (m, 2H), 1,77 – 1,65 (m, 2H), 1,57 (dd, J = 7,6, 5,4 Hz, 1H), 1,32 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H); các đỉnh metyl tert-butyl ete: 3,07 (s, 3H), 1,10 (s, 9H).

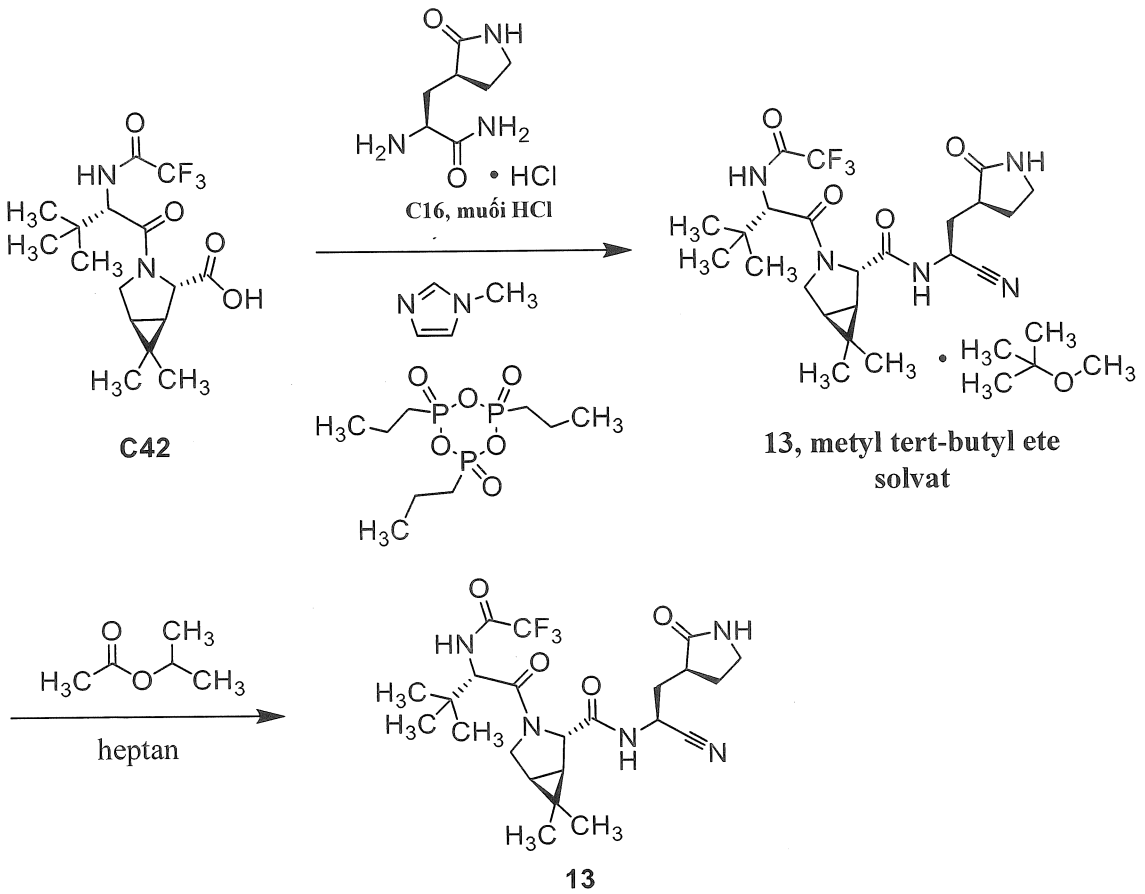
Phương pháp thu thập dữ liệu nhiễu xạ bột tia X được mô tả trong quy trình tổng hợp theo cách khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Bước 8.

Bảng B. Các đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn trong **13, metyl *tert*-butyl ete solvat**, Dạng rắn 2, từ quy trình tổng hợp thứ hai khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo ra 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2

Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)
7,2	66	20,0	9	27,4	3
10,6	9	20,3	6	28,0	6
11,4	12	20,8	6	28,4	7
11,9	32	20,9	12	29,5	4
12,6	49	21,2	7	30,3	3
13,0	4	21,5	4	30,9	5
14,3	37	21,8	3	32,1	3
15,8	8	22,3	24	33,4	5
16,1	22	22,8	6	33,5	3
16,9	100	23,0	9	35,5	6
17,2	46	23,2	5	36,5	3
18,6	42	23,5	6	38,2	3
18,9	6	23,8	17		
19,3	23	25,4	10		

Tổng hợp theo cách khác thứ ba của Ví dụ 13

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**)



Bước 1. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**)

Hỗn hợp 0°C chứa **C42** (90,5% khối lượng, 5,05 g, 12,5mmol) và **C16, muối HCl** (98,9% khối lượng, 3,12 g, 14,9mmol) trong axetonitril (50mL) được xử lý bằng 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit (50% dung dịch theo khối lượng trong axetonitril; 17mL, 24,3mmol) trong xấp xỉ 10 phút. 1-metyl-1*H*-imidazol (4,0mL, 50,2mmol) sau đó được bổ sung từ từ, trong xấp xỉ 15 phút, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3,5 giờ, trong khi đó nó được làm ấm đến 25°C. 2,4,6-Tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit (50% dung dịch theo khối lượng trong axetonitril; 17mL, 24,3mmol) được bổ sung một phần, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 45°C trong 16 giờ. Nó được làm lạnh đến 25°C Tại thời điểm đó, và sau đó được xử lý trong 10 phút bằng dung dịch nước chứa natri bicacbonat (1,14 M; 35mL, 40mmol). Sau đó bổ sung etyl axetat (25mL) và đủ nước để hòa tan chất rắn thu được, lớp hữu cơ

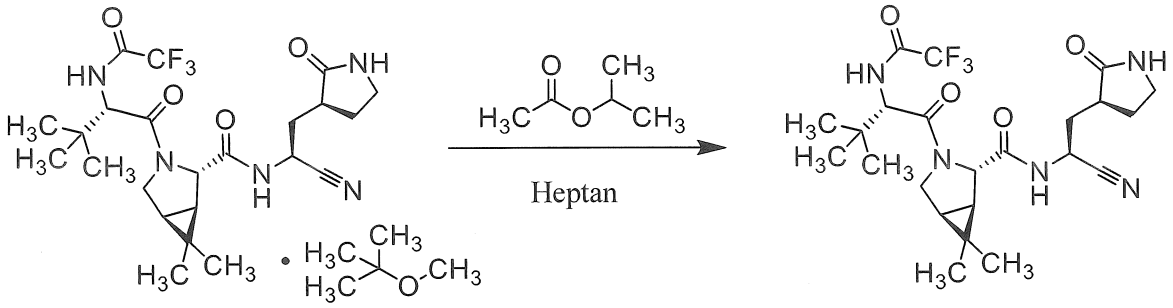
được rửa hai lần bằng dung dịch nước chứa natri bicacbonat (1,14 M; 25mL, 28mmol). Sau đó lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước natri clorua (14%, 2 x 20mL), nó được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được trộn với etyl axetat (2,1mL) và được xử lý bằng metyl *tert*-butyl ete (19mL); huyền phù đặc thu được được gia nhiệt với khuấy ở 50°C trong 1 giờ, được làm nguội đến 25°C trong 1 giờ, và được giữ ở 25°C trong 1,5 giờ. Các chất rắn được phân lập bằng cách lọc, được rửa bằng metyl *tert*-butyl ete (2mL/g), và được làm khô trong tủ sấy chân không qua đêm ở 50°C để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**) ở dạng tinh thể rắn màu trắng. Khối nguyên liệu này được tiến hành ở bước tiếp theo. Hiệu suất: 3,71 g, 6,31mmol, 50%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,40 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 9,02 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 4,97 (ddd, *J* = 10,7, 8,6, 5,1 Hz, 1H), 4,41 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,16 (s, 1H), 3,91 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,3, 5,5 Hz, 1H), 3,69 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,18 – 3,10 (m, 1H), 3,09 – 2,99 (m, 1H), 2,46 – 2,35 (m, 1H), 2,20 – 2,04 (m, 2H), 1,78 – 1,64 (m, 2H), 1,56 (dd, *J* = 7,4, 5,6 Hz, 1H), 1,32 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H); các đỉnh metyl tert-butyl ete: 3,07 (s, 3H), 1,10 (s, 9H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**).

Hỗn hợp chứa propan-2-yl axetat (17mL) và heptan (17mL) được bổ sung vào **13, metyl *tert*-butyl ete solvat** (từ bước trên đây; 3,41 g, 5,80mmol), và khuấy được thực hiện qua đêm ở 20°C. Heptan (17mL) sau đó được bổ sung trong 2 giờ, và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Huyền phù đặc thu được được lọc, và chất rắn đã được thu gom được rửa bằng hỗn hợp chứa propan-2-yl axetat (1,36mL) và heptan (3,73mL) và được làm khô ở 50°C trong chân không, thu được (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**) ở dạng tinh thể rắn. Một phần của mẻ này được sử dụng làm nguyên liệu mầm trong quá trình tái kết tinh của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 1 dưới đây. Hiệu suất: 2,73 g, 5,46mmol, 94%.

Tái kết tinh của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 1

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**), Dạng rắn 1



13, metyl tert-butyl ete solvat **13**

Hỗn hợp chứa **13, metyl *tert*-butyl ete solvat** (từ quy trình tổng hợp khác Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; Tạo ra 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Dạng rắn 2; 60,1 g, 102mmol) và propan-2-yl axetat (480mL) được gia nhiệt đến 60°C. Mẫu của **13** (nguyên liệu mầm, từ quy trình tổng hợp theo cách khác thứ ba của Ví dụ 13, Bước 2; 1,2 g, 2,4mmol) được bổ sung; sau đó 10 phút, nguyên liệu mầm vẫn có mặt ở dạng rắn. Heptan (360mL) được bổ sung từ từ vào hỗn hợp đã được khuấy, trong 12 giờ. Heptan bổ sung (360mL) được đưa vào trong 4 giờ, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 30 phút. Sau đó, nó được làm nguội đến 20°C, với tốc độ là 0,1 độ/phút, trong khi đó nó được khuấy qua đêm. Phần rắn được thu lại bằng cách lọc, và được rửa bằng hỗn hợp chứa propan-2-yl axetat (72mL) và heptan (168mL). Sau đó, nó được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**) ở dạng tinh thể rắn, màu trắng. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với nguyên liệu này, được chỉ ra là Dạng rắn 1, được thể hiện trên Fig. 3; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng C. Hiệu suất: 47,8 g, 95,7mmol, 94%.

Phương pháp thu thập dữ liệu nhiễu xạ bột tia X được mô tả trong quy trình tổng hợp theo cách khác Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Bước 8.

Bảng C. Các đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn trong **13**, Dạng rắn 1

Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)
7,6	16	18,9	11	24,7	8

9,8	10	19,7	7	25,3	7
11,4	10	19,9	14	27,0	3
11,9	13	20,5	36	27,2	6
12,7	100	21,0	14	27,9	4
15,7	40	21,7	4	28,1	3
15,8	18	22,2	23	29,5	7
17,3	10	22,5	3	32,6	6
17,8	12	23,1	6	35,7	4
18,3	55	23,6	10	37,0	3

Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 1

Mẫu của Ví dụ 13 được tiến hành kết tinh bằng cách khuếch tán, sử dụng etyl axetat và hexan. Bình kết tinh được để yên ở nhiệt độ trong phòng đồng thời dung môi được làm bay hơi; sau đó 2,5 tháng, tinh thể của lượng tia X có mặt. Một trong số tinh thể này được sử dụng để xác định cấu trúc. Biểu đồ ORTEP của dữ liệu đơn tinh thể được thể hiện trên Fig. 4. Phần mềm Mercury được sử dụng để tính toán mẫu bột từ cấu trúc tinh thể được phân giải; so với mẫu nhiễu xạ từ quy trình tái kết tinh của Ví dụ 13; Việc tạo ra dạng rắn 1 xác định được nguyên liệu này là Dạng rắn 1 (xem Fig. 5). Các đỉnh đặc trưng đối với dữ liệu được tính toán được tạo ra trong bảng D.

Bảng D. Dữ liệu mẫu bột trong **13, Dạng rắn 1** được tính toán từ việc xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 1

Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)
7,6	22	21,0	28	30,1	4
9,8	21	21,6	14	30,3	3
10,4	9	21,7	14	31,5	4
10,8	4	22,2	40	31,7	5
11,4	16	22,5	7	31,9	4
11,9	75	23,1	5	32,7	8
12,7	89	23,6	15	33,4	3

14,6	3	24,3	5	33,6	8
15,7	100	24,8	15	35,7	8
15,9	30	25,4	10	36,6	3
17,4	34	26,4	3	36,6	3
17,9	24	27,0	9	37,0	4
18,3	67	27,3	8	37,3	4
18,9	12	27,9	3	38,3	3
19,7	15	28,1	5	39,4	3
19,9	63	28,7	5	39,6	4
20,5	53	29,5	9		
20,8	9	30,0	9		

Phân tích đơn tinh thể tia X

Thu thập dữ liệu được thực hiện trên nhiễu xạ kế Bruker D8 Quest ở nhiệt độ trong phòng. Việc thu thập dữ liệu bao gồm việc quét omega và phi.

Cấu trúc được giải quyết bằng cách tạo pha nội tại sử dụng phần mềm SHELX phù hợp trong nhóm không gian lớp trực giao $P2_12_12_1$. Sau đó, cấu trúc được tinh chế bằng phương pháp bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ. Toàn bộ nguyên tử không phải hydro được tìm thấy và được tinh chế sử dụng các thông số chuyển vị bất đẳng hướng.

Nguyên tử hydro nằm trên nitơ được tìm thấy từ bản đồ chênh lệch Fourier và được tinh chế với các khoảng cách hạn chế. Nguyên tử hydro còn lại được đặt ở các vị trí được tính toán và cho phép ở trên các nguyên tử mang. Bước tinh chế cuối bao gồm các thông số chuyển vị đẳng hướng đối với tất cả nguyên tử hydro.

Phân tích của cấu trúc tuyệt đối sử dụng các phương pháp hợp lý (Hooft, 2008) được thực hiện sử dụng PLATON (Spek). Các kết quả chỉ ra rằng cấu trúc tuyệt đối được gán chính xác. Phương pháp đã tính toán về khả năng mà cấu trúc được gán chính xác là 100%. Thông số Hooft được báo cáo là −0,01 với esd (độ lệch chuẩn được ước tính) là (3) và thông số Parson được báo cáo là −0,01 với esd là (2).

Chỉ số R cuối là 3,3%. Fourier chênh lệch cuối chứng tỏ không có mật độ điện tử hoặc mật độ điện tử không đúng chỗ.

Tinh thể thích hợp, thu thập dữ liệu, và thông tin tinh chế được tóm tắt trong bảng Liên kết phối trí nguyên tử, chiều dài liên kết, góc liên kết, và thông số chuyển vị được đưa ra trong các bảng F – H.

Phần mềm và tài liệu viện dẫn

SHELXTL, Version 5.1, Bruker AXS, 1997.

PLATON, A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 7–13.

MERCURY, C. F. Macrae, P. R. Edington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, and J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.* **2006,** *39*, 453–457.

OLEX2, O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, and H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009,** *42*, 339–341.

R. W. W. Hooft, L. H. Straver, and A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.* **2008**, *41*, 96–103.

H. D. Flack, *Acta Cryst.* **1983**, *A39*, 867–881.

Bảng E. Dữ liệu tinh thể và tinh chế cấu trúc ví dụ **13, Dạng rắn 1**.

Công thức thực nghiệm	$C_{23}H_{32}F_3N_5O_4$	
Khối lượng công thức	499,53	
Nhiệt độ	296(2) K	
Bước sóng	1,54178 Å	
Hệ tinh thể	Hệ trực giao	
Nhóm không gian	$P2_12_12_1$	
Kích thước ô đơn vị	a = 9,6836(2) Å	α = 90°
	b = 15,0522(4) Å	β = 90°
	c = 18,0272(5) Å	γ = 90°
Thể tích	2627,64(11) Å^3	
Z	4	
Tỷ trọng (được tính toán)	1,263 Mg/m^3	
Hệ số hấp thu	0,862 mm^{-1}	
F(000)	1056	
Cỡ tinh thể	0,300 x 0,280 x 0,260 mm^3	
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	3,826 đến 80,042°	
Khoảng chỉ số	$-12<=h<=12$,	$-18<=k<=19$,

$-22<=l<=23$	
Độ phản xạ được thu thập	79731
Độ phản xạ độc lập	5628 [R_{int} = 0,0294]
Độ toàn vẹn đối với theta = 67,679°	99,3%
Hiệu chỉnh độ hấp thu	Theo thực nghiệm
Phương pháp tinh chế	Bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ trên F^2
Dữ liệu / hạn chế / thông số	5628 / 9 / 358
Mức độ phù hợp trên F^2	1,040
Chỉ số R cuối [$I>2\sigma(I)$]	$R1$ = 0,0326, $wR2$ = 0,0906
Chỉ số R (tất cả dữ liệu)	$R1$ = 0,0346, $wR2$ = 0,0928
Thông số cấu trúc tuyệt đối	−0,01(3)
Hệ số tắt	không xác định
Đỉnh và lỗ khuếch tán lớn nhất	0,112 và −0,121 e.Å^{-3}

Bảng F. Liên kết phối trí nguyên tử (x 10^4) và các thông số chuyển vị đẳng hướng tương đương (Å^2 x 10^3) đối với ví dụ **13, Dạng rắn 1**. U(eq) được xác định bằng một phần ba của vết của tenxơ được trực giao hóa U^{ij}.

	x	y	z	U(eq)
F(1)	4585(8)	3891(5)	8183(8)	174(4)
F(2)	2984(6)	4623(4)	8601(2)	135(2)
F(3)	2988(7)	4449(5)	7471(2)	133(3)
F(1A)	2622(7)	4494(8)	8158(16)	237(10)
F(2A)	4140(20)	3994(5)	7406(4)	167(6)
F(3A)	4404(15)	3963(8)	8488(5)	127(5)
N(1)	5507(2)	5598(1)	8478(1)	54(1)
N(2)	8733(1)	6526(1)	8104(1)	49(1)
N(3)	7304(1)	6456(1)	6213(1)	44(1)
N(4)	9229(2)	5659(2)	4815(1)	99(1)
N(5)	2159(2)	6087(2)	5207(1)	76(1)

O(1)	4297(2)	5900(1)	7426(1)	84(1)
O(2)	8176(2)	5753(1)	9126(1)	70(1)
O(3)	7711(2)	5377(1)	7059(1)	70(1)
O(4)	3393(2)	7171(1)	4635(1)	86(1)
C(1)	3848(3)	4543(2)	8022(2)	93(1)
C(2)	4597(2)	5424(2)	7941(1)	63(1)
C(3)	6284(2)	6425(1)	8485(1)	51(1)
C(4)	5739(3)	7084(2)	9082(1)	69(1)
C(5)	6747(4)	7872(2)	9133(2)	98(1)
C(6)	5652(4)	6670(2)	9851(1)	94(1)
C(7)	4309(3)	7402(3)	8847(2)	110(1)
C(8)	7812(2)	6195(1)	8592(1)	50(1)
C(9)	10204(2)	6319(2)	8211(1)	65(1)
C(10)	10931(2)	6770(2)	7575(1)	68(1)
C(11)	10769(2)	7754(2)	7454(1)	70(1)
C(12)	11879(3)	8175(2)	6970(2)	101(1)
C(13)	10220(3)	8359(2)	8049(1)	85(1)
C(14)	9842(2)	7109(1)	7047(1)	58(1)
C(15)	8435(2)	6868(1)	7361(1)	45(1)
C(16)	7781(2)	6149(1)	6870(1)	44(1)
C(17)	6994(2)	5848(1)	5610(1)	47(1)
C(18)	8256(2)	5732(2)	5157(1)	67(1)
C(19)	5822(2)	6180(1)	5115(1)	47(1)
C(20)	4454(2)	6159(1)	5519(1)	44(1)
C(21)	3297(2)	6544(1)	5059(1)	56(1)
C(22)	2355(2)	5356(2)	5718(2)	82(1)
C(23)	3911(2)	5237(1)	5704(1)	63(1)

Bảng G. Chiều dài liên kết [Å] và góc [°] đối với **ví dụ 13, Dạng rắn 1**.

F(1)-C(1)	1,248(7)

F(2)-C(1)	1,342(5)
F(3)-C(1)	1,305(4)
F(1A)-C(1)	1,215(9)
F(2A)-C(1)	1,414(8)
F(3A)-C(1)	1,325(11)
N(1)-C(2)	1,335(2)
N(1)-C(3)	1,455(2)
N(1)-H(1X)	0,906(18)
N(2)-C(8)	1,348(2)
N(2)-C(15)	1,4631(19)
N(2)-C(9)	1,471(2)
N(3)-C(16)	1,3527(19)
N(3)-C(17)	1,452(2)
N(3)-H(3X)	0,944(17)
N(4)-C(18)	1,132(3)
N(5)-C(21)	1,326(3)
N(5)-C(22)	1,447(3)
N(5)-H(5X)	0,91(2)
O(1)-C(2)	1,209(2)
O(2)-C(8)	1,222(2)
O(3)-C(16)	1,214(2)
O(4)-C(21)	1,218(2)
C(1)-C(2)	1,518(4)
C(3)-C(8)	1,531(2)
C(3)-C(4)	1,554(3)
C(3)-H(3)	0,9800
C(4)-C(7)	1,525(4)
C(4)-C(6)	1,523(3)
C(4)-C(5)	1,540(4)
C(5)-H(5A)	0,9600
C(5)-H(5B)	0,9600
C(5)-H(5C)	0,9600

C(6)-H(6A)	0,9600
C(6)-H(6B)	0,9600
C(6)-H(6C)	0,9600
C(7)-H(7A)	0,9600
C(7)-H(7B)	0,9600
C(7)-H(7C)	0,9600
C(9)-C(10)	1,506(3)
C(9)-H(9A)	0,9700
C(9)-H(9B)	0,9700
C(10)-C(11)	1,505(3)
C(10)-C(14)	1,510(3)
C(10)-H(10)	0,9800
C(11)-C(13)	1,505(4)
C(11)-C(14)	1,511(3)
C(11)-C(12)	1,522(3)
C(12)-H(12A)	0,9600
C(12)-H(12B)	0,9600
C(12)-H(12C)	0,9600
C(13)-H(13A)	0,9600
C(13)-H(13B)	0,9600
C(13)-H(13C)	0,9600
C(14)-C(15)	1,520(2)
C(14)-H(14)	0,9800
C(15)-C(16)	1,535(2)
C(15)-H(15)	0,9800
C(17)-C(18)	1,480(2)
C(17)-C(19)	1,528(2)
C(17)-H(17)	0,9800
C(19)-C(20)	1,512(2)
C(19)-H(19A)	0,9700
C(19)-H(19B)	0,9700
C(20)-C(21)	1,510(2)

C(20)-C(23)	1,521(2)
C(20)-H(20)	0,9800
C(22)-C(23)	1,518(3)
C(22)-H(22A)	0,9700
C(22)-H(22B)	0,9700
C(23)-H(23A)	0,9700
C(23)-H(23B)	0,9700

C(2)-N(1)-C(3)	121,10(16)
C(2)-N(1)-H(1X)	120,7(15)
C(3)-N(1)-H(1X)	117,9(15)
C(8)-N(2)-C(15)	126,62(13)
C(8)-N(2)-C(9)	118,51(14)
C(15)-N(2)-C(9)	112,66(14)
C(16)-N(3)-C(17)	120,65(13)
C(16)-N(3)-H(3X)	122,1(13)
C(17)-N(3)-H(3X)	112,1(12)
C(21)-N(5)-C(22)	114,42(16)
C(21)-N(5)-H(5X)	126,1(19)
C(22)-N(5)-H(5X)	119,3(19)
F(1)-C(1)-F(3)	117,2(6)
F(1A)-C(1)-F(3A)	103,3(11)
F(1)-C(1)-F(2)	104,3(6)
F(3)-C(1)-F(2)	101,7(4)
F(1A)-C(1)-F(2A)	108,6(10)
F(3A)-C(1)-F(2A)	91,8(7)
F(1A)-C(1)-C(2)	122,6(7)
F(1)-C(1)-C(2)	115,8(4)
F(3)-C(1)-C(2)	109,1(3)
F(3A)-C(1)-C(2)	116,3(6)
F(2)-C(1)-C(2)	107,2(3)
F(2A)-C(1)-C(2)	109,8(5)

O(1)-C(2)-N(1)	126,8(2)
O(1)-C(2)-C(1)	118,5(2)
N(1)-C(2)-C(1)	114,65(19)
N(1)-C(3)-C(8)	107,86(14)
N(1)-C(3)-C(4)	112,12(15)
C(8)-C(3)-C(4)	112,72(16)
N(1)-C(3)-H(3)	108,0
C(8)-C(3)-H(3)	108,0
C(4)-C(3)-H(3)	108,0
C(7)-C(4)-C(6)	109,3(2)
C(7)-C(4)-C(5)	110,5(2)
C(6)-C(4)-C(5)	107,2(2)
C(7)-C(4)-C(3)	108,5(2)
C(6)-C(4)-C(3)	112,81(19)
C(5)-C(4)-C(3)	108,52(19)
C(4)-C(5)-H(5A)	109,5
C(4)-C(5)-H(5B)	109,5
H(5A)-C(5)-H(5B)	109,5
C(4)-C(5)-H(5C)	109,5
H(5A)-C(5)-H(5C)	109,5
H(5B)-C(5)-H(5C)	109,5
C(4)-C(6)-H(6A)	109,5
C(4)-C(6)-H(6B)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6B)	109,5
C(4)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6B)-C(6)-H(6C)	109,5
C(4)-C(7)-H(7A)	109,5
C(4)-C(7)-H(7B)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7B)	109,5
C(4)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7C)	109,5

H(7B)-C(7)-H(7C)	109,5
O(2)-C(8)-N(2)	121,60(16)
O(2)-C(8)-C(3)	120,04(16)
N(2)-C(8)-C(3)	118,28(13)
N(2)-C(9)-C(10)	104,93(15)
N(2)-C(9)-H(9A)	110,8
C(10)-C(9)-H(9A)	110,8
N(2)-C(9)-H(9B)	110,8
C(10)-C(9)-H(9B)	110,8
H(9A)-C(9)-H(9B)	108,8
C(11)-C(10)-C(9)	120,3(2)
C(11)-C(10)-C(14)	60,18(13)
C(9)-C(10)-C(14)	107,82(15)
C(11)-C(10)-H(10)	118,0
C(9)-C(10)-H(10)	118,0
C(14)-C(10)-H(10)	118,0
C(10)-C(11)-C(13)	121,92(19)
C(10)-C(11)-C(14)	60,07(14)
C(13)-C(11)-C(14)	121,66(19)
C(10)-C(11)-C(12)	114,8(2)
C(13)-C(11)-C(12)	113,9(2)
C(14)-C(11)-C(12)	114,14(18)
C(11)-C(12)-H(12A)	109,5
C(11)-C(12)-H(12B)	109,5
H(12A)-C(12)-H(12B)	109,5
C(11)-C(12)-H(12C)	109,5
H(12A)-C(12)-H(12C)	109,5
H(12B)-C(12)-H(12C)	109,5
C(11)-C(13)-H(13A)	109,5
C(11)-C(13)-H(13B)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13B)	109,5
C(11)-C(13)-H(13C)	109,5

H(13A)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13B)-C(13)-H(13C)	109,5
C(10)-C(14)-C(11)	59,75(14)
C(10)-C(14)-C(15)	108,04(15)
C(11)-C(14)-C(15)	120,32(16)
C(10)-C(14)-H(14)	118,0
C(11)-C(14)-H(14)	118,0
C(15)-C(14)-H(14)	118,0
N(2)-C(15)-C(14)	104,39(13)
N(2)-C(15)-C(16)	111,18(13)
C(14)-C(15)-C(16)	108,87(13)
N(2)-C(15)-H(15)	110,7
C(14)-C(15)-H(15)	110,7
C(16)-C(15)-H(15)	110,7
O(3)-C(16)-N(3)	123,70(15)
O(3)-C(16)-C(15)	122,40(14)
N(3)-C(16)-C(15)	113,89(13)
N(3)-C(17)-C(18)	108,50(13)
N(3)-C(17)-C(19)	112,62(13)
C(18)-C(17)-C(19)	109,24(14)
N(3)-C(17)-H(17)	108,8
C(18)-C(17)-H(17)	108,8
C(19)-C(17)-H(17)	108,8
N(4)-C(18)-C(17)	178,6(2)
C(20)-C(19)-C(17)	111,27(13)
C(20)-C(19)-H(19A)	109,4
C(17)-C(19)-H(19A)	109,4
C(20)-C(19)-H(19B)	109,4
C(17)-C(19)-H(19B)	109,4
H(19A)-C(19)-H(19B)	108,0
C(21)-C(20)-C(19)	112,17(13)
C(21)-C(20)-C(23)	102,32(14)

C(19)-C(20)-C(23)	115,26(15)
C(21)-C(20)-H(20)	108,9
C(19)-C(20)-H(20)	108,9
C(23)-C(20)-H(20)	108,9
O(4)-C(21)-N(5)	126,30(18)
O(4)-C(21)-C(20)	125,79(17)
N(5)-C(21)-C(20)	107,91(15)
N(5)-C(22)-C(23)	102,06(17)
N(5)-C(22)-H(22A)	111,4
C(23)-C(22)-H(22A)	111,4
N(5)-C(22)-H(22B)	111,4
C(23)-C(22)-H(22B)	111,4
H(22A)-C(22)-H(22B)	109,2
C(22)-C(23)-C(20)	103,82(18)
C(22)-C(23)-H(23A)	111,0
C(20)-C(23)-H(23A)	111,0
C(22)-C(23)-H(23B)	111,0
C(20)-C(23)-H(23B)	111,0
H(23A)-C(23)-H(23B)	109,0

Chuyển hóa đối xứng được sử dụng để tạo ra các nguyên tử tương đương.

Bảng H. Các thông số chuyển vị bất đẳng hướng ($Å^2$ x 10^3) đối với **ví dụ 13, Dạng rắn 1**. Số mũ của yếu tố chuyển vị bất đẳng hướng có dạng: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + ... + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
F(1)	105(3)	87(3)	329(14)	-12(6)	-36(6)	-6(2)
F(2)	113(4)	185(4)	107(3)	29(2)	25(2)	-68(3)
F(3)	138(4)	170(5)	91(2)	18(3)	-44(2)	-92(4)
F(1A)	55(3)	183(9)	470(30)	64(16)	-24(9)	-39(4)

F(2A)	317(18)	99(4)	86(4)	-28(3)	-12(6)	-34(7)
F(3A)	185(11)	94(6)	103(4)	17(3)	-12(4)	-63(6)
N(1)	48(1)	70(1)	44(1)	10(1)	-3(1)	-5(1)
N(2)	42(1)	64(1)	42(1)	7(1)	-7(1)	0(1)
N(3)	45(1)	45(1)	42(1)	2(1)	-6(1)	-4(1)
N(4)	46(1)	140(2)	110(2)	-65(2)	7(1)	-2(1)
N(5)	40(1)	105(1)	84(1)	12(1)	-14(1)	-6(1)
O(1)	75(1)	118(1)	59(1)	14(1)	-21(1)	-4(1)
O(2)	60(1)	92(1)	58(1)	32(1)	-8(1)	1(1)
O(3)	92(1)	51(1)	67(1)	12(1)	-19(1)	-3(1)
O(4)	76(1)	79(1)	102(1)	36(1)	-15(1)	14(1)
C(1)	86(2)	113(2)	79(2)	7(2)	-14(1)	-34(2)
C(2)	51(1)	90(1)	48(1)	1(1)	-3(1)	-4(1)
C(3)	47(1)	62(1)	43(1)	11(1)	0(1)	1(1)
C(4)	70(1)	70(1)	67(1)	-2(1)	7(1)	9(1)
C(5)	111(2)	67(1)	117(2)	-14(1)	17(2)	0(1)
C(6)	117(2)	108(2)	57(1)	-11(1)	18(1)	2(2)
C(7)	81(2)	138(3)	111(2)	-8(2)	10(2)	46(2)
C(8)	49(1)	58(1)	42(1)	7(1)	-6(1)	0(1)
C(9)	44(1)	88(1)	65(1)	16(1)	-11(1)	4(1)
C(10)	41(1)	99(2)	63(1)	5(1)	-4(1)	-3(1)
C(11)	57(1)	95(1)	56(1)	11(1)	-11(1)	-27(1)
C(12)	74(2)	150(3)	80(2)	23(2)	-9(1)	-55(2)
C(13)	93(2)	91(2)	72(1)	-3(1)	-13(1)	-32(1)
C(14)	47(1)	84(1)	44(1)	3(1)	-2(1)	-14(1)
C(15)	43(1)	54(1)	39(1)	5(1)	-4(1)	-3(1)
C(16)	41(1)	48(1)	44(1)	4(1)	-3(1)	1(1)
C(17)	39(1)	52(1)	51(1)	-5(1)	-6(1)	-2(1)
C(18)	42(1)	85(1)	73(1)	-33(1)	-9(1)	0(1)
C(19)	41(1)	58(1)	41(1)	1(1)	-4(1)	-5(1)
C(20)	40(1)	52(1)	41(1)	1(1)	-6(1)	-4(1)
C(21)	46(1)	62(1)	58(1)	4(1)	-9(1)	6(1)

C(22)	58(1)	103(2)	84(1)	14(1)	0(1)	-28(1)
C(23)	60(1)	64(1)	66(1)	19(1)	-4(1)	-12(1)

Phân tích NMR trạng thái rắn của hợp chất của Ví dụ 13, các Dạng 1 và 4 được tiến hành trên bộ dò CPMAS được đặt vào quang phổ kế NMR Bruker-BioSpin Avance III 500 MHz (tần số ^{1}H). Tốc độ quay góc ma thuật 15,0 kHz được sử dụng. Phổ của Dạng 1 được thu gom ở nhiệt độ môi trường (nhiệt độ không được kiểm soát) và phổ của Dạng 4 được thu gom ở 15˚C.

Phổ ^{13}C ssNMR được thu gom sử dụng thử nghiệm quay góc ma thuật phân cực ngang khử liên hợp proton (CPMAS). Trường khử liên hợp proton được điều biến pha 80-100 kHz được áp dụng trong quá trình thu nhận phổ. Thời gian tiếp xúc với quá trình phân cực ngang được thiết lập đến 2 ms và độ trễ chu trình đến 3,5 giây đối với Dạng 1 và Dạng 4. Số lượng quét được điều chỉnh để thu được tín hiệu thích hợp với tỷ lệ nhiễu. Phạm vi dịch chuyển hóa học ^{13}C được đưa ra thử nghiệm ^{13}C CPMAS trên chất chuẩn ngoại của tinh thể adamantan, thiết lập cộng hưởng từ trường cao của nó đến 29,5ppm.

Phổ ^{19}F ssNMR được thu gom sử dụng thử nghiệm quay góc ma thuật khử liên hợp proton (MAS). Trường khử liên hợp proton được điều biến pha 80-100 kHz được áp dụng trong quá trình thu nhận phổ. Phổ được thu gom với độ trễ chu trình đến 6 giây đối với Dạng 1 và 5,25 giây đối với Dạng 4. Số lần quét được điều chỉnh để thu được tín hiệu thích hợp với tỷ lệ nhiễu. Phạm vi dịch chuyển hóa học ^{19}F được đưa ra sử dụng thử nghiệm ^{19}F MAS trên chất chất ngoại axit trifloaxetic (50%/50% thể tích/thể tích trong H_2O), thiết lập cộng hưởng từ của nó tới -76,54ppm.

Việc lựa chọn đỉnh tự động được thực hiện sử dụng phần mềm Bruker-BioSpin TopSpin phiên bản 3.6. Nói chung, giá trị ngưỡng của 4% mật độ tương đối được sử dụng để lựa chọn đỉnh sơ bộ. Đầu ra của việc lựa chọn đỉnh tự động được kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo tính xác thực và việc điều chỉnh được tiến hành thủ công nếu cần. Mặc dù các giá trị đỉnh NMR ở trạng thái rắn cụ thể được báo cáo ở đây, nhưng vẫn tồn tại khoảng đối với các giá trị đỉnh này do sự khác nhau về thiết bị, mẫu, và quy trình điều chế mẫu. Đây là thao tác thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật NMR trạng thái rắn do tính biến thiên vốn có ở vị trí đỉnh. Tính biến thiên thông thường đối với giá trị x dịch chuyển hóa học ^{13}C là

trong khoảng cộng hoặc trừ 0,2ppm, trừ khi có chỉ dẫn khác, đối với tinh thể rắn. Tính biến thiên đối với giá trị trục x dịch chuyển hóa học ^{19}F nằm trong khoảng cộng hoặc trừ 0,1ppm. Chiều cao đỉnh của NMR trạng thái rắn được báo cáo ở đây có mật độ tương đối. Mật độ NMR trạng thái rắn có thể thay đổi tùy thuộc vào việc thiết lập thực của các thông số thử nghiệm và lịch sử về nhiệt của mẫu.

NMR trạng thái rắn ^{13}C của Ví dụ 13, Dạng 1 thu được như được mô tả trên đây và danh sách đỉnh dưới đây của Ví dụ 13, Dạng 1 được xác định. Tính biến thiên trongcác giá trị dịch chuyển hóa học ^{13}C là ± 0,2ppm, trừ khi có quy định cụ thể.

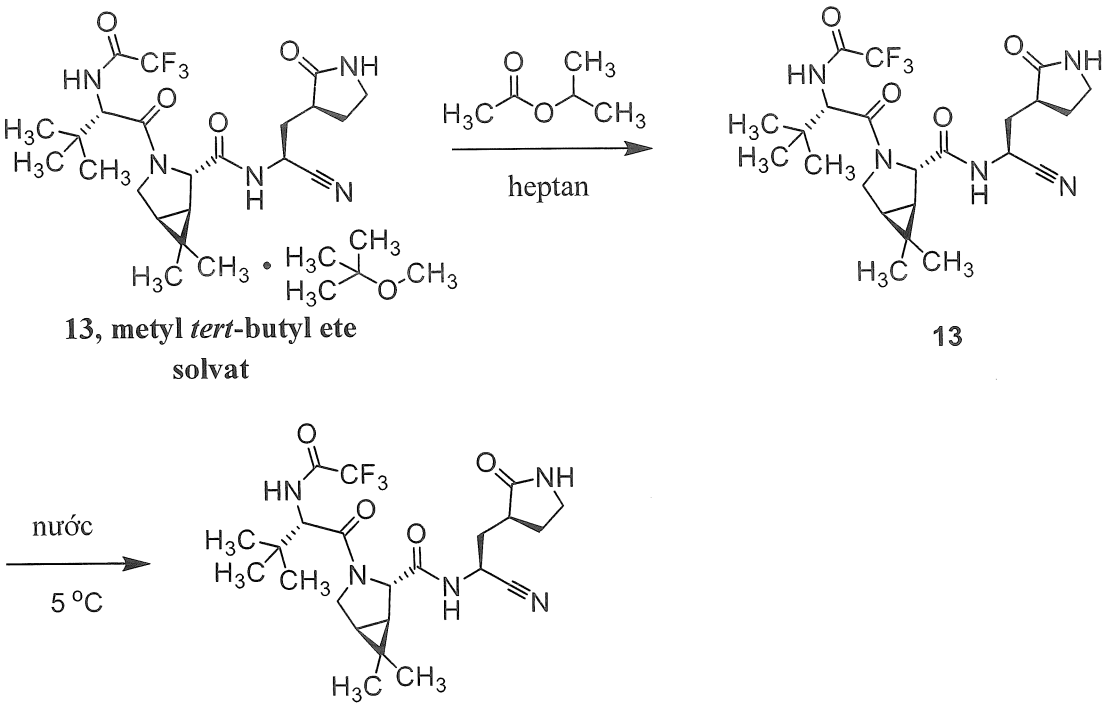
Dịch chuyển hóa học ^{13}C (ppm)	Mật độ tương đối (%)	Dịch chuyển hóa học ^{13}C (ppm)	Mật độ tương đối (%)	Dịch chuyển hóa học ^{13}C (ppm)	Mật độ tương đối (%)
178,9	24	62,7	24	33,0 ± 0,1	35
172,3	21	58,6	27	31,0 ± 0,1	31
172,1	25	47,2	26	27,9 ± 0,1	100
169,6	21	40,3	28	26,3	58
156,7	14	39,4	24	26,0	41
123,5	10	39,0	31	20,8 ± 0,1	49
122,6 ± 0,1	6	37,8 ± 0,1	48	13,0 ± 0,1	47
118,5	4	37,4 ± 0,1	41		
116,1	4	34,6 ± 0,1	33		

NMR trạng thái rắn ^{19}F của hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 1 thu được và NMR trạng thái rắn đỉnh ^{19}F ở dịch chuyển hóa học là -73,3 ± 0,1ppm được xác định.

Các đỉnh đặc trưng đối với hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 1 là đỉnh ^{19}F với dịch chuyển hóa học ở -73,3 ± 0,1ppm kết hợp với các đỉnh ^{13}C với các dịch chuyển hóa học ở 31,0 ± 0,1ppm, 27,9 ± 0,1ppm và 178,9 ± 0,2ppm.

Tái kết tinh theo cách khác của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 4

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**), Dạng rắn 4



13, metyl *tert*-butyl ete solvat

13

13

Bước 1. Tái kết tinh (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**) từ propan-2-yl axetat và heptan.

Hỗn hợp chứa propan-2-yl axetat (50mL) và heptan (50mL) được bổ sung vào **13, metyl *tert*-butyl ete solvat**, Dạng rắn 2 (từ quy trình tổng hợp thứ hai khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; 10,02 g, 17,0mmol) và hỗn hợp được khuấy ở 20°C và 3500 vòng/phút qua đêm. Heptan (50mL) sau đó được bổ sung từ từ, và khuấy liên tục trong 30 phút, trong khi đó hỗn hợp được làm lạnh đến 10°C trong hơn 30 phút. Sau khi khuấy trong 2 giờ nữa, huyền phù đặc được lọc; bánh lọc được rửa bằng hỗn hợp chứa propan-2-yl axetat (4mL) và heptan (16mL) và sau đó được làm khô ở 55°C trong chân không để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**) ở dạng tinh thể rắn. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong quá trình tái kết tinh sau. Hiệu suất: 7,74 g, 15,5mmol, 91%.

Bước 2. Tái kết tinh (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**) từ nước.

Huyền phù đặc **13** (từ bước trên đây; 1,0 g, 2,0mmol) trong nước (12mL) được khuấy ở 5°C trong 21 ngày, trong khi đó phần rắn được thu lại bằng cách lọc. Sau đó, nó

được làm khô trong chân không trong 10 phút và làm khô trong không khí trên lớp mỏng trên giấy trong 20 phút, thu được (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**) ở dạng tinh thể rắn, màu trắng. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với nguyên liệu này, được chỉ ra là Dạng rắn 4, được thể hiện trên Fig. 6; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng J. Hiệu suất: 755 mg, 1,51mmol, 76%. Phương pháp thu thập dữ liệu nhiễu xạ bột tia X được mô tả trong quy trình tổng hợp theo cách khác Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Bước 8.

Bảng J. Các đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn trong **13**, Dạng rắn 4

Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)
7,6	15	20,4	43	30,6	3
9,8	14	20,7	44	30,8	5
10,8	7	21,1	42	31,3	3
11,2	4	21,6	9	31,8	6
11,4	4	21,8	16	32,5	6
11,4	8	22,3	53	32,8	4
11,7	5	23,1	14	33,2	4
12,0	6	23,4	11	34,4	9
12,3	82	24,2	9	35,5	12
12,7	61	24,9	12	35,6	7
13,7	4	25,2	8	35,6	7
14,9	3	26,1	4	36,0	3
15,1	5	27,0	5	36,4	3
15,9	100	27,2	15	37,1	6
17,5	47	28,1	17	38,7	3
18,0	5	28,9	4	39,4	3
18,2	57	29,4	9	39,5	3
18,5	21	29,5	4	39,8	4

18,8	37	29,8	5		
20,0	12	30,0	21		

Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 4

Mẫu của Ví dụ 13 được tiến hành kết tinh bằng cách khuếch tán ở nhiệt độ trong phòng, sử dụng etyl axetat và pentan; một trong số các tinh thể thu được được sử dụng để xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể. Biểu đồ ORTEP của dữ liệu đơn tinh thể được thể hiện trên Fig. 7. Phần mềm Mercury được sử dụng để tính toán mẫu bột từ cấu trúc tinh thể được phân giải; so với mẫu nhiễu xạ từ quy trình tái kết tinh khác của Ví dụ 13; Tạo dạng rắn 4 đã xác định được nguyên liệu này là Dạng rắn 4 (xem Fig. 8). Các đỉnh đặc trưng đối với dữ liệu được tính toán được tạo ra trong bảng K.

Bảng K. Dữ liệu mẫu bột đối với **13, Dạng rắn 1** được tính toán từ việc xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 4

Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)	Góc (°2-theta) +/- 0,2° 2-Theta	Mật độ tương đối (%)
7,6	22	20,1	6	29,9	3
9,7	19	20,4	40	30,0	13
10,8	10	20,7	31	30,7	3
11,2	4	21,1	32	30,9	3
11,3	7	21,6	8	31,3	3
11,7	6	21,8	12	31,9	3
12,2	100	22,3	35	32,6	4
12,6	49	22,5	3	33,2	5
13,7	4	23,1	13	34,5	7
14,9	3	23,5	7	35,5	6
15,1	4	24,2	8	35,8	6
15,7	14	24,8	6	37,2	3
15,9	82	24,9	8	39,9	3
17,5	35	25,2	7		

18,2	54	26,2	4		
18,5	14	27,0	4		
18,7	31	27,2	7		
19,9	3	28,1	11		

Phân tích đơn tinh thể tia X

Thu thập dữ liệu được thực hiện trên nhiễu xạ kế Bruker D8 Venture ở −100°C. Thu thập dữ liệu bao gồm việc quét omega và phi.

Cấu trúc được giải quyết bằng cách tạo pha nội tại sử dụng phần mềm SHELX thích hợp trong nhóm không gian lớp trực giao $P2_12_12_1$. Sau đó, cấu trúc được tinh chế bằng phương pháp bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ. Toàn bộ nguyên tử không phải hydro được tìm thấy và được tinh chế sử dụng các thông số chuyển vị bất đẳng hướng.

Nguyên tử hydro nằm trên nitơ được tìm thấy từ bản đồ chênh lệch Fourier và được tinh chế với các khoảng cách hạn chế. Nguyên tử hydro còn lại được đặt ở các vị trí được tính toán và cho phép ở trên các nguyên tử mang. Bước tinh chế cuối gồm các thông số chuyển vị đẳng hướng đối với tất cả nguyên tử hydro.

Phân tích về cấu trúc tuyệt đối sử dụng các phương pháp hợp lý (Hooft, 2008) được thực hiện sử dụng PLATON (Spek). Hóa học lập thể tuyệt đối không được xác định, do các giá trị không được mô tả của các thông số Hooft / Parsons / Flack và độ lệch chuẩn.

Chỉ số R cuối là 6,3%. Fourier chênh lệch cuối chứng tỏ không có mật độ điện tử hoặc mật độ điện tử không đúng chỗ.

Tinh thể thích hợp, việc thu thập dữ liệu, và thông tin tinh chế được tóm tắt trong bảng L. Các liên kết phối trí nguyên tử, chiều dài liên kết, góc liên kết, và thông số chuyển vị được đưa ra trong các bảng M – P.

Phần mềm và Tài liệu viện dẫn

SHELXTL, Version 5.1, Bruker AXS, 1997.

PLATON, A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 7-13.

MERCURY, C. F. Macrae, P. R. Edington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, and J. van de Streek, *J. Appl. Cryst.* **2006,** *39*, 453-457.

OLEX2, O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, and H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009,** *42*, 339-341.

R. W. W. Hooft, L. H. Straver, and A. L. Spek, *J. Appl. Cryst.* **2008**, *41*, 96-103.

H. D. Flack, *Acta Cryst.* **1983**, *A39*, 867-881.

Bảng L. Dữ liệu tinh thể và tinh chế cấu trúc đối với **ví dụ 13, Dạng rắn 4**.

Công thức thực nghiệm	$C_{23}H_{32}F_3N_5O_4$
Khối lượng công thức	499,53
Nhiệt độ	173(2) K
Bước sóng	1,54178 Å
Hệ tinh thể	Hệ trực giao
Nhóm không gian	$P2_12_12_1$
Kích thước ô đơn vị	a = 9,2114(9) Å α = 90°
	b = 15,1607(16) Å β = 90°
	c = 18,191(2) Å γ = 90°
Thể tích	2540,5(5) $Å^3$
Z	4
Tỷ trọng (được tính toán)	1,306 Mg/m^3
Hệ số hấp thu	0,892 mm^{-1}
F(000)	1056
Cỡ tinh thể	0,100 x 0,060 x 0,040 mm^3
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	3,795 đến 54,284°
Khoảng chỉ số	$-9<=h<=9$, $-15<=k<=15$, $-18<=l<=18$
Độ phản xạ được thu thập	15896
Độ phản xạ độc lập	3070 [R_{int} = 0,1260]
Độ toàn vẹn đối với theta = 54,284°	99,1%
Hiệu chỉnh độ hấp thu	Theo thực nghiệm
Phương pháp tinh chế trên F^2	Bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ
Dữ liệu / hạn chế / thông số	3070 / 9 / 349
Mức độ phù hợp trên F^2	1,067
Chỉ số R cuối [$I>2\sigma(I)$]	$R1$ = 0,0625, $wR2$ = 0,1515
Chỉ số R (tất cả dữ liệu)	$R1$ = 0,0696, $wR2$ = 0,1578

Thông số cấu trúc tuyệt đối	0,14(14)
Hệ số tắt	không xác định
Đỉnh và lỗ khuếch tán lớn nhất	0,280 và −0,220 e.Å^{-3}

Bảng M. Liên kết phối trí nguyên tử (x 10^4) và các thông số chuyển vị đẳng hướng tương đương (Å^2 x 10^3) đối với **ví dụ 13, Dạng rắn 4**. U(eq) được xác định bằng một phần ba của vết của tenxơ được trực giao hóa U^{ij}.

	x	y	z	U(eq)
F(1)	4306(16)	6041(7)	2387(4)	174(5)
F(2)	2770(10)	5589(8)	1525(8)	181(5)
F(3)	4932(11)	6015(5)	1280(6)	114(3)
O(1)	4026(8)	4159(6)	2397(4)	80(2)
C(1)	4115(14)	5581(8)	1775(8)	105(3)
C(2)	4561(14)	4555(7)	1871(9)	65(3)
F(1A)	3230(70)	5710(30)	2210(20)	174(5)
F(2A)	3400(40)	5940(30)	1470(40)	181(5)
F(3A)	4940(60)	6060(30)	1660(30)	114(3)
O(1A)	4410(40)	4580(20)	2430(20)	80(2)
C(1A)	4210(70)	5320(30)	1790(40)	105(3)
C(2A)	4840(70)	4850(40)	1940(40)	65(3)
N(1)	5533(5)	4303(3)	1395(2)	57(1)
N(2)	8573(4)	3139(3)	1925(2)	53(1)
N(3)	6772(4)	3489(3)	3714(2)	51(1)
N(4)	8394(7)	4673(5)	5053(4)	103(2)
N(5)	1220(5)	3638(4)	4615(3)	80(2)
O(2)	8305(4)	3783(3)	826(2)	76(1)
O(3)	7583(4)	4429(3)	2845(2)	70(1)
O(4)	2759(5)	2668(3)	5176(3)	84(1)
C(3)	6097(5)	3407(4)	1448(3)	55(1)
C(4)	5356(6)	2775(4)	886(4)	66(2)

C(5)	3799(7)	2611(6)	1123(5)	100(2)
C(6)	5336(8)	3163(5)	106(3)	80(2)
C(7)	6176(8)	1903(5)	876(5)	94(2)
C(8)	7747(6)	3468(3)	1378(3)	55(1)
C(9)	10166(5)	3230(5)	1885(3)	68(2)
C(10)	10729(6)	2754(5)	2548(4)	73(2)
C(11)	10341(7)	1816(5)	2669(3)	73(2)
C(12)	9762(8)	1239(5)	2060(4)	89(2)
C(13)	11307(8)	1311(5)	3196(4)	96(2)
C(14)	9439(6)	2528(4)	3023(3)	62(2)
C(15)	8090(5)	2884(4)	2660(3)	51(1)
C(16)	7471(5)	3677(3)	3070(3)	49(1)
C(17)	6277(6)	4180(4)	4192(3)	61(2)
C(18)	7465(7)	4485(4)	4670(4)	78(2)
C(19)	5031(6)	3887(4)	4683(3)	62(2)
C(20)	3625(6)	3736(4)	4274(3)	59(2)
C(21)	2506(6)	3278(4)	4745(3)	61(1)
C(22)	1247(7)	4355(5)	4095(4)	80(2)
C(23)	2822(6)	4572(4)	4041(4)	71(2)

Bảng N. Chiều dài liên kết [Å] và góc [°] đối với **ví dụ 13, Dạng rắn 4**.

F(1)-C(1)	1,326(15)
F(2)-C(1)	1,320(15)
F(3)-C(1)	1,345(14)
O(1)-C(2)	1,233(18)
C(1)-C(2)	1,618(18)
C(2)-N(1)	1,303(15)
F(1A)-C(1A)	1,33(3)
F(1A)-F(2A)	1,40(7)
F(2A)-C(1A)	1,33(3)

F(2A)-F(3A)	1,47(7)
F(3A)-C(1A)	1,34(3)
F(3A)-C(2A)	1,90(8)
O(1A)-C(2A)	1,05(8)
O(1A)-C(1A)	1,62(7)
C(1A)-C(2A)	0,95(8)
C(2A)-N(1)	1,45(6)
N(1)-C(3)	1,458(7)
N(1)-H(1X)	0,98(3)
N(2)-C(8)	1,348(7)
N(2)-C(15)	1,462(7)
N(2)-C(9)	1,476(7)
N(3)-C(16)	1,368(7)
N(3)-C(17)	1,436(7)
N(3)-H(3X)	0,98(3)
N(4)-C(18)	1,140(9)
N(5)-C(21)	1,326(8)
N(5)-C(22)	1,441(9)
N(5)-H(5X)	0,99(3)
O(2)-C(8)	1,225(7)
O(3)-C(16)	1,215(6)
O(4)-C(21)	1,236(7)
C(3)-C(8)	1,528(7)
C(3)-C(4)	1,559(8)
C(3)-H(3)	1,0000
C(4)-C(5)	1,518(9)
C(4)-C(7)	1,522(9)
C(4)-C(6)	1,537(9)
C(5)-H(5A)	0,9800
C(5)-H(5B)	0,9800
C(5)-H(5C)	0,9800
C(6)-H(6A)	0,9800

C(6)-H(6B)	0,9800
C(6)-H(6C)	0,9800
C(7)-H(7A)	0,9800
C(7)-H(7B)	0,9800
C(7)-H(7C)	0,9800
C(9)-C(10)	1,497(9)
C(9)-H(9A)	0,9900
C(9)-H(9B)	0,9900
C(10)-C(11)	1,483(10)
C(10)-C(14)	1,509(8)
C(10)-H(10)	1,0000
C(11)-C(14)	1,507(8)
C(11)-C(12)	1,509(9)
C(11)-C(13)	1,516(10)
C(12)-H(12A)	0,9800
C(12)-H(12B)	0,9800
C(12)-H(12C)	0,9800
C(13)-H(13A)	0,9800
C(13)-H(13B)	0,9800
C(13)-H(13C)	0,9800
C(14)-C(15)	1,506(7)
C(14)-H(14)	1,0000
C(15)-C(16)	1,525(7)
C(15)-H(15)	1,0000
C(17)-C(18)	1,472(10)
C(17)-C(19)	1,521(8)
C(17)-H(17)	1,0000
C(19)-C(20)	1,511(8)
C(19)-H(19A)	0,9900
C(19)-H(19B)	0,9900
C(20)-C(21)	1,509(8)
C(20)-C(23)	1,528(8)

C(20)-H(20)	1,0000
C(22)-C(23)	1,491(9)
C(22)-H(22A)	0,9900
C(22)-H(22B)	0,9900
C(23)-H(23A)	0,9900
C(23)-H(23B)	0,9900

F(2)-C(1)-F(1)	114,1(13)
F(2)-C(1)-F(3)	106,9(11)
F(1)-C(1)-F(3)	103,3(11)
F(2)-C(1)-C(2)	106,5(12)
F(1)-C(1)-C(2)	112,4(11)
F(3)-C(1)-C(2)	113,6(11)
O(1)-C(2)-N(1)	130,4(10)
O(1)-C(2)-C(1)	116,8(11)
N(1)-C(2)-C(1)	112,6(11)
C(1A)-F(1A)-F(2A)	59(2)
C(1A)-F(2A)-F(1A)	58(2)
C(1A)-F(2A)-F(3A)	57(2)
F(1A)-F(2A)-F(3A)	85(4)
C(1A)-F(3A)-F(2A)	56(2)
C(1A)-F(3A)-C(2A)	28(3)
F(2A)-F(3A)-C(2A)	84(4)
C(2A)-O(1A)-C(1A)	34(4)
C(2A)-C(1A)-F(1A)	125(8)
C(2A)-C(1A)-F(2A)	171(9)
F(1A)-C(1A)-F(2A)	63(4)
C(2A)-C(1A)-F(3A)	112(7)
F(1A)-C(1A)-F(3A)	94(5)
F(2A)-C(1A)-F(3A)	67(4)
C(2A)-C(1A)-O(1A)	38(5)
F(1A)-C(1A)-O(1A)	89(4)

F(2A)-C(1A)-O(1A)	149(5)
F(3A)-C(1A)-O(1A)	131(7)
C(1A)-C(2A)-O(1A)	108(8)
C(1A)-C(2A)-N(1)	120(8)
O(1A)-C(2A)-N(1)	121(5)
C(1A)-C(2A)-F(3A)	41(4)
O(1A)-C(2A)-F(3A)	129(5)
N(1)-C(2A)-F(3A)	110(5)
C(2)-N(1)-C(3)	118,3(7)
C(2A)-N(1)-C(3)	130(3)
C(2)-N(1)-H(1X)	120(4)
C(2A)-N(1)-H(1X)	102(5)
C(3)-N(1)-H(1X)	121(4)
C(8)-N(2)-C(15)	127,0(4)
C(8)-N(2)-C(9)	119,4(5)
C(15)-N(2)-C(9)	111,8(4)
C(16)-N(3)-C(17)	121,1(4)
C(16)-N(3)-H(3X)	113(4)
C(17)-N(3)-H(3X)	123(4)
C(21)-N(5)-C(22)	114,3(5)
C(21)-N(5)-H(5X)	120(4)
C(22)-N(5)-H(5X)	125(4)
N(1)-C(3)-C(8)	107,0(4)
N(1)-C(3)-C(4)	111,9(4)
C(8)-C(3)-C(4)	114,7(5)
N(1)-C(3)-H(3)	107,7
C(8)-C(3)-H(3)	107,7
C(4)-C(3)-H(3)	107,7
C(5)-C(4)-C(7)	109,3(6)
C(5)-C(4)-C(6)	108,2(5)
C(7)-C(4)-C(6)	109,1(6)
C(5)-C(4)-C(3)	109,2(5)

C(7)-C(4)-C(3)	108,9(5)
C(6)-C(4)-C(3)	112,1(5)
C(4)-C(5)-H(5A)	109,5
C(4)-C(5)-H(5B)	109,5
H(5A)-C(5)-H(5B)	109,5
C(4)-C(5)-H(5C)	109,5
H(5A)-C(5)-H(5C)	109,5
H(5B)-C(5)-H(5C)	109,5
C(4)-C(6)-H(6A)	109,5
C(4)-C(6)-H(6B)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6B)	109,5
C(4)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6B)-C(6)-H(6C)	109,5
C(4)-C(7)-H(7A)	109,5
C(4)-C(7)-H(7B)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7B)	109,5
C(4)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7B)-C(7)-H(7C)	109,5
O(2)-C(8)-N(2)	120,8(5)
O(2)-C(8)-C(3)	120,6(5)
N(2)-C(8)-C(3)	118,5(5)
N(2)-C(9)-C(10)	105,1(5)
N(2)-C(9)-H(9A)	110,7
C(10)-C(9)-H(9A)	110,7
N(2)-C(9)-H(9B)	110,7
C(10)-C(9)-H(9B)	110,7
H(9A)-C(9)-H(9B)	108,8
C(11)-C(10)-C(9)	119,9(5)
C(11)-C(10)-C(14)	60,5(4)
C(9)-C(10)-C(14)	107,3(4)

C(11)-C(10)-H(10)	118,2
C(9)-C(10)-H(10)	118,2
C(14)-C(10)-H(10)	118,2
C(10)-C(11)-C(14)	60,6(4)
C(10)-C(11)-C(12)	122,2(6)
C(14)-C(11)-C(12)	122,3(5)
C(10)-C(11)-C(13)	115,9(6)
C(14)-C(11)-C(13)	114,6(5)
C(12)-C(11)-C(13)	112,2(6)
C(11)-C(12)-H(12A)	109,5
C(11)-C(12)-H(12B)	109,5
H(12A)-C(12)-H(12B)	109,5
C(11)-C(12)-H(12C)	109,5
H(12A)-C(12)-H(12C)	109,5
H(12B)-C(12)-H(12C)	109,5
C(11)-C(13)-H(13A)	109,5
C(11)-C(13)-H(13B)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13B)	109,5
C(11)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13B)-C(13)-H(13C)	109,5
C(15)-C(14)-C(11)	121,6(5)
C(15)-C(14)-C(10)	108,5(5)
C(11)-C(14)-C(10)	58,9(4)
C(15)-C(14)-H(14)	117,6
C(11)-C(14)-H(14)	117,6
C(10)-C(14)-H(14)	117,6
N(2)-C(15)-C(14)	104,2(4)
N(2)-C(15)-C(16)	110,6(4)
C(14)-C(15)-C(16)	112,1(4)
N(2)-C(15)-H(15)	109,9
C(14)-C(15)-H(15)	109,9

C(16)-C(15)-H(15)	109,9
O(3)-C(16)-N(3)	121,6(5)
O(3)-C(16)-C(15)	122,9(5)
N(3)-C(16)-C(15)	115,5(4)
N(3)-C(17)-C(18)	110,5(4)
N(3)-C(17)-C(19)	112,4(5)
C(18)-C(17)-C(19)	107,8(5)
N(3)-C(17)-H(17)	108,7
C(18)-C(17)-H(17)	108,7
C(19)-C(17)-H(17)	108,7
N(4)-C(18)-C(17)	176,2(8)
C(20)-C(19)-C(17)	113,7(5)
C(20)-C(19)-H(19A)	108,8
C(17)-C(19)-H(19A)	108,8
C(20)-C(19)-H(19B)	108,8
C(17)-C(19)-H(19B)	108,8
H(19A)-C(19)-H(19B)	107,7
C(21)-C(20)-C(19)	112,1(5)
C(21)-C(20)-C(23)	102,0(5)
C(19)-C(20)-C(23)	115,2(5)
C(21)-C(20)-H(20)	109,1
C(19)-C(20)-H(20)	109,1
C(23)-C(20)-H(20)	109,1
O(4)-C(21)-N(5)	126,1(5)
O(4)-C(21)-C(20)	125,2(5)
N(5)-C(21)-C(20)	108,6(5)
N(5)-C(22)-C(23)	103,1(5)
N(5)-C(22)-H(22A)	111,1
C(23)-C(22)-H(22A)	111,1
N(5)-C(22)-H(22B)	111,1
C(23)-C(22)-H(22B)	111,1
H(22A)-C(22)-H(22B)	109,1

C(22)-C(23)-C(20)	105,6(5)
C(22)-C(23)-H(23A)	110,6
C(20)-C(23)-H(23A)	110,6
C(22)-C(23)-H(23B)	110,6
C(20)-C(23)-H(23B)	110,6
H(23A)-C(23)-H(23B)	108,7

Chuyển hóa đối xứng được sử dụng để tạo ra các nguyên tử tương đương.

Bảng P. Các thông số chuyển vị bất đẳng hướng ($Å^2$ x 10^3) đối với **ví dụ 13, Dạng rắn 4**. Số mũ của yếu tố chuyển vị bất đẳng hướng tạo ra dạng: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + ... + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
F(1)	279(15)	138(7)	106(5)	-56(5)	-28(7)	100(8)
F(2)	69(5)	172(9)	302(12)	75(9)	-10(7)	44(5)
F(3)	143(5)	83(3)	117(7)	-10(5)	-24(6)	33(3)
O(1)	77(5)	91(6)	74(3)	1(4)	29(3)	9(4)
C(1)	116(7)	76(10)	122(8)	6(9)	25(6)	43(10)
C(2)	65(7)	68(9)	63(6)	-13(7)	-5(5)	18(6)
F(1A)	279(15)	138(7)	106(5)	-56(5)	-28(7)	100(8)
F(2A)	69(5)	172(9)	302(12)	75(9)	-10(7)	44(5)
F(3A)	143(5)	83(3)	117(7)	-10(5)	-24(6)	33(3)
O(1A)	77(5)	91(6)	74(3)	1(4)	29(3)	9(4)
C(1A)	116(7)	76(10)	122(8)	6(9)	25(6)	43(10)
C(2A)	65(7)	68(9)	63(6)	-13(7)	-5(5)	18(6)
N(1)	49(2)	70(3)	53(3)	-1(2)	3(2)	19(2)
N(2)	38(2)	75(3)	45(3)	-2(2)	3(2)	2(2)
N(3)	50(2)	51(2)	52(3)	1(2)	3(2)	4(2)
N(4)	60(3)	130(5)	119(5)	-49(4)	0(4)	-10(3)
N(5)	53(3)	105(4)	82(4)	17(3)	15(3)	11(3)

O(2)	51(2)	114(3)	62(3)	25(2)	12(2)	6(2)
O(3)	78(2)	55(2)	76(3)	4(2)	18(2)	0(2)
O(4)	82(3)	83(3)	86(3)	30(3)	-2(2)	-11(2)
C(3)	45(3)	70(3)	51(3)	9(3)	4(2)	9(3)
C(4)	48(3)	70(4)	79(4)	-5(3)	-7(3)	5(3)
C(5)	56(3)	131(6)	114(6)	-16(5)	4(4)	-22(4)
C(6)	76(4)	107(5)	59(4)	-15(4)	-9(3)	12(4)
C(7)	82(4)	83(5)	117(6)	-17(4)	-18(4)	6(4)
C(8)	44(3)	60(3)	60(4)	-2(3)	6(3)	7(2)
C(9)	37(3)	95(4)	70(4)	-2(4)	1(3)	2(3)
C(10)	41(3)	105(5)	73(4)	-24(4)	-8(3)	5(3)
C(11)	69(4)	82(4)	67(4)	-11(4)	-12(3)	20(3)
C(12)	85(4)	96(5)	87(5)	-24(4)	-17(4)	34(4)
C(13)	82(4)	116(6)	90(5)	-25(4)	-18(4)	48(4)
C(14)	55(3)	74(4)	57(3)	-6(3)	-6(3)	16(3)
C(15)	44(2)	59(3)	51(3)	0(3)	-4(2)	2(2)
C(16)	39(2)	48(3)	59(3)	2(3)	3(2)	-4(2)
C(17)	49(3)	62(3)	73(4)	-3(3)	2(3)	3(3)
C(18)	57(4)	85(4)	92(5)	-26(4)	26(4)	-8(3)
C(19)	59(3)	65(3)	63(4)	0(3)	15(3)	8(3)
C(20)	49(3)	61(3)	66(4)	6(3)	2(3)	6(2)
C(21)	58(3)	72(4)	53(3)	6(3)	6(3)	2(3)
C(22)	65(4)	92(5)	82(5)	13(4)	11(3)	16(3)
C(23)	62(3)	74(4)	77(4)	21(3)	7(3)	5(3)

Danh sách NMR trạng thái rắn đỉnh ^{13}C của PF-07321332-00 Dạng 4. Tính biến thiên đối với các giá trị dịch chuyển hóa học ^{13}C là ±0,2ppm, trừ khi có chỉ dẫn khác.

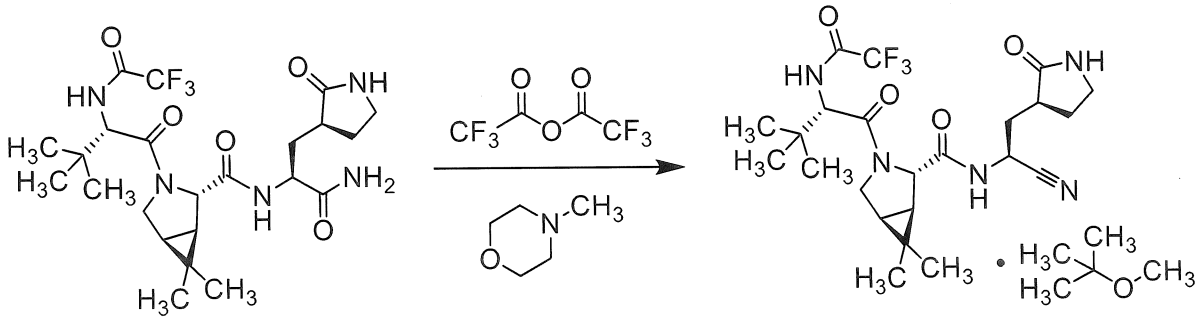
Dịch chuyển hóa học ^{13}C (ppm)	Mật độ tương đối (%)	Dịch chuyển hóa học ^{13}C (ppm)	Mật độ tương đối (%)	Dịch chuyển hóa học ^{13}C (ppm)	Mật độ tương đối (%)
179,3	16	62,0	17	32,9	16
178,8	11	58,5	26	31,9	23
172,3	20	47,1	26	31,3 ± 0,1	16

169,6	8	41,5	17	29,7	18
168,6	12	40,2	12	27,9 ± 0,1	100
156,7	12	38,8	22	26,9 ± 0,1	36
123,7	4	38,3	27	26,2	28
120,1	6	37,9	43	25,9	18
119,1	4	37,5	39	21,6 ± 0,1	31
118,5	4	37,0	25	20,8 ± 0,1	22
62,4	16	34,4	13	12,9 ± 0,1	46

NMR trạng thái rắn ^{19}F của hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 4 thu được và đỉnh ở -73,6 ± 0,1 với mật độ tương đối là 100% được xác định.

Đối với hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 4, sáu đỉnh đặc trưng được xác định: dịch chuyển hóa học ^{19}F ở -73,6 ± 0,1ppm và dịch chuyển hóa học ^{13}C ở 26,9 ± 0,1ppm, 21,6 ± 0,1ppm, 41,5 ± 0,2ppm, 27,9 ± 0,1ppm, và 12,9 ± 0,1. Đỉnh với dịch chuyển hóa học ^{19}F ở -73,6 ± 0,1ppm là đặc trưng của hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 4. Mỗi đỉnh ^{13}C ở 26,9 ± 0,1ppm, 21,6 ± 0,1ppm và 41,5 ± 0,1ppm là các đỉnh đặc trưng của hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 4. Mỗi đỉnh ^{13}C ở 27,9ppm và 12,9ppm là đặc trưng của hợp chất của Ví dụ 13, Dạng 4 khi đưa ra kết hợp với một hoặc nhiều đỉnh được chọn từ các đỉnh ^{13}C ở 21,6ppm, 26,9ppm và 41,5ppm và đỉnh ^{19}F ở -73,6ppm.

Tổng hợp thứ tư theo cách khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**)

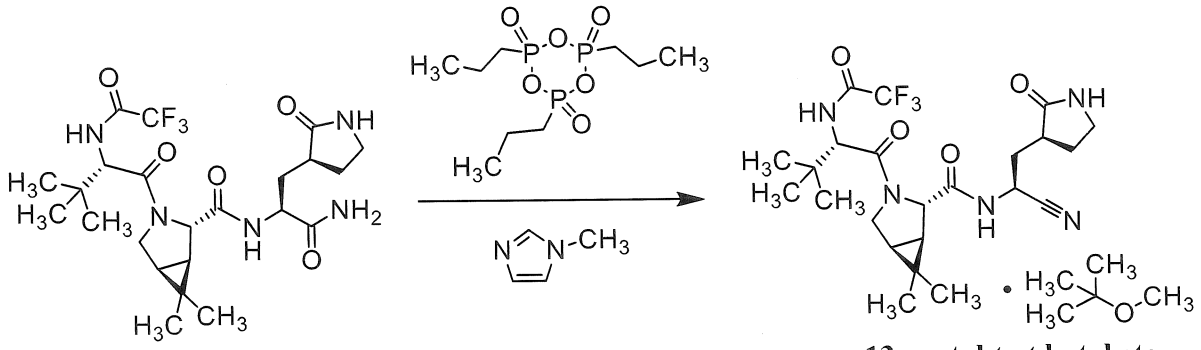


C43 **13, metyl *tert*-butyl ete solvat**

Huyền phù đặc 0°C của **C43** (5,0 g, 9,7mmol) trong propan-2-yl axetat (7,6mL/g, 38mL) được nạp 4-metylmorpholin (4,5 đương lượng; 4,8mL, 44mmol). Huyền phù đặc thu được được nạp trifloaxetic anhydrit (2,25 đương lượng; 3,1mL, 22mmol) trong 1 giờ bằng bơm liều. Sau khi khuấy ở 0°C trong ít nhất 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm ấm

đến khoảng 20°C, được làm nguội bằng nước (8mL/g, 40mL), và được khuấy trong ít nhất 10 phút. Sau đó lắng gạn, lớp dưới (nước) được bỏ đi và nước (8mL/g, 40mL) được bổ sung vào lớp hữu cơ. Sau khi khuấy trong ít nhất 10 phút, các lớp được tách, và lớp dưới (nước) được bỏ đi. Lớp hữu cơ được cô trong điều kiện áp suất thấp tới xấp xỉ 4mL/g (khoảng 20mL), trong khi đó trạng thái chân không được phá vỡ sử dụng nitơ và dung dịch được làm ấm đến xấp xỉ 50°C. Metyl *tert*-butyl ete (12mL/g, 60mL) được bổ sung từ từ trong ít nhất 4 giờ bằng phễu bổ sung, và hỗn hợp phản ứng được duy trì ở 50°C trong ít nhất 1 giờ trước khi được làm nguội đến 25°C trong 1 giờ. Huyền phù đặc thu được được giữ ở 25°C qua đêm, sau đó được lọc, được rửa liên tiếp bằng hỗn hợp chứa propan-2-yl axetat và metyl *tert*-butyl ete [1:3 (thể tích/thể tích); 2mL/g] và với metyl *tert*-butyl ete (2mL/g, 10mL), và được làm khô trên thiết bị lọc trong ít nhất 30 phút. Các chất rắn sau đó được chuyển vào lò chân không ở 50°C và được làm khô trong ít nhất 8 giờ, thu được (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**) ở dạng chất rắn nhờ màu trắng. Hiệu suất: 3,4 g, 5,8mmol, 60%.

Tổng hợp thứ năm theo cách khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**)



Huyền phù đặc ở nhiệt độ trong phòng của **C43** (4,0 g, 7,7mmol) trong axetonitril (10mL/g, 40mL) được nạp 1-metyl-1*H*-imidazol (4,6 đương lượng; 2,84mL, 35,6mmol) và hỗn hợp thu được được làm ấm đến xấp xỉ 30°C. Dung dịch chứa 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit (50% dung dịch theo khối lượng trong axetonitril; 2 đương lượng; 10,8mL) được bổ sung trong ít nhất 6 giờ sử dụng bơm. Sau

khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trong ít nhất 10 giờ, nó được làm lạnh đến 25°C và một cách cẩn thận được làm nguội bằng cách bổ sung dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (7mL/g, 28mL) (tỏa nhiệt và loại khí). Axetonitril sau đó được chưng cất trong điều kiện áp suất thấp; hỗn hợp thu được được bổ sung etyl axetat (10mL/g, 40mL) và bổ sung dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (5mL/g, 20mL). Sau đó tách pha, lớp dưới (nước) được bỏ đi và lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3,5mL/g; 14mL). Lớp nước lại được bỏ đi, và lớp hữu cơ được cô trong điều kiện áp suất thấp xuống xấp xỉ 1mL/g (4mL). Metyl *tert*-butyl ete (9mL/g; 36mL) được nạp và dung dịch thu được được làm ấm đến 50°C, nhanh chóng thu được huyền phù đặc. Huyền phù đặc này được giữ ở 50°C trong ít nhất 30 phút, trong khi đó nó được làm lạnh đến 25°C trong 1 giờ và được giữ ở 25°C trong ít nhất 8 giờ. Huyền phù đặc sau đó được lọc, được rửa bằng hỗn hợp chứa etyl axetat và metyl *tert*-butyl ete [1:3 (thể tích/thể tích); 2mL/g], và sau đó được rửa bằng metyl *tert*-butyl ete (2mL/g; 8mL). Chất rắn đã được thu gom được làm khô trên thiết bị lọc trong ít nhất 30 phút, được chuyển vào lò chân không ở khoảng 50°C, và được làm khô trong ít nhất 8 giờ, thu được (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat (**13, metyl *tert*-butyl ete solvat**) ở dạng chất rắn nhờ màu trắng. Hiệu suất: 2,9 g, 4,9mmol, 64%.

Ví dụ điều chế đối với hợp chất của Ví dụ 13

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit hoặc hydrat hoặc solvat của chúng hoặc muối dược dụng hợp chất, hydrat hoặc solvat được bào chế để tạo ra viên nén màng giải phóng tức thì thông thường được bao để dùng qua đường miệng, với các liều nằm trong khoảng từ 100 đến 250 mg. Ví dụ, chế phẩm giải phóng tức thì được mô tả trong Bảng chế phẩm và bao gồm các tá dược không hoạt tính thông thường xenluloza dạng vi tinh thể và lactoza monohydrat (các chất pha loãng), crospovidon (chất làm phân rã), silic dioxit keo (tá dược chảy), và natri stearyl fumarat (chất làm trơn). Viên nén giải phóng tức thì được bao màng sử dụng chế phẩm bao màng đang có trên thị trường bao gồm Opadry trắng và Opadry hồng. Tất cả các tá dược được sử dụng trong viên nén được bao màng có thể chấp nhận được toàn cầu và có mặt ở các mức quyết định. Chế phẩm tạo ra trong Ví dụ về chế phẩm viên nén giải phóng tức thì, và như vậy, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể sử dụng các kỹ thuật thông thường có sẵn dễ dàng sử

dụng các tá dược điều chế khác để tạo ra các viên nén thích hợp và thu được các thuộc tính về chất lượng viên nén mong muốn.

Ví dụ điều chế: Chế phẩm viên nén được bao đại diện (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

Viên nén giải phóng tức thì (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (dưới đây được gọi là API) được sản xuất sử dụng quy trình theo mẻ tiêu chuẩn, thông thường đối với viên nén giải phóng tức thì dạng rắn, dùng qua đường miệng. Ví dụ về quy trình theo mẻ tiêu chuẩn mà có thể được sử dụng để sản xuất viên nén giải phóng tức thì (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit bao gồm nén trực tiếp, tạo hạt khô và tạo hạt ẩm. Theo cách khác, quy trình sản xuất vận hành liên tục có thể được sử dụng. Sau khi nén viên, lõi viên nén được bao màng. Màng bao viên nén có thể được thực hiện bằng cách vận hành bao liên tục hoặc sử dụng thông thường quy trình màng bao theo mẻ.

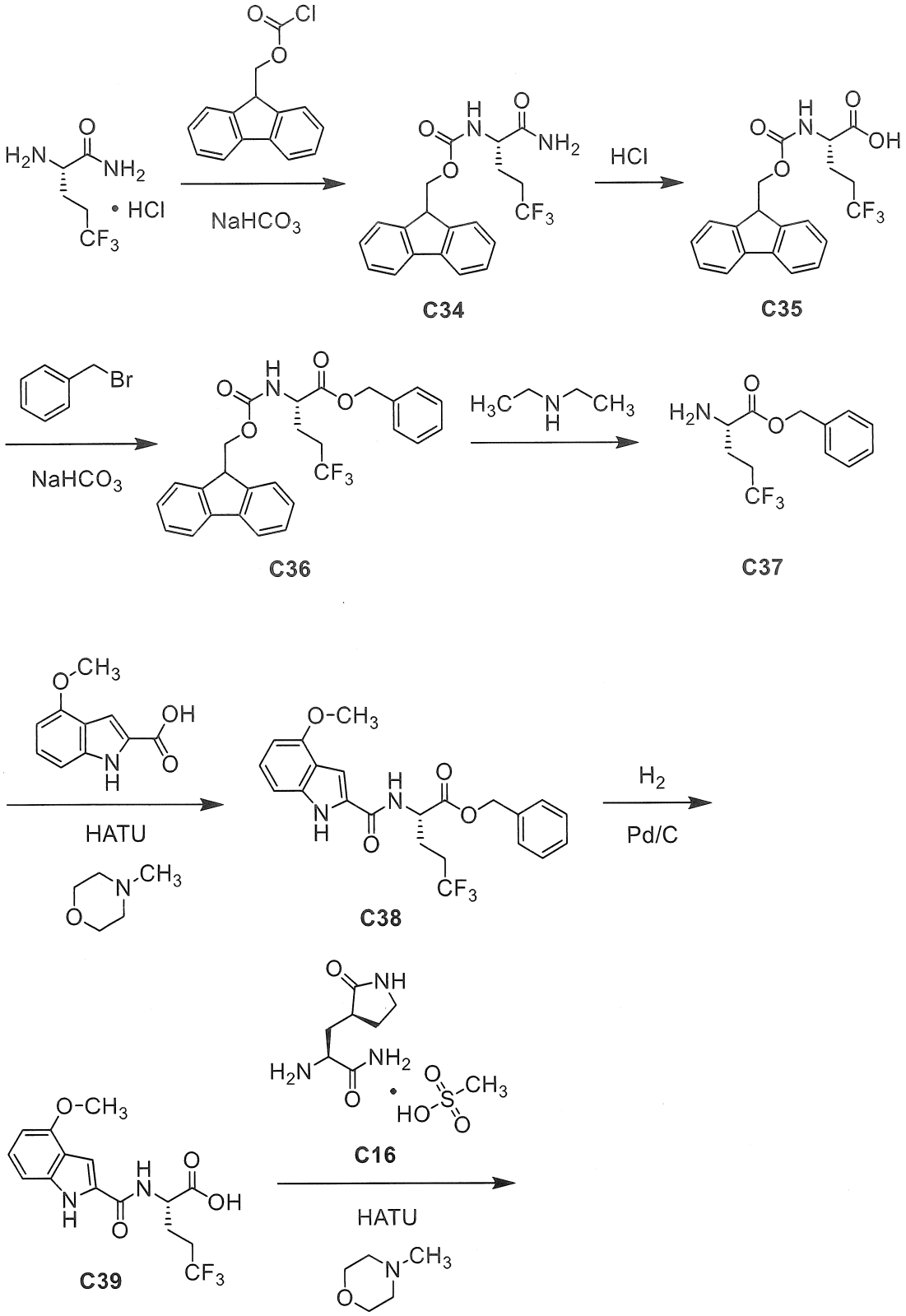
Bảng chế phẩm: Chế phẩm viên nén (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit 100 mg, 150 mg và 250 mg

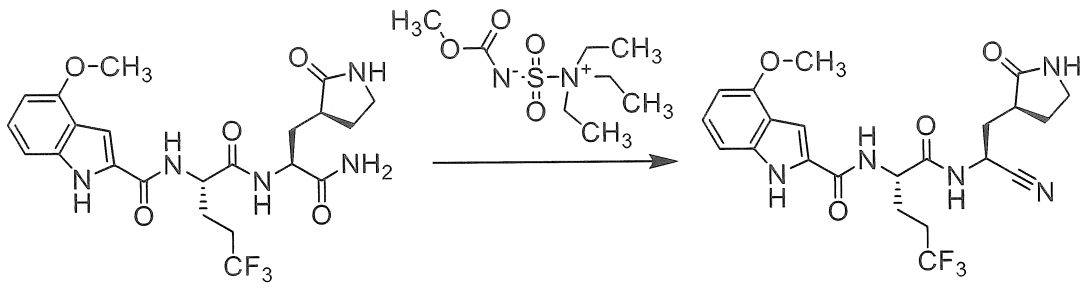
Thành phần	Vai trò	100 mg Viên nén (% khối lượng/ khối lượng)	100 mg Viên nén (mg/ viên nén)	150 mg Viên nén (% khối lượng/ khối lượng)	150 mg Viên nén (mg/ viên nén)	250 mg Viên nén (% khối lượng/ khối lượng)	250 mg Viên nén (mg/ viên nén)
API	Hoạt tính	20,00	100,00	20,00	150,00	25,00	250,00
Xenluloza vi tinh thể	Chất pha loãng	49,33	246,67	49,33	370,00	46,00	460,00

Lactoza Monohydrat	Chất pha loãng	24,67	123,33	24,67	185,00	23,00	230,00
Crospovidon	Chất làm phân rã	3,00	15,00	3,00	22,50	3,00	30,00
Silic dioxit keo	Tá dược chảy	1,00	5,00	1,00	7,50	1,00	10,00
Natri stearyl fumarat (hạt bên trong)	Chất làm trơn	1,00	5,00	1,00	7,50	1,00	10,00
Natri stearyl fumarat (hạt bên ngoài)	Chất làm trơn	1,00	5,00	1,00	7,50	1,00	10,00
Tổng lõi		100,00	500,00	100,00	750,00	100,00	1000,00
Opadry trắng (YS-1-7027-SP)	Lớp bao	3,50	17,50	- -	- -	- -	- -
Opadry hồng (058140011)	Lớp bao	-	- -	3,00	22,50	- -	- -

Ví dụ 14

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**14**)


NaHCO3
HCl
C34
C35
NaHCO3
C36
C37
HATU
C38
H2
Pd/C
C16
C39
HATU



C40 14

Bước 1. Tổng hợp 9*H*-floren-9-ylmetyl [(2*S*)-1-amino-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]carbamat (**C34**).

Natri bicacbonat (4,8 g, 57mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 5,5,5-triflo-L-norvalinamit, muối hydroclorua (quy trình này được tổng hợp sử dụng phương pháp được mô tả đối với chất đồng phân đối ảnh của nó, trong J. E. Starrett, PCT Int. Appl., 2010107997, September 23, 2010; 4,0 g, 19mmol) và 9*H*-floren-9-ylmetyl carbonocloridat (Fmoc clorua; 10,2 g, 39,4mmol) trong nước (80mL). Huyền phù đặc thu được được khuấy ở 15°C đến 25°C trong 24 giờ, trong khi đó nó được phân bố giữa nước và diclometan. Lớp hữu cơ được rửa liên tiếp bằng nước và dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, tạo ra **C34 ở dạng chất rắn**. Hiệu suất: 6,2 g, 16mmol, 83%. LCMS *m/z* 393,1 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,9 (d, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,5 (d, 1H), 7,4 (m, 5H), 7,1 (br s, 1H), 4,3 (m, 3H), 4,0 (m, 1H), 2,2 (m, 2H), 1,9 (m, 1H), 1,7 (m, 1H).

Bước 2. Tổng hợp *N*-[(9*H*-floren-9-ylmetoxy)carbonyl]-5,5,5-triflo-L-norvalin (**C35**).

Dung dịch chứa **C34** (6,2 g, 16mmol) trong 1,4-dioxan (60mL) được bổ sung axit clohydric (3 M; 10mL, 30mmol), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Sau đó, nó được phân bố giữa nước và diclometan, và lớp hữu cơ được rửa bằng nước và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được nghiền bằng dầu mỏ ete để cho **C35** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 5,5 g, 14mmol, 88%. LCMS *m/z* 392,1 $[M-H]^-$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12,83 (br s, 1H), 7,89 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 7,77 – 7,67 (m, 3H), 7,46 – 7,38 (m, 2H), 7,36 – 7,28 (m, 2H), 4,38 – 4,28 (m, 2H), 4,26 – 4,19 (m, 1H), 4,06 (ddd, J = 9, 9, 4,9 Hz, 1H), 2,43 – 2,15 (m, 2H), 2,01 – 1,89 (m, 1H), 1,89 – 1,75 (m, 1H).

Bước 3. Tổng hợp benzyl *N*-[(9*H*-floren-9-ylmetoxy)carbonyl]-5,5,5-triflo-L-norvalinat (**C36**).

Hỗn hợp chứa **C35** (435 mg, 1,11mmol), benzyl bromua (0,263mL, 2,21mmol), và natri bicacbonat (464 mg, 5,52mmol) trong N,N-dimetylformamit (20mL) được khuấy trong 15 giờ ở 25°C. Sau khi hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (30mL) và được chiết bằng etyl axetat (3 x 30mL), lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa và 5% dung dịch nước lithi clorua, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 100% etyl axetat trong ete dầu mỏ) tạo ra **C36** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 510 mg, 1,05mmol, 95%. LCMS *m/z* 506,1 [M+Na$^+$].

Bước 4. Tổng hợp benzyl 5,5,5-triflo-L-norvalinat (**C37**).

Dietylamin (10mL) được bổ sung vào hỗn hợp 0°C chứa **C36** (510 mg, 1,05mmol) trong axetonitril (25mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 2 giờ, nó được cô trong điều kiện áp suất thấp; sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) sau đó tạo ra **C37** ở dạng dầu không màu. Hiệu suất: 250 mg, 0,957mmol, 91%. LCMS *m/z* 302,9 [M + CH_3CN + H]$^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 7,42 – 7,32 (m, 5H), 5,17 (s, 2H), 3,50 (dd, *J* = 8,4, 5,0 Hz, 1H), 2,32 – 2,13 (m, 2H), 2,01 (dddd, *J* = 13,7, 10,8, 5,2, 5,2 Hz, 1H), 1,76 (dddd, *J* = 13,6, 10,8, 8,4, 5,3 Hz, 1H).

Bước 5. Tổng hợp benzyl 5,5,5-triflo-*N*-[(4-metoxy-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]-L-norvalinat (**C38**).

Dung dịch 0°C gồm **C37** (250 mg, 0,957mmol) và axit 4-metoxy-1H-indol-2-carboxylic (220 mg, 1,15mmol) trong N,N-dimetylformamit (10mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 437 mg, 1,15mmol), tiếp đó là từng giọt bổ sung 4-metylmorpholin (194 mg, 1,92mmol). Khuấy liên tục ở 0°C đến 10°C trong 1 giờ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (20mL) và dung dịch nước axit xitric (20mL) và được chiết bằng etyl axetat (3 x 20mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (30mL), dung dịch nước natri clorua bão hòa, và dung dịch nước lithi clorua (5%, 20mL), sau đó được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được tinh chế sử dụng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 100% etyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra **C38** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 350 mg, 0,806mmol, 84%. LCMS *m/z* 435,1 [M+H]$^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 9,09 (br s, 1H), 7,42 – 7,33 (m, 5H), 7,23 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,09 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,76 (br d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,53 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,25 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 12,1 Hz, $\Delta\nu_{AB}$

= 11,4 Hz, 2H), 4,94 – 4,87 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 2,35 – 2,14 (m, 2H), 2,14 – 1,96 (m, 2H).

Bước 6. Tổng hợp 5,5,5-triflo-*N*-[(4-metoxy-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]-L-norvalin (**C39**).

Hỗn hợp chứa **C38** (350 mg, 0,806mmol) và paladi trên cacbon (10%, 85,7 mg, 80,5 μmol) trong metanol (10mL) được hydro hóa trong 16 giờ ở 20°C và 15 psi. Hỗn hợp phản ứng sau đó được lọc, và bánh lọc được rửa bằng metanol (10mL); các phần dịch lọc gom lại được cô trong chân không và được tiến hành sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: etyl axetat) để cho **C39** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 270 mg, 0,784mmol, 97%. LCMS *m/z* 345,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,62 (br s, 1H), 8,61 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,11 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,01 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,47 (ddd, *J* = 8,5, 8,5, 4,8 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 2,5 – 2,27 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,12 – 1,92 (m, 2H).

Bước 7. Tổng hợp 5,5,5-triflo-*N*-[(4-metoxy-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]-L-norvalyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C40**).

Hỗn hợp 0°C chứa **C16** (58,2 mg, 0,218mmol) và **C39** (75,0 mg, 0,218mmol) trong N,N-dimetylformamit (4mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 99,4 mg, 0,261mmol) và 4-metylmorpholin (44,1 mg, 0,436mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1 giờ, nó được pha loãng bằng nước (20mL) và dung dịch nước axit xitric (1 M; 20mL), và được chiết bằng etyl axetat (3 x 30mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (20mL) và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (3 x 20mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký trên silicagel (dung môi rửa giải: 10:1 etyl axetat / metanol) tạo ra **C40** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 72 mg, 0,145mmol, 66%. LCMS *m/z* 498,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,60 (br s, 1H), 8,52 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 8,20 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,42 – 7,33 (m, 2H), 7,14 – 7,05 (m, 2H), 7,00 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,58 – 4,46 (m, 1H), 4,32 – 4,22 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,18 – 3,02 (m, 2H), 2,45 – 2,21 (m, 3H), 2,18 – 2,07 (m, 1H), 2,06 – 1,88 (m, 3H), 1,73 – 1,59 (m, 1H), 1,59 – 1,48 (m, 1H).

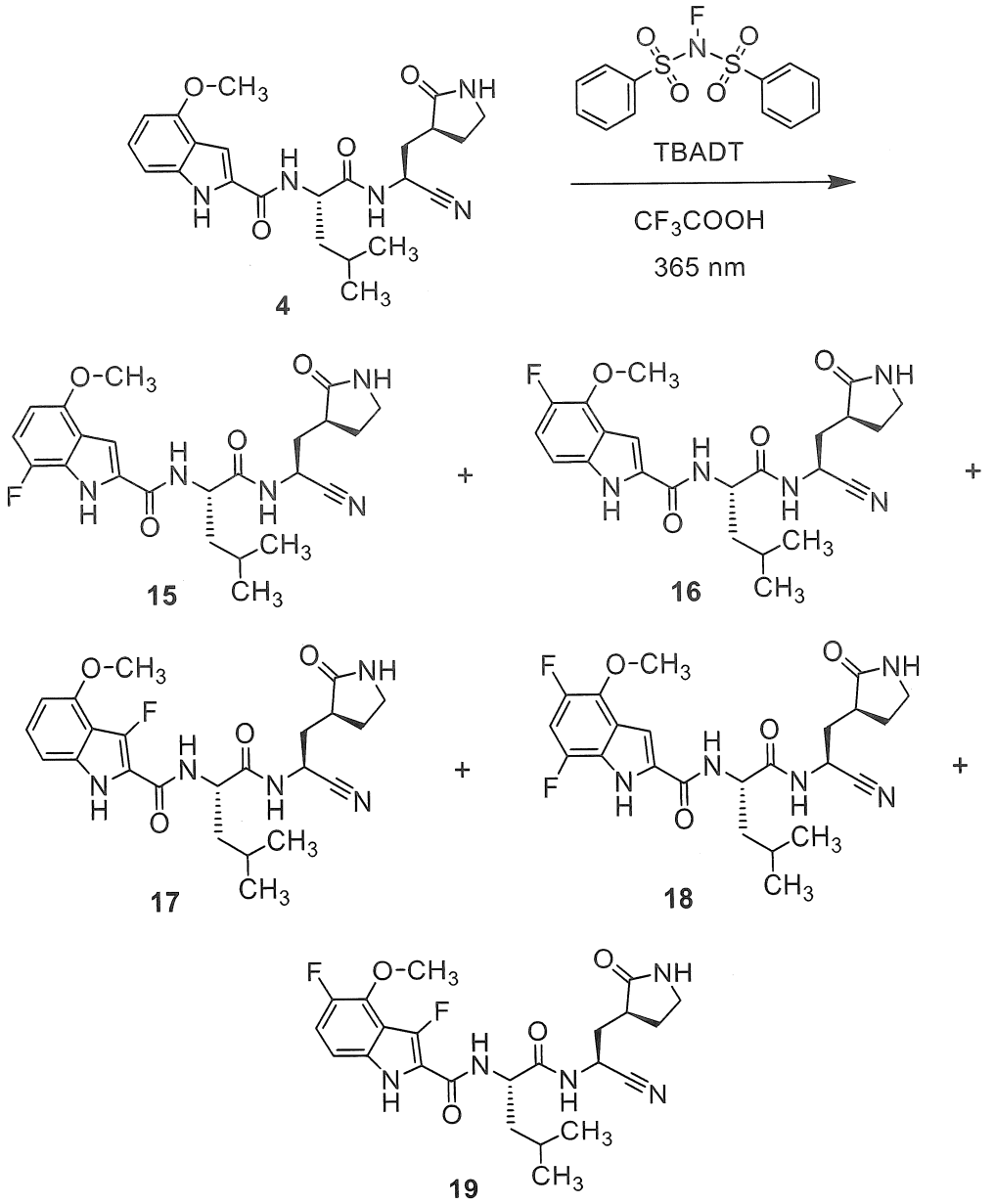
Bước 8. Tổng hợp *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**14**).

Hỗn hợp chứa **C40** (52 mg, 0,10mmol) trong diclometan (13mL) được bổ sung metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 37 mg, 0,16mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, trong khi đó metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 37 mg, 0,16mmol) được bổ sung lại, và khuấy liên tục trong 16 giờ. Bổ sung lần cuối metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 24,9 mg, 0,105mmol) was tiếp đó là khuấy trong 2 giờ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (20mL) và được chiết bằng diclometan (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 20mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không; sắc ký bản mỏng điều chế (dung môi rửa giải: 20:1 etyl axetat / metanol) tạo ra *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**14**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 17,4 mg, 36,3 µmol, 36%. Nguyên liệu này được kết hợp với sản phẩm được tinh chế từ hai quy trình tổng hợp khác của **14** (3 mg và 4 mg) và tiến hành sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies ChiralCel OD-H, 30 x 250 mm, 5 µm; Pha động: 7:3 cacbon dioxit / (etanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 60mL/phút] để tạo ra *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**14**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 11,3 mg, 23,6 µmol, 46% đối với sắc ký lỏng siêu đến hạn. LCMS *m/z* 480,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,61 (br s, 1H), 8,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,61 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,37 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 7,11 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,01 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 5,03 – 4,94 (m, 1H), 4,51 – 4,43 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,19 – 3,07 (m, 2H), 2,43 – 2,28 (m, 3H), 2,20 – 2,08 (m, 2H), 2,06 – 1,92 (m, 2H), 1,86 – 1,76 (m, 1H), 1,76 – 1,64 (m, 1H).

Ví dụ 15, 16, 17, 18, và 19

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**15**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**16**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**17**),

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**18**), và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3,5-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**19**)



Hỗn hợp chứa **4** (10,0 mg, 22,8 µmol), tetra-*n*-butylamoni decatungstat (TBADT; 3,78 mg, 1,14 µmol), và *N*-flo-*N*-(phenylsulfonyl)benzensulfonamit (8,61 mg, 27,3 µmol) được xử lý bằng axetonitril (0,75mL), nước (0,5mL), và axit trifloaxetic (1,74 uL, 22,6 µmol) trong môi trường khí agon. Lọ phản ứng sau đó được đậy kín, được đặt trong hộp EvoluChem™ PhotoRedOx được trang bị quạt, và được chiếu sáng bằng ánh sáng đen (PAR20-18W LG 365 nm, 100-240 VAC) ở 25°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được

bổ sung dung dịch nước kali phosphat (1 M, độ pH 7,45; 1mL), tiếp đó là các phân ước khác gồm nước và axetonitril để duy trì dung dịch trong ở thể tích cuối là 18mL. Các phân ước (3mL) của hỗn hợp này được áp dụng đối với các hộp chiết pha rắn Biotage Isolute C18 mà đã được chuẩn bị điều kiện sẵn với metanol (3mL) tiếp đó là nước (3mL). Các hộp được rửa bằng nước (3mL) và với 20% axetonitril trong 20 mM dung dịch nước amoni axetat (3mL), sau đó được rửa giải bằng axetonitril (3mL). Sau đó dịch rửa giải được làm bay hơi trong máy ly tâm chân không, phần lắng cặn được hoàn nguyên trong hỗn hợp chứa 1% nước axit formic và axetonitril, và kết hợp thành tổng là 6mL. Dung dịch này được chia đôi, và mỗi nửa được tiến hành HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18,10 x 250 mm, 10 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 70% B trong 70 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 15 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây, và các phân đoạn tương tự quan tâm từ hai phần tách được gộp lại và được cô. Các phân đoạn này còn được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Agilent Polaris C18, 4,6 x 250 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 10 mM amoni axetat; Pha động B: axetonitril; gradien: 10% B trong 5 phút, sau đó 10% đến 35% B trong hơn 35 phút, sau đó 35% đến 60% B trong 15 phút, sau đó 60% đến 95% B trong 9 phút; Tốc độ chảy: 0,8mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây, thu được *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**15**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**16**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**17**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**18**), và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3,5-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**19**).

Số ví dụ	Thời gian lưu, tinh chế HPLC thứ nhất (phút)	Thời gian lưu, tinh chế HPLC thứ hai (phút)
15	57,1	45,1
16	57,7	45,9
17	58,6	46,7

18	59,9	47,9
19	61,7	49,5

15 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 172–174; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 136–137. Hiệu suất: 58 µg, 0,13 µmol, 0,6%. MS rửa giải cao *m/z* 458,2201 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{29}FN_5O_4$, 458,2204. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 12,05 (br s, 1H), 8,93 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,51 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,37 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,92 (dd, *J* = 10,8, 8,6 Hz, 1H), 6,42 (dd, *J* = 8,4, 2,5 Hz, 1H), 5,01 – 4,94 (m, 1H), 4,50 – 4,43 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,18 – 3,07 (m, 2H), 2,40 – 2,31 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 2H), 1,85 – 1,76 (m, 1H), 1,76 – 1,64 (m, 3H), 1,58 – 1,49 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). Thời gian lưu: 7,90 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 5% B trong 0,5 phút, sau đó 5% đến 70% B trong 10,5 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 2 phút; Tốc độ chảy: 0,4mL/phút).

16 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 172–174; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 138–139. Hiệu suất: 153 µg, 0,33 µmol, 1,4%. MS rửa giải cao *m/z* 458,2201 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{29}FN_5O_4$, 458,2204. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,73 (br s, 1H), 8,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,61 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,09 – 7,03 (m, 2H), 5,01 – 4,94 (m, 1H), 4,51 – 4,43 (m, 1H), 4,06 (s, 3H), 3,18 – 3,07 (m, 2H), 2,40 – 2,31 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 2H), 1,80 (ddd, *J* = 13,6, 9,2, 7,2 Hz, 1H), 1,76 – 1,65 (m, 3H), 1,58 – 1,50 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). Thời gian lưu: 7,94 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **15**).

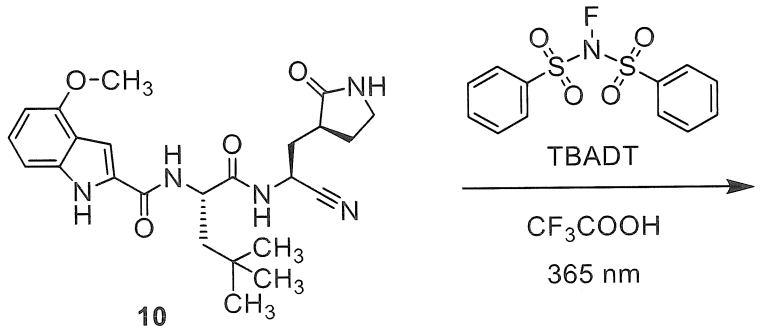
17 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 176–177; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 141–142. Hiệu suất: 22 µg, 0,048 µmol, 0,21%. MS rửa giải cao *m/z* 458,2199 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{29}FN_5O_4$, 458,2204. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,45 (s, 1H), 8,94 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,62 (br d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,16 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 6,95 (br d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,54 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,02 – 4,94 (m, 1H), 4,54 – 4,46 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,19 – 3,07 (m, 2H), 2,41 – 2,31 (m, 1H), 2,20 – 2,08 (m, 2H), 1,85 – 1,77 (m, 1H), 1,76 – 1,63 (m, 3H), 1,61 – 1,53 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,91 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). Thời gian lưu: 8,06 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **15**).

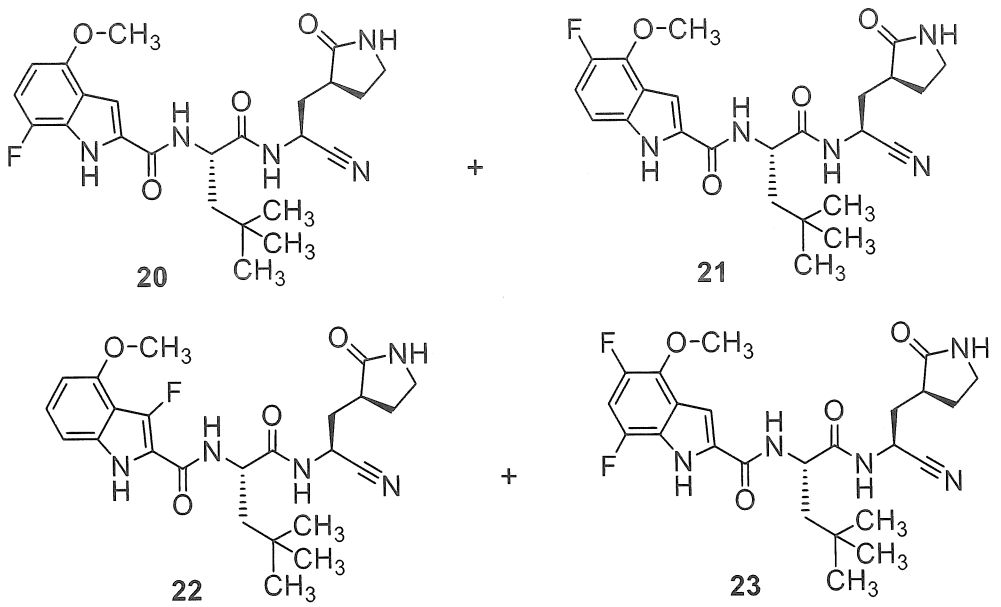
18 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 180–181; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 145. Hiệu suất: 17 µg, 0,036 µmol, 0,16%. MS rửa giải cao *m/z* 476,2100 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{28}F_2N_5O_4$, 476,2109. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 12,23 (s, 1H), 8,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,62 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,52 – 7,48 (m, 1H), 7,13 (dd, *J* = 11, 11 Hz, 1H), 5,02 – 4,94 (m, 1H), 4,53 – 4,44 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,18 – 3,07 (m, 2H), 2,38 – 2,30 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 2H), 1,81 (ddd, *J* = 13,6, 9,1, 7,0 Hz, 1H), 1,76 – 1,65 (m, 3H), 1,59 – 1,51 (m, 1H), 0,95 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 0,90 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H). Thời gian lưu: 8,20 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **15**).

19 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 185–187; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 150–151. Hiệu suất: 35 µg, 0,074 µmol, 0,32%. MS rửa giải cao *m/z* 476,2107 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{28}F_2N_5O_4$, 476,2109. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,64 (s, 1H), 8,94 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,80 (br d, *J* = 7 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,16 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 11,9, 9,1 Hz, 1H), 7,08 (br d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,02 – 4,94 (m, 1H), 4,55 – 4,47 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,19 – 3,08 (m, 2H), 2,41 – 2,32 (m, 1H), 2,19 – 2,10 (m, 2H), 1,81 (ddd, *J* = 13,7, 9,0, 7,2 Hz, 1H), 1,77 – 1,63 (m, 3H), 1,57 (ddd, *J* = 12,9, 8,4, 4,8 Hz, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,91 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). Thời gian lưu: 8,44 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **15**).

Ví dụ 20, 21, 22, và 23

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**20**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**21**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**22**), và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**23**)





Hỗn hợp chứa **10** (10,0 mg, 22,0 μmol), tetra-*n*-butylamoni decatungstat (TBADT; 3,66 mg, 1,10 μmol), và *N*-flo-*N*-(phenylsulfonyl)benzensulfonamit (8,34 mg, 26,4 μmol) được xử lý bằng axetonitril (0,75mL), nước (0,5mL), và axit trifloaxetic (1,69 uL, 21,9 μmol) trong môi trường khí agon. Lọ phản ứng sau đó được đậy kín, được đặt trong hộp EvoluChem™ PhotoRedOx được trang bị quạt, và được chiếu sáng bằng ánh sáng đen (PAR20-18W LG 365 nm, 100-240 VAC) ở 25°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được bổ sung dung dịch nước kali phosphat (1 M, độ pH 7,45; 1mL), tiếp đó là các phân ước khác của nước và axetonitril để duy trì dung dịch trong ở thể tích cuối là 18mL. Các phân ước (3mL) của hỗn hợp này được áp dụng đối với các hộp chiết pha rắn Biotage Isolute C18 đã được chuẩn bị điều kiện sẵn với metanol (3mL) tiếp đó là dung dịch nước amoni axetat (10 mM; 3mL). Các hộp được rửa bằng dung dịch nước amoni axetat (10 mM; 3mL) và với 20% axetonitril trong 20 mM amoni axetat (3mL), sau đó được rửa giải bằng axetonitril (3mL). Sau đó dịch rửa giải được làm bay hơi trong máy ly tâm chân không, phần lắng cặn được hoàn nguyên trong hỗn hợp chứa 1% nước axit formic và axetonitril, và kết hợp đến tổng là 6mL. Dung dịch này được chia đôi, và mỗi nửa được tiến hành HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18,10 x 250 mm, 10 μm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 70% B trong 70 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 15 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây, và các phân đoạn tương tự quan tâm từ hai phần tách được gộp lại và được cô. Các phân đoạn này còn được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Agilent Polaris C18, 4,6 x 250 mm, 5 μm; Pha động A: nước chứa 10 mM amoni

axetat; Pha động B: axetonitril; gradien: 10% B trong 5 phút, sau đó tăng tức thì đến 20% B, sau đó 20% đến 40% B trong hơn 35 phút, sau đó 40% đến 60% B trong 15 phút, sau đó 60% đến 95% B trong 9 phút; Tốc độ chảy: 0,8mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây, thu được *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**20**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**21**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**22**), và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit (**23**).

Số ví dụ	Thời gian lưu, tinh chế HPLC thứ nhất (phút)	Thời gian lưu, tinh chế HPLC thứ hai (phút)
20	61,2	49,8
21	61,2	50,2
22	62,3	50,8
23	63,5	51,9

20 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 183–185; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 150–151. Hiệu suất: 24 µg, 0,051 µmol, 0,23%. MS rửa giải cao *m/z* 472,2342 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{24}H_{31}FN_5O_4$, 472,2360. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 12,05 (br s, 1H), 8,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,52 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,37 – 7,32 (m, 1H), 6,92 (dd, *J* = 10,9, 8,4 Hz, 1H), 6,41 (dd, *J* = 8,5, 2,7 Hz, 1H), 5,00 – 4,93 (m, 1H), 4,52 (ddd, *J* = 8,5, 8,2, 3,7 Hz, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,17 – 3,05 (m, 2H), 2,38 – 2,30 (m, 1H), 2,18 – 2,06 (m, 2H), 1,85 – 1,64 (m, 4H), 0,94 (s, 9H). Thời gian lưu: 8,32 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 5% B trong 0,5 phút, sau đó 5% đến 70% B trong 10,5 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 2 phút; Tốc độ chảy: 0,4mL/phút).

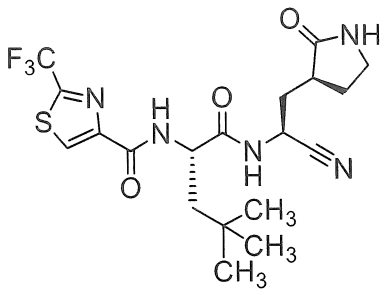
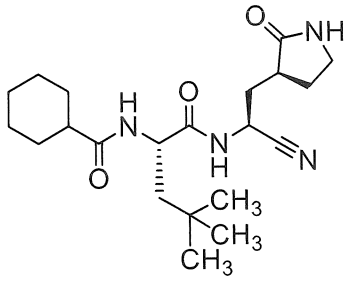
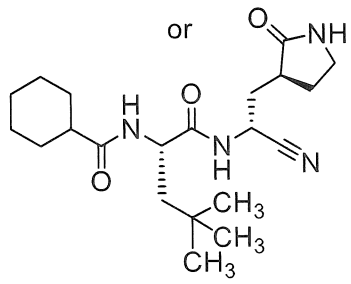
21 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 183–185; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 152–153. Hiệu suất: 68 µg, 0,14 µmol, 0,64%. MS rửa giải cao *m/z* 472,2344 $[M+H]^+$; được tính

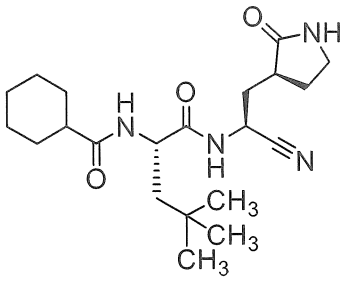
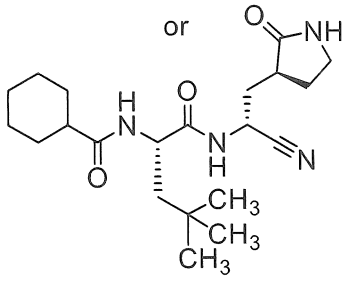
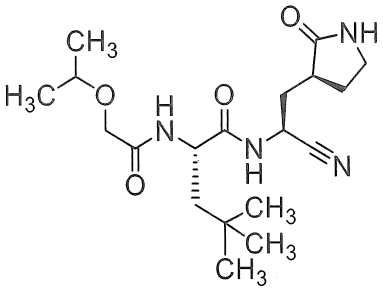
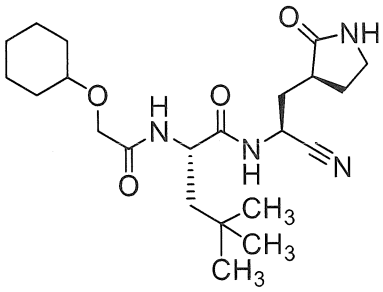
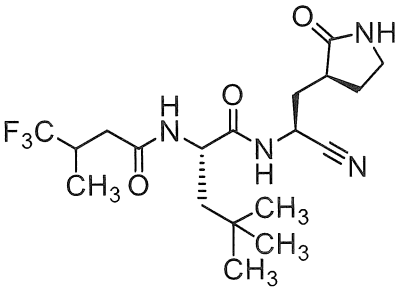
toán đối với $C_{24}H_{31}FN_5O_4$, 472,2360. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,72 (br s, 1H), 8,91 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,59 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,47 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,09 – 7,04 (m, 2H), 5,00 – 4,93 (m, 1H), 4,52 (ddd, J = 8,5, 8,5, 3,8 Hz, 1H), 4,06 (br s, 3H), 3,17 – 3,05 (m, 2H), 2,39 – 2,31 (m, 1H), 2,18 – 2,06 (m, 2H), 1,84 – 1,77 (m, 1H), 1,78 (dd, J = 13,9, 9,0 Hz, 1H), 1,74 – 1,64 (m, 2H), 0,94 (s, 9H). Thời gian lưu: 8,34 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **20**).

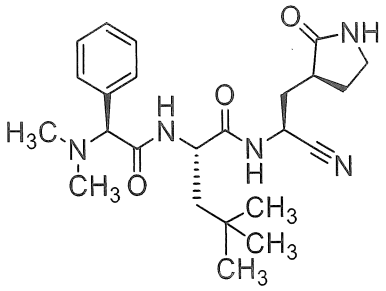
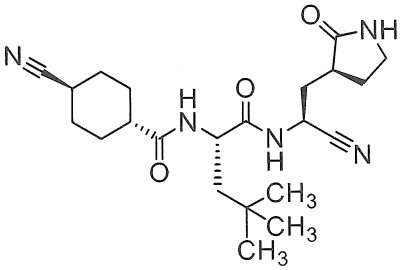
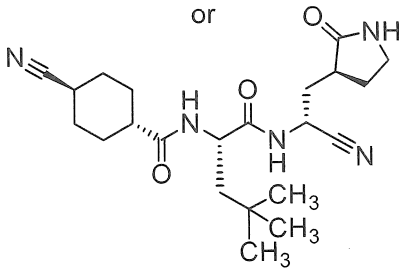
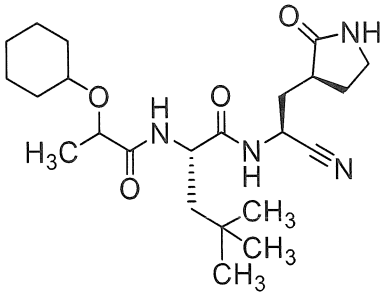
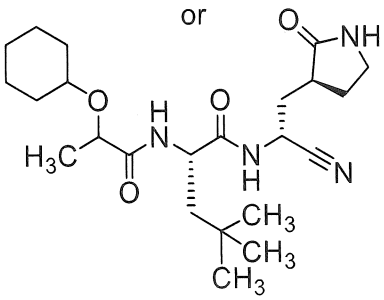
22 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 187–188; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 154. Hiệu suất: 5 µg, 0,011 µmol, 0,05%. MS rửa giải cao *m/z* 472,2354 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{24}H_{31}FN_5O_4$, 472,2360. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,45 (s, 1H), 8,91 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,57 (dd, J = 8,2, 3,6 Hz, 1H), 7,15 (dd, J = 8, 8 Hz, 1H), 6,95 (br d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,54 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,00 – 4,94 (m, 1H), 4,56 – 4,49 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,18 – 3,07 (m, 2H), 2,40 – 2,32 (m, 1H), 2,17 – 2,09 (m, 2H), 1,84 – 1,77 (m, 1H), 1,76 – 1,65 (m, 3H), 0,95 (s, 9H). Thời gian lưu: 8,51 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **20**).

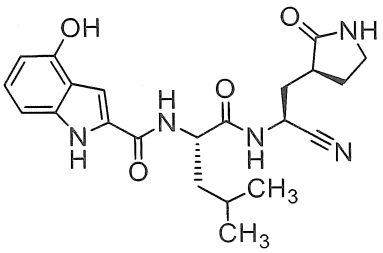
23 – Tách lần thứ nhất, số phân đoạn 190–192; Tách lần thứ hai, số phân đoạn 156-157. Hiệu suất: 21 µg, 0,043 µmol, 0,19%. MS rửa giải cao *m/z* 490,2258 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{24}H_{30}F_2N_5O_4$, 490,2266. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 12,24 (s, 1H), 8,95 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,64 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,49 – 7,47 (m, 1H), 7,13 (dd, J = 11,1, 11,1 Hz, 1H), 5,00 – 4,93 (m, 1H), 4,54 (ddd, J = 8, 8, 4,1 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,17 – 3,06 (m, 2H), 2,38 – 2,30 (m, 1H), 2,18 – 2,07 (m, 2H), 1,85 – 1,65 (m, 4H), 0,95 (s, 9H). Thời gian lưu: 8,65 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong **20**).

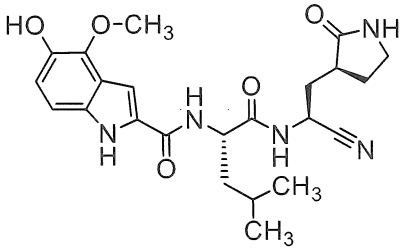
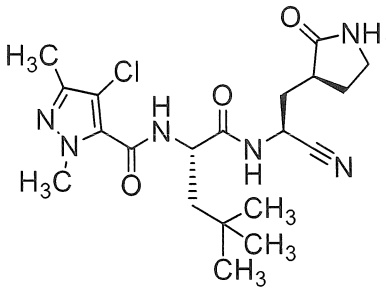
Bảng 1. Phương pháp tổng hợp, cấu trúc, và dữ liệu hóa lý đối với các ví dụ 24 – 74.

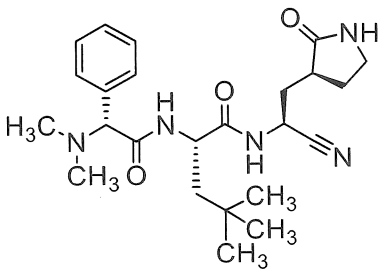
Ví dụ #	Phương pháp tổng hợp; Nguyên liệu ban đầu không phải loại thương mại	Cấu trúc	^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ; Phổ khối, ion được quan sát *m/z* $[M+H]^+$ hoặc thời gian lưu HPLC; Phổ khối *m/z* $[M+H]^+$ (trừ khi có chỉ dẫn khác)
24	Ví dụ 10; **C18**		^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 8,58 (s, 1H), 5,04 (dd, *J* = 9,9, 6,1 Hz, 1H), 4,64 (dd, *J* = 8,7, 4,1 Hz, 1H), 3,34 – 3,23 (m, 2H; được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,61 – 2,50 (m, 1H), 2,35 – 2,24 (m, 2H), 1,96 – 1,76 (m, 4H), 1,01 (s, 9H); 460,4
25	Ví dụ 8 và 9[1,2]; **C28**	 or  DIAST-1	2,29 phút[3]; 391,4

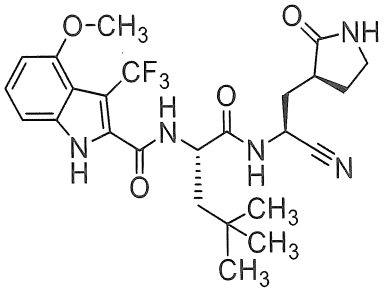
26	Ví dụ 8 và 9[1,2]; **C28**	 or  DIAST-2	2,69 phút[3]; 391,4
27	Ví dụ 7; **C28**		2,18 phút[4]; 381,4
28	Ví dụ 7; **C28**		2,61 phút[4]; 421,5
29	Ví dụ 7; **C28**		2,31 phút[4]; 419,4

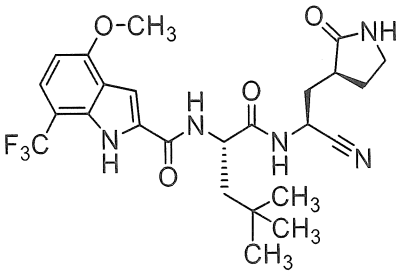
30	Ví dụ 7[1]; **C28**		1,59 phút[4]; 442,5[5]
31	**C29**[6]	 or 	2,06 phút[4]; 416,5
32	**C29**[6]	 or 	2,67 phút[4]; 435,6

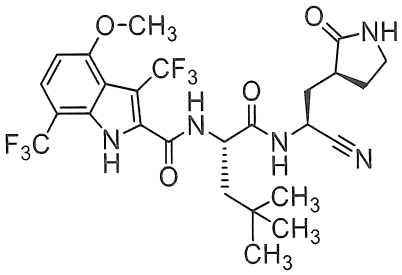
33	Ví dụ 4[7]		11,40 (s, 1H), 9,60 (br s, 1H), 8,90 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,44 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,95 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 6,85 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,36 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,02 – 4,93 (m, 1H), 4,50 – 4,41 (m, 1H), 3,17 – 3,07 (m, 2H), 2,41 – 2,31 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 2H), 1,80 (ddd, *J* = 13,6, 9,4, 6,8 Hz, 1H), 1,76 – 1,65 (m, 3H), 1,57 – 1,48 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H); MS rửa giải cao *m/z* 426,2139 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{22}H_{28}N_5O_4$, 426,2141

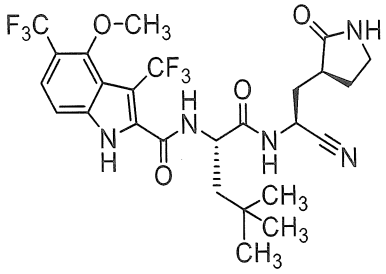
34	Ví dụ 4[7]		11,34 (s, 1H), 8,91 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,46 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 6,95 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 5,02 – 4,93 (m, 1H), 4,50 – 4,41 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,18 – 3,06 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,39 – 2,31 (m, 1H), 2,20 – 2,07 (m, 2H), 1,84 – 1,65 (m, 4H), 1,58 – 1,49 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H); MS rửa giải cao *m/z* 456,2238 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{30}N_5O_5$, 456,2247
35	Ví dụ 11[8]; **C18**		2,39 phút[4]; 437,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)

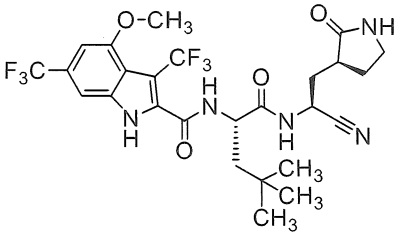
36	Ví dụ 11; **C18**		^{1}H NMR (600 MHz, metanol-d_4) δ 7,45 – 7,40 (m, 2H), 7,34 – 7,27 (m, 3H), 4,98 (dd, *J* = 10,5, 5,6 Hz, 1H), 4,27 (dd, *J* = 8,4, 4,3 Hz, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,28 – 3,23 (m, 1H), 3,20 (ddd, *J* = 9,5, 9,3, 7,1 Hz, 1H), 2,57 – 2,49 (m, 1H), 2,27 (ddd, *J* = 13,8, 10,5, 5,2 Hz, 1H), 2,21 – 2,13 (m, 1H), 2,17 (s, 6H), 1,85 (ddd, *J* = 13,8, 9,7, 5,7 Hz, 1H), 1,79 – 1,70 (m, 1H), 1,67 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,4, 4,3 Hz, 1H), 1,59 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,4, 8,4 Hz, 1H), 0,84 (s, 9H); 442,5

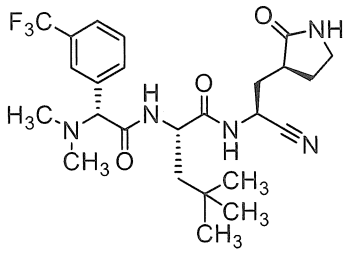
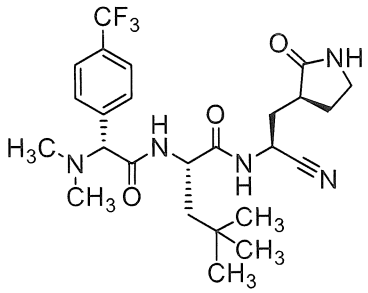
37	Ví dụ 5 và 6[9]; Ví dụ 10		12,13 (s, 1H), 8,96 (br d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,21 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,00 – 4,92 (m, 1H), 4,52 – 4,45 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,20 – 3,15 (m, 1H), 3,14 – 3,08 (m, 1H), 2,43 – 2,34 (m, 1H), 2,23 – 2,13 (m, 2H), 1,85 – 1,78 (m, 1H), 1,78 – 1,68 (m, 2H), 1,59 (dd, *J* = 14,1, 6,6 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 522,2321 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{25}H_{31}F_3N_5O_4$, 522,2328; thời gian lưu 7,18 phút[10]

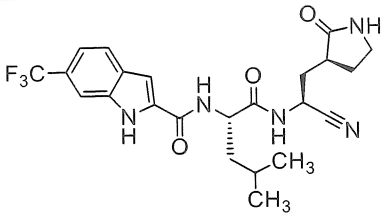
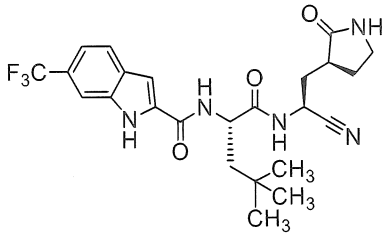
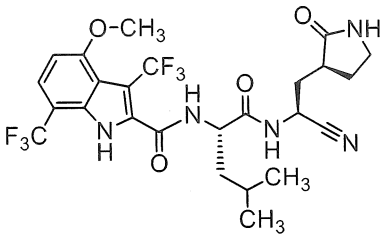
38	Ví dụ 5 và 6[9]; Ví dụ 10		11,41 (s, 1H), 8,96 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 8,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,72 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 5,01 – 4,94 (m, 1H), 4,62 – 4,55 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,17 – 3,11 (m, 1H), 3,11 – 3,04 (m, 1H), 2,38 – 2,30 (m, 1H), 2,18 – 2,07 (m, 2H), 1,86 – 1,78 (m, 1H), 1,77 – 1,64 (m, 3H), 0,95 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 522,2316 $[M+H]^+$; được tính toán đối với được tính toán đối với $C_{25}H_{31}F_3N_5O_4$, 522,2328; thời gian lưu 7,45 phút[10]

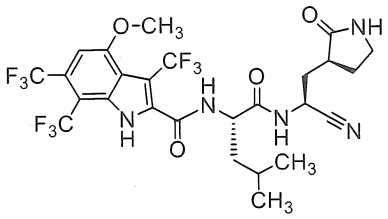
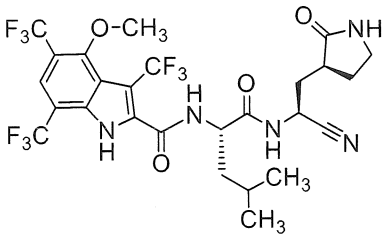
39	Ví dụ 5 và 6[9]; Ví dụ 10		9,08 (br s, 1H), 9,03 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,60 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,98 – 4,91 (m, 1H), 4,53 – 4,47 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,20 – 3,14 (m, 1H), 3,13 – 3,06 (m, 1H), 2,44 – 2,36 (m, 1H), 2,23 – 2,12 (m, 2H), 1,85 (dd, *J* = 13,9, 7,8 Hz, 1H), 1,80 (ddd, *J* = 13,6, 9,6, 6,5 Hz, 1H), 1,76 – 1,68 (m, 1H), 1,54 (dd, *J* = 13,9, 5,1 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 590,2177 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{26}H_{30}F_6N_5O_4$, 590,2202; thời gian lưu 7,70 phút[10]

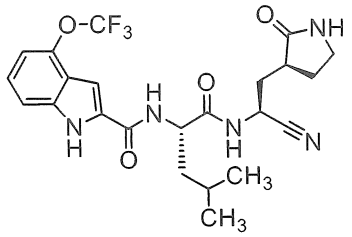
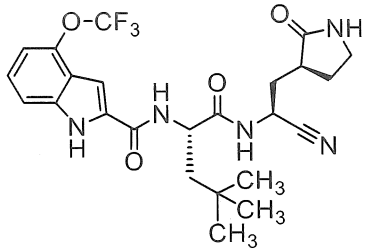
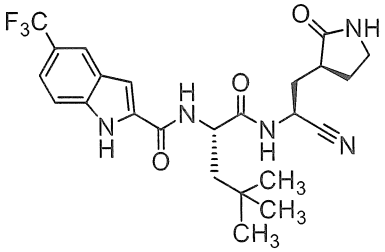
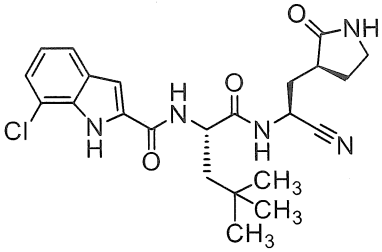
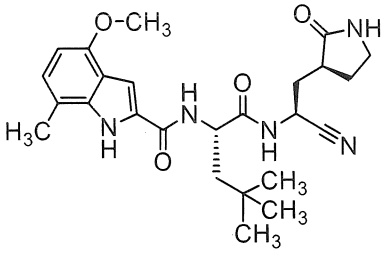
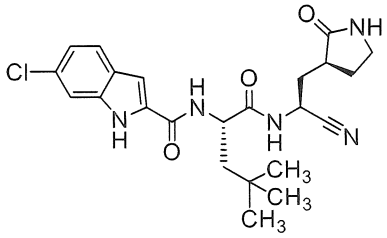
40	Ví dụ 5 và 6[9]; Ví dụ 10		12,76 (br s, 1H), 9,19 – 9,10 (m, 1H), 9,06 – 9,00 (m, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,49 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 8,6 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 48,9 Hz, 2H), 5,01 – 4,93 (m, 1H), 4,54 – 4,47 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,21 – 3,15 (m, 1H), 3,15 – 3,07 (m, 1H), 2,43 – 2,35 (m, 1H), 2,22 – 2,13 (m, 2H), 1,86 – 1,78 (m, 1H), 1,78 – 1,70 (m, 2H), 1,59 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 14,1, 6,5 Hz, 1H), 0,96 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 590,2181 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{26}H_{30}F_6N_5O_4$, 590,2202; thời gian lưu 7,79 phút[10]

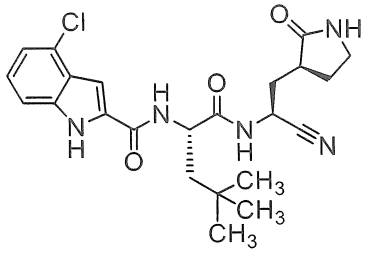
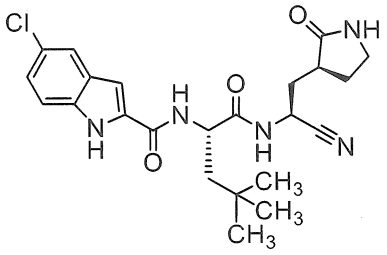
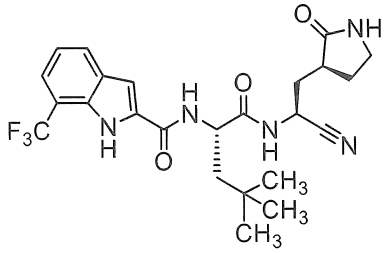
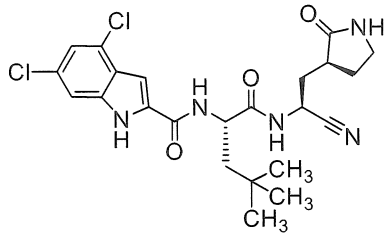
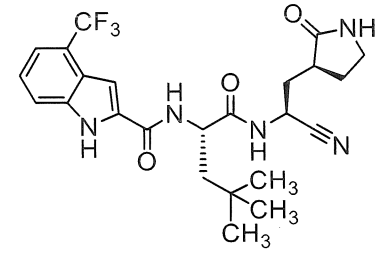
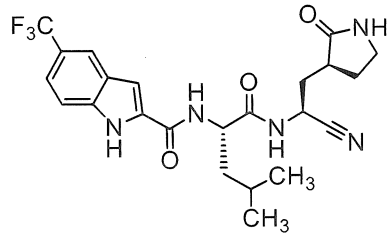
41	Ví dụ 5 và 6[9, 11]; Ví dụ 10		12,62 (s, 1H), 9,14 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 9,03 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 5,00 – 4,93 (m, 1H), 4,54 – 4,47 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,21 – 3,15 (m, 1H), 3,15 – 3,08 (m, 1H), 2,43 – 2,35 (m, 1H), 2,22 – 2,13 (m, 2H), 1,86 – 1,79 (m, 1H), 1,78 – 1,69 (m, 2H), 1,59 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,0, 6,4 Hz, 1H), 0,96 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 590,2175 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{26}H_{30}F_6N_5O_4$, 590,2202; thời gian lưu 7,84 phút[10]

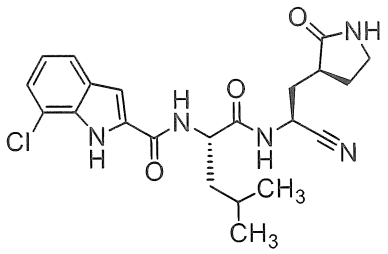
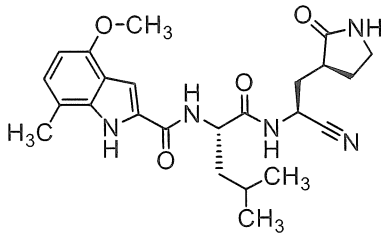
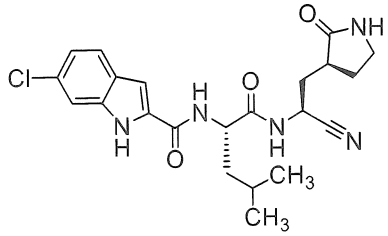
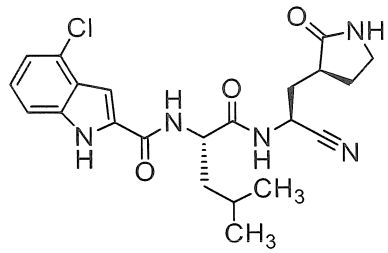
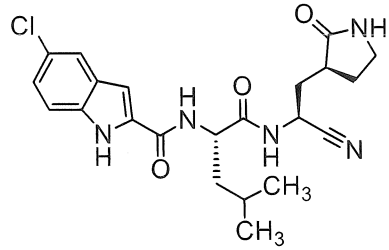
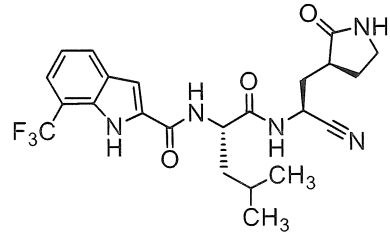
42	Ví dụ 5 và 6[12]; Ví dụ 36		8,92 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,45 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,71 (s, 2H), 7,67 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,64 – 7,60 (m, 1H), 7,58 – 7,52 (m, 1H), 4,99 – 4,87 (m, 1H), 4,24 – 4,17 (m, 1H), 3,92 (s, 1H), 3,20 – 3,10 (m, 1H), 3,09 – 3,00 (m, 1H), 2,36 – 2,27 (m, 1H), 2,19 – 2,00 (m, 2H), 2,08 (s, 6H), 1,81 – 1,64 (m, 2H), 1,49 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H), 0,74 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 510,2679 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{25}H_{35}F_3N_5O_3$, 510,2692; thời gian lưu 5,83 phút[10]
43	Ví dụ 5 và 6[12]; Ví dụ 36		8,93 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 8,42 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,63 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 7,6 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 48,8 Hz, 4H), 4,97 – 4,88 (m, 1H), 4,26 – 4,19 (m, 1H), 3,91 (s, 1H), 3,19 – 3,11 (m, 1H), 3,07 – 3,00 (m, 1H), 2,35 – 2,26 (m, 1H), 2,18 – 1,99 (m, 2H), 2,08 (s, 6H), 1,80 – 1,64 (m, 2H), 1,56 – 1,44 (m, 2H), 0,77 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 510,2676 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{25}H_{35}F_3N_5O_3$, 510,2692; thời gian lưu 5,92 phút[10]

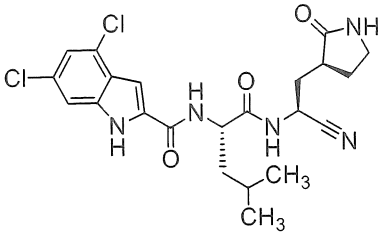
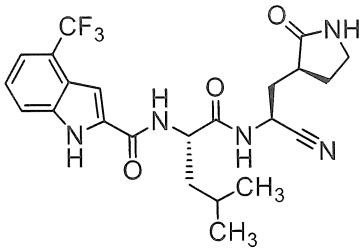
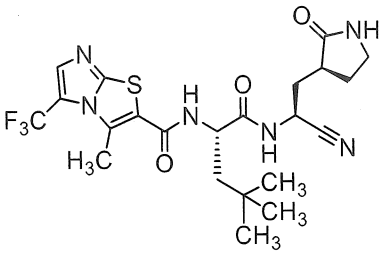
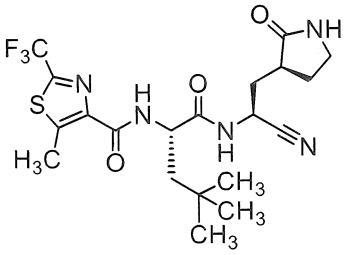
44	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,85 phút[4]; 478,6
45	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,95 phút[4]; 492,6
46	Ví dụ 5 và 6[13]; **4**		12,48 (s, 1H), 9,13 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,97 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,86 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 5,04 – 4,95 (m, 1H), 4,53 – 4,44 (m, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,22 – 3,14 (m, 1H), 3,14 – 3,06 (m, 1H), 2,44 – 2,34 (m, 1H), 2,24 – 2,10 (m, 2H), 1,87 – 1,77 (m, 1H), 1,77 – 1,61 (m, 2H), 1,61 – 1,50 (m, 2H), 0,98 – 0,89 (m, 6H); MS rửa giải cao *m/z* 576,2055 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{25}H_{28}F_6N_5O_4$, 576,2045; thời gian lưu 6,70 phút[14]

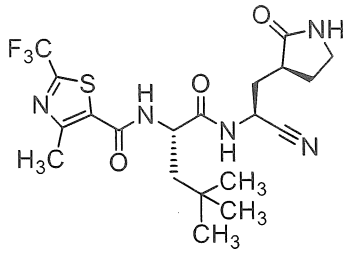
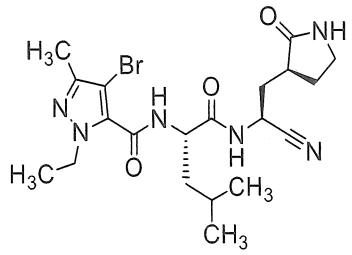
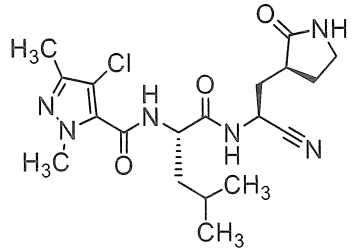
47	Ví dụ 5 và 6[13]; **4**		12,61 (s, 1H), 9,23 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 9,01 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 5,04 – 4,95 (m, 1H), 4,54 – 4,45 (m, 1H), 4,07 (s, 3H), 3,22 – 3,14 (m, 1H), 3,14 – 3,06 (m, 1H), 2,43 – 2,34 (m, 1H), 2,23 – 2,11 (m, 2H), 1,82 (ddd, *J* = 13,5, 9,0, 7,0 Hz, 1H), 1,78 – 1,61 (m, 2H), 1,61 – 1,49 (m, 2H), 0,99 – 0,89 (m, 6H); MS rửa giải cao *m/z* 644,1914 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{26}H_{27}F_9N_5O_4$, 644,1919; thời gian lưu 7,43 phút[14]
48	Ví dụ 5 và 6[13]; **4**		13,21 (s, 1H), 9,28 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 9,05 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 5,04 – 4,96 (m, 1H), 4,54 – 4,47 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,22 – 3,15 (m, 1H), 3,15 – 3,07 (m, 1H), 2,43 – 2,35 (m, 1H), 2,23 – 2,11 (m, 2H), 1,82 (ddd, *J* = 13,7, 9,0, 6,9 Hz, 1H), 1,78 – 1,63 (m, 2H), 1,61 – 1,51 (m, 2H), 0,98 – 0,91 (m, 6H); MS rửa giải cao *m/z* 644,1901 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{26}H_{27}F_9N_5O_4$, 644,1919; thời gian lưu 7,51 phút[14]

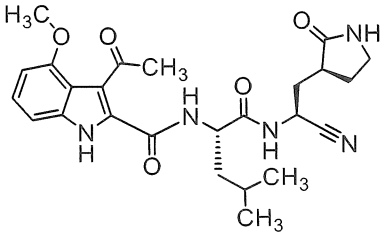
49	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,95 phút[4]; 494,4
50	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		3,04 phút[4]; 508,4
51	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		3,00 phút[4]; 492,4
52	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,84 phút[4]; 458,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
53	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,80 phút[4]; 468,5
54	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,89 phút[4]; 458,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)

55	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,90 phút[4]; 458,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
56	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,89 phút[4]; 458,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
57	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,95 phút[4]; 492,4
58	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		3,16 phút[4]; 492,3 (dạng chất đồng phân diclo được quan sát)
59	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,99 phút[4]; 492,4
60	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,91 phút[4]; 478,4

61	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,74 phút[4]; 444,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
62	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,70 phút[4]; 454,4
63	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,80 phút[4]; 444,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
64	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,81 phút[4]; 444,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
65	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,80 phút[4]; 444,4 (mẫu đồng phân clo được quan sát)
66	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,86 phút[4]; 478,4

67	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		3,08 phút[4]; 478,3 (dạng chất đồng phân diclo được quan sát)
68	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,91 phút[4]; 478,4
69	Ví dụ 5 và 6[15]; **7**		9,00 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,83 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 5,01 – 4,93 (m, 1H), 4,44 (ddd, *J* = 8, 8, 4,4 Hz, 1H), 3,20 – 3,14 (m, 1H), 3,14 – 3,08 (m, 1H), 2,66 (s, 3H), 2,42 – 2,34 (m, 1H), 2,20 – 2,08 (m, 2H), 1,81 (ddd, *J* = 13,5, 9,4, 6,7 Hz, 1H), 1,77 – 1,64 (m, 3H), 0,95 (s, 9H); MS rửa giải cao *m/z* 513,1873 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{22}H_{28}F_3N_6O_3S$, 513,1896; thời gian lưu 6,88 phút[10]
70	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,87 phút[4]; 474,5

71	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C18**		2,70 phút[4]; 474,5
72	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,41 phút[4]; 481,5 (mẫu đồng vị brom được quan sát)
73	Tổng hợp theo cách khác Ví dụ 6; **C26**		2,30 phút[4]; 423,5 (mẫu đồng phân clo được quan sát)

74	**4**[16]		12,20 (s, 1H), 8,99 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,97 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,24 (dd, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,12 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,69 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,01 – 4,93 (m, 1H), 4,47 – 4,41 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,18 – 3,08 (m, 2H), 2,57 (s, 3H), 2,40 – 2,32 (m, 1H), 2,19 – 2,09 (m, 2H), 1,81 (ddd, *J* = 13,5, 9,3, 6,8 Hz, 1H), 1,75 – 1,63 (m, 2H), 1,59 (dd, *J* = 7,5, 6,8 Hz, 2H), 0,95 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,91 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); MS rửa giải cao *m/z* 482,2391 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{25}H_{32}N_5O_5$, 482,2403; thời gian lưu 8,38 phút[10]

1. Trong trường hợp này, **C28** được khử bảo vệ sử dụng axit metanesulfonic, chứ không phải là hydro clorua.

2. Epime trong Ví dụ 25 và Ví dụ 26 được tách bằng sắc ký lỏng siêu đến hạn (Cột: Chiral Technologies Chiralpak IB, 21 x 250 mm, 5 µm; Pha động: 9:1 cacbon dioxit / metanol; Áp suất ngược: 120 bar, Tốc độ chảy: 75mL/phút). Chất đồng phân không đối quang rửa giải lần thứ nhất được chỉ ra như ở Ví dụ 25, và chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai như ở Ví dụ 26.

3. Các điều kiện đối với HPLC phân tích. Cột: Chiral Technologies Chiralpak IB, 4,6 x 100 mm, 5 µm; Pha động: 85:15 cacbon dioxit / metanol; Áp suất ngược: 120 bar; Tốc độ chảy: 1,5mL/phút.

4. Các điều kiện đối với HPLC phân tích. Cột: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5,0% đến 95% B, tuyến tính trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút.

5. ^{1}H NMR của Ví dụ 30 trước khi tinh chế lần cuối: ^{1}H NMR (400 MHz, metanol-d_4) δ 7,48 – 7,42 (m, 2H), 7,36 – 7,26 (m, 3H), 4,90 (dd, J = 10,5, 5,7 Hz, 1H), 4,37 (dd, J = 7,7, 4,9 Hz, 1H), 3,69 (s, 1H), 3,25 (ddd, J = 9,9, 8,9, 2,5 Hz, 1H), 3,18 (ddd, J = 9,6, 9,0, 7,1 Hz, 1H), 2,40 – 2,29 (m, 1H), 2,20 (s, 6H), 2,2 – 2,10 (m, 1H), 2,09 – 1,99 (m, 1H), 1,80 – 1,61 (m, 2H), 1,73 (dd, J = 14,5, 5,0 Hz, 1H), 1,61 (dd, J = 14,4, 7,8 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H).

6. Amit liên hợp với axit carboxylic thích hợp được thực hiện sử dụng 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit trioxit.

7. Ví dụ 4 (25 µM) được ủ với sắc tố tế bào P450 3A5 của người (4 nmol) trong dung dịch đệm kali phosphat (100 mM, độ pH = 7,4; 40mL) chứa magie clorua (3,3 mM), và NADPH (1,3 mM). Quá trình ủ được thực hiện trong 0,75 giờ trong bể nước lắc được duy trì ở 37°C. Quá trình ủ được kết thúc bằng cách bổ sung thể tích bằng nhau của axetonitril, trong khi đó hỗn hợp được quay trong máy ly tâm ở 1700 x g trong 5 phút, và dịch nổi trên bề mặt được ly tâm chân không trong xấp xỉ 1,5 giờ. Hỗn hợp này được bổ sung axit formic (0,5mL), axetonitril (0,5mL), và nước tới thể tích cuối là 50mL, và hỗn hợp thu được được quay trong máy ly tâm ở 40000 x g trong 30 phút. Dịch nổi trên bề mặt được tiến hành HPLC pha đảo (Cột: Polaris C18, 4,6 x 250 mm; 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: metanol; gradien: 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 35% B trong 75 phút, sau đó 35% đến 95% B trong 10 phút; Tốc độ chảy: 0,8mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây. Nguyên liệu rửa giải thứ nhất, hợp chất không tinh khiết của Ví dụ 33, được rửa giải ở 54,7 phút, và Ví dụ 34 được rửa giải ở 55,3 phút. Hợp chất không tinh khiết của Ví dụ 33 được tinh chế sử dụng HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 µm; Pha động A: nước chứa 0,5% axit axetic; Pha động B: 9:1 axetonitril / metanol; gradien: 10% B trong 0,5 phút, sau đó 10% đến 35% trong 26,5 phút, sau đó 35% đến 60% B trong hơn 3 phút; Tốc độ chảy 0,5mL/phút); các phân đoạn được thu gom cách nhau 15 giây. Trong hệ thống này, hợp chất Ví dụ 33 có thời gian lưu là 12,7 phút; hợp chất bổ sung của Ví dụ 34 được rửa giải ở 13,5 phút.

8. Axit 4-clo-1,3-dimetyl-1H-pyrazol-5-carboxylic cần thiết có thể được điều chế bằng cách thủy phân etyl este đang có trên thị trường.

9. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng axetonitril và 1% nước axit formic, tới thể tích xấp xỉ 2mL; chế phẩm dung môi cuối là chế phẩm sao cho hỗn hợp xuất hiện trong suốt, với hàm lượng axetonitril xấp xỉ 20% đến 30%. Các hợp phần của hỗn hợp này được tách bằng HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18, 10 x 250 mm, 10 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 70% B trong 70 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 15 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút); các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây. Hợp chất của Ví dụ 37, 38, 39, 40, và 41 được rửa giải ở các thời gian lưu được đưa ra dưới đây.

Ví dụ	Thời gian lưu (phút)
37	64,9
38	68,4
39	72,1
40	73,5
41	74,2

10. Các điều kiện đối với HPLC phân tích. Cột: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 5% B trong 0,5 phút, sau đó 5% đến 70% B trong 10,5 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 2 phút; Tốc độ chảy: 0,4mL/phút.

11. Hóa lập thể của hợp chất Ví dụ 41 không được xác định nghiêm ngặt; các cấu trúc có thể có khác đối với ví dụ này là *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-5,6-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-6,7-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit.

12. Hỗn hợp phản ứng được tinh chế sử dụng các điều kiện được mô tả trong ghi chú cuối trang 9. Hợp chất của Ví dụ 42 được rửa giải ở 58,1 phút và hợp chất của Ví dụ 43 được rửa giải ở 59,2 phút.

13. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng hỗn hợp chứa axetonitril (0,3mL) và 1% nước axit formic (0,7mL). Hỗn hợp thu được được ly tâm, và dịch nổi trên bề mặt được tiến

hành HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18, 10 x 250 mm, 10 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 2% đến 10% B trong 5,0 phút, sau đó 10% đến 95% B trong 95 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút); các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây. Hợp chất của Ví dụ 46, 47, và 48 được rửa giải ở các thời gian lưu được đưa ra dưới đây. Hợp chất của Ví dụ 5 cũng được tách ra từ phản ứng này, trong các phân đoạn 189–190.

Ví dụ	Số phân đoạn
46	207
47	225–226
48	231–232

14. Các điều kiện đối với HPLC phân tích. Cột: Phenomenex Kinetex C18, 2,1 x 50 mm, 1,7 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril chứa 0,1% axit formic; gradien: 5% B trong 0,5 phút, sau đó 5% đến 50% B trong 6,0 phút, sau đó 50% đến 80% B trong 1,5 phút, sau đó 80% đến 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 0,4mL/phút.

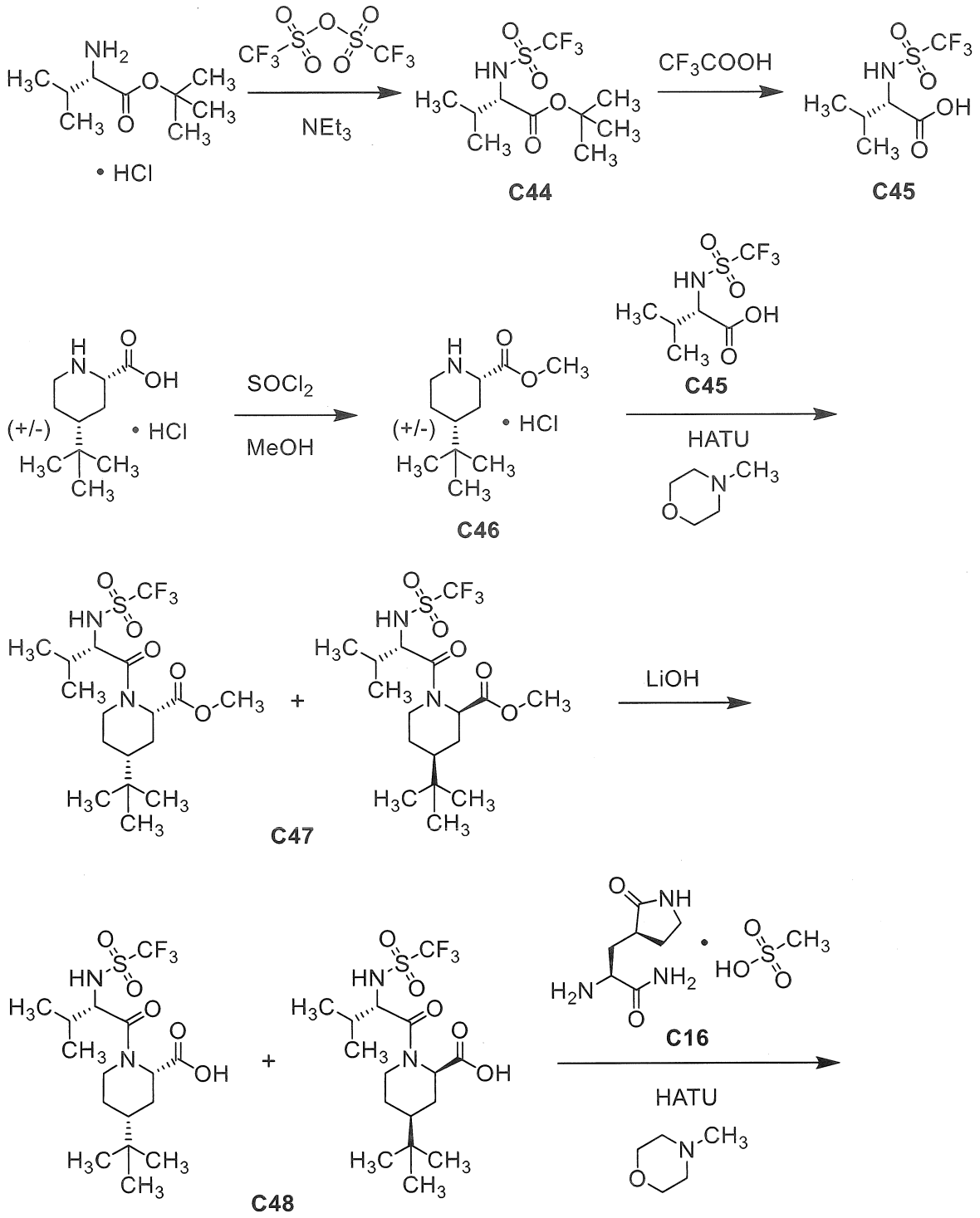
15. Chỉ có sản phẩm đã được chỉ định được quan sát từ phản ứng này.

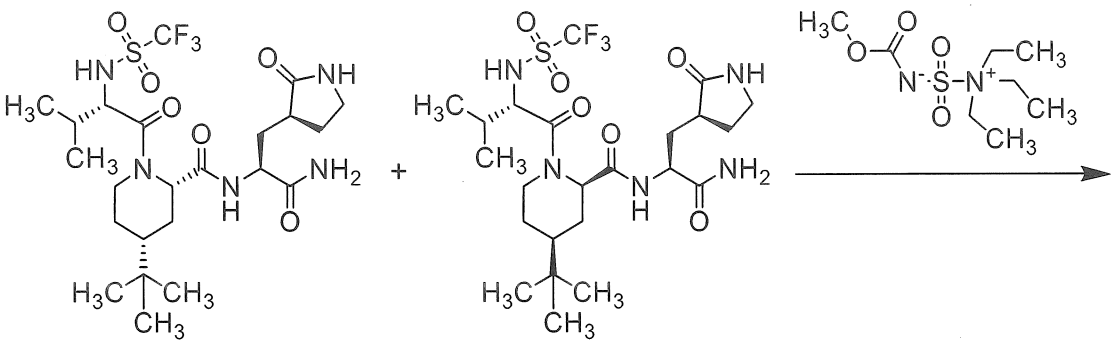
16. Dung dịch gốc của hợp chất Ví dụ 4 (5,56 mg, 12,7 µmol) và axit trifloaxetic (4 µL, 50 µL) trong dimetyl sulfoxit (420 µL) được điều chế. Một phần sáu dung dịch này được xử lý bằng natri 1,1-difloetansulfinat 1,3 mg, 8,5 µmol), tiếp đó là *tert*-butyl hydroperoxit (70% trong nước; 1,4 µL, 10 µmol), và được gia nhiệt ở 50°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng axetonitril và 1% nước axit formic, đến thể tích xấp xỉ 2–3mL; chế phẩm dung môi cuối là chế phẩm sao cho hỗn hợp xuất hiện trong suốt, với xấp xỉ 20% đến 30% hàm lượng axetonitril. Các hợp phần của hỗn hợp này được tách bằng HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18, 10 x 250 mm, 10 µm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic; Pha động B: axetonitril; gradien: 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 40% B trong 70 phút, sau đó 40% đến 95% B trong 15 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút); các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây. Hợp chất của Ví dụ 74 được rửa giải ở 68,6 phút.

Ví dụ 75 và 76

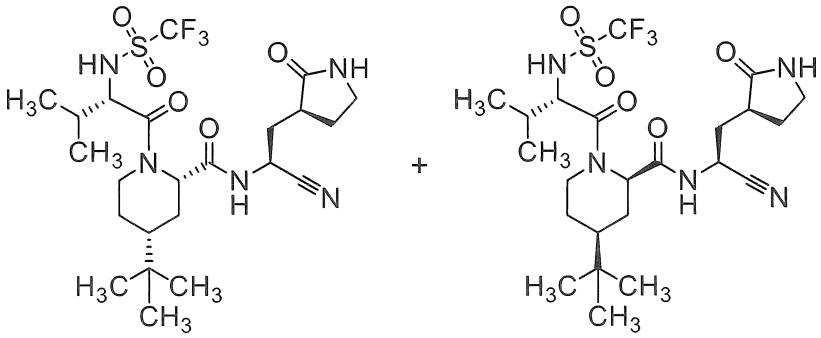
(2*S*,4*R*)-4-*tert*-Butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit và (2*R*,4*S*)-4-*tert*-Butyl-*N*-{(1*S*)-

1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit [**75 (DIAST-1)** và **76 (DIAST-2)**





C49



75 (DIAST-1) và 76 (DIAST-2)

Bước 1. Tổng hợp *tert*-butyl *N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valinat (**C44**).

Dung dịch chứa triflometansulfonic anhydrit (8,88mL, 52,8mmol) trong diclometan (10mL) được bổ sung vào dung dịch −78°C chứa *tert*-butyl L-valinat, muối hydroclorua (10,0 g, 47,7mmol) và trietylamin (18,7mL, 134mmol) trong diclometan (90mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở −78°C trong 2 giờ, trong khi đó nó được rót vào nước và được axit hóa tới độ pH xấp xỉ 4 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M. Hỗn hợp thu được được chiết bằng diclometan, và lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được kết hợp với các sản phẩm của hai phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng *tert*-butyl L-valinat, muối hydroclorua (1,00 g, 4,77mmol; 1,00 g, 4,77mmol) và được tinh chế bằng sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 20% etyl axetat trong ete dầu mỏ), thu được **C44** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất gộp: 14,0 g, 45,9mmol, 80%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,92 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 3,68 (dd, J = 8,8, 6,2 Hz, 1H), 2,16 – 2,02 (m, 1H), 1,43 (s, 9H), 0,92 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,90 (d, J = 6,9 Hz, 3H).

Bước 2. Tổng hợp *N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valin (**C45**).

Dung dịch chứa **C44** (14,0 g, 45,9mmol) trong diclometan (85mL) được bổ sung axit trifloaxetic (85mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3

giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không; phần lắng cặn được rửa bằng dầu mỏ ete để tạo ra **C45** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 10,9 g, 43,7mmol, 95%. MS *m/z* 248,0 $[M-H]^-$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,86 (br d, J = 8,3 Hz, 1H), 3,79 – 3,71 (m, 1H), 2,19 – 2,05 (m, 1H), 0,93 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,90 (d, J = 6,8 Hz, 3H).

Bước 3. Tổng hợp metyl *cis*-4-*tert*-butylpiperidin-2-carboxylat, muối hydroclorua (**C46**).

Dung dịch 0°C gồm axit *cis*-4-*tert*-butylpiperidin-2-carboxylic, muối hydroclorua (Xem R. T. Shuman et al., *J. Org. Chem.* **1990,** *55*, 738–741; 4,00 g, 18,0mmol) trong metanol (40mL) được bổ sung thionyl clorua (6,44 g, 54,1mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 16 giờ, nó được cô trong chân không để cho **C46** ở dạng chất rắn nhờ màu trắng (4,50 g). Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 200,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,46 (br s, 1H), 9,09 (br s, 1H), 4,11 – 3,96 (m, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,4 – 3,21 (m, 1H, được giả định; bị che phần lớn bởi đỉnh nước), 2,93 – 2,77 (m, 1H), 2,07 (br d, J = 10,8 Hz, 1H), 1,75 (br d, J = 10,6 Hz, 1H), 1,51 – 1,32 (m, 3H), 0,84 (s, 9H).

Bước 4. Tổng hợp metyl (2*S*,4*R*)-4-*tert*-butyl-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxylat và metyl (2*R*,4*S*)-4-*tert*-butyl-1-{*N*-[(triflometyl) sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxylat (**C47**).

Hỗn hợp 25°C chứa **C45** (300 mg, 1,20mmol) và **C46** (từ bước trên đây; 341 mg, ≤1,36mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL) được bổ sung 4-metylmorpholin (365 mg, 3,61mmol). Hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 0°C và được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 549 mg, 1,44mmol). Sau đó hỗn hợp phản ứng được phun với nitơ trong 1 phút, nó được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. Phân tích LCMS ở điểm này chỉ ra sự có mặt của **C47**: LCMS *m/z* 431,1 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được phân bố giữa etyl axetat (20mL) và nước (20mL), và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (20mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (4 x 20mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 20% etyl axetat trong ete dầu mỏ) tạo ra **C47** ở dạng gôm màu vàng. Phân tích ^{1}H NMR đã khẳng định rằng nó bao gồm hỗn hợp chứa các chất đồng phân không đối quang. Hiệu suất: 320 mg, 0,743mmol, 62%. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-d) δ 6,12 – 5,94 (m, 1H), [4,51 (dd, J = 11,7, 6,3 Hz) và 4,32 – 4,18 (m), tổng 2H], [3,73 (s) và 3,71 (s), tổng 3H], [3,63 – 3,49 (m) và 3,48 – 3,39 (m), tổng 2H], 2,18 – 1,93 (m, 2H), 1,91 – 1,77 (m, 1H), 1,63 – 1,37 (m, 2H), 1,37 –

1,22 (m, 1H), 1,13 – 1,04 (m, 3H), [0,94 (d, J = 6,8 Hz) và 0,91 (d, J = 6,8 Hz), tổng 3H], 0,87 (s, 9H).

Bước 5. Tổng hợp axit (2S,4R)-4-tert-butyl-1-{N-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxylic và axit (2R,4S)-4-tert-butyl-1-{N-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxylic (**C48**).

Dung dịch chứa **C47** (314 mg, 0,729mmol) trong hỗn hợp chứa metanol (2mL) và tetrahydrofuran (2mL) được xử lý bằng dung dịch chứa lithi hydroxit monohydrat (91,8 mg, 2,19mmol) trong nước (1,4mL), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. Sau đó loại dung môi trong chân không, phần cặn lắng được pha loãng bằng nước (10mL) và được axit hóa tới độ pH xấp xỉ 1 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M. Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (2 x 20mL), và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (15mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, thu được **C48** ở dạng thủy tinh màu vàng. Phân tích ^{1}H NMR đã khẳng định rằng nó bao gồm hỗn hợp chứa các chất đồng phân không đối quang. Hiệu suất: 304 mg, định lượng. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ [9,82 (d, J = 8,7 Hz) và 9,69 (br d, J = 8,8 Hz), tổng 1H], [4,28 (dd, J = 11,5, 6,4 Hz), 4,24 – 4,14 (m), và 4,05 – 3,96 (m), tổng 2H], [3,80 – 3,69 (m) và 3,6 – 3,2 (m, được giả định; về cơ bản là bị che bởi đỉnh nước), tổng 2H], 2,06 – 1,90 (m, 2H), 1,80 – 1,65 (m, 1H), 1,41 – 1,17 (m, 3H), [0,96 (d, J = 6,8 Hz) và 0,93 (d, J = 6,5 Hz), tổng 3H], [0,89 (d, J = 6,9 Hz) và 0,86 – 0,80 (m), tổng 12H].

Bước 6. Tổng hợp (2*S*,4*R*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-4-*tert*-butyl-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit và (2*R*,4*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-4-*tert*-butyl-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit (**C49**).

Hỗn hợp 25°C chứa **C16** (120 mg, 0,449mmol) và **C48** (144 mg, 0,346mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL) được bổ sung 4-metylmorpholin (100 mg, 0,989mmol), trong khi đó hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C và được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 151 mg, 0,397mmol). Hỗn hợp phản ứng được phun với nitơ trong 1 phút và sau đó khuấy ở 25°C trong 12 giờ. Phân tích LCMS chỉ ra sự có mặt của **C49**: LCMS *m/z* 570,3 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng sau đó được phân bố giữa etyl axetat (20mL) và nước (20mL), và lớp nước được bão hòa với natri clorua rắn và được chiết bằng etyl axetat (5 x 20mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri

sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tiến hành sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 15% metanol trong diclometan), tạo ra **C49** ở dạng chất rắn màu trắng. Nguyên liệu này chứa hỗn hợp chứa các chất đồng phân không đối quang, bằng cách phân tích ^{1}H NMR. Hiệu suất: 190 mg, 0,334mmol, 96%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng, các tập hợp này chứa khoảng: δ [9,88 (d, J = 8,6 Hz) và 9,82 – 9,68 (m), tổng 1H], [8,12 (d, J = 8,8 Hz) và 8,09 – 7,98 (m), tổng 1H], [7,63 (s) và 7,57 (s), tổng 1H], [7,30 (br s) và 7,18 (br s), tổng 1H], [7,06 (br s) và 7,03 (br s), tổng 1H], [4,36 (dd, J = 12,0, 6,1 Hz) và 4,32 – 4,08 (m), tổng 2H], 2,26 – 2,05 (m, 2H), 1,81 – 1,54 (m, 2H), 1,53 – 1,30 (m, 2H), 0,98 – 0,87 (m, 6H), 0,86 – 0,76 (m, 9H).

Bước 7. Tổng hợp (2*S*,4*R*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit và (2*R*,4*S*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit [**75 (DIAST-1)** và **76 (DIAST-2)**].

Hỗn hợp chứa **C49** (190,0 mg, 0,334mmol) và metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 238 mg, 1,00mmol) trong diclometan (10mL) được khuấy ở 25°C trong 2 ngày, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (20mL) và được chiết bằng diclometan (2 x 20mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (10mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 8% metanol trong diclometan) tạo ra chất rắn màu trắng, mà bằng cách phân tích LCMS chứa hỗn hợp thô 3:1 chứa các sản phẩm: LCMS *m/z* 552,2 $[M+H]^+$ và LCMS *m/z* 552,2 $[M+H]^+$. Các chất đồng phân không đối quang này được tách bằng sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies Chiralpak IG, 30 x 250 mm, 10 µm; Pha động: 3:1 cacbon dioxit / (etanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 70mL/phút]. Chất đồng phân không đối quang rửa giải lần thứ nhất, được phân lập ở dạng chất rắn màu trắng, được chỉ ra là **75**, và chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai, cũng ở dạng chất rắn màu trắng, được chỉ ra là **76** [(2*S*,4*R*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit và (2*R*,4*S*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit].

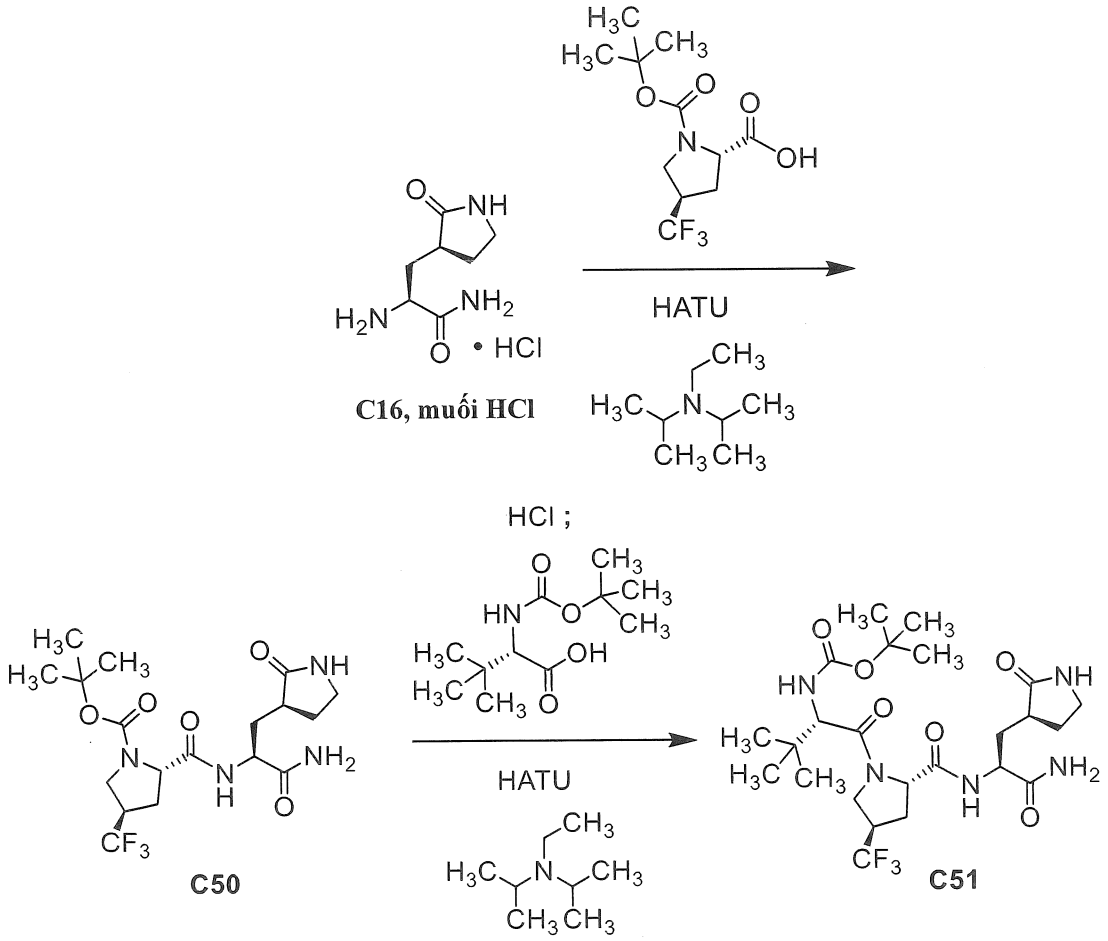
75 – Hiệu suất: 26,2 mg, 47,5 µmol, 14%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,87 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 8,87 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 4,99 – 4,91 (m, 1H), 4,24 (dd, J

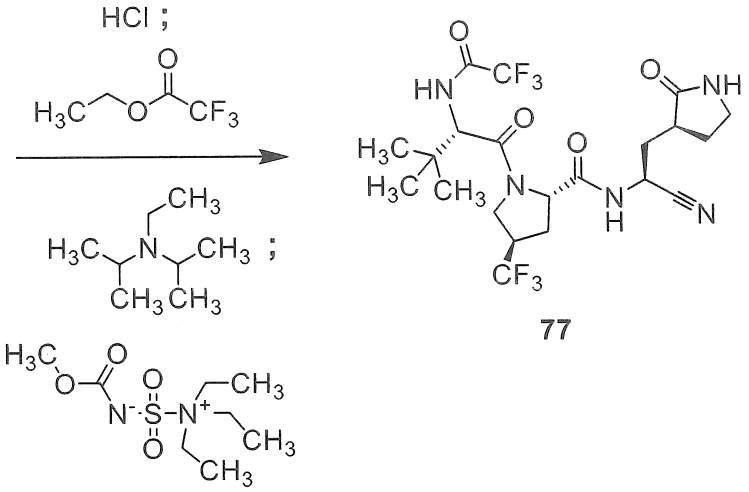
= 12,3, 6,0 Hz, 1H), 4,18 (dd, J = 8,3, 8,3 Hz, 1H), 3,88 – 3,78 (m, 1H), 3,19 – 3,00 (m, 2H), 2,46 – 2,35 (m, 1H), 2,17 – 2,02 (m, 2H), 1,99 – 1,85 (m, 2H), 1,79 – 1,62 (m, 3H), 1,50 – 1,36 (m, 2H), 1,26 – 1,12 (m, 2H), 0,97 – 0,87 (m, 6H), 0,84 (s, 9H). Thời gian lưu: 1,30 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Chiral Technologies Chiralpak IG-3, 4,6 x 50 mm, 3 µm; Pha động A: cacbon dioxit; Pha động B: etanol chứa 0,05% dietylamin; gradien: 5% đến 40% B trong 2 phút, sau đó 40% B trong 1,2 phút; Tốc độ chảy: 4mL/phút; Áp suất ngược: 1500 psi).

76 – Hiệu suất: 8,8 mg, 16 µmol, 5%. LCMS m/z 552,3 $[M+H]^+$. Bằng cách phân tích ^{1}H NMR, mẫu **76** này chứa các tạp chất. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng, các tập hợp này chứa khoảng: δ 9,76 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 8,59 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 5,02 – 4,90 (m, 1H), 0,94 – 0,86 (m, 6H), 0,82 (s, 9H). Thời gian lưu: 1,61 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng trong 75).

Ví dụ 77

3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl] etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (77)





Bước 1. Tổng hợp (4*R*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-(triflometyl)-L-prolyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C50**).

Hỗn hợp −30°C chứa (4*R*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-(triflometyl)-L-prolin (429 mg, 1,51mmol) và **C16, muối HCl** (346 mg, 1,67mmol) trong N,N-dimetylformamit (7,8mL) được bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (0,791mL, 4,54mmol), tiếp đó là *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 633 mg, 1,66mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 0°C trong 1 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat (30mL) và được chiết bằng hỗn hợp chứa 2-butanol và diclometan (9:1, 3 x 7mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 100% metanol trong diclometan), thu được **C50** ở dạng bọt màu trắng nhờ. Bằng cách phân tích ^{1}H NMR, nguyên liệu này tồn tại ở dạng hỗn hợp chứa các chất đồng phân quay, và chứa các tạp chất có nguồn gốc từ các chất phản ứng được sử dụng; một phần của mẫu này được tiến hành ở bước tiếp theo. Hiệu suất: 613 mg, 1,40mmol, 93%. LCMS *m/z* 459,3 [M+Na$^+$]. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), chỉ có các đỉnh của sản phẩm đặc trưng: δ 8,33 – 8,18 (m, 1H), [7,65 (br s) và 7,59 (br s), tổng 1H], [7,39 (br s) và 7,27 br (s), tổng 1H], 7,05 (br s, 1H), 4,38 – 4,28 (m, 1H), 4,28 – 4,17 (m, 1H), 3,46 – 3,36 (m, 1H), 2,02 – 1,89 (m, 1H), 1,80 – 1,45 (m, 2H), [1,39 (s) và 1,32 (s), tổng 9H].

Bước 2. Tổng hợp *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C51**).

Hỗn hợp chứa **C50** (242 mg, 0,554mmol) và dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 2mL, 8mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ dung môi và cặn hydro clorua.

Nguyên liệu đã được khử bảo vệ thu được được kết hợp với *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valin (128 mg, 0,553mmol) và *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU: 232 mg, 0,610mmol) trong N,N-dimetylformamit (2mL), và sau đó được làm nguội đến −30°C. *N,N*-Diisopropyletylamin (0,290mL, 1,66mmol) được bổ sung, và hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến 0°C trong 1 giờ. Sau đó bổ sung dung dịch nước natri bicacbonat, hỗn hợp thu được được chiết ba lần bằng etyl axetat; các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% metanol trong diclometan), thu được **C51** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 230 mg, 0,418mmol, 75%. LCMS *m/z* 550,3 $[M+H]^+$.

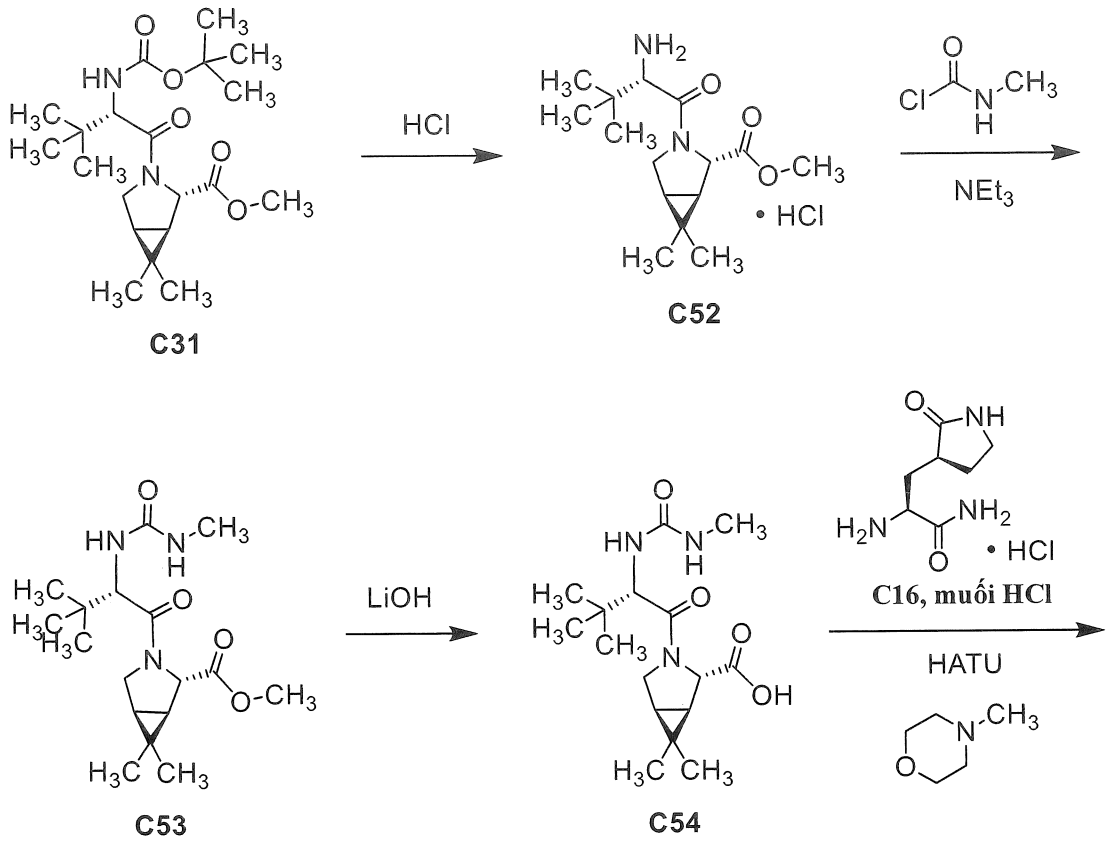
Bước 3. Tổng hợp 3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**77**).

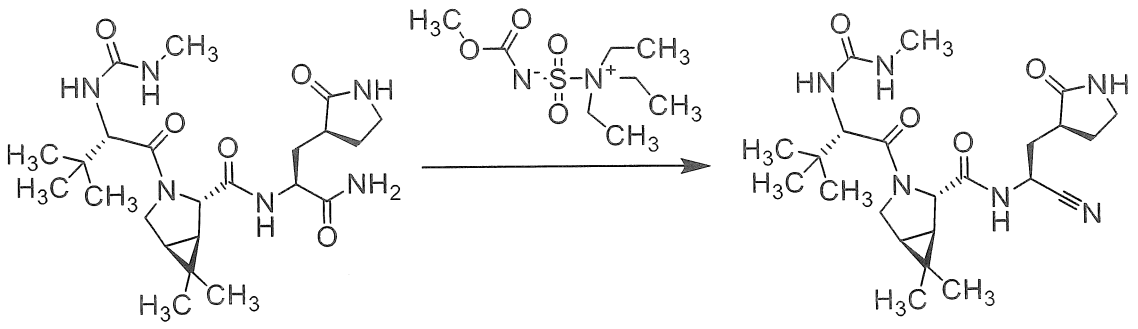
Hỗn hợp chứa **C51** (230 mg, 0,418mmol) và dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 2mL, 8mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ dung môi và cặn hydro clorua. Nguyên liệu đã được khử bảo vệ thu được được kết hợp với etyl trifloaxetat (595 mg, 4,19mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (0,219mL, 1,26mmol) trong metanol (1,0mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, etyl trifloaxetat (60 mg, 0,422mmol) được bổ sung lại, và khuấy liên tục trong 30 phút. Dung dịch nước natri bicacbonat sau đó được bổ sung, và hỗn hợp thu được được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được hòa tan trong diclometan (3mL). Bổ sung etyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 299 mg, 1,25mmol) vào hỗn hợp này, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, trong khi đó nó được xử lý bằng bổ sung metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 100 mg, 0,420mmol) và để khuấy trong 30 phút nữa. Dung dịch nước natri cacbonat loãng sau đó được bổ sung, và hỗn hợp được chiết hai lần bằng etyl axetat; các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký lỏng siêu đến hạn (Cột: Princeton Dinitrophenyl, 10 x 250 mm, 5 µm; Pha động: 9:1 cacbon dioxit / metanol; Áp suất ngược: 120 bar; Tốc độ chảy: 80mL/phút) tạo ra nguyên liệu mà sau đó được tạo huyền phù đặc trong heptan (2,0mL) ở 50°C trong 2 giờ, được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và được thu gom bằng cách lọc, tạo ra 3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-

oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**77**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 64 mg, 0,121mmol, 29%. LCMS *m/z* 528,2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 9,05 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 4,96 (ddd, *J* = 11,0, 8,5, 5,0 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,37 (dd, *J* = 7,5, 7,5 Hz, 1H), 3,98 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 11,2, 7,5 Hz, 1H), 3,92 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 11,3, 4,8 Hz, 1H), 3,46 – 3,35 (m, 1H), 3,19 – 3,10 (m, 1H), 3,09 – 3,00 (m, 1H), 2,5 – 2,38 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,38 – 2,28 (m, 1H), 2,21 – 2,04 (m, 3H), 1,78 – 1,65 (m, 2H), 0,99 (s, 9H).

Ví dụ 78

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**78**)





C55 78

Bước 1. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-(3-metyl-L-valyl)-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (**C52**).

Dung dịch 0°C gồm **C31** (1,00 g, 2,61mmol) trong diclometan (20mL) được bổ sung, từng giọt, dung dịch chứa hydro clorua trong etyl axetat (4 M; 20mL, 80mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C qua đêm, nó được cô trong chân không để cho **C52** ở dạng gôm màu trắng. Hiệu suất: 700 mg, 2,20mmol, 84%. LCMS *m/z* 283,1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,22 (br s, 3H), 4,25 (s, 1H), 3,87 – 3,77 (m, 2H), 3,72 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,8 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 1,59 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,7, 5,3 Hz, 1H), 1,49 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,03 (s, 9H), 1,02 (s, 3H), 0,96 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C53**).

Dung dịch 0°C gồm **C52** (320 mg, 1,00mmol) trong diclometan (6mL) được bổ sung từ từ trietylamin (0,769mL, 5,52mmol) và metylcarbamyl clorua (188 mg, 2,01mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 20°C và khuấy trong 18 giờ, trong khi đó nó được xử lý từng giọt với dung dịch nước natri cacbonat bão hòa (5mL) và được chiết bằng diclometan (2 x 5mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 20mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) tạo ra **C53** ở dạng gôm màu vàng sáng. Hiệu suất: 190 mg, 0,560mmol, 56%. LCMS *m/z* 339,9 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 6,03 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 5,89 (br q, *J* = 5 Hz, 1H), 4,20 – 4,14 (m, 2H), 3,91 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,79 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,3, 5,3 Hz, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,17 (d, *J* = 5,3 Hz, 3H), 1,55 – 1,49 (m, 1H), 1,40 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,4 Hz, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,83 (s, 3H).

Bước 3. Tổng hợp axit (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C54**).

Dung dịch 0°C gồm **C53** (190 mg, 0,560mmol) trong hỗn hợp chứa tetrahydrofuran (2mL), nước (4mL), và metanol (1mL) được bổ sung lithi hydroxit monohydrat (82,0 mg, 1,95mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 2 giờ, nó được pha loãng bằng etyl axetat (10mL); lớp nước sau đó được làm nguội đến 0°C đến 5°C và được axit hóa đến độ pH = 2 đến 3 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M. Hỗn hợp nước được chiết bằng etyl axetat (3 x 15mL), và các lớp etyl axetat gom lại này được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C54** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 120 mg, 0,369mmol, 66%. LCMS *m/z* 348,3 [M+Na$^+$]. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 6,04 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,89 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H), 4,17 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,09 (s, 1H), 3,87 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,77 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,3, 5,4 Hz, 1H), 1,49 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,6, 5,1 Hz, 1H), 1,38 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,5 Hz, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,82 (s, 3H).

Bước 4. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C55**).

Dung dịch 0°C đến 5°C chứa **C54** (120 mg, 0,369mmol) và **C16, muối HCl** (75%, 107 mg, 0,387mmol) trong N,N-dimetylformamit (3,0mL) được bổ sung vào *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 154 mg, 0,405mmol) và 4-metylmorpholin (0,144mL, 1,31mmol). Sau đó hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ từ 0°C đến 20°C trong 1,5 giờ, nó được khuấy ở nhiệt độ 20°C trong 18 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng nước và được xử lý bằng natri sulfat rắn đến bão hòa. Hỗn hợp thu được được chiết bằng hỗn hợp chứa 2-propanol và cloroform (1:4, 3 x 20mL), và lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong diclometan) tạo ra **C55** (240 mg) ở dạng thủy tinh không màu. Một phần nguyên liệu này được sử dụng trong bước tiếp theo. LCMS *m/z* 479,2 [M+H]$^+$. Bằng cách phân tích ^{1}H NMR, nguyên liệu này bị lẫn sản phẩm phụ có nguồn gốc từ chất phản ứng HATU. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), chỉ có các đỉnh của sản phẩm đặc trưng: δ 8,21 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,53 (br s, 1H), 7,29 (br s, 1H), 7,03 (br s, 1H), 6,02 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 5,86 (q, *J* = 4,6 Hz, 1H),

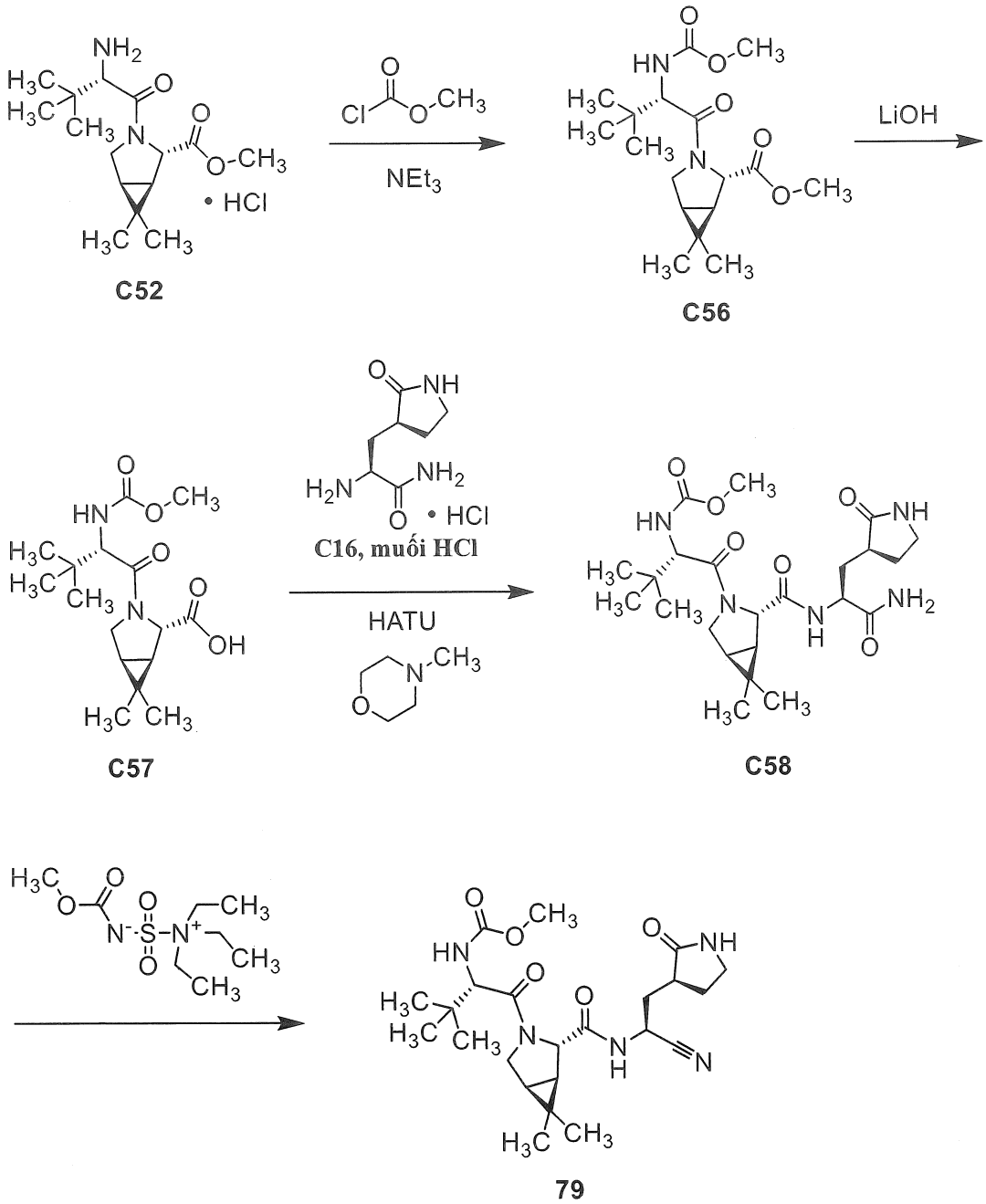
4,31 – 4,23 (m, 1H), 4,21 (s, 1H), 4,15 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 2,18 – 2,08 (m, 1H), 1,98 – 1,88 (m, 1H), 1,68 – 1,55 (m, 1H), 1,54 – 1,42 (m, 2H), 1,34 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

Bước 5. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**78**).

Dung dịch chứa **C55** (từ bước trên đây; 190 mg, ≤0,292mmol) trong axetonitril (12mL) được bổ sung metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 303 mg, 1,26mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 22 giờ, trong khi đó nó được kết hợp với phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C55** (từ bước trên đây; 50 mg, ≤77 µmol). Dung dịch thu được được cô trong chân không, được pha loãng bằng nước (10mL), và được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không; tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Boston Prime C18, 30 x 150 mm, 5 µm; Pha động A: 0,225% axit formic trong nước; Pha động B: axetonitril; gradien: 23% đến 46% B; Tốc độ chảy: 25mL/phút) tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**78**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất gộp: 25 mg, 54 µmol, 15% qua 2 bước. LCMS *m/z* 461,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 8,96 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 6,02 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 5,85 (q, *J* = 4,5 Hz, 1H), 4,95 (ddd, *J* = 10,8, 8,4, 5,1 Hz, 1H), 4,13 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,11 (s, 1H), 3,88 – 3,79 (m, 2H), 3,18 – 3,09 (m, 1H), 3,07 – 2,98 (m, 1H), 2,48 – 2,37 (m, 1H), 2,20 – 2,02 (m, 2H), 1,77 – 1,62 (m, 2H), 1,56 – 1,50 (m, 1H), 1,27 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,85 (s, 3H). ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*), các đỉnh đặc trưng: δ 8,12 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,78 (br s, 1H), 5,04 (br d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 4,99 – 4,90 (m, 1H), 4,57 – 4,49 (m, 1H), 4,39 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,25 (s, 1H), 4,01 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,93 (br dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,6, 4,9 Hz, 1H), 3,43 – 3,25 (m, 2H), 2,71 (d, *J* = 4,8 Hz, 3H), 2,61 – 2,50 (m, 1H), 2,45 – 2,30 (m, 2H), 2,03 – 1,93 (m, 1H), 1,91 – 1,78 (m, 1H), 1,05 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,91 (s, 3H).

Ví dụ 79

Metyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**79**)



Bước 1. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C56**).

Dung dịch 0°C gồm **C52** (370 mg, 1,16mmol) trong diclometan (6mL) được bổ sung từ từ trietylamin (0,647mL, 4,64mmol) và metyl cloroformat (335 mg, 3,55mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 16 giờ, nó được pha loãng từng giọt bằng dung dịch nước natri cacbonat bão hòa (5mL) và được chiết bằng diclometan (2 x

20mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 20mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không; sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 100% etyl axetat trong ete dầu mỏ) tạo ra **C56** ở dạng gôm màu trắng. Hiệu suất: 115 mg, 0,338mmol, 29%. LCMS *m/z* 341,1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 5,29 (br d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,23 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,94 – 3,86 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,63 (br s, 3H), 1,49 – 1,41 (m, 2H), 1,04 (s, 3H), 1,03 (s, 9H), 0,91 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp axit (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C57**).

Dung dịch chứa **C56** (115 mg, 0,338mmol) trong hỗn hợp chứa metanol (2,0mL), tetrahydrofuran (2,0mL), và nước (2mL) được bổ sung lithi hydroxit monohydrat (28,4 mg, 0,677mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (22°C đến 25°C) trong 16 giờ, sau đó được cô trong chân không. Cặn trong nước được phân bố giữa nước (5mL) và etyl axetat (20mL), trong khi đó lớp hữu cơ được bỏ đi và lớp nước được điều chỉnh đến độ pH = 1 đến 2 bằng cách bổ sung axit clohydric đậm đặc. Hỗn hợp thu được được chiết ba lần bằng etyl axetat; lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C57** ở dạng gôm không màu. Hiệu suất: 100 mg, 0,306mmol, 91%. LCMS *m/z* 327,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 5,42 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,46 (s, 1H), 4,26 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,96 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,87 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,3, 5,4 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 1,68 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,50 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,6, 5,3 Hz, 1H), 1,06 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,91 (s, 3H).

Bước 3. Tổng hợp metyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**C58**).

Dung dịch 0°C gồm **C57** (100 mg, 0,306mmol) và **C16, muối HCl** (75%, 84,8 mg, 0,306mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 140 mg, 0,368mmol), tiếp đó là từng giọt bổ sung dung dịch chứa 4-metylmorpholin (93 mg, 0,919mmol) trong N,N-dimetylformamit (1mL). Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng (25°C) và được khuấy trong 16 giờ, trong khi đó nước (10mL) được bổ sung. Sau đó natri sulfat rắn được bổ sung đến bão hòa, hỗn hợp thu được được chiết bằng hỗn hợp chứa

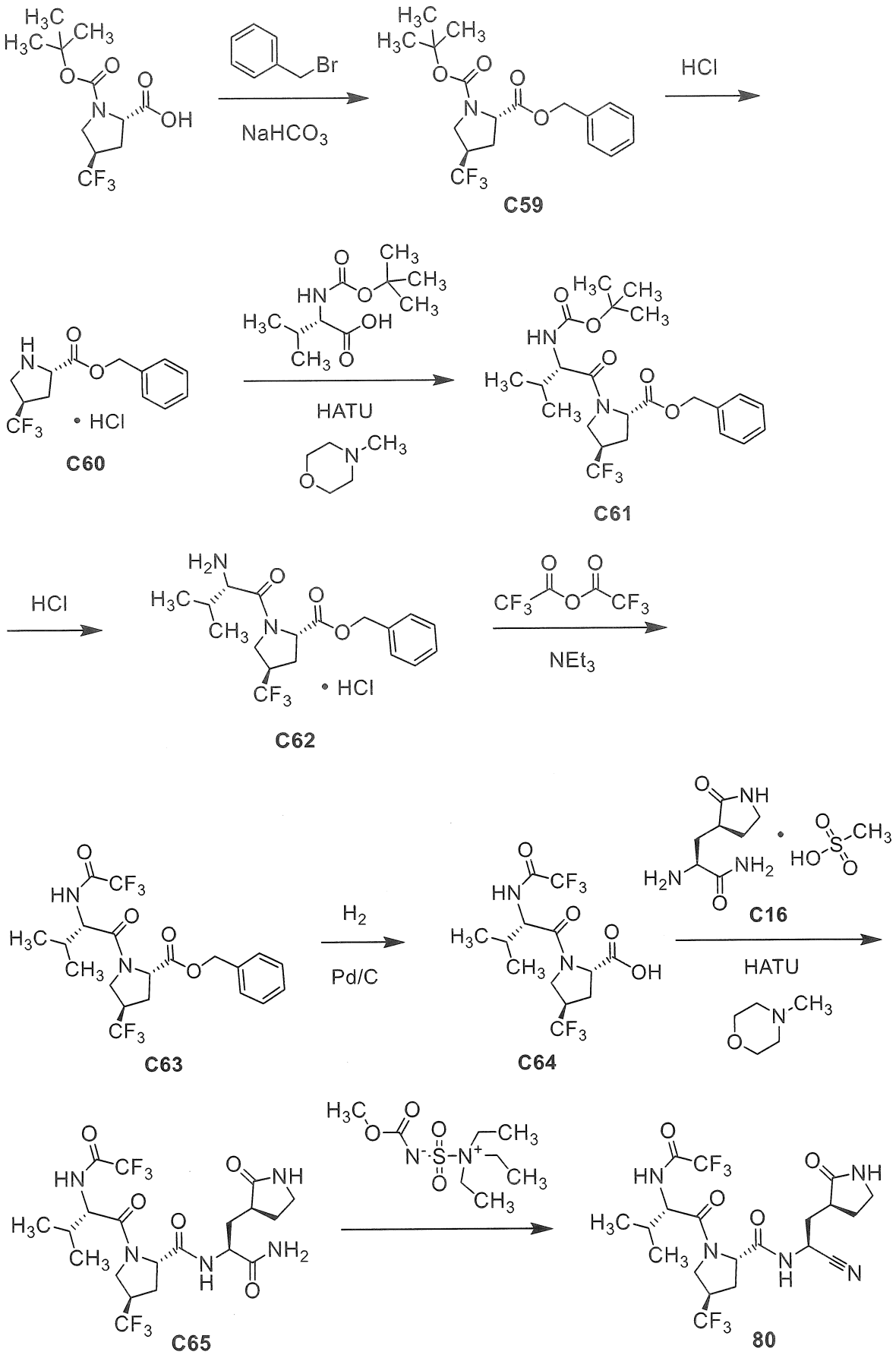
cloroform và 2-propanol (4:1, 3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tinh chế sử dụng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% metanol trong diclometan), thu được **C58** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 93 mg, 0,19mmol, 62%. LCMS *m/z* 480,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,30 (br s, 1H), 7,18 (br s, 1H), 5,98 (br s, 1H), 5,64 (br s, 1H), 5,58 – 5,42 (m, 1H), 4,49 – 4,37 (m, 1H), 4,29 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,23 (s, 1H), 4,11 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,3, 5,5 Hz, 1H), 3,93 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,43 – 3,29 (m, 2H), 2,55 – 2,33 (m, 2H), 2,15 – 1,81 (m, 3H), 1,54 – 1,47 (m, 1H), 1,45 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,88 (s, 3H).

Bước 4. Tổng hợp metyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**79**).

Huyền phù chứa **C58** (93 mg, 0,19mmol) trong diclometan (5mL) được bổ sung metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 139 mg, 0,583mmol), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C trong 2 giờ. Sau đó, nó được pha loãng bằng nước (10mL) và được chiết bằng diclometan (3 x 10mL); lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 10mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 100% etyl axetat trong ete dầu mỏ, tiếp đó là gradien 0% đến 20% metanol trong diclometan) tạo ra metyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**79**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 7,0 mg, 15 μmol, 8%. LCMS *m/z* 462,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,13 (br d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 5,68 (br s, 1H), 5,34 (br d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,95 – 4,85 (m, 1H), 4,26 (s, 1H), 4,23 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,94 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,1, 4,5 Hz, 1H), 3,88 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,45 – 3,29 (m, 2H), 2,62 – 2,50 (m, 1H), 2,46 – 2,28 (m, 2H), 2,02 – 1,93 (m, 1H), 1,92 – 1,79 (m, 1H), 1,6 – 1,49 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 1,06 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,90 (s, 3H).

Ví dụ 80

N-(Trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**80**)


NaHCO3
HCl
C59
C60
HATU
C61
HCl
C62
NEt3
C63
H2
Pd/C
C64
C16
HATU
C65
80

Bước 1. Tổng hợp 2-benzyl 1-*tert*-butyl (2*S*,4*R*)-4-(triflometyl)pyrolidin-1,2-dicarboxylat (**C59**).

Hỗn hợp chứa (4*R*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-(triflometyl)-L-prolin (400 mg, 1,41mmol), benzyl bromua (0,335mL, 2,82mmol), và natri bicacbonat (593 mg, 7,06mmol) trong N,N-dimetylformamit (8mL) được khuấy trong 15 giờ ở 25°C. Sau khi hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (30mL) và được chiết bằng etyl axetat (3 x 30mL), lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa và với 5% dung dịch nước lithi clorua, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% etyl axetat trong ete dầu mỏ) tạo ra **C59** ở dạng dầu không màu. Bằng cách phân tích ^{1}H NMR, nguyên liệu này tồn tại ở dạng hỗn hợp chứa các chất đồng phân quay. Hiệu suất: 355 mg, 0,951mmol, 67%. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 7,44 – 7,28 (m, 5H), 5,29 – 5,07 (m, 2H), [4,54 (br d, *J* = 8,6 Hz) và 4,40 (br dd, *J* = 8,5, 2 Hz), tổng 1H], 3,87 – 3,70 (m, 1H), [3,58 (dd, *J* = 11,2, 7,4 Hz) và 3,49 (dd, *J* = 11,0, 7,9 Hz), tổng 1H], 3,13 – 2,95 (m, 1H), 2,47 – 2,27 (m, 1H), 2,25 – 2,11 (m, 1H), [1,46 (s) và 1,33 (s), tổng 9H].

Bước 2. Tổng hợp benzyl (4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolinat, muối hydroclorua (**C60**).

Dung dịch 0°C gồm **C59** (200 mg, 0,536mmol) trong etyl axetat (3mL) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong etyl axetat (4 M; 6mL, 24mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (28°C) trong 3 giờ, nó được cô trong chân không để cho **C60** ở dạng chất rắn màu trắng; nguyên liệu này được dùng trực tiếp cho bước tiếp theo. LCMS *m/z* 274,0 $[M+H]^+$.

Bước 3. Tổng hợp benzyl *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolinat (**C61**).

O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 277 mg, 0,728mmol) và 4-metylmorpholin (184 mg, 1,82mmol) được bổ sung vào hỗn hợp 0°C chứa **C60** (từ bước trên đây; ≤0,536mmol) và *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-valin (158 mg, 0,727mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1 giờ, trong khi đó nó được rót vào nước đá (15mL) và được chiết bằng etyl axetat (2 x 15mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng axit clohydric 1M, dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa, và dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 40% etyl axetat trong ete dầu mỏ) tạo ra **C61** ở dạng gôm không màu.

Hiệu suất: 230 mg, 0,487mmol, 91% qua 2 bước. LCMS *m/z* 495,0 [M+Na$^+$]. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*), các đỉnh đặc trưng: δ 7,40 – 7,30 (m, 5H), 5,17 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 12,3 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 12,6 Hz, 2H), 4,21 (dd, *J* = 9,3, 6,8 Hz, 1H), 4,00 – 3,86 (m, 2H), 3,18 – 3,04 (m, 1H), 2,36 (ddd, thành phần của hệ ABXY, *J* = 13,5, 9, 9 Hz, 1H), 2,20 (ddd, thành phần của hệ ABXY, *J* = 13,4, 7,4, 3,5 Hz, 1H), 2,05 – 1,94 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 0,98 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,91 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H).

Bước 4. Tổng hợp benzyl L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolinat, muối hydroclorua (**C62**).

Dung dịch 0°C gồm **C61** (230 mg, 0,487mmol) trong etyl axetat (2mL) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong etyl axetat (4 M; 4mL, 16mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (28°C) trong 1 giờ, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra rằng có sự chuyển hoá thành **C62**: LCMS *m/z* 373,1 [M+H]$^+$. Nồng độ của hỗn hợp phản ứng trong chân không tạo ra **C62** ở dạng chất rắn màu trắng, mà được dùng trực tiếp cho bước tiếp theo.

Bước 5. Tổng hợp benzyl *N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolinat (**C63**).

Dung dịch chứa trifloaxetic anhydrit (154 mg, 0,733mmol) trong diclometan (0,5mL) được bổ sung vào huyền phù 0°C chứa **C62** (từ bước trên đây; ≤0,487mmol) trong diclometan (3mL). Sau đó 3 phút, dung dịch chứa trietylamin (148 mg, 1,46mmol) trong diclometan (0,5mL) được bổ sung từng giọt, và khuấy liên tục ở 25°C trong 3 giờ. Sau khi pha loãng bằng diclometan (5mL), hỗn hợp phản ứng được rửa bằng dung dịch nước natri cacbonat bão hòa (10mL) và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (15mL), được làm khô, được lọc, và được cô trong chân không; sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% etyl axetat trong ete dầu mỏ) tạo ra **C63** ở dạng dầu không màu. Hiệu suất: 129 mg, 0,275mmol, 56% qua 2 bước. LCMS *m/z* 491,2 [M+Na$^+$].

Bước 6. Tổng hợp *N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolin (**C64**).

Dung dịch 28°C chứa **C63** (129 mg, 0,275mmol) trong metanol (3mL) được bổ sung paladi trên cacbon (10%, 29,3 mg, 27,5 μmol), trong khi đó hỗn hợp được hydro hóa ở 15 psi trong 16 giờ. Tiến hành lọc tạo ra bánh lọc, mà được rửa bằng metanol (10mL); các phần dịch lọc gom lại được cô trong chân không để cho **C64** ở dạng chất rắn màu vàng sáng. Hiệu suất: 80 mg, 0,21mmol, 76%. LCMS *m/z* 401,0 [M+Na$^+$].

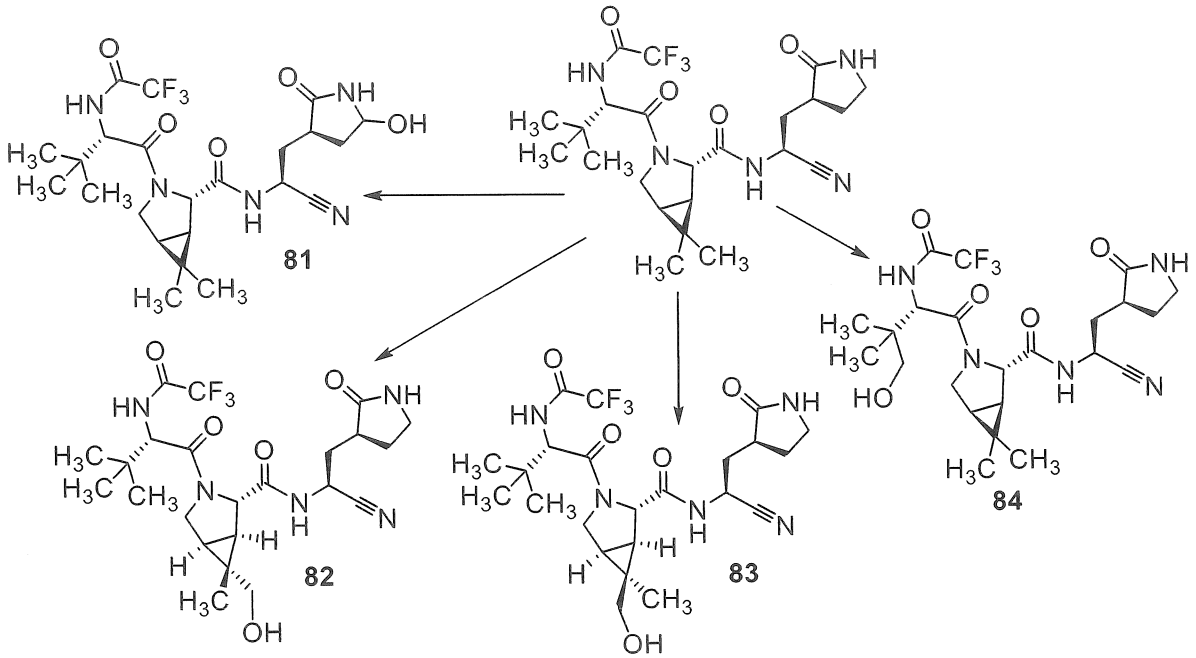
Bước 7. Tổng hợp *N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C65**).

O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 88,5 mg, 0,233mmol) và 4-metylmorpholin (64,2 mg, 0,635mmol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C64** (80 mg, 0,21mmol) và **C16** (76,8 mg, 0,287mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2 giờ, nó được xử lý bằng nước (10mL) và dung dịch nước axit xitric (1 M; 10mL, 10mmol), sau đó được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (15mL) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (15mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) tạo ra **C65** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 72 mg, 0,14mmol, 67%. LCMS *m/z* 532,2 $[M+H]^+$.

Bước 8. Tổng hợp *N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**80**).

Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 96,9 mg, 0,407mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa **C65** (72 mg, 0,14mmol) trong diclometan (5mL), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó pha loãng bằng nước (15mL), hỗn hợp được chiết bằng diclometan (3 x 15mL), và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 20mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) tạo ra *N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**80**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 30,9 mg, 60,2 µmol, 43%. LCMS *m/z* 536,1 $[M+Na^+]$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 9,89 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 9,06 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 4,96 (ddd, *J* = 10,6, 8,4, 5,5 Hz, 1H), 4,38 (dd, *J* = 7,9, 6,3 Hz, 1H), 4,28 (dd, *J* = 9,8, 7,8 Hz, 1H), 4,07 – 3,94 (m, 2H), 3,20 – 3,00 (m, 2H), 2,5 – 2,41 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,38 – 2,28 (m, 1H), 2,19 – 2,02 (m, 4H), 1,78 – 1,61 (m, 2H), 0,92 (d, *J* = 7 Hz, 3H), 0,90 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H).

Ví dụ 81-84



Ví dụ 81: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-5-hydroxy-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

Ví dụ 82: (1*R*,2*S*,5*S*,6*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

Ví dụ 83: (1*R*,2*S*,5*S*,6*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

Ví dụ 84: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-(hydroxymetyl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

Các hợp chất của Ví dụ 81-84 thu được bằng con đường chuyển hóa sinh học, cả *in vitro* và *in vivo,* từ (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (hợp chất của Ví dụ 13) là như sau. Trong các nghiên cứu *in vitro*, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit được ủ với các vi thể gan chuột nhắt, chuột, chuột đồng, thỏ, khỉ hoặc người (xem Bảng M1 dưới đây) hoặc với tế bào gan chuột, khỉ hoặc người (xem Bảng M2 dưới đây). Theo cách khác, trong các nghiên cứu *in vivo* (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-

(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit được dùng cho chuột và khỉ. Mẫu huyết tương chuột, nước tiểu và mật và huyết tương khỉ thu được. Các chất chuyển hóa thu được sau đó được phân tích sử dụng HPLC/MS và các hợp chất chuyển hóa oxy hóa thu được của Ví dụ 81-84 được phát hiện và thu được. Ngoài các hợp chất của Ví dụ 81-84 chất chuyển hóa bổ sung, axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic, thu được từ việc phân cắt thủy phân, được quan sát trong các thử nghiệm in vivo.

Bảng M1: Các hợp chất thu được từ các vi thể gan

Ví dụ	Chuột nhắt	Chuột	Chuột đồng	Thỏ	Khỉ	Người
81	+++	+++	+++	+++	+++	+++
82	+	+	+	++	t	+
83	+	+	+	+	t	+
84	+	t	-	t	t	+

Bảng M2: Các hợp chất của Ví dụ 81-84 thu được từ các tế bào gan

Ví dụ	Chuột nhắt	Chuột	Chuột đồng
81	+++	+++	+++
82	+	t	t
83	t	t	t
84	+	t	-

Bảng M3: Các hợp chất của Ví dụ 81-84 thu được *in vivo* ở chuột hoặc khỉ

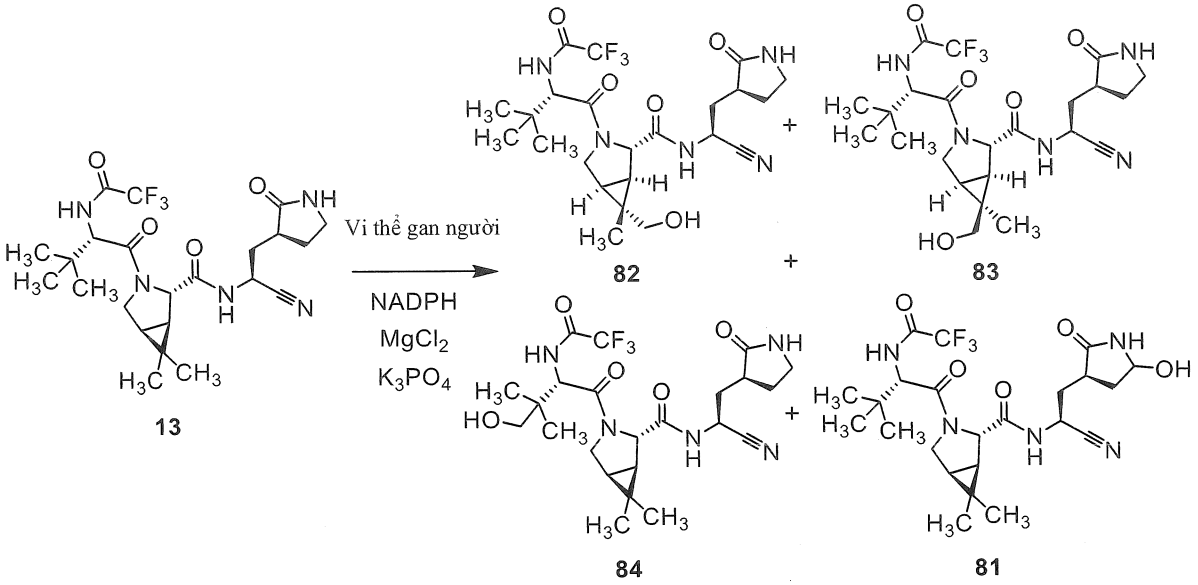
Ví dụ	Huyết tương chuột	Nước tiểu chuột	Mật chuột	Huyết tương khỉ
81	+	t	t	++
82	t	t	t	t
83	t	-	-	t
84	+	-	-	+

Trong các bảng M1, M2 và M3 các chữ viết tắt dưới đây được sử dụng: - = không được phát hiện; + = được phát hiện bằng phổ khối và đỉnh UV nhỏ; ++ = được phát hiện bằng

phổ khối và đỉnh UV trung bình; +++ = được phát hiện bằng phổ khối và đỉnh UV chính; t = vết, được phát hiện chỉ bằng phổ khối

Ví dụ 82, 83, 84, và 81

(1*R*,2*S*,5*S*,6*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**82**), (1*R*,2*S*,5*S*,6*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**83**), (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-(hydroxymetyl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**84**), và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-5-hydroxy-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**81**)



Hợp chất của Ví dụ 13 (25 μM) được kết hợp với các vi thể gan người (2 mg/mL) trong dung dịch đệm kali phosphat (100 mM, độ pH 7,4; 40mL) chứa magie clorua (3,3 mM) và NADPH (1,3 mM). Quá trình ủ được thực hiện trong 55 phút trong bể nước lắc được duy trì ở 37°C. Phản ứng được kết thúc bằng cách bổ sung thể tích bằng nhau của axetonitril, trong khi đó hỗn hợp được quay trong máy ly tâm ở 1800 x g trong 5 phút, và dịch nổi trên bề mặt được ly tâm chân không trong xấp xỉ 1,5 giờ. Phần cặn được bổ sung vào axit formic (0,5mL), axetonitril (0,5mL), và nước tới thể tích cuối là 50mL, và hỗn hợp thu được được quay trong máy ly tâm ở 40000 x g trong 30 phút. Dịch nổi trên bề mặt được đưa vào cột HPLC (Polaris C18, 4,6 x 250 mm; 5 μm) ở 1mL/phút sử dụng Bơm HPLC Jasco. Sau khi đưa, cột được di chuyển đến hệ thống Waters Acquity HPLC-UV

được liên hợp với quang phổ khối kế hermo LTQ và bộ gom phân đoạn CTC Analytics và tiến hành tách HPLC pha đảo (Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril; gradien: 2% trong 5 phút, sau đó lên đến 15% B tiếp đó là 15% đến 60% B trong 80 phút, sau đó 60% đến 95% B trong 5 phút; Tốc độ chảy: 0,8mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây, thu được (1*R*,2*S*,5*S*,6*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**82**), (1*R*,2*S*,5*S*,6*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**83**), (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-(hydroxymetyl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**84**), và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-5-hydroxy-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**81**).

Số ví dụ	Thời gian lưu, HPLC tinh chế (phút)
82	37,2
83	39,3
84	46,6
81	50,5

82 – Hiệu suất: 60 µg, 0,12 µmol, 12%. MS rửa giải cao *m/z* 516,2424 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{33}F_3N_5O_5$, 516,2434. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 9,42 (br d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 9,03 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 5,01 – 4,93 (m, 1H), 4,69 – 4,63 (m, 1H), 4,43 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,94 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,2, 5,4 Hz, 1H), 3,68 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,21 – 3,17 (m, 2H), 3,17 – 3,11 (m, 1H), 3,07 – 3,00 (m, 1H), 1,69 – 1,65 (m, 1H), 1,44 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 0,98 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

83 – Hiệu suất: 30 µg, 0,058 µmol, 6%. MS rửa giải cao *m/z* 516,2425 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{33}F_3N_5O_5$, 516,2434. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 9,37 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 9,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 5,00 – 4,94 (m, 1H), 4,54 – 4,49 (m, 1H), 4,40 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 4,28 (s, 1H), 3,93 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,2, 5,8 Hz, 1H), 3,74 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,6 Hz, 1H), 3,3

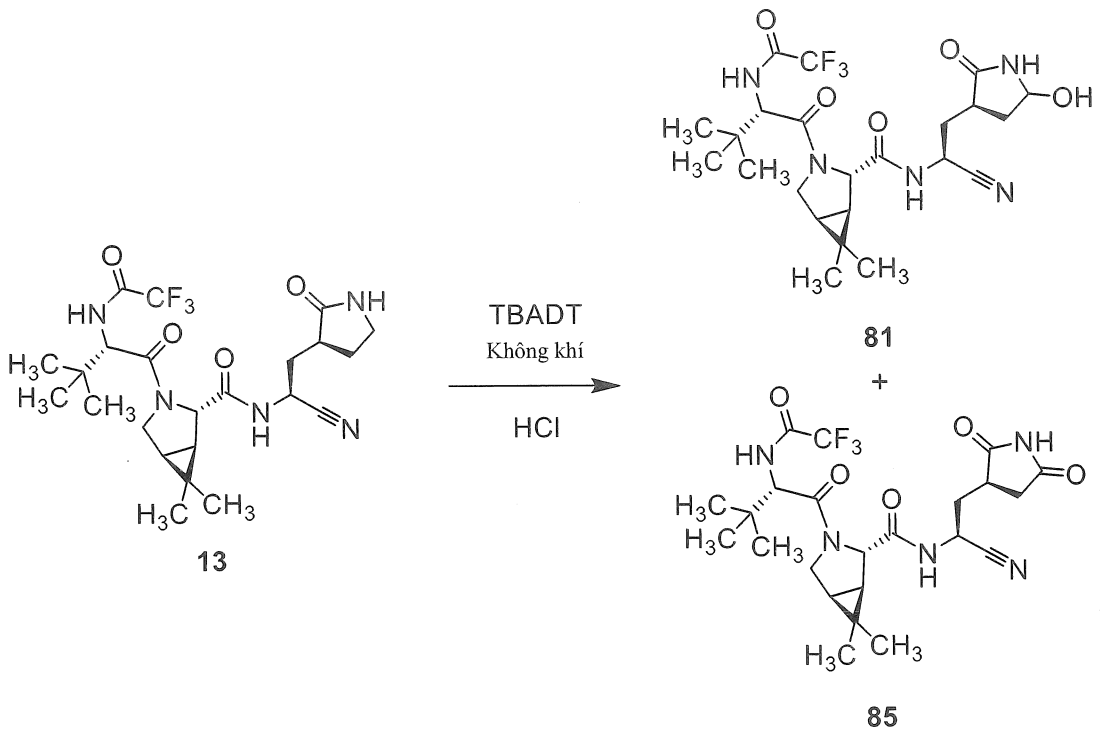
– 3,20 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 3,17 – 3,11 (m, 1H), 3,07 – 3,00 (m, 1H), 1,75 – 1,63 (m, 2H), 1,38 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,3 Hz, 1H), 1,06 (s, 3H), 0,98 (s, 9H).

84 – Hiệu suất: 40 µg, 0,078 µmol, 8%. MS rửa giải cao *m/z* 516,2423 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{33}F_3N_5O_5$, 516,2434. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 9,61 – 9,51 (m, 1H), 9,00 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 5,02 – 4,92 (m, 1H), 4,51 – 4,43 (m, 1H), 4,16 (s, 1H), 3,92 (br dd, J = 10,0, 5,6 Hz, 1H), 3,78 (d, J = 10,6 Hz, 1H), 3,51 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 3,18 – 3,10 (m, 1H), 3,10 – 3,03 (m, 1H), 1,73 – 1,67 (m, 2H), 1,60 – 1,54 (m, 1H), 1,31 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,88 (br s, 6H).

81 – Hiệu suất: 130 µg, 0,252 µmol, 25%. Nguyên liệu này được xác định để tồn tại ở dạng hỗn hợp hoán chuyển chứa các chất đồng phân lập thể quanh gốc carbinolamin của pyrolidon (xem Ví dụ 81 và 82). MS rửa giải cao *m/z* 516,2428 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{33}F_3N_5O_5$, 516,2434. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ [9,40 (d, J = 8,4 Hz) và 9,38 (d, J = 8,2 Hz), tổng 1H], [8,99 (d, J = 8,5 Hz) và 8,92 (d, J = 7,6 Hz), tổng 1H], [8,37 (s) và 8,25 (s), tổng 1H], [5,83 (br s) và 5,70 (br s), tổng 1H], 5,04 – 4,92 (m, 2H), 4,44 – 4,38 (m, 1H), [4,19 (s) và 4,15 (s), tổng 1H], 3,91 (dd, J = 10,2, 5,5 Hz, 1H), [3,69 (d, J = 10 Hz) và 3,68 (d, J = 10,2 Hz), tổng 1H], [2,65 – 2,57 (m), 2,43 – 2,30 (m), và 2,21 – 2,13 (m), tổng 2H], [2,08 (ddd, J = 13,7, 8,4, 6,2 Hz), 2,00 – 1,90 (m), và 1,87 – 1,79 (m), tổng 2H], [1,78 – 1,70 (m) và 1,51 – 1,44 (m), tổng 1H], 1,60 – 1,53 (m, 1H), [1,32 (d, J = 7,6 Hz) và 1,29 (d, J = 7,6 Hz), tổng 1H], 1,03 (s, 3H), [0,99 (s) và 0,98 (s), tổng 9H], [0,85 (s) và 0,84 (s), tổng 3H].

Ví dụ 81 và 85

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-5-hydroxy-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**81**) và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-2,5-dioxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**85**)



Hỗn hợp chứa Ví dụ 13 (1,0 mg, 2,0 μmol) và tetra-*n*-butylamoni decatungstat (TBADT; 0,33 mg, 0,10 μmol) được xử lý bằng axetonitril (0,15mL) và axit clohydric (1,0 M; 0,05mL, 50 μmol). Kim tiêm xi lanh (18 gauge) được luồn qua nắp Teflon của lọ, và hỗn hợp phản ứng dễ bị ảnh hưởng bởi không khí được đặt trong hộp EvoluChem™ PhotoRedOx được trang bị quạt và được chiếu sáng bằng ánh sáng đen (PAR20-18W LG 365 nm, 100-240 VAC) ở 25°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được bổ sung dung dịch nước kali phosphat (1 M, độ pH = 7,5; 0,5mL), sau đó nước (tới thể tích của xấp xỉ 6mL), tiếp đó là bổ sung nước axit formic (1%, 2mL) và đủ axetonitril để duy trì dung dịch. Dung dịch thu được được chia đôi và được dùng cho hai hộp chiết pha rắn Biotage Isolute C18 loại 5 g. Các hộp được rửa bằng dung dịch nước amoni axetat (10 mM; 3mL) và với 20% axetonitril trong 10 mM dung dịch nước amoni axetat (3mL), sau đó được rửa giải bằng axetonitril (3mL). Các dung môi được loại ra sử dụng thiết bị làm bay hơi Genevac, và hai phần cặn được hoàn nguyên trong hỗn hợp chứa axetonitril và 1% nước axit formic và gom đến tổng là 2mL dung dịch. Nguyên liệu này được tiến hành HPLC pha đảo (Cột: Phenomenex Luna C18,10 x 250 mm, 10 μm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril; gradien: 2% đến 15% B trong 5 phút, sau đó 15% đến 60% B trong 80 phút, sau đó 60% đến 95% B trong 5 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút). Các phân đoạn được thu gom cách nhau 20 giây; hợp chất rửa giải thứ nhất là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-5-hydroxy-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-

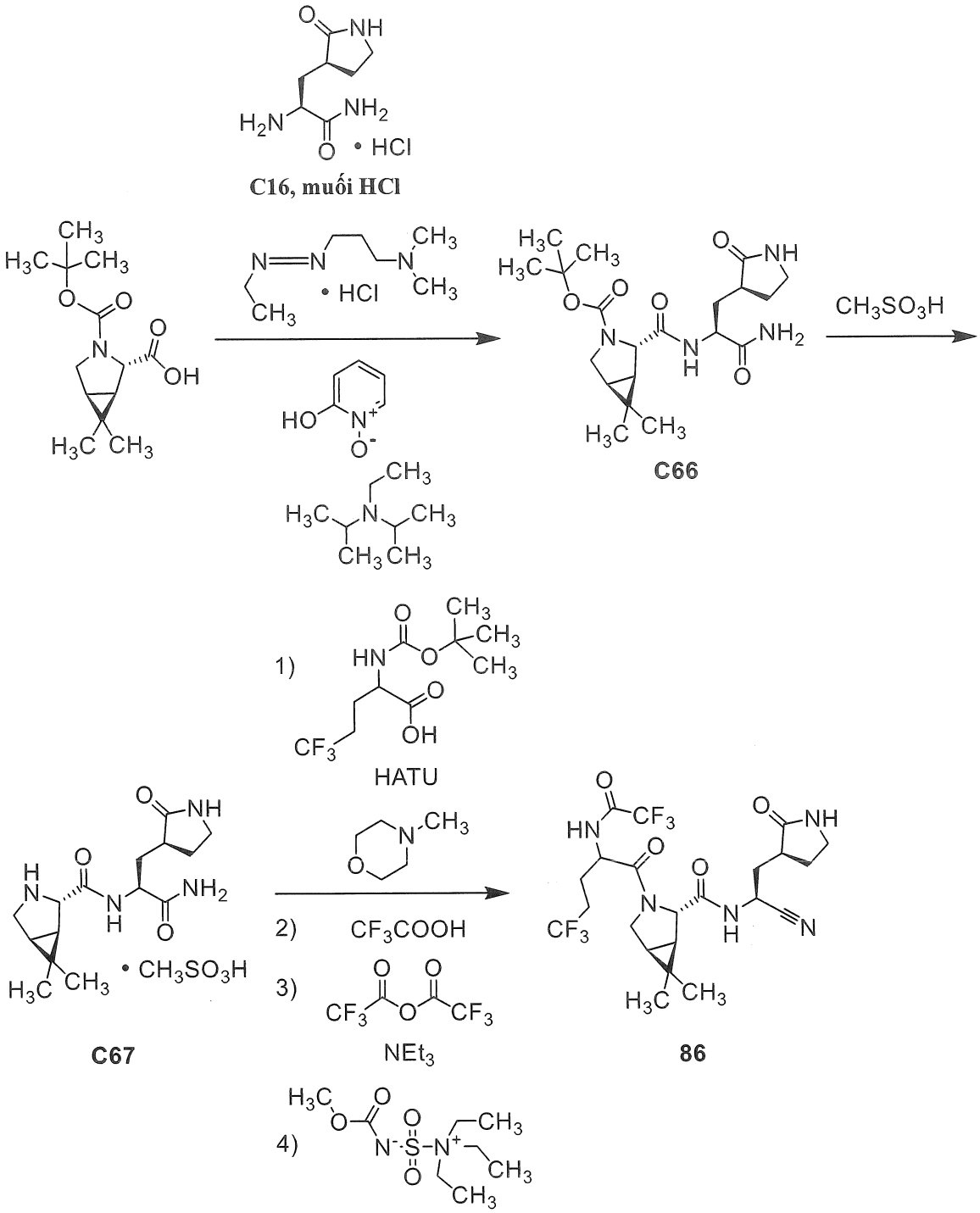
[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**81**), và hợp chất rửa giải thứ hai là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-2,5-dioxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**85**).

Hiệu suất của **81**: 0,122 mg, 0,237 μmol, 12%. Nguyên liệu này được xác định để có mặt ở dạng hỗn hợp hoán chuyển chứa các chất đồng phân lập thể quanh gốc carbinolamin của pyrolidon, và được rửa giải ở dạng đỉnh đôi trên HPLC. MS rửa giải cao *m/z* 516,2413 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{33}F_3N_5O_5$, 516,2434. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 9,44 – 9,34 (m, 1H), [8,99 (d, *J* = 8,5 Hz) và 8,92 (d, *J* = 7,6 Hz), tổng 1H], [8,37 (s) và 8,25 (s), tổng 1H], [5,83 (br s) và 5,70 (br s), tổng 1H], 5,05 – 4,91 (m, 2H), 4,44 – 4,37 (m, 1H), [4,19 (s) và 4,15 (s), tổng 1H], 3,91 (dd, *J* = 10,3, 5,5 Hz, 1H), [3,69 (d, *J* = 10,1 Hz) và 3,68 (d, *J* = 10,3 Hz), tổng 1H], [2,65 – 2,57 (m), 2,43 – 2,30 (m), và 2,17 (ddd, *J* = 14,9, 10,7, 4,7 Hz), tổng 2H], [2,08 (ddd, *J* = 14,1, 8,5, 6,2 Hz), 2,01 – 1,90 (m), và 1,83 (ddd, *J* = 13,7, 10,1, 5,7 Hz), tổng 2H], [1,78 – 1,70 (m) và 1,51 – 1,44 (m), tổng 1H], 1,60 – 1,53 (m, 1H), [1,32 (d, *J* = 7,6 Hz) và 1,29 (d, *J* = 7,6 Hz), tổng 1H], 1,03 (s, 3H), [0,99 (s) và 0,98 (s), tổng 9H], [0,85 (s) và 0,84 (s), tổng 3H]. Thời gian lưu: 7,7 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 μm; Pha động A: nước chứa 0,1% axit formic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril; gradien: 5% B trong 0,5 phút, sau đó 5% đến 70% B trong 10,5 phút, sau đó 70% đến 95% B trong 2 phút; Tốc độ chảy: 0,4mL/phút).

Hiệu suất của **85**: 0,104 mg, 0,203 μmol, 10%. MS rửa giải cao *m/z* 514,2259 $[M+H]^+$; được tính toán đối với $C_{23}H_{31}F_3N_5O_5$, 514,2277. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 11,17 (br s, 1H), 9,40 (br s, 1H), 9,08 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 5,06 – 4,98 (m, 1H), 4,42 – 4,36 (m, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,91 (dd, *J* = 10,3, 5,6 Hz, 1H), 3,70 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,00 – 2,93 (m, 1H), 2,60 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 18,0, 5,9 Hz, 1H), 2,46 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 18,1, 9,1 Hz, 1H), 2,25 – 2,18 (m, 1H), 2,04 – 1,97 (m, 1H), 1,60 – 1,55 (m, 1H), 1,35 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,95 (s, 9H), 0,86 (s, 3H). Thời gian lưu: 8,3 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng đối với **81**).

Ví dụ 86

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[5,5,5-triflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**86**)



Bước 1. Tổng hợp *tert*-butyl (1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-carboxylat (**C66**).

Huyền phù đặc 0°C chứa axit (1*R*,2*S*,5*S*)-3-(*tert*-butoxycarbonyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (5,25 g, 20,6mmol), **C16, muối HCl** (4,70 g, 22,6mmol), và 2-hydroxypyridin 1-oxit (571 mg, 5,14mmol) trong butan-2-on (108mL)

được bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (7,97 g, 61,7mmol) tiếp đó là 1-[3-(dimetylamin)propyl]-3-etylcarbodiimit hydroclorua (4,73 g, 24,7mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 20 phút, nó được làm ấm từ từ đến nhiệt độ trong phòng, và sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra sự có mặt của **C66**: LCMS *m/z* 407,1 $[M-H]^-$. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (100mL), và được rửa liên tiếp như sau: hỗn hợp chứa nước (50mL) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (20mL), dung dịch nước natri clorua bão hòa (70mL), hai lần bằng hỗn hợp chứa axit clohydric (1 M; 50mL) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (20mL), và cuối cùng bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (70mL). Mỗi lớp nước được chiết bằng etyl axetat (100mL), và lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat và được lọc. Natri sulfat thu gom được rửa bằng etyl axetat (2 x 50mL), và các phần dịch lọc gom lại được cô trong chân không, được pha loãng bằng heptan (50mL), và được cô trong điều kiện áp suất thấp để cho **C66** ở dạng thủy tinh không màu (6,69 g). Bằng cách phân tích ^{1}H NMR, một số dung môi có mặt; độ tinh khiết được ước tính ở xấp xỉ 85% khối lượng. Phân tích ^{1}H NMR cũng đã chỉ ra rằng nguyên liệu này tồn tại ở dạng hỗn hợp chứa các chất đồng phân quay. Hiệu suất, được điều chỉnh về sự có mặt của các dung môi: 5,7 g, 14mmol, 68%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 8,23 – 8,13 (m, 1H), [7,63 (br s) và 7,59 (br s), tổng 1H], [7,36 (br s) và 7,23 (br s), tổng 1H], 7,08 – 7,00 (m, 1H), 4,31 – 4,19 (m, 1H), [4,03 (s) và 3,99 (s), tổng 1H], [3,58 (dd, J = 10,8, 4,6 Hz) và 3,49 (dd, J = 10,8, 3,9 Hz), tổng 1H], [3,27 (d, J = 10,9 Hz) và 3,26 (d, J = 10,7 Hz), tổng 1H], 3,22 – 3,00 (m, 2H), 2,38 – 2,09 (m, 2H), 1,79 – 1,43 (m, 2H), [1,36 (s) và 1,29 (s), tổng 9H], 1,00 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, muối metansulfonat (**C67**).

Axit metanesulfonic (0,920mL, 14,2mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C66** (xấp xỉ 85% khối lượng, từ bước trên đây; 6,68 g, 14mmol) trong 1,1,1,3,3,3-hexaflopropan-2-ol (30mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không. Phần lắng cặn lần lượt được hấp thụ trong các hệ dung môi sau, tiếp đó là cô lại: axetonitril / etyl axetat (1:1, 2 x 10mL) và etyl axetat / heptan (1:1, 2 x 10mL), để tạo ra **C67** ở dạng thủy tinh (7,18 g). Một phần nguyên liệu này được dùng cho bước tiếp theo. LCMS *m/z* 309,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz,

metanol-d_4) δ 4,51 (dd, J = 10,8, 4,7 Hz, 1H), 4,21 (br s, 1H), 3,73 (dd, J = 12,4, 6,3 Hz, 1H), 3,41 – 3,22 (m, 3H), 2,70 (s, 3H), 2,58 – 2,47 (m, 1H), 2,42 – 2,32 (m, 1H), 2,16 (ddd, J = 14,0, 10,8, 4,8 Hz, 1H), 1,97 (br d, J = 7,9 Hz, 1H), 1,95 – 1,84 (m, 1H), 1,84 – 1,75 (m, 2H), 1,15 (s, 6H).

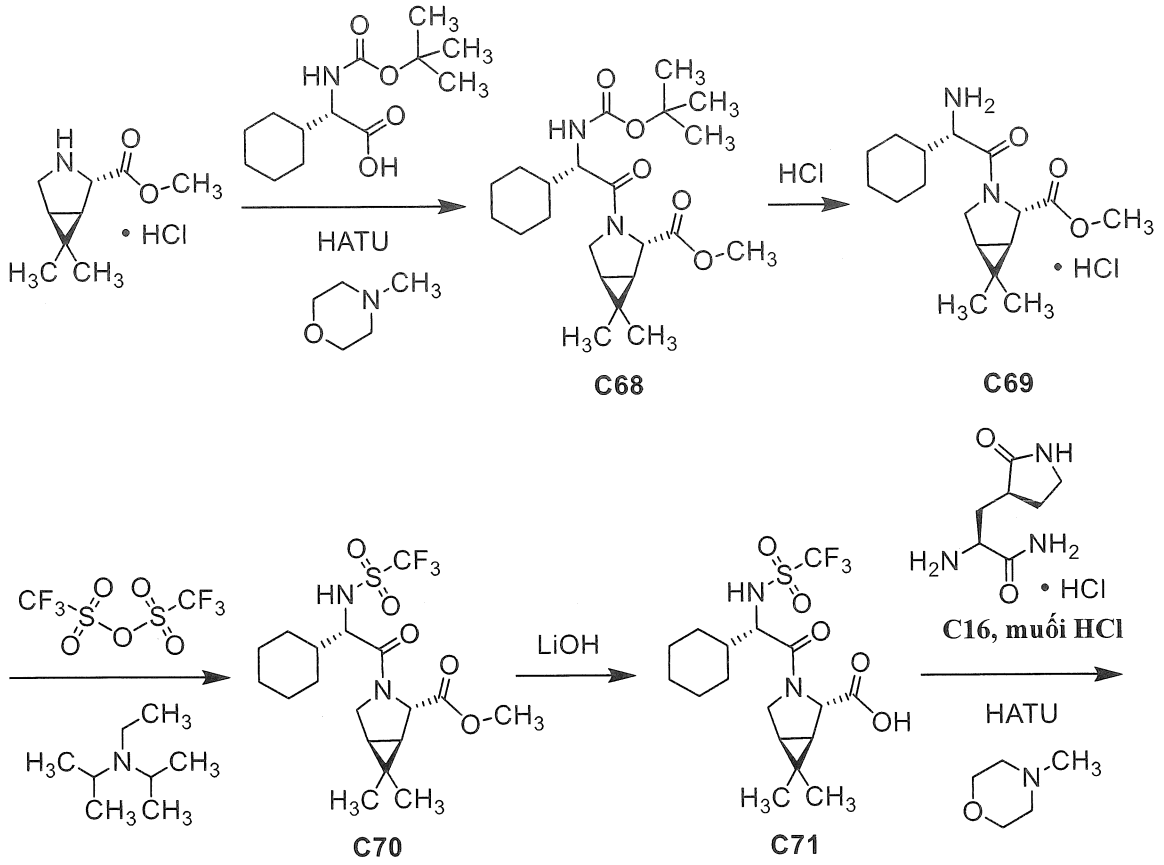
Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[5,5,5-triflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**86**).

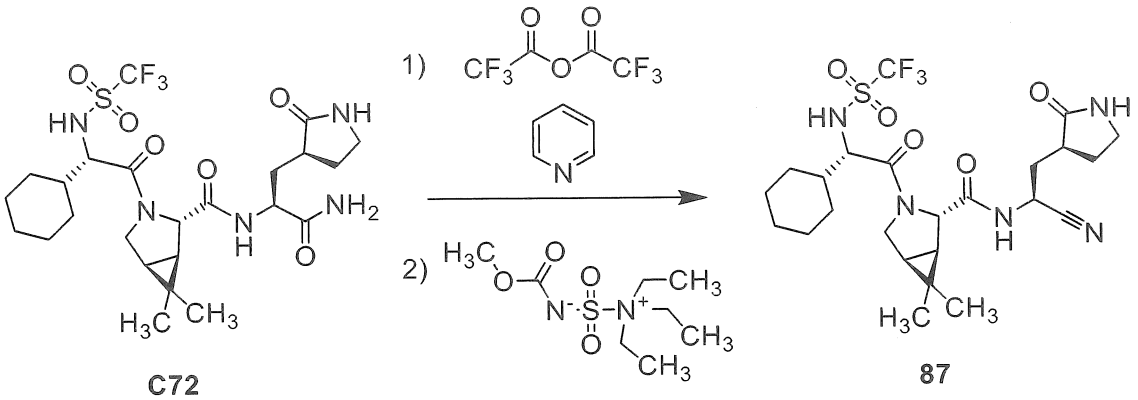
Dung dịch chứa axit 2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-5,5,5-triflopentanoic (59,0 mg, 0,218mmol) trong hỗn hợp chứa axetonitril (0,60mL) và *N,N*-dimetylformamit (0,40mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 82,7 mg, 0,218mmol) tiếp đó là 4-metylmorpholin (54,4 μL, 0,495mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 20 phút, **C67** (từ bước trên đây; 100 mg, ≤0,19mmol) được bổ sung ở dạng chất rắn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1,5 giờ, trong khi đó nó được phân bố giữa etyl axetat và dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat, và các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô sử dụng dòng nitơ. Phần lắng cặn được hoà tan trong diclometan (0,70mL), được xử lý bằng axit trifloaxetic (0,175mL), và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó 2 giờ, axit trifloaxetic (0,10mL) được bổ sung tiếp; Khuấy liên tục trong 3 giờ nữa, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được cô dưới dòng nitơ, và sau đó trong chân không. Nguyên liệu này được hoà tan trong diclometan (0,75mL), được làm lạnh trong bồn đá, và được xử lý bằng trietylamin (54,8 μL, 0,393mmol); trifloaxetic anhydrit (41,2 μL, 0,292mmol) được bổ sung từng giọt, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Các chất dễ bay hơi được loại ra sử dụng thiết bị làm bay hơi Genevac, và phần lắng cặn được hoà tan trong diclometan (0,90mL), được xử lý bằng metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 132 mg, 0,554mmol), và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được cô dưới dòng nitơ, được pha loãng bằng etyl axetat, và được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat, và các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô dưới dòng nitơ. Tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 μm; Pha động A: 0,05% axit trifloaxetic trong nước; Pha động B: 0,05% axit trifloaxetic trong axetonitril; gradien: 5% đến 95% B trong 8,54 phút, tiếp đó là 95% B trong 1,46 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút)

tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[5,5,5-triflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**86**). Hiệu suất: 14 mg, 26 µmol, 14% qua 2 bước. LCMS *m/z* 540,6 $[M+H]^+$: Thời gian lưu: 2,60 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5,0% đến 95% B, tuyến tính trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 87

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**87**)





Bước 1. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-{(2*S*)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-xyclohexylaxetyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C68**).

Dung dịch 0°C gồm metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (300 mg, 1,46mmol) và axit (2*S*)-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino](xyclohexyl)axetic (394 mg, 1,53mmol) trong N,N-dimetylformamit (5mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 610 mg, 1,60mmol), tiếp đó là từng giọt bổ sung 4-metylmorpholin (443 mg, 4,38mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 10 phút, sau đó ở nhiệt độ trong phòng (20°C) trong 2 giờ, trong khi đó nó được rót vào nước đá (30mL) và được chiết bằng etyl axetat (3 x 40mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng nước (40mL), axit clohydric (1 M; 40mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (40mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa, sau đó được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C68** ở dạng bọt trắng. Hiệu suất: 580 mg, 1,42mmol, 97%. LCMS *m/z* 409,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,03 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,17 (s, 1H), 4,00 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,88 (dd, *J* = 9, 9 Hz, 1H), 3,75 (dd, *J* = 10,3, 5,3 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 1,83 – 1,47 (m, 8H), 1,46 – 1,28 (m, 2H), 1,33 (s, 9H), 1,18 – 1,06 (m, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,86 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-amino-2-xyclohexylaxetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (**C69**).

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 15mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch 5°C chứa **C68** (580 mg, 1,42mmol) trong 1,4-dioxan (3mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (20°C) trong 1,5 giờ, nó được cô trong chân không. Phần lắng cặn được làm bay hơi đồng thời với diclometan để cho **C69** ở dạng bọt màu vàng sáng (490 mg), khối này được sử dụng trong thử nghiệm dưới đây. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,22 (br s, 3H), 4,26 (s, 1H), 3,99 – 3,90 (m, 1H), 3,76 (dd, hợp

phần của hệ ABX, J = 10,7, 5,1 Hz, 1H), 3,71 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,6 Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 1,83 – 1,60 (m, 6H), 1,59 (dd, J = 7,6, 5,1 Hz, 1H), 1,49 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,27 – 1,02 (m, 5H), 1,03 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).

Bước 3. Tổng hợp metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C70**).

Dung dịch −10°C gồm **C69** (từ bước trên đây; 480 mg, ≤1,39mmol) trong diclometan (10mL) được bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (630 mg, 4,87mmol), tiếp đó là từng giọt bổ sung triflometansulfonic anhydrit (0,328mL, 1,95mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở −10°C trong 1 giờ, sau đó ở nhiệt độ trong phòng (20°C) trong 1 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (50mL) và được chiết bằng diclometan (3 x 30mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (dung môi rửa giải: 1:4 etyl axetat / dầu mỏ ete), tạo ra **C70** ở dạng dầu màu vàng sáng. Hiệu suất: 124 mg, 0,282mmol, 20% qua 2 bước. LCMS *m/z* 441,1 $[M+H]^+$.

Bước 4. Tổng hợp axit (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C71**).

Dung dịch chứa **C70** (120 mg, 0,272mmol) trong hỗn hợp chứa nước (2mL), metanol (2mL), và tetrahydrofuran (2mL) được bổ sung lithi hydroxit monohydrat (28,6 mg, 0,682mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (20°C) trong 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng, LCMS chỉ ra rằng phản ứng được hoàn thành: LCMS *m/z* 427,2 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ dung môi hữu cơ. Phần cặn lắng được pha loãng bằng nước (5mL) và sau đó được axit hóa tới độ pH 2 đến 3 bằng cách bổ sung axit clohydric 1M; hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (2 x 30mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, tạo ra **C71** ở dạng chất rắn màu vàng sáng. Hiệu suất: 92,0 mg, 0,216mmol, 79%.

Bước 5. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C72**).

Dung dịch 0°C gồm **C71** (92,0 mg, 0,216mmol) và **C16, muối HCl** (72%, 68,8 mg, 0,238mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 98,4 mg, 0,259mmol), tiếp đó là 4-metylmorpholin (76,4 mg, 0,755mmol). Hỗn hợp phản ứng sau đó được khuấy ở 20°C trong 2 giờ, trong khi đó nó được rót vào nước đá (10mL) và được chiết bằng hỗn hợp chứa cloroform và 2-propanol (4:1, 4 x 20mL). Lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tinh chế bằng sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan), thu được **C72** ở dạng thủy tinh không màu. Hiệu suất: 100 mg, 0,173mmol, 80%. LCMS *m/z* 580,2 $[M+H]^+$.

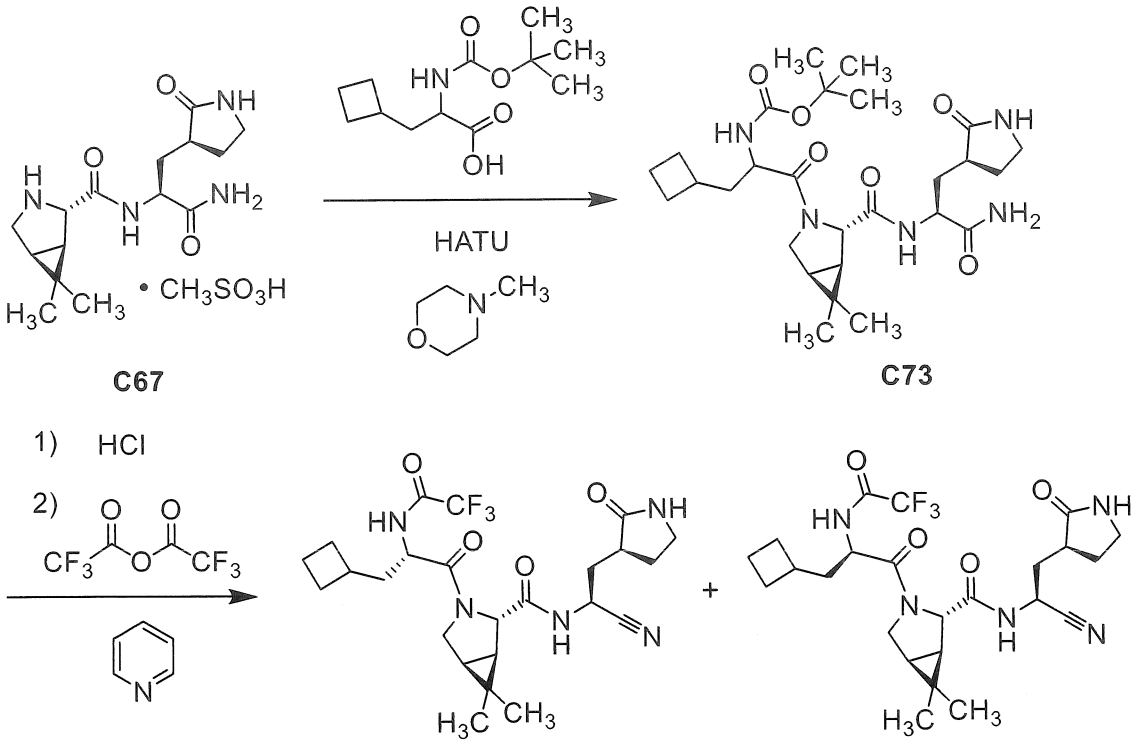
Bước 6. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**87**).

Dung dịch chứa trifloaxetic anhydrit (47,1 mg, 0,224mmol) trong diclometan (1mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch 0°C gồm **C72** (100 mg, 0,173mmol) và pyridin (41,7 µL, 0,516mmol) trong diclometan (3mL). Sau đó hỗn hợp được khuấy trong 20 giờ ở nhiệt độ trong phòng (10°C đến 20°C), nó được cô trong chân không và được hòa tan lại trong diclometan (3mL). Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 103 mg, 0,432mmol) được bổ sung, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (20°C) trong 20 giờ. Sau đó, nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (10mL) và được chiết bằng diclometan (3 x 20mL); lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và tiến hành sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies Chiralcel OD, 30 x 250 mm, 10 µm; Pha động: 4:1 cacbon dioxit / (etanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 60mL/phút]. Các phân đoạn chứa **87** được cô trong chân không below 40°C để loại bỏ đồng dung môi rượu. Phần cặn lắng được pha loãng bằng etyl axetat (50mL) và diclometan (5mL) và được rửa liên tiếp bằng axit clohydric (1 M; 20mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (20mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa. Lớp hữu cơ thu được được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không trước khi được trộn với nước (20mL) và axetonitril (5mL); hỗn hợp này được đông khô nhanh để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**87**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 27,6 mg, 49,1 µmol, 28%. LCMS

m/z 562,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 9,93 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 9,10 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 5,03 – 4,94 (m, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,88 – 3,78 (m, 2H), 3,55 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,20 – 3,11 (m, 1H), 3,10 – 3,00 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 1H), 2,06 – 1,95 (m, 1H), 1,85 – 1,53 (m, 9H), 1,33 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Ví dụ 88 và 89

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-D-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**88** và **89**)



Bước 1. Tổng hợp *tert*-butyl {1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3-xyclobutyl-1-oxopropan-2-yl}carbamat (**C73**).

Dung dịch 0°C gồm **C67** (150 mg, 0,371mmol) và *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-xyclobutylalanin (99,2 mg, 0,408mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 169 mg, 0,444mmol). 4-metylmorpholin (131 mg, 1,30mmol) sau đó được bổ sung từng giọt, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 25°C và khuấy qua đêm. Nước đá

(10mL) được bổ sung, và hỗn hợp thu được được chiết bằng hỗn hợp chứa cloroform và 2-propanol (4:1, 4 x 20mL); lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) được thực hiện hai lần, tạo ra **C73** ở dạng chất rắn màu trắng, bao gồm hỗn hợp chứa hai chất đồng phân không đối quang. Hiệu suất: 106 mg, 0,199mmol, 54%. LCMS *m/z* 534,2 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ [8,59 (d, *J* = 5,5 Hz) và 7,85 (d, *J* = 7,7 Hz), tổng 1H], 7,20 – 7,06 (m, 1H), [5,78 (br s) và 5,67 (br s), tổng 1H], [5,51 (br s) và 5,40 br (s), tổng 1H], 5,22 – 5,12 (m, 1H), [4,49 – 4,39 (m) và 4,38 – 4,23 (m), tổng 3H], 4,17 – 4,06 (m, 1H), [3,83 (d, *J* = 10,4 Hz) và 3,50 (d, *J* = 10,5 Hz), tổng 1H], 3,42 – 3,28 (m, 2H), 2,50 – 2,30 (m, 3H), 2,23 – 2,00 (m, 4H), 2,00 – 1,77 (m, 4H), 1,73 – 1,44 (m, 5H), [1,40 (s) và 1,39 (s), tổng 9H], [1,07 (s) và 1,03 (s), tổng 3H], [0,98 (s) và 0,92 (s), tổng 3H].

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-D-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit [**88 (DIAST-1)** và **89 (DIAST-2)**].

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 5mL, 20mmol) được bổ sung từng giọt vào dung dịch 0°C gồm **C73** (106 mg, 0,199mmol) trong diclometan (5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 15 phút và sau đó ở 25°C trong 2 giờ, trong khi đó nó được cô trong chân không để tạo ra nguyên liệu được khử bảo vệ ở dạng chất rắn màu trắng: LCMS *m/z* 434,2 $[M+H]^+$. Nguyên liệu này hoà tan trong diclometan (3mL), được làm lạnh trong bồn đá, và được xử lý bằng pyridin (79,9 mg, 1,01mmol) và dung dịch chứa trifloaxetic anhydrit (170 mg, 0,809mmol) trong diclometan (1,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 20 giờ; pyridin (40,0 mg, 0,506mmol) sau đó được bổ sung, và khuấy liên tục trong 12 giờ nữa ở 25°C. Sau đó pha loãng bằng diclometan (15mL), hỗn hợp phản ứng được rửa liên tiếp bằng axit clohydric (1 M; 10mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3 x 10mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa (10mL), được làm khô, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong diclometan) tiếp đó tiến hành sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies Chiralpak IC, 30 x 250 mm, 10 µm; Pha động: 3:1 cacbon dioxit / (metanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 70mL/phút], thu được các chất đồng phân không

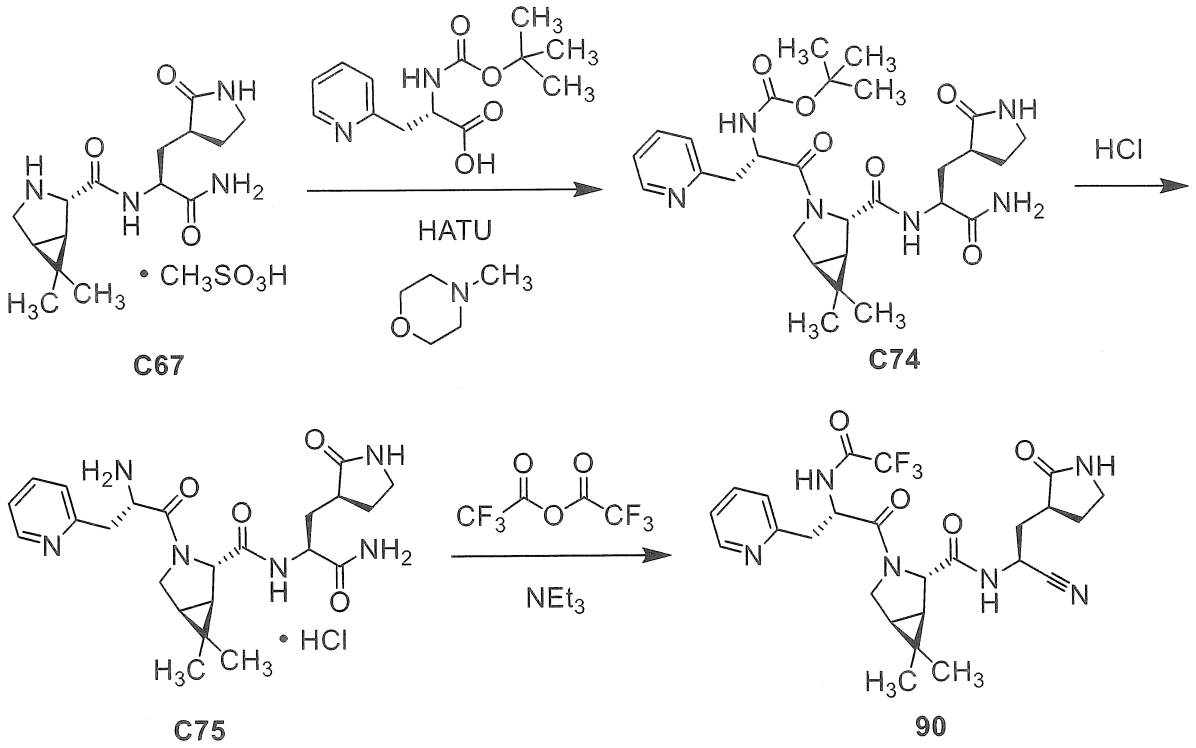
đối quang đã được tách (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-D-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit. Nguyên liệu chứa cấu hình D-alanyl và chứa cấu hình L-alanyl không được xác định; chất đồng phân không đối quang rửa giải lần thứ nhất được chỉ ra là **88**, và chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai được chỉ ra là **89**. Cả hai chất này thu được ở dạng chất rắn màu trắng.

88 – Hiệu suất: 9,3 mg, 18,2 µmol, 9% qua 2 bước. LCMS *m/z* 512,1 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,75 (br d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 8,96 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 5,00 – 4,90 (m, 1H), 4,32 – 4,23 (m, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,82 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,2, 5,4 Hz, 1H), 3,69 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,20 – 3,02 (m, 2H), 2,44 – 2,28 (m, 2H), 2,16 – 2,04 (m, 2H), 2,04 – 1,91 (m, 2H), 1,87 – 1,54 (m, 9H), 1,32 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,88 (s, 3H). Thời gian lưu: 2,78 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Chiral Technologies Chiralpak IC-3, 4,6 x 150 mm, 3 µm; Pha động A: cacbon dioxit; Pha động B: metanol chứa 0,05% dietylamin (thể tích/thể tích); gradien: 5% đến 40% B trong 5 phút, sau đó 40% B trong 2,5 phút; Áp suất ngược: 1500 psi; Tốc độ chảy: 2,5mL/phút).

89 – Hiệu suất: 23 mg, 45,0mmol, 23% qua 2 bước. ^1H NMR Phân tích đã chỉ ra rằng nguyên liệu này tồn tại ở dạng hỗn hợp chứa các chất đồng phân quay. LCMS *m/z* 512,1 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ [9,92 br (s) và 9,65 (br s), tổng 1H], [9,22 (d, *J* = 7,7 Hz) và 8,85 (d, *J* = 8,4 Hz), tổng 1H], [7,76 (s) và 7,67 (s), tổng 1H], [5,11 – 5,00 (m) và 4,98 – 4,87 (m), tổng 1H], [4,51 (s) và 4,07 (s), tổng 1H], [4,47 – 4,36 (m) và 4,09 – 4,00 (m), tổng 1H], [3,90 (dd, *J* = 10,2, 5,3 Hz) và 3,60 – 3,45 (m), tổng 2H], 3,21 – 3,00 (m, 2H), 2,44 – 2,33 (m, 1H), 2,28 – 1,98 (m, 3H), 1,98 – 1,52 (m, 10H), [1,49 – 1,38 (m) và 1,32 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz), tổng 2H], [1,04 (s) và 1,02 (s), tổng 3H], [0,93 (s) và 0,82 (s), tổng 3H]. Thời gian lưu: 4,14 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng cho **88**).

Ví dụ 90

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(pyridin-2-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**90**)



Bước 1. Tổng hợp *tert*-butyl [(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-1-oxo-3-(pyridin-2-yl)propan-2-yl]carbamat (**C74**).

Dung dịch 0°C gồm **C67** (250 mg, 0,618mmol) và *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-pyridin-2-yl-L-alanin (198 mg, 0,744mmol) trong N,N-dimetylformamit (2mL) được bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 282 mg, 0,742mmol), tiếp đó là từng giọt bổ sung dung dịch chứa 4-metylmorpholin (188 mg, 1,86mmol) trong N,N-dimetylformamit (1mL). Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm ấm đến 20°C và được khuấy trong 2 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng nước (10mL) và được chiết bằng etyl axetat (10mL). Natri sulfat rắn được bổ sung vào lớp nước cho tới khi bão hòa, trong khi đó lớp nước được chiết bằng hỗn hợp chứa diclometan và metanol (10:1, 3 x 20mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan), thu được **C74** ở dạng gôm màu vàng. Hiệu suất: 250 mg, 0,449mmol, 73%. LCMS *m/z* 557,0 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, metanol-d_4), các đỉnh đặc trưng: δ 8,49 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,78 – 7,71 (m, 1H), 7,35 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,30 – 7,25 (m, 1H), 4,73 (dd, *J* = 8,5, 5,2 Hz, 1H), 4,40 (dd, *J* = 11,8, 4,2 Hz, 1H), 4,30 (s, 1H), 4,01 – 3,90 (m, 1H), 3,26 (dd, *J* = 14,2, 5,6 Hz, 1H), 2,94 (dd, *J* = 14,1, 8,9 Hz, 1H), 2,65 – 2,53 (m, 1H), 2,37 – 2,25 (m, 1H), 2,14 – 2,04 (m,

1H), 1,91 – 1,78 (m, 2H), 1,61 – 1,55 (m, 1H), 1,53 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,7 Hz, 1H), 1,34 (s, 9H), 1,08 (s, 3H), 1,00 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[3-(pyridin-2-yl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, muối hydroclorua (**C75**).

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 6mL) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C74** (250 mg, 0,449mmol) trong diclometan (2mL), và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 5 giờ ở 20°C. Phân tích LCMS chỉ ra rằng có sự chuyển hoá thành **C75**: LCMS *m/z* 457,1 $[M+H]^+$. Loại các dung môi trong chân không tạo ra **C75** ở dạng chất rắn màu vàng (250 mg); một phần nguyên liệu này được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 8,81 (br d, J = 5,4 Hz, 1H), 8,43 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,39 – 8,31 (m, 1H), 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,87 – 7,81 (m, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,43 (br s, 1H), 7,06 (br s, 1H), 4,77 – 4,67 (m, 1H), 4,35 (s, 1H), 4,32 – 4,23 (m, 1H), 3,94 – 3,86 (m, 1H), 3,80 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,6 Hz, 1H), 3,36 – 3,25 (m, 1H), 3,20 – 3,08 (m, 2H), 2,35 – 2,23 (m, 1H), 2,17 – 2,06 (m, 1H), 2,01 – 1,90 (m, 1H), 1,55 – 1,48 (m, 1H), 1,43 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 3H).

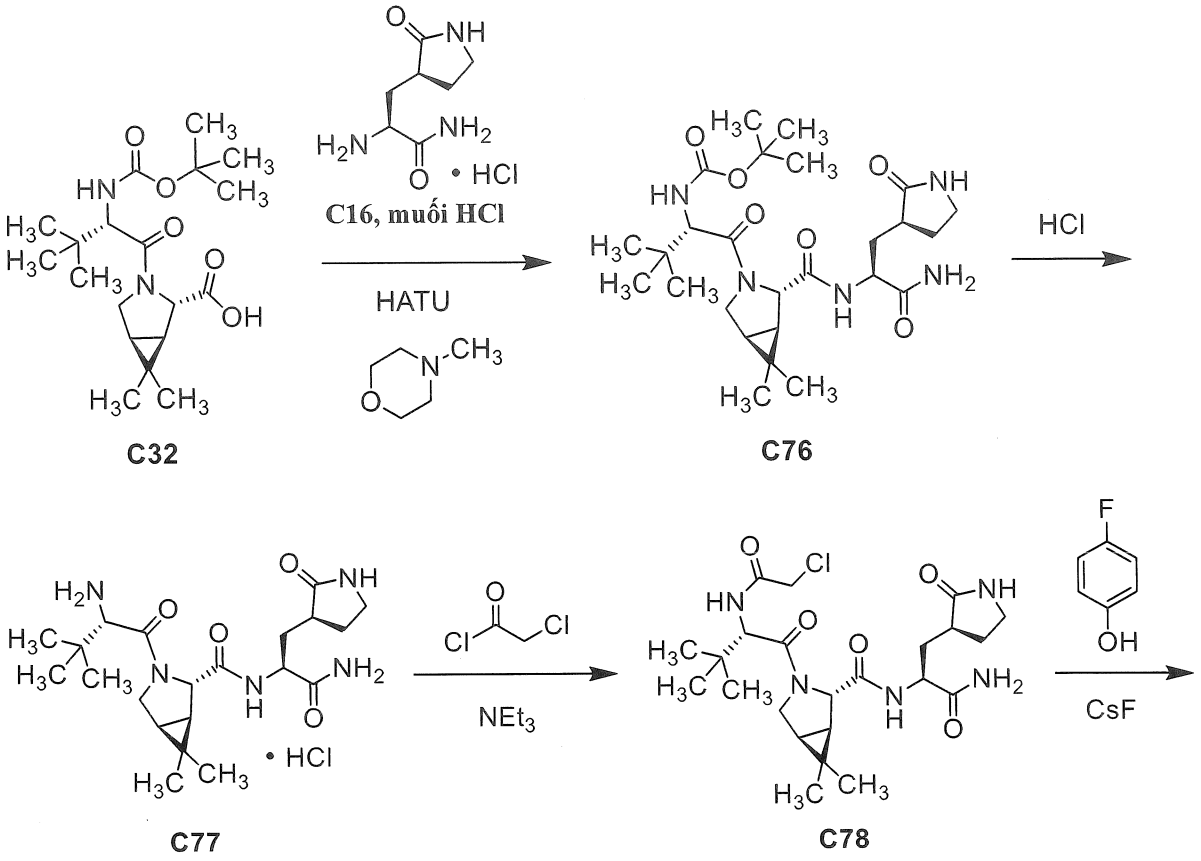
Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(pyridin-2-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**90**).

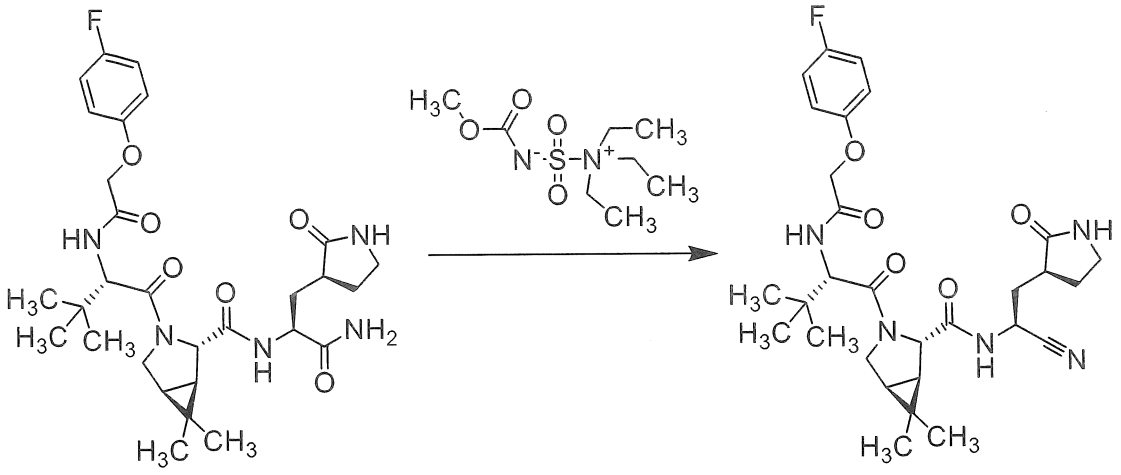
Dung dịch 0°C gồm **C75** (từ bước trên đây; 175 mg, ≤0,314mmol) trong diclometan (6mL) được bổ sung pyridin (197 mg, 2,49mmol), tiếp đó là dung dịch chứa trifloaxetic anhydrit (186 mg, 0,886mmol) trong diclometan (2mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 2 giờ, nó được pha loãng bằng nước và được chiết bằng hỗn hợp chứa diclometan và metanol (10:1, 3 x 15mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tiến hành sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan), tiếp đó là sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies Chiralpak AS, 30 x 250 mm, 10 µm; Pha động: 3:1 cacbon dioxit / (etanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 70mL/phút], để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(pyridin-2-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**90**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 25 mg, 46,8 µmol, 15% qua 2 bước. LCMS *m/z* 535,1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,92 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 8,91

(d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,51 (br d, J = 5 Hz, 1H), 7,75 – 7,68 (m, 2H), 7,28 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,25 (dd, J = 7,3, 5,1 Hz, 1H), 5,00 – 4,88 (m, 2H), 4,15 (s, 1H), 3,86 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,3, 5,4 Hz, 1H), 3,70 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,3 Hz, 1H), 3,21 – 3,04 (m, 4H), 2,42 – 2,31 (m, 1H), 2,18 – 2,04 (m, 2H), 1,76 (ddd, J = 13,5, 9,6, 6,6 Hz, 1H), 1,74 – 1,62 (m, 1H), 1,62 – 1,53 (m, 1H), 1,33 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Ví dụ 91

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{*N*-[(4-flophenoxy)axetyl]-3-metyl-L-valyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**91**)





C79 91

Bước 1. Tổng hợp *tert*-butyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**C76**).

Dung dịch chứa **C32** (15,4 g, 41,8mmol) và **C16, muối HCl** (75%, 11,6 g, 41,9mmol) trong N,N-dimetylformamit (380mL) được làm lạnh từ −5°C đến 0°C. Bổ sung *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 18,3 g, 48,1mmol) và 4-metylmorpholin (12,7 g, 126mmol) vào dung dịch này ở −5°C đến 0°C. Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1,5 giờ, nó được rót vào nước đá (400mL), và hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat (3 x 200mL). Các lớp hữu cơ gom lại lần lượt được rửa bằng dung dịch nước axit xitric (1 M; 120mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (120mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa (3 x 60mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và kết hợp với sản phẩm thô từ phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C32** (1,08 g, 2,93mmol). Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) tạo ra **C76** ở dạng chất rắn màu trắng (9,80 g). Các lớp nước gom lại được chiết bằng hỗn hợp chứa cloroform và 2-propanol (4:1, 3 x 100mL); nồng độ của các phần chiết gom lại này tiếp đó tiến hành sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) để cho bổ sung **C76** ở dạng chất rắn màu trắng (2,3 g). Hiệu suất gộp: 12,1 gm, 23,2mmol, 52%. LCMS *m/z* 522,5 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,28 (br d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 7,20 (br s, 1H), 5,71 (br s, 1H), 5,38 (br s, 1H), 5,10 (br d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,47 – 4,38 (m, 1H), 4,28 – 4,20 (m, 2H), 4,12 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,2, 4,0 Hz, 1H), 3,99 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,40 – 3,33 (m, 2H), 2,53 – 2,35 (m, 2H), 2,17 – 2,07 (m,

1H), 2,00 – 1,81 (m, 2H), 1,52 – 1,4 (m, 2H, được giả định; bị che phần lớn bởi đỉnh nước và *tert*-butyl signal), 1,39 (s, 9H), 1,02 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,88 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-(3-metyl-L-valyl)-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, muối hydroclorua (**C77**).

Dung dịch 0°C gồm **C76** (12,1 g, 23,2mmol) trong diclometan (50mL) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 250mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 2 giờ, nó được lọc. Bánh lọc được khuấy bằng metyl *tert*-butyl ete (250mL) trong 18 giờ; tiến hành lọc tạo ra **C77** ở dạng chất rắn màu vàng sáng/trắng (10,89 g). LCMS *m/z* 422,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,38 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 8,19 (br s, 3H), 7,57 (br s, 1H), 7,41 (br s, 1H), 7,04 (br s, 1H), 4,35 – 4,27 (m, 1H), 4,34 (s, 1H), 3,85 – 3,72 (m, 2H), 3,65 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,8 Hz, 1H), 3,16 – 3,09 (m, 1H), 3,05 – 2,95 (m, 1H), 2,43 – 2,31 (m, 1H), 2,17 – 2,04 (m, 1H), 2,00 – 1,89 (m, 1H), 1,71 – 1,42 (m, 3H), 1,38 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,7 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 1,02 (s, 9H), 0,97 (s, 3H).

Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-3-[*N*-(cloaxetyl)-3-metyl-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C78**).

Trietylamin (2,21 g, 21,8mmol) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C77** (từ bước trên đây; 2,50 g, ≤5,33mmol) trong diclometan (100mL). Dung dịch chứa cloaxetyl clorua (1,23 g, 10,9mmol) trong diclometan (9mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng từng giọt, và khuấy liên tục ở 0°C trong 1 giờ. Nước (50mL) sau đó được bổ sung, và hỗn hợp thu được được chiết bằng hỗn hợp chứa cloroform và 2-propanol (4:1, 3 x 50mL); lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (50mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) tạo ra **C78** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 1,21 g, 2,43mmol, 46% qua 2 bước. LCMS *m/z* 498,1 (mẫu đồng phân clo được quan sát) $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,30 – 8,22 (m, 2H), 7,54 (br s, 1H), 7,30 (br s, 1H), 7,03 (br s, 1H), 4,35 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,29 (ddd, J = 12,1, 8,7, 3,4 Hz, 1H), 4,24 (s, 1H), 4,11 (Vạch bốn AB, J_{AB} = 12,4 Hz, $\Delta\nu_{AB}$ = 14,3 Hz, 2H), 3,86 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,2, 5,4 Hz, 1H), 3,72 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,3 Hz, 1H), 3,18 – 3,08 (m, 1H), 3,07 – 2,97 (m, 1H), 2,48 – 2,36 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 1H), 1,99

– 1,88 (m, 1H), 1,69 – 1,43 (m, 3H), 1,37 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,7 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

Bước 4. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-3-{*N*-[(4-flophenoxy)axetyl]-3-metyl-L-valyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C79**).

4-Flophenol (49,5 mg, 0,442mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa xesi florua (67,1 mg, 0,442mmol) trong N,N-dimetylformamit (3mL), và hỗn hợp được khuấy ở 65°C trong 1 giờ, trong khi đó **C78** (110,0 mg, 0,221mmol) được bổ sung, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 65°C trong 8 giờ. Sau đó, nó được kết hợp với phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C78** (30 mg, 60 μmol), được rót vào nước (10mL), và được chiết bằng etyl axetat (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng nước (20mL), axit clohydric (1 M; 10mL), dung dịch nước natri cacbonat bão hòa (10mL), và dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) tạo ra **C79** ở dạng thủy tinh màu trắng. Hiệu suất gộp: 100 mg, 0,174mmol, 62%. LCMS *m/z* 574,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,23 (br d, J = 6 Hz, 1H), 7,19 (br s, 1H), 7,04 (br d, J = 10,2 Hz, 1H), 6,99 (dd, J = 9,2, 8,0 Hz, 2H), 6,85 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 9,1, 4,2 Hz, 2H), 5,78 (br s, 1H), 5,46 (br s, 1H), 4,65 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 4,52 – 4,38 (m, 3H), 4,22 (s, 1H), 4,14 (dd, hợp phần của hệ ABX, J = 10,3, 5,3 Hz, 1H), 3,93 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,3 Hz, 1H), 3,41 – 3,32 (m, 2H), 2,55 – 2,34 (m, 2H), 2,14 – 2,05 (m, 1H), 2,03 – 1,80 (m, 3H), 1,03 (s, 3H), 1,00 (s, 9H), 0,86 (s, 3H).

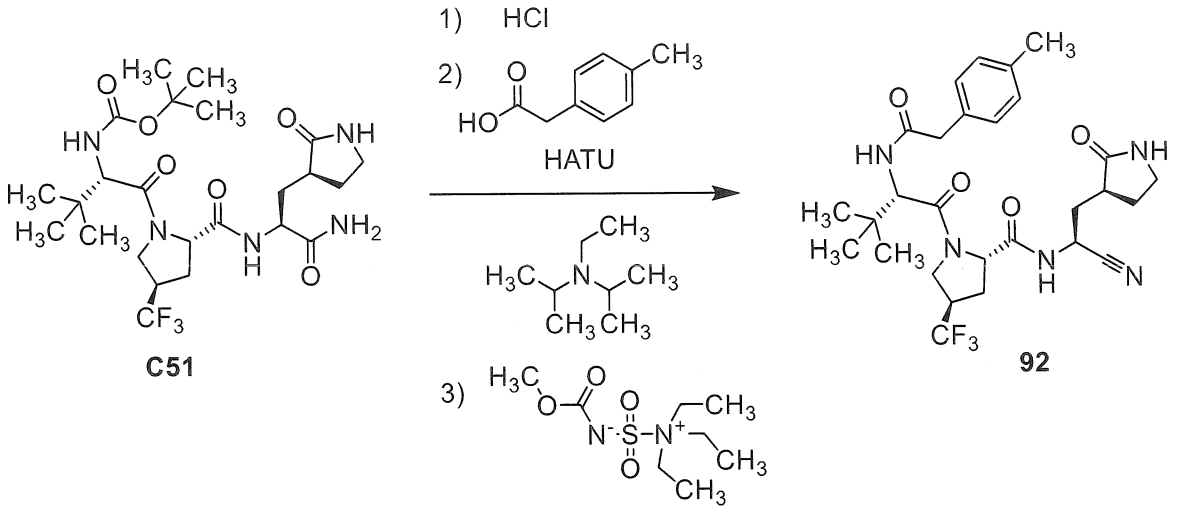
Bước 5. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{*N*-[(4-flophenoxy)axetyl]-3-metyl-L-valyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**91**).

Dung dịch chứa metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 125 mg, 0,524mmol) trong diclometan (2mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch 10°C (nhiệt độ trong phòng) chứa **C79** (100 mg, 0,174mmol) trong diclometan (4mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 10°C trong 16 giờ, nó được pha loãng bằng nước (10mL) và được chiết bằng diclometan (3 x 10mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 10mL) và được cô trong chân không; sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan), tiếp đó là sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies Chiralcel OD, 30 x 250 mm, 10 μm; Pha động: 4:1 cacbon

dioxit / (etanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 60mL/phút], tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{*N*-[(4-flophenoxy)axetyl]-3-metyl-L-valyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**91**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 55 mg, 99,0 μmol, 57%. LCMS *m/z* 556,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,13 – 7,04 (m, 2H), 6,90 – 6,84 (m, 2H), 4,97 (ddd, *J* = 10,9, 8,5, 5,1 Hz, 1H), 4,61 – 4,50 (m, 2H), 4,39 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 4,12 (s, 1H), 3,87 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,4, 5,5 Hz, 1H), 3,73 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,19 – 3,09 (m, 1H), 3,09 – 2,99 (m, 1H), 2,47 – 2,36 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,21 – 2,02 (m, 2H), 1,79 – 1,65 (m, 2H), 1,53 (dd, *J* = 7,6, 5,4 Hz, 1H), 1,29 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,75 (s, 3H).

Ví dụ 92

3-metyl-*N*-[(4-metylphenyl)axetyl]-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**92**)

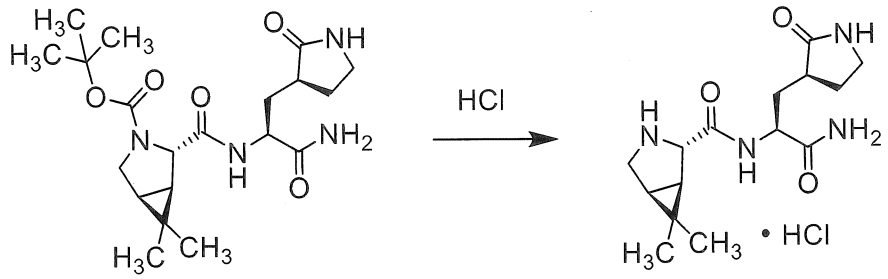


Hỗn hợp chứa **C51** (68,0 mg, 0,12mmol) và dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 1mL, 4mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ dung môi, sau đó được tháo tiếp sử dụng chân không mức cao để loại bỏ cặn hydro clorua. Axit (4-metylphenyl)axetic (18,6 mg, 0,124mmol) được bổ sung vào phần lắng cặn; hỗn hợp thu được được hoà tan in *N,N*-dimetylformamit (1,0mL) và được làm nguội đến −30°C. Sau đó bổ sung *N,N*-diisopropyletylamin (64,7 μL, 0,371mmol), tiếp đó là *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 61,2 mg, 0,161mmol), hỗn hợp phản

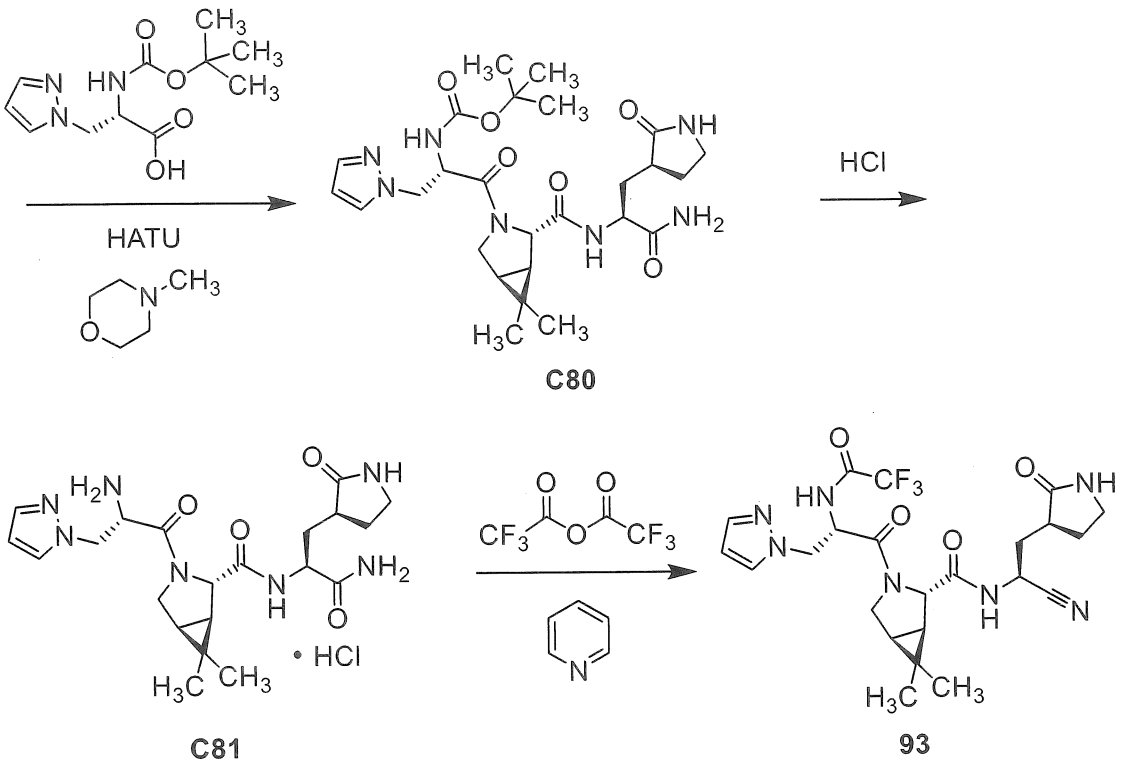
ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và sau đó được xử lý bằng dung dịch nước natri bicacbonat. Hỗn hợp được chiết 5 lần bằng etyl axetat, và các lớp hữu cơ gom lại được cô trong điều kiện áp suất thấp. Phần lắng cặn sau đó được hòa tan trong diclometan (1mL), được xử lý bằng metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 88,5 mg, 0,371mmol), và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng dung dịch nước natri cacbonat loãng và được chiết hai lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters XBridge C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: nước; Pha động B: axetonitril; gradien: 20% đến 60% B trong 8,5 phút, sau đó 60% đến 95% B trong 0,5 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho 3-metyl-*N*-[(4-metylphenyl)axetyl]-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**92**). Hiệu suất: 20,7 mg, 36,7 µmol, 31%. LCMS *m/z* 564,8 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,71 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5,0% đến 95% B, tuyến tính trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 93

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**93**)



C66 **C67, muối HCl**



Bước 1. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, muối hydroclorua (**C67, muối HCl**).

Dung dịch chứa **C66** (9,97 g, 24,4mmol) trong diclometan (50mL) được bổ sung dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 90mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (25°C) trong 2 giờ, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra rằng có sự chuyển hoá thành **C67**: LCMS *m/z* 309,0 $[M+H]^+$. Cô trong chân không tạo ra **C67, muối HCl** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 8,10 g, 23,5mmol, 96%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,20 – 10,08 (m, 1H), 8,93 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,86 – 8,71 (m, 1H), 7,68 (br s, 1H), 7,63 (br s, 1H), 7,12 (br s, 1H), 4,30 (ddd, *J* = 10,9, 8,1, 4,1 Hz, 1H), 4,09 – 4,02 (m, 1H), 3,63 – 3,53 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 3,22 – 2,99 (m, 3H), 2,34 – 2,22 (m, 1H), 2,21 – 2,11 (m, 1H), 2,01 (ddd, *J* = 13,6, 11,1, 3,6 Hz, 1H), 1,80 – 1,66 (m, 3H), 1,55 (ddd, *J* = 13,6, 11,4, 4,1 Hz, 1H), 1,08 (s, 3H), 1,05 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp *tert*-butyl [(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-1-oxo-3-(1*H*-pyrazol-1-yl)propan-2-yl]carbamat (**C80**).

Dung dịch 0°C gồm **C67, muối HCl** (300 mg, 0,870mmol) và *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-L-alanin (222 mg, 0,870mmol) trong N,N-

dimetylformamit (10mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 430 mg, 1,13mmol) và 4-metylmorpholin (264 mg, 2,61mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2 giờ, nó được pha loãng bằng nước (50mL) và được chiết bằng etyl axetat (20mL). Sau đó, lớp nước được bão hoà bằng cách bổ sung natri sulfat rắn và được chiết bằng hỗn hợp chứa diclometan và metanol (10:1, 4 x 30mL). Các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tiến hành sắc ký silicagel hai lần (Gradien #1: 0% đến 10% metanol trong diclometan; gradien #2: 0% đến 25% metanol trong diclometan), thu được **C80** ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. Hiệu suất: 340 mg, 0,623mmol, 72%. LCMS *m/z* 546,1 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,29 (br d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,70 – 7,66 (m, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,51 (br s, 1H), 7,38 (br d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,15 – 7,06 (m, 2H), 6,23 – 6,19 (m, 1H), 4,53 – 4,43 (m, 1H), 4,34 – 4,18 (m, 3H), 4,17 (s, 1H), 3,76 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,65 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,4, 5,4 Hz, 1H), 3,20 – 3,06 (m, 2H), 2,36 – 2,24 (m, 1H), 2,19 – 2,08 (m, 1H), 2,02 – 1,90 (m, 1H), 1,71 – 1,55 (m, 2H), 1,53 – 1,46 (m, 1H), 1,39 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,30 (s, 9H), 1,01 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, muối hydroclorua (**C81**).

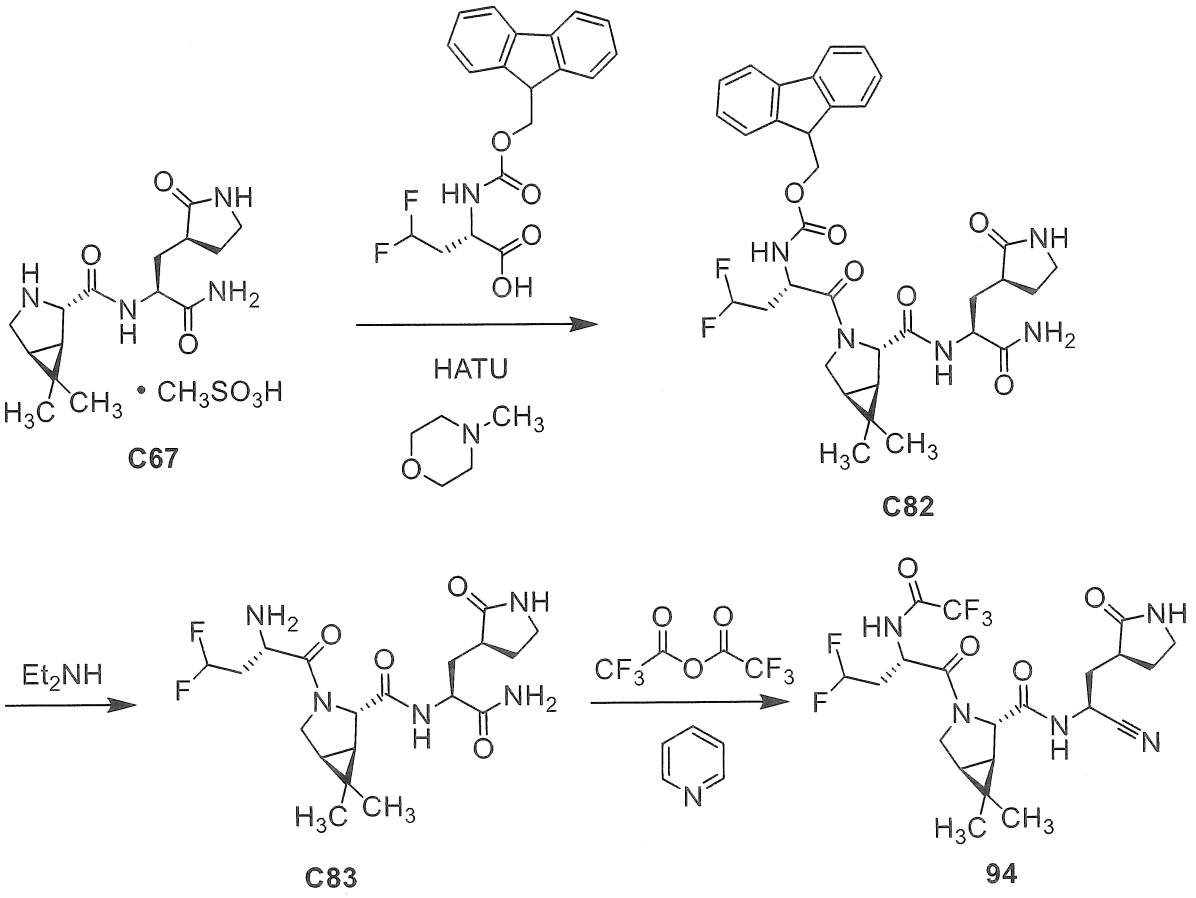
Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 15mL) được bổ sung vào dung dịch 0°C gồm **C80** (340 mg, 0,623mmol) trong diclometan (4mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 1 giờ, nó được lọc, và bánh lọc được rửa bằng diclometan (3 x 10mL). Các phần dịch lọc gom lại được cô trong chân không để tạo ra **C81** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 244 mg, 0,506mmol, 81%. LCMS *m/z* 446,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 8,57 – 8,48 (m, 3H), 8,42 (br d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,81 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,65 (br s, 1H), 7,58 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 7,35 (br s, 1H), 7,09 (br s, 1H), 6,27 (dd, *J* = 2, 2 Hz, 1H), 4,59 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 14,4, 4,7 Hz, 1H), 4,54 – 4,41 (m, 2H), 4,36 – 4,25 (m, 1H), 4,30 (s, 1H), 3,66 – 3,60 (m, 1H), 3,42 – 3,33 (m, 1H), 3,21 – 3,03 (m, 2H), 2,31 – 2,20 (m, 1H), 2,18 – 2,06 (m, 1H), 1,97 (ddd, *J* = 13,5, 11,5, 3,7 Hz, 1H), 1,46 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 7,7, 5,3 Hz, 1H), 1,41 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,92 (s, 3H).

Bước 4. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**93**).

Dung dịch 0°C gồm **C81** (120 mg, 0,249mmol) trong diclometan (6,0mL) được xử lý bằng pyridin (170 mg, 2,15mmol), tiếp đó là bổ sung dung dịch chứa trifloaxetic anhydrit (158 mg, 0,752mmol) trong diclometan (2,0mL). Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm ấm đến 20°C và để khuấy trong 3 giờ, trong khi đó nó được pha loãng bằng nước (20mL) và được chiết bằng diclometan (3 x 20mL). Lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng axit clohydric (1 M; 20mL) và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (2 x 20mL), được làm khô, được lọc, và được cô trong chân không. Sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan), tiếp đó là sắc ký lỏng siêu đến hạn [Cột: Chiral Technologies Chiralpak AD, 30 x 250 mm, 10 µm; Pha động: 4:1 cacbon dioxit / (etanol chứa 0,1% amoni hydroxit); Tốc độ chảy: 60mL/phút], tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**93**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 15,0 mg, 28,6 µmol, 11%. LCMS *m/z* 524,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ 10,03 (br s, 1H), 8,92 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,74 (br s, 1H), 7,69 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,51 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 6,23 (dd, *J* = 2, 2 Hz, 1H), 5,01 – 4,93 (m, 1H), 4,91 – 4,83 (m, 1H), 4,49 – 4,39 (m, 2H), 4,13 (s, 1H), 3,73 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,4, 5,4 Hz, 1H), 3,60 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,21 – 3,09 (m, 2H), 2,40 – 2,31 (m, 1H), 2,20 – 2,10 (m, 2H), 1,79 (ddd, *J* = 13,7, 9,5, 6,8 Hz, 1H), 1,76 – 1,66 (m, 1H), 1,56 (dd, *J* = 7,5, 5,4 Hz, 1H), 1,36 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,85 (s, 3H).

Ví dụ 94

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-4,4-diflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)butanoyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**94**)



Bước 1. Tổng hợp 9*H*-floren-9-ylmetyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-4,4-diflo-1-oxobutan-2-yl}carbamat (**C82**).

Dung dịch 0°C gồm **C67** (230 mg, 0,569mmol) và axit (2*S*)-2-{[(9*H*-floren-9-ylmetoxy)carbonyl]amino}-4,4-diflobutanoic (247 mg, 0,684mmol) trong N,N-dimetylformamit (5mL) được bổ sung một phần *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 281 mg, 0,739mmol); 4-metylmorpholin (173 mg, 1,71mmol) sau đó được bổ sung từng giọt. Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 10 phút, nó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng (20°C) và khuấy liên tục trong 2 giờ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá (15mL) và được chiết bằng etyl axetat (2 x 15mL). Các lớp hữu cơ gom lại lần lượt được rửa bằng axit clohydric 1M, dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa, và dung dịch nước natri clorua bão hòa, được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 10% metanol trong diclometan) để cho **C82** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 245 mg, 0,376mmol, 66%. LCMS *m/z* 652,5 $[M+H]^+$. ^1H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,86 (br s, 1H), 7,74 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,58 – 7,51 (m, 2H),

7,38 (dd, J = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 7,33 – 7,25 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 7,08 (br s, 1H), 6,49 – 6,32 (m, 1H), 6,17 – 5,79 (m, 3H), 4,78 – 4,67 (m, 1H), 4,41 – 4,24 (m, 4H), 4,22 – 4,07 (m, 2H), 3,83 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 3,45 – 3,32 (m, 2H), 2,62 – 2,36 (m, 3H), 2,26 – 2,10 (m, 2H), 1,99 – 1,83 (m, 2H), 1,53 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,51 – 1,44 (m, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-amino-4,4-diflobutanoyl]-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**C83**).

Huyền phù 0°C chứa **C82** (195 mg, 0,299mmol) trong diclometan (3mL) được bổ sung dung dịch chứa dietylamin (32,8 mg, 0,448mmol) trong diclometan (0,5mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 30°C trong 16 giờ, trong khi đó nó được kết hợp với phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C82** (50 mg, 77 µmol) và được cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silicagel [Gradien: 0% đến 10% (10:1 hỗn hợp chứa metanol và amoni hydroxit) trong diclometan] tạo ra **C83** ở dạng gôm không màu. Hiệu suất gộp: 149 mg, 0,347mmol, 92%. LCMS *m/z* 452,3 [M+Na$^+$]. ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 8,73 (br d, J = 5,3 Hz, 1H), 7,11 (br s, 1H), 6,03 (tdd, J = 56,8, 6,2, 3,0 Hz, 1H), 5,64 (br s, 1H), 5,28 (br s, 1H), 4,35 – 4,27 (m, 1H), 4,27 (s, 1H), 4,11 (dd, J = 10,3, 5,5 Hz, 1H), 3,72 (dd, J = 9,3, 4,1 Hz, 1H), 3,61 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 3,41 – 3,35 (m, 2H), 2,53 – 2,36 (m, 3H), 2,20 – 2,11 (m, 1H), 2,00 – 1,84 (m, 3H), 1,6 – 1,45 (m, 2H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).

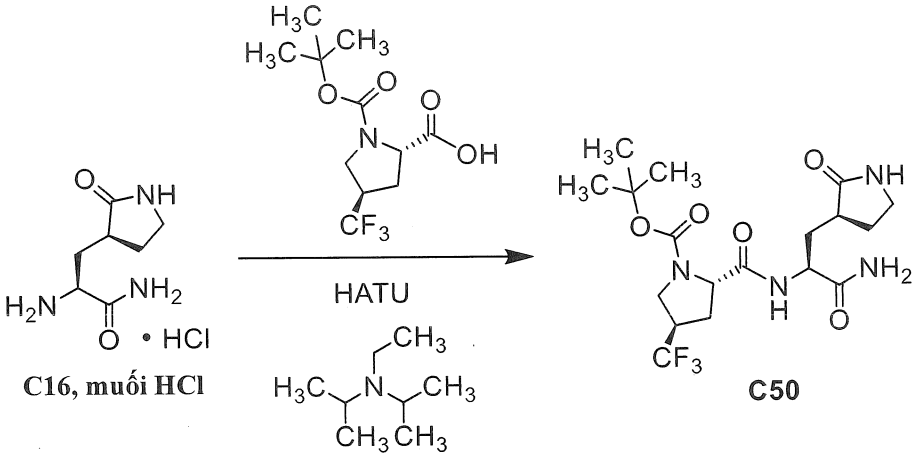
Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-4,4-diflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)butanoyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**94**).

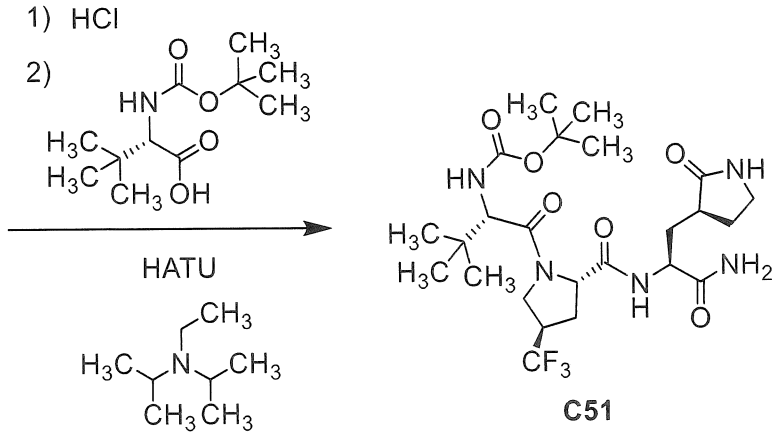
Dung dịch 0°C gồm **C83** (99 mg, 0,23mmol) trong diclometan (4mL) được bổ sung vào pyridin (146 mg, 1,85mmol) và dung dịch chứa trifloaxetic anhydrit (194 mg, 0,924mmol) trong diclometan (2mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (15°C) trong 20 giờ, được xử lý bằng bổ sung pyridin (30 mg, 0,38mmol), và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng (15°C) trong 16 giờ nữa. Sau đó, nó được phân bố giữa diclometan (15mL) và axit clohydric (1 M; 15mL), và lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (15mL) và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa (10mL), được làm khô, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được kết hợp với sản phẩm từ phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng **C83** (50 mg, 0,12mmol)

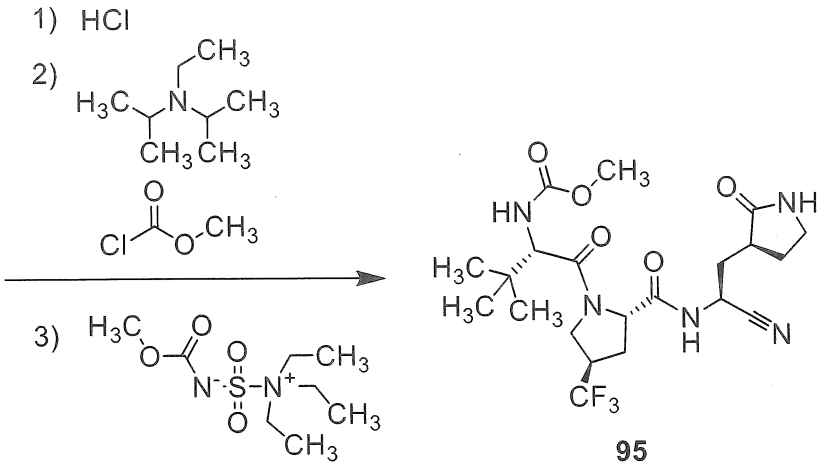
và được tinh chế sử dụng HPLC pha đảo (Cột: Waters XBridge BEH C18, 25 x 150 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% amoni hydroxit (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril; gradien: 23% đến 63% B). (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-4,4-diflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)butanoyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**94**) được phân lập ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất gộp: 28,8 mg, 56,8 µmol, 16%. LCMS *m/z* 508,0 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,01 (br s, 1H), 8,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 6,16 (tt, *J* = 55,9, 4,6 Hz, 1H), 4,99 – 4,90 (m, 1H), 4,65 – 4,57 (m, 1H), 4,14 (s, 1H), 3,85 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,2, 5,4 Hz, 1H), 3,67 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,21 – 3,04 (m, 2H), 2,42 – 2,19 (m, 3H), 2,17 – 2,04 (m, 2H), 1,83 – 1,64 (m, 2H), 1,60 (dd, *J* = 7,6, 5,3 Hz, 1H), 1,35 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Ví dụ 95

N-(Metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**95**)







Bước 1. Tổng hợp (4*R*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-(triflometyl)-L-prolyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C50**).

N,N-Diisopropyletylamin (14,8mL, 85,0mmol) được bổ sung vào hỗn hợp −30°C chứa (4*R*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-(triflometyl)-L-prolin (8,00 g, 28,2mmol), **C16, muối HCl** (6,45 g, 31,1mmol), và *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 11,8 g, 31,0mmol) trong N,N-dimetylformamit (100mL). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 0°C trong 1 giờ, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra sự có mặt của **C50**: LCMS *m/z* 437,3 $[M+H]^+$. Dung dịch nước natri bicacbonat (300mL) được bổ sung, và hỗn hợp thu được được chiết bằng hỗn hợp chứa 2-propanol và diclometan (1:4, 5 x 100mL); các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 100% metanol trong diclometan), thu được **C50** ở dạng dầu. ^{1}H NMR Phân tích đã chỉ ra rằng nguyên liệu này tồn tại ở dạng hỗn hợp chứa các chất đồng phân quay. Hiệu suất: 10,9 g, 25,0mmol, 89%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ [8,28 (d, *J* = 8,5 Hz) và 8,22 (d, *J* = 8,2 Hz), tổng 1H], [7,64 (s) và 7,59 (s), tổng 1H], [7,38 (br s) và 7,27 (br s), tổng 1H], 7,05 (br s, 1H), 4,38 – 4,28 (m, 1H), 4,28 – 4,17 (m, 1H), 3,45 – 3,36 (m, 1H), 3,12 – 3,00 (m, 1H), 2,42 – 2,03 (m, 4H), 2,02 – 1,89 (m, 1H), 1,80 – 1,45 (m, 2H), [1,39 (s) và 1,32 (s), tổng 9H].

Bước 2. Tổng hợp *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-4-(triflometyl)-L-prolyl-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]-L-alaninamit (**C51**).

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 80mL) được bổ sung vào dung dịch chứa **C50** (7,00 g, 16,0mmol) trong diclometan (15mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút, nó được cô trong chân không để loại bỏ dung môi, và được tháo tiếp qua chân không mức cao để loại bỏ cặn hydro clorua. Phần

lắng cặn được trộn với *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metyl-L-valin (4,08 g, 17,6mmol) và *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 6,71 g, 17,6mmol) trong N,N-dimetylformamit (25mL), được làm nguội đến −30°C, và được xử lý bằng *N,N*-diisopropyletylamin (8,38mL, 48,1mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 0°C trong 1 giờ, trong khi đó phân tích LCMS chỉ ra sự có mặt của **C51**: LCMS *m/z* 550,4 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat và được chiết ba lần bằng hỗn hợp 4:1 chứa diclometan và 2-propanol. Sau đó các lớp hữu cơ gom lại được cô trong chân không, phần lắng cặn được tinh chế bằng sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 30% metanol trong diclometan), thu được **C51** ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 3,95 g, 7,19mmol, 45%.^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 8,28 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,29 (br s, 1H), 7,03 (br s, 1H), 6,77 (br d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,52 – 4,43 (m, 1H), 4,24 (ddd, *J* = 12,2, 8,7, 3,5 Hz, 1H), 4,12 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 4,02 – 3,84 (m, 2H), 3,16 – 3,08 (m, 1H), 3,08 – 2,98 (m, 1H), 2,50 – 2,37 (m, 1H), 2,31 – 2,20 (m, 1H), 2,19 – 2,05 (m, 2H), 2,00 – 1,87 (m, 1H), 1,69 – 1,55 (m, 1H), 1,55 – 1,44 (m, 1H), 1,36 (s, 9H), 0,93 (s, 9H).

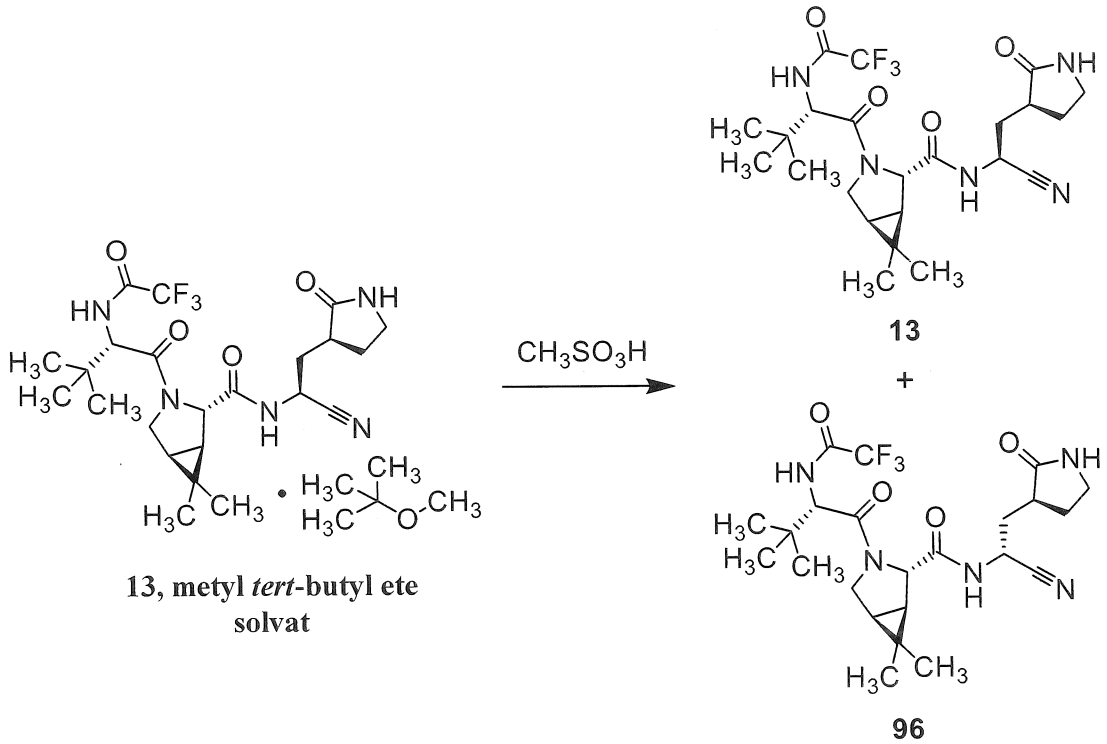
Bước 3. Tổng hợp *N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**95**).

Hỗn hợp chứa **C51** (230 mg, 0,418mmol) và dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 2mL, 8mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ dung môi, sau đó được tháo tiếp sử dụng chân không mức cao loại bỏ cặn hydro clorua. Phần lắng cặn được hoà tan trong diclometan (2mL), được làm nguội đến 0°C, và được xử lý bằng *N,N*-diisopropyletylamin (0,219mL, 1,26mmol) tiếp đó là metyl cloroformat (59,3 mg, 0,628mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 10 phút, nó được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicacbonat và được chiết ba lần bằng hỗn hợp 4:1 chứa diclometan và 2-propanol; các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Phần lắng cặn được hoà tan trong diclometan (3mL); sau đó bổ sung metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 299 mg, 1,25mmol), hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau đó, nó được xử lý bằng dung dịch nước natri cacbonat loãng và được chiết 3 lần với etyl axetat. Các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được tinh chế bằng sắc ký trên silicagel (Gradien: 50% đến 100% etyl axetat trong heptan).

Nguyên liệu thu được được tạo huyền phù đặc trong heptan (4mL) ở 50°C trong 2 giờ, được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm; thu gom chất rắn tạo ra *N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit (**95**) ở dạng chất rắn. Hiệu suất: 123 mg, 0,251mmol, 60%. LCMS *m/z* 490,4 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,02 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,27 (br d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 4,94 (ddd, *J* = 11,1, 8,5, 5,0 Hz, 1H), 4,36 (dd, *J* = 7,3, 7,2 Hz, 1H), 4,14 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 4,00 – 3,91 (m, 2H), 3,52 (s, 3H), 3,46 – 3,34 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh nước), 3,18 – 2,98 (m, 2H), 2,5 – 2,39 (m, 1H, được giả định; bị che một phần bởi đỉnh dung môi), 2,35 – 2,23 (m, 1H), 2,22 – 2,01 (m, 3H), 1,77 – 1,63 (m, 2H), 0,94 (s, 9H).

Ví dụ 96

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*R*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**96**) và (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**), Dạng rắn 5



13, metyl *tert*-butyl ete solvat

Dung dịch chứa **13, metyl *tert*-butyl ete solvat** (từ quy trình tổng hợp khác của Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat; 15,0 g, 25,5mmol) trong axetonitril (80mL) được bổ sung axit metanesulfonic (6,4mL, 99mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ, trong khi đó nó được bazơ hóa bằng cách bổ sung hỗn hợp chứa

dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (80mL) và dung dịch nước natri clorua bão hòa (10mL). Hỗn hợp thu được được chiết bằng diclometan (2 x 100mL), và lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên natri sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Tách hai epime được thực hiện bằng sắc ký lỏng siêu đến hạn (Cột: Chiral Technologies Chiralcel OX-H, 30 x 250 mm, 5 µm; Pha động: 9:1 cacbon dioxit / 2-propanol; Áp suất ngược: 100 bar; Tốc độ chảy: 80mL/phút). Nguyên liệu rửa giải thứ nhất được thu hồi (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**13**). Bằng cách phân tích nhiễu xạ bột tia X, nguyên liệu này ở dạng vô định hình; dạng này được chỉ ra là Dạng rắn 5. Nguyên liệu rửa giải thứ hai thu được ở dạng thủy tinh, mà được hoà tan trong diclometan, được xử lý bằng heptan, và được cô trong chân không để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*R*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (**96**) ở dạng chất rắn.

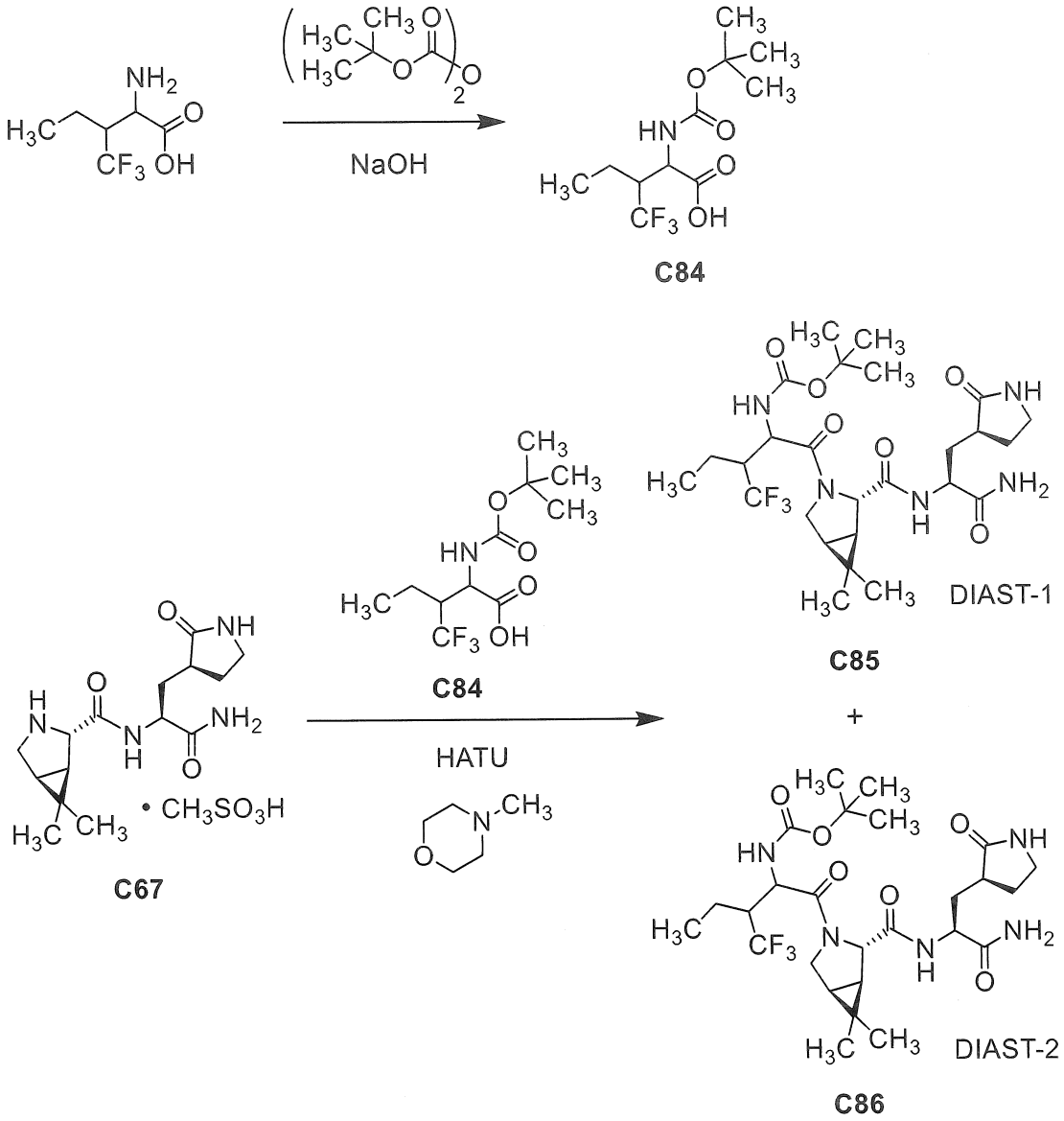
13 được thu hồi – Hiệu suất: 6,00 g, 12,0mmol, 47%. LCMS *m/z* 500,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,46 – 9,33 (m, 1H), 9,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 5,03 – 4,91 (m, 1H), 4,46 – 4,37 (m, 1H), 4,16 (s, 1H), 3,97– 3,86 (m, 1H), 3,69 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,19 – 3,09 (m, 1H), 3,09 – 2,98 (m, 1H), 2,46 – 2,33 (m, 1H), 2,21 – 2,03 (m, 2H), 1,79 – 1,65 (m, 2H), 1,61 – 1,53 (m, 1H), 1,32 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H). Thời gian lưu: 3,93 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Chiral Technologies Chiralcel OX-H, 4,6 x 250 mm, 5 µm; Pha động A: cacbon dioxit; Pha động B: 2-propanol; gradien: 5% B trong 1,00 phút, tiếp đó là 5% đến 60% B trong 8,00 phút; Áp suất ngược: 120 bar; Tốc độ chảy: 3,0mL/phút). Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với nguyên liệu vô định hình này được thể hiện trên Fig. 9. Phương pháp thu thập dữ liệu nhiễu xạ bột tia X được mô tả trong quy trình tổng hợp theo cách khác Ví dụ 13, metyl *tert*-butyl ete solvat, Bước 8.

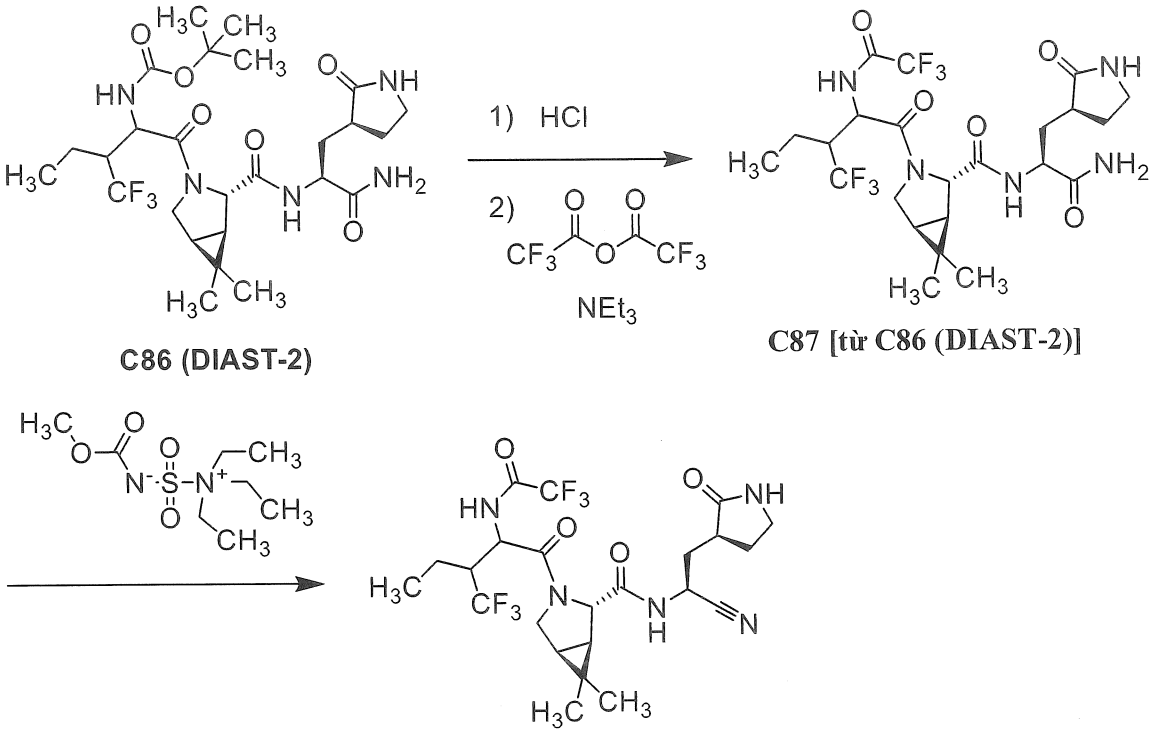
96 – Hiệu suất: 2,58 g, 5,16mmol, 20%. LCMS *m/z* 500,3 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 9,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 4,96 – 4,86 (m, 1H), 4,41 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 4,20 (s, 1H), 3,92 (br dd, *J* = 10,7, 5,4 Hz, 1H), 3,66 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,22 – 3,12 (m, 2H), 2,43 – 2,31 (m, 1H), 2,31 – 2,20 (m, 1H), 2,16 – 2,04 (m, 1H), 1,84 – 1,63 (m, 2H), 1,57 – 1,49 (m, 1H), 1,32 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,00 (br s, 12H), 0,84 (s, 3H). Thời gian lưu:

4,20 phút (Các điều kiện phân tích giống điều kiện được sử dụng đối với **13** đã được thu hồi nêu trên).

Ví dụ 97

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C86 (DIAST-2) (97)**





Bước 1. Tổng hợp axit 2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-3-(triflometyl)pentanoic (**C84**).

Dung dịch nước natri hydroxit (1 M; 1,48mL, 1,48mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa axit 2-amino-3-(triflometyl)pentanoic (Wang et al., *J. Amer. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6900-6906; 137 mg, 0,740mmol) trong 1,4-dioxan (3mL) và hỗn hợp thu được được làm lạnh đến 0°C. Di-*tert*-butyl dicacbonat (0,204mL, 0,888mmol) được bổ sung từ từ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó pha loãng bằng etyl axetat, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh trong bồn đá và sau đó được axit hóa đến độ pH = 2 bằng cách bổ sung 1 M dung dịch nước chứa kali hydro sulfat. Lớp nước được chiết hai lần bằng etyl axetat, và các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không, thu được **C84** ở dạng chất rắn. Nguyên liệu này được coi là bao gồm hỗn hợp chứa 4 chất đồng phân không đối quang, có thể cũng có các chất đồng phân quay. Hiệu suất: 197 mg, 0,690mmol, 93%. LCMS *m/z* 284,3 $[M-H]^-$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13,16 (br s, 1H), [7,29 (d, chính, J = 9,8 Hz) và 6,95 – 6,85 (m, lượng nhỏ), tổng 1H], [4,55 (dd, chính, J = 9,8, 3,3 Hz), 4,46 (br d, lượng nhỏ, J = 9,1 Hz), và 4,40 (dd, lượng nhỏ, J = 9,4, 4,5 Hz), tổng 1H], 2,86 – 2,67 (m, 1H), 1,71 – 1,47 (m, 2H), 1,39 (br s, 9H), [0,98 (t, lượng nhỏ, J = 7,4 Hz) và 0,91 (t, chính, J = 7,5 Hz), tổng 3H].

Bước 2. Tổng hợp *tert*-butyl {1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-1-oxo-3-(triflometyl)pentan-2-yl}carbamat, DIAST-1 (**C85**) và *tert*-butyl {1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-1-oxo-3-(triflometyl)pentan-2-yl}carbamat, DIAST-2 (**C86**).

Dung dịch 0°C gồm **C84** (128 mg, 0,449mmol) trong hỗn hợp chứa axetonitril (2,7mL) và *N,N*-dimetylformamit (1,5mL) được xử lý bằng *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU; 176 mg, 0,463mmol) và 4-metylmorpholin (0,116mL, 1,06mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 30 phút, **C67** (170 mg, 0,420mmol) được bổ sung ở dạng chất rắn, và khuấy liên tục trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng etyl axetat và nước, và được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa. Lớp nước được chiết hai lần bằng etyl axetat, và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không. Dầu thu được được chưng cất đẳng phí hai lần bằng heptan và hai lần bằng metyl *tert*-butyl ete, sau đó được sắc ký silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong diclometan). Chất đồng phân không đối quang rửa giải lần thứ nhất được chỉ ra là **C85**, và chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai được chỉ ra là **C86**.

C85 (DIAST-1) – Hiệu suất: 77,3 mg, 0,134mmol, 32%. Nguyên liệu này bao gồm hỗn hợp chứa các chất đồng phân hoặc các chất đồng phân quay bằng cách phân tích ^{1}H NMR. LCMS *m/z* 576,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng, các tập hợp này chứa khoảng: δ [8,35 (d, *J* = 7,9 Hz) và 8,16 (d, *J* = 8,5 Hz), tổng 1H], 7,62 – 7,54 (m, 1H), 7,41 – 7,18 (m, 2H), [7,02 (br s) và 6,98 (br s), tổng 1H], 4,59 – 4,50 (m, 1H), 4,29 – 4,13 (m, 2H), 3,89 (dd, *J* = 10,4, 5,4 Hz, 1H), 3,44 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,20 – 3,04 (m, 2H), 2,70 – 2,59 (m, 1H), 2,43 – 2,31 (m, 1H), 2,21 – 2,08 (m, 1H), 1,99 – 1,88 (m, 1H), [1,38 (s) và 1,36 (s), tổng 9H], 1,01 (br s, 3H), 0,94 – 0,82 (m, 6H).

C86 (DIAST-2) – Hiệu suất: 87,8 mg, 0,153mmol, 36%. Nguyên liệu này phần lớn là chất đồng phân riêng lẻ bằng cách phân tích ^{1}H NMR. LCMS *m/z* 576,2 $[M+H]^+$. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng: δ 8,27 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,31 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,22 (br s, 1H), 7,04 (br s, 1H), 4,55 (dd, *J* = 9,5, 5,9 Hz, 1H), 4,30 – 4,17 (m, 1H), 4,23 (s, 1H), 3,79 (dd, hợp phần của hệ ABX, *J* = 10,1, 5,2 Hz, 1H),

3,71 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,1 Hz, 1H), 3,09 – 2,99 (m, 1H), 2,68 – 2,55 (m, 1H), 2,42 – 2,30 (m, 1H), 2,17 – 2,04 (m, 1H), 1,97 – 1,86 (m, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,02 (s, 3H), 0,94 – 0,83 (m, 6H).

Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C86 (DIAST-2)** (**C87**).

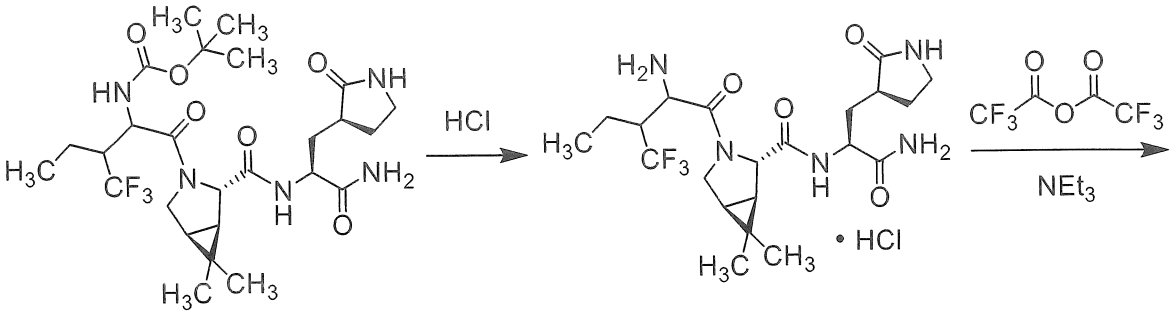
Dung dịch chứa **C86 (DIAST-2)** (87,8 mg, 0,153mmol) trong diclometan (1mL) được xử lý bằng dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 0,381mL, 1,52mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút, metanol (0,5mL) được bổ sung để cải thiện độ hòa tan. Sau 40 phút tiếp, dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 0,10mL, 0,4mmol) được bổ sung; 30 phút sau, phân tích LCMS đã chỉ ra rằng loại bỏ được hoàn toàn nhóm bảo vệ: LCMS *m/z* 476,2 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không và được chưng cất đẳng phí hai lần bằng heptan; phần lắng cặn được nghiền hai lần bằng dietyl ete, tạo huyền phù trong diclometan (1,2mL) và được làm nguội đến 0°C. Sau đó bổ sung trietylamin (42,4 µL, 0,304mmol), tiếp đó là trifloaxetic anhydrit (47,9 µL, 0,339mmol), hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 30 phút, trong khi đó nó được loại ra khỏi bể đá và được phân bố giữa nước và etyl axetat. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat, và lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, được cô trong chân không, và được chưng cất đẳng phí hai lần bằng metyl *tert*-butyl ete. Bằng cách phân tích ^{1}H NMR và phân tích LCMS, nguyên liệu này chứa hỗn hợp chứa **C87** và tương ứng metyl este (LCMS *m/z* 587,4 $[M+H]^+$). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh đặc trưng cho **C87**: δ 8,31 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 3,59 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 10,0 Hz, 1H), 1,97 – 1,87 (m, 1H), 1,40 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,84 (s, 3H). Tinh chế bằng sắc ký trên silicagel (Gradien: 0% đến 20% metanol trong diclometan), tiếp đó là dầu đẳng phí thu được với heptan, tiếp đó là đẳng phí với hỗn hợp chứa dietyl ete và heptan, tạo ra **C87** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 17,9 mg, 31,3 µmol, 20%. LCMS *m/z* 572,0 $[M+H]^+$.

Bước 4. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C86 (DIAST-2)** (**97**).

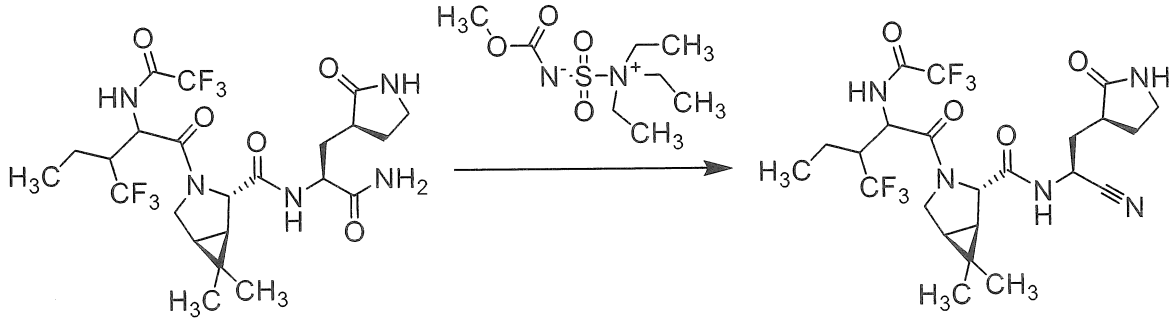
Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 18,8 mg, 78,9 μmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C87** (18 mg, 31 μmol) trong etyl axetat (0,8mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, thìa xúc chứa metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess) được bổ sung lại. Khuấy liên tục trong 2 giờ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được lọc, và bánh lọc được rửa bằng etyl axetat. Các phần dịch lọc gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa, và lớp nước được chiết một lần bằng etyl axetat; lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra sản phẩm thô. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6), thành phần chính: δ 9,90 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 8,85 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,56 (br s, 1H), 4,97 – 4,89 (m, 2H), 4,17 (s, 1H), 3,89 (dd, J = 10,1, 5,4 Hz, 1H), 3,62 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 3,21 – 3,14 (m, 1H), 3,12 – 3,06 (m, 1H), 2,92 – 2,82 (m, 1H), 2,43 – 2,35 (m, 1H), 2,18 – 2,10 (m, 2H), 1,78 (ddd, J = 13,6, 9,6, 6,0 Hz, 1H), 1,75 – 1,66 (m, 2H), 1,62 – 1,55 (m, 2H), 1,35 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,7 Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,97 – 0,92 (t, J = 7,6 Hz, 3H), 0,85 (s, 3H). Nguyên liệu này được tinh chế bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 μm; Pha động A: 0,05% axit trifloaxetic trong nước (thể tích/thể tích); Pha động B: 0,05% axit trifloaxetic trong axetonitril (thể tích/thể tích); gradien: 5% đến 95% B trong 8,54 phút, tiếp đó là 95% B trong 1,46 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) để cho (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C86 (DIAST-2) (97)**. Hiệu suất: 8,3 mg, 15 μmol, 48%. LCMS *m/z* 554,6 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,72 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 μm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5,0% đến 95% B, tuyến tính trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Ví dụ 98

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C85 (DIAST-1) (98)**



C85 (DIAST-1) **C88 [từ C85 (DIAST-1)]**



C89 [từ C85 (DIAST-1)] **C98 [từ C85 (DIAST-1)]**

Bước 1. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-3-[2-amino-3-(triflometyl)pentanoyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, muối hydroclorua, từ **C85 (DIAST-1) (C88)**.

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M; 0,336mL, 1,34mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C85 (DIAST-1)** (77,3 mg, 0,134mmol) trong diclometan (1mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút, metanol (0,5mL) được bổ sung để cải thiện độ hòa tan. Khuấy liên tục trong 2 giờ, trong khi đó phân tích LCMS đã chỉ ra rằng việc khử bảo vệ được hoàn thành: LCMS *m/z* 476,2 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không; phần lắng cặn được chưng cất đẳng phí hai lần bằng heptan, sau đó được nghiền nhỏ hai lần bằng dietyl ete để tạo ra **C88** ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 54,5 mg, 0,106mmol, 79%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), các đỉnh chính đặc trưng: δ 8,53 (br s, 3H), 8,36 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,28 (br s, 1H), 7,06 (br s, 1H), 4,25 (ddd, *J* = 10,9, 8,4, 4,5 Hz, 1H), 4,17 (s, 1H), 4,08 (dd, *J* = 10,5, 5,6 Hz, 1H), 2,80 – 2,68 (m, 1H), 2,37 – 2,26 (m, 1H), 2,23 – 2,13 (m, 1H), 2,05 – 1,96 (m, 1H), 1,73 – 1,51 (m, 5H), 1,44 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

Bước 2. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]propan-2-yl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C85 (DIAST-1) (C89)**.

Huyền phù 0°C chứa **C88** (54,5 mg, 0,106mmol) trong diclometan (1mL) được xử lý bằng trietylamin (26 µL, 0,19mmol), tiếp đó là trifloaxetic anhydrit (19,5 µL, 29,1 mg, 0,138mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1 giờ và 10 phút, trifloaxetic anhydrit (1 đương lượng) được bổ sung; 30 phút sau, trifloaxetic anhydrit (9,4 µL, 67 µmol) được bổ sung lại. Khuấy liên tục trong 45 phút, trong khi đó phân tích LCMS đã chỉ ra rằng đã chuyển hóa hoàn toàn thành **C89**: LCMS *m/z* 572,4 $[M+H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được phân bố giữa nước và etyl axetat, và lớp nước được chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ gom lại được rửa lần lượt bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra **C89**. Hiệu suất: 41,2 mg, 72,1 µmol, 68%. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6), thành phần chính, các đỉnh đặc trưng: δ 10,04 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 8,23 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,31 (br s, 1H), 7,01 (br s, 1H), 4,92 – 4,83 (m, 1H), 4,23 (s, 1H), 3,95 (dd, *J* = 10,2, 5,5 Hz, 1H), 2,98 – 2,86 (m, 1H), 2,38 – 2,27 (m, 1H), 1,90 (ddd, *J* = 13,5, 11,2, 4,0 Hz, 1H), 1,39 (d, một nửa vạch bốn AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

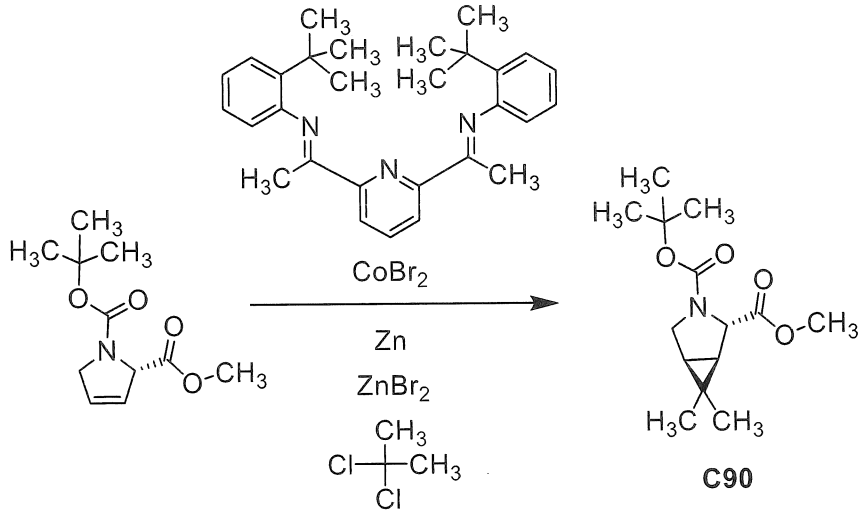
Bước 3. Tổng hợp (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C85 (DIAST-1) (98)**.

Metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess; 42,7 mg, 0,179mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa **C89** (41,0 mg, 71,7 µmol) trong etyl axetat (0,8mL). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, thìa xúc chứa metyl *N*-(trietylamoniosulfonyl)carbamat, muối nội (chất phản ứng Burgess) được bổ sung. Khuấy liên tục trong 2 giờ, trong khi đó hỗn hợp phản ứng được lọc, và bánh lọc được rửa bằng etyl axetat. Các phần dịch lọc gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa, và lớp nước được chiết bằng etyl axetat; lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, được lọc, và được cô trong chân không để tạo ra sản phẩm thô. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6), thành phần chính, các đỉnh đặc trưng: δ 10,12 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 8,99 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 4,94 (ddd, *J* = 9,4, 8,1, 6,5 Hz, 1H), 4,87 (dd, *J* = 9,0, 9,0 Hz, 1H), 4,11 (s,

1H), 3,96 (dd, J = 10,2, 5,6 Hz, 1H), 3,52 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 3,18 – 3,07 (m, 2H), 2,98 – 2,88 (m, 1H), 2,40 – 2,33 (m, 1H), 1,79 – 1,52 (m, 4H), 1,61 (dd, J = 7,6, 5,5 Hz, 1H), 1,33 (d, một nửa vạch bốn AB, J = 7,7 Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,91 – 0,86 (m, 6H).

Tinh chế nguyên liệu này bằng HPLC pha đảo (Cột: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Pha động A: 0,05% axit trifloaxetic trong nước; Pha động B: 0,05% axit trifloaxetic trong axetonitril; gradien: 5% đến 95% B trong 8,54 phút, tiếp đó là 95% B trong 1,46 phút; Tốc độ chảy: 25mL/phút) tạo ra (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C85 (DIAST-1) (98)**. Hiệu suất: 4,3 mg, 7,8 µmol, 11%. LCMS *m/z* 554,6 $[M+H]^+$. Thời gian lưu: 2,80 phút (Các điều kiện phân tích. Cột: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Pha động A: nước chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); Pha động B: axetonitril chứa 0,05% axit trifloaxetic (thể tích/thể tích); gradien: 5,0% đến 95% B, tuyến tính trong 4,0 phút, sau đó 95% B trong 1,0 phút; Tốc độ chảy: 2mL/phút).

Điều chế 3-*tert*-butyl 2-metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2,3-dicarboxylat (**C90**)

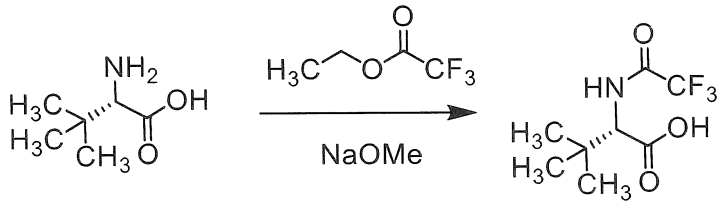


Quy trình điều chế này được thực hiện sử dụng quy trình chung được báo cáo bởi C. Uyeda and J. Werth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 13902-13906. Bình cầu 3 cổ được trang bị thanh khuấy từ, bình ngưng hồi lưu, nhiệt kế, và đầu vào nitơ được nạp coban(II) bromua (0,15 đương lượng; 0,146 g, 0,667mmol), (1*E*,1'*E*)-1,1'-pyridin-2,6-diylbis[*N*-(2-*tert*-butylphenyl)etanimin] ($^{2\text{-}t\text{-}Bu}$PDI; 0,15 đương lượng; 0,284 g, 0,667mmol) và tetrahydrofuran (11mL). Huyền phù đặc, màu xanh lá được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, và kẽm (2,4 đương lượng; 0,70 g, 11mmol) và kẽm bromua (1,1 đương lượng;

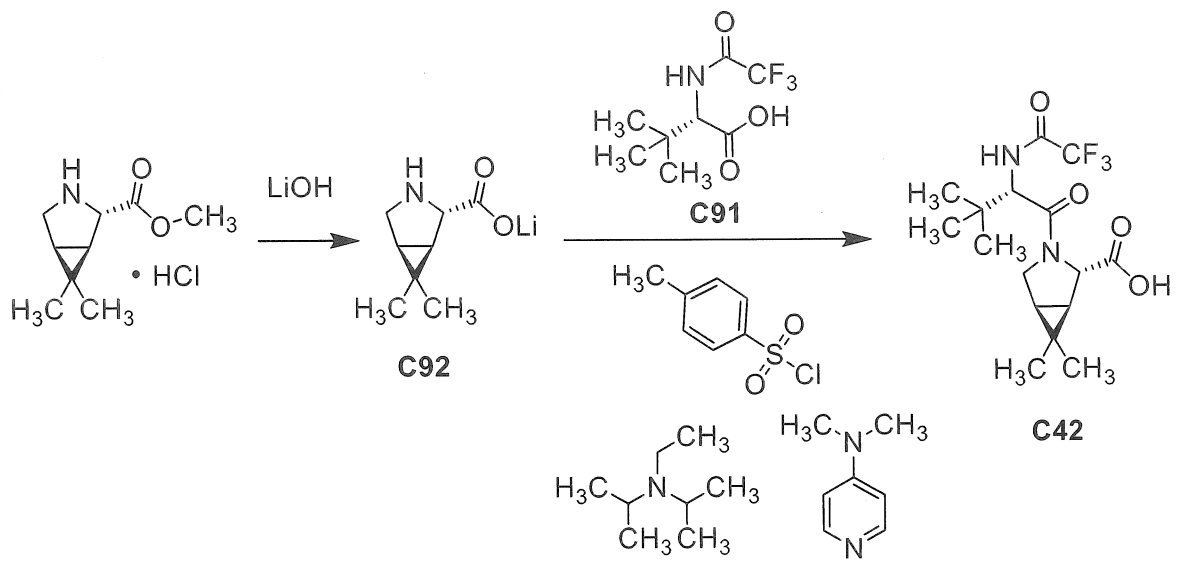
1,1 g, 4,9mmol) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 15 phút, hỗn hợp phản ứng chuyển sang màu tím và dung dịch chứa 1-*tert*-butyl 2-metyl (2*S*)-2,5-dihydro-1*H*-pyrol-1,2-dicarboxylat (1,0 đương lượng; 1,0 g, 4,4mmol) trong tetrahydrofuran (7,5mL) và 2,2-diclopropan (2,0 đương lượng; 1,0 g, 8,8mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 ngày, trong khi đó nó được lọc qua đệm diatomit và được rửa bằng tetrahydrofuran (10,8mL). Phần lọc được kết hợp với dung dịch nước amoni clorua bão hòa (3,5mL) và etyl axetat (9,5mL); sau đó, các lớp được tách và pha nước được chiết bằng etyl axetat (8,4mL). Phần chiết hữu cơ gom lại được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (10,5mL), làm khô trên magie sulfat, được lọc, và cô đến khô, thu được 3-*tert*-butyl 2-metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2,3-dicarboxylat (**C90**) ở dạng dầu màu vàng. Hiệu suất: 0,90 g, 3,3mmol, 75%. Bằng cách phân tích ^{1}H NMR, nguyên liệu này tồn tại ở dạng hai đồng phân quay carbamat (tỷ lệ ~3:2). ^{1}H NMR (400 MHz, cloroform-*d*) δ 4,20 & 4,09 (2 s, 1H), 3,74 & 3,75 (2 s, 3H), 3,68 – 3,60 (m, 1H), 3,44 & 3,38 (2 d, J = 10,9 Hz, 1H), 1,43 & 1,38 (2 s, 9H), 1,38 – 1,34 (m, 2H), 1,03 & 0,98 & 0,96 (3 s, 6H). ESI-MS (pos.) *m/z* (%) = 255,1 (12,5) [M – Me + H]$^+$, 214,1 (100) [M - *t*-Bu + H]$^+$, 170,2 (50) [M – Boc + H]$^+$.

Điều chế theo cách khác đối với **C42**

Axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C42**)



C91



Bước 1. Tổng hợp 3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valin (**C91**).

Dung dịch chứa natri metoxit trong metanol (25% khối lượng; 28,5mL, 124mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 3-metyl-L-valin (99%, 15 g, 113mmol) trong metanol (30mL). Etyl trifloaxetat (130mmol) sau đó được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 40°C cho tới khi phản ứng được hoàn thành (xấp xỉ 2,5 giờ), trong khi đó nó được làm lạnh đến 20°C. Sau đó bổ sung axit clohydric (1 M; 136mL, 136mmol), hỗn hợp được pha loãng bằng etyl axetat (150mL) và các lớp được tách. Lớp hữu cơ được rửa hai lần bằng dung dịch nước natri clorua bão hòa, làm khô trên magie sulfat, và được lọc. Heptan được bổ sung vào phần lọc, trong khi đó dung dịch được cô ở 50°C của thể tích của 5mL/g. Quy trình này được thực hiện hai lần; sau khi chưng cất lần thứ hai, mầm tinh thể **C91** (50 mg; xem dưới đây) được bổ sung vào. Chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng heptan, và được làm khô ở 40°C để tạo ra **C91** ở dạng chất rắn nhờ màu trắng. Hiệu suất: 22,2 g, 97,7mmol, 86%.

Mầm tinh thể đã được sử dụng nêu trên thu được từ phản ứng tương tự được thực hiện sử dụng 3-metyl-L-valin; sau đó lớp hữu cơ chứa **C91** được làm khô trên magie sulfat và được lọc, cô trong chân không tạo ra chất rắn. Một phần của chất rắn này được sử dụng làm nguyên liệu mầm.

Dữ liệu hóa lý thu được trên các mẫu của **C91** thu được từ các phản ứng được thực hiện theo cùng cách. HRMS–ESI$^+$ (*m/z*): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_8H_{13}F_3NO_3$, 228,0842; Được tìm thấy, 228,0842. Ion bậc một được quan sát làm $C_8H_{11}F_3NNa_2O_3$ $[M+Na^+]$: Được tính toán, 272,0481; Được tìm thấy, 272,0482. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ 13,05 (s, 1H), 9,48 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,21 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 1,00 (s, 9H).

^{13}C NMR (150,8 MHz, DMSO-d_6) δ 170,9, 156,6 (q, $^2J_{CF}$ = 36,9 Hz), 115,8 (q, $^1J_{CF}$ = 287,7 Hz), 61,0, 33,6, 26,5. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với **C91** được thể hiện trên Fig. 11; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng R.

Bảng R. Các đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn đối với **C91**

Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối
9,7	27	28,1	4	37,7	1
11,8	6	28,7	2	38,2	2
12,6	3	28,9	5	38,7	2
13,2	20	29,7	4	39,3	3
14,7	28	29,9	4	39,6	1
15,6	69	30,3	10	40,0	1
17,2	4	30,8	3	40,5	5
17,9	2	31,0	1	40,7	3
18,3	2	31,3	1	40,9	3
19,5	100	32,6	3	41,5	1
20,0	14	33,5	2	41,8	1
20,4	2	34,0	1	42,4	3
21,5	22	34,2	2	43,1	1
23,2	8	34,7	3	44,2	1
23,3	11	36,2	2	44,8	1
23,8	6	36,4	3	45,7	1
25,2	1	36,7	2	45,9	3
25,4	17	37,1	1	46,4	1
25,7	2	37,2	2	47,0	1
26,6	7	37,4	1	47,3	2
26,7	6	37,6	3	49,5	2

Tinh thể đối với tinh thể học tia X thu được bằng cách tái kết tinh từ etyl axetat và hexan, sử dụng mầm tinh thể từ cùng một mẻ như nêu trên. Biểu đồ ORTEP của dữ liệu đơn tinh thể đối với **C91** được thể hiện trên Fig. 12.

Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể **C91**

Phân tích đơn tinh thể tia X

Thu thập dữ liệu được thực hiện trên nhiễu xạ kế Bruker D8 Quest ở −100°C. Thu thập dữ liệu bao gồm việc quét omega và phi.

Cấu trúc được giải quyết bằng cách tạo pha nội tại sử dụng phần mềm SHELX thích hợp trong nhóm không gian không đối xứng loại hệ tứ giác $P4_12_12$. Sau đó, cấu trúc được tinh chế bằng phương pháp bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ. Toàn bộ nguyên tử không phải hydro được tìm thấy và được tinh chế sử dụng các thông số chuyển vị bất đẳng hướng.

Nguyên tử hydro nằm trên nitơ và oxy được tìm thấy từ bản đồ chênh lệch Fourier và được tinh chế với các khoảng cách hạn chế. Hydro trên O2(H2Z) và O3(H3Z) có chung điện tích và được tinh chế là mỗi phần chiếm chỗ 10,5. Nguyên tử hydro còn lại được đặt ở các vị trí được tính toán và cho phép ở trên các nguyên tử mang. Bước tinh chế cuối gồm các thông số chuyển vị đẳng hướng đối với tất cả nguyên tử hydro.

Phần chiếm chỗ quần thể làm lộn xộn với tỷ lệ ~67/33 ở phân đoạn -CF3 được xác định và được mô hình hóa theo đó.

Phân tích cấu trúc tuyệt đối sử dụng các phương pháp hợp lý (Hooft, 2008) được thực hiện sử dụng PLATON (Spek). Các kết quả chỉ ra rằng cấu trúc tuyệt đối được gán chính xác. Phương pháp này tính được khả năng mà cấu trúc được gán chính xác là 100%. Thông số Hooft được báo cáo là 0,02 với esd (estimated standard deviation - độ lệch chuẩn được ước tính) là (4) và thông số Parson được báo cáo là 0,02 với esd là (4).

Chỉ số R cuối là 4,1%. Fourier chênh lệch cuối chứng tỏ không có mật độ điện tử hoặc mật độ điện tử không đúng chỗ.

Tinh thể thích hợp, thu thập dữ liệu, và thông tin tinh chế được tóm tắt trong bảng S. liên kết phối trí nguyên tử, chiều dài liên kết, góc liên kết, và thông số chuyển vị được đưa ra trong các bảng T – V.

Danh sách các phần mềm và tài liệu viện dẫn được sử dụng có thể được tìm thấy trong việc xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 1.

Bảng S. Dữ liệu tinh thể và tinh chế cấu trúc đối với **C91**.

Công thức thực nghiệm	$C_8H_{12}F_3NO_3$
Khối lượng công thức	227,19

Nhiệt độ	173(2) K
Bước sóng	1,54178 Å
Hệ tinh thể	Hệ tứ giác
Nhóm không gian	$P4_12_12$
Kích thước ô đơn vị	a = 9,9168(6) Å α = 90°
	b = 9,9168(6) Å β = 90°
	c = 22,721(2) Å γ = 90°
Thể tích	2234,5(4) $Å^3$
Z	8
Tỷ trọng (được tính toán)	1,351 Mg/m^3
Hệ số hấp thu	1,184 mm^{-1}
F(000)	944
Cỡ tinh thể	0,200 x 0,170 x 0,080 mm^3
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	4,866 đến 70,114°
Khoảng chỉ số	$-11<=h<=10$, $-12<=k<=12$, $-27<=l<=27$
Độ phản xạ được thu thập	48160
Độ phản xạ độc lập	2122 [R_{int} = 0,0392]
Độ toàn vẹn đối với theta = 67,679°	99,8%
Hiệu chỉnh độ hấp thu	Theo thực nghiệm
Phương pháp tinh chế	Bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ trên F^2
Dữ liệu / hạn chế / thông số	2122 / 9 / 158
Mức độ phù hợp trên F^2	1,010
Chỉ số R cuối [$I>2\sigma(I)$]	$R1$ = 0,0408, $wR2$ = 0,1012
Chỉ số R (tất cả dữ liệu)	$R1$ = 0,0429, $wR2$ = 0. 0,1039
Thông số cấu trúc tuyệt đối	0,03(4)
Hệ số tắt	không xác định
Đỉnh và lỗ khuếch tán lớn nhất	0,280 và −0,215 e.$Å^{-3}$

Bảng T. Liên kết phối trí nguyên tử (x 10^4) và các thông số chuyển vị đẳng hướng tương đương ($Å^2$ x 10^3) đối với **C91**. U(eq) được xác định bằng một phần ba vết của tenxơ được trực giao hóa U^{ij}.

	x	y	z	U(eq)
F(1)	9781(4)	8042(4)	5734(2)	107(1)
F(2)	10080(4)	7982(5)	6660(2)	100(2)
F(3)	9278(3)	6313(2)	6193(2)	87(1)
F(1A)	9349(11)	6675(12)	6782(5)	107(1)
F(2A)	9431(11)	6825(16)	5889(6)	100(2)
F(3A)	10149(10)	8346(8)	6346(8)	87(1)
N(1)	6809(2)	7369(2)	6335(1)	32(1)
O(1)	7784(2)	9443(2)	6392(1)	48(1)
O(2)	5226(2)	6038(2)	7066(1)	45(1)
O(3)	3695(2)	7680(2)	7101(1)	55(1)
C(1)	9239(3)	7599(3)	6263(2)	51(1)
C(2)	7850(3)	8227(2)	6339(1)	38(1)
C(3)	5426(2)	7871(2)	6390(1)	31(1)
C(4)	4731(2)	7135(2)	6890(1)	32(1)
C(5)	4628(3)	7777(3)	5796(1)	39(1)
C(6)	5489(3)	8387(4)	5311(1)	55(1)
C(7)	3336(3)	8612(4)	5846(1)	58(1)
C(8)	4303(4)	6312(3)	5650(1)	61(1)

Bảng U. Chiều dài liên kết [Å] và góc [°] đối với **C91**.

F(1)-C(1)	1,389(5)
F(2)-C(1)	1,286(4)
F(3)-C(1)	1,286(4)
F(1A)-C(1)	1,498(10)
F(2A)-C(1)	1,162(10)
F(3A)-C(1)	1,183(9)
N(1)-C(2)	1,338(3)

N(1)-C(3)	1,464(3)
N(1)-H(1X)	0,97(2)
O(1)-C(2)	1,214(3)
O(2)-C(4)	1,259(3)
O(2)-H(2Z)	0,98(3)
O(3)-C(4)	1,256(3)
O(3)-H(3Z)	0,97(3)
C(1)-C(2)	1,522(4)
C(3)-C(4)	1,516(3)
C(3)-C(5)	1,566(3)
C(3)-H(3)	1,0000
C(5)-C(6)	1,520(4)
C(5)-C(8)	1,525(4)
C(5)-C(7)	1,530(4)
C(6)-H(6A)	0,9800
C(6)-H(6B)	0,9800
C(6)-H(6C)	0,9800
C(7)-H(7A)	0,9800
C(7)-H(7B)	0,9800
C(7)-H(7C)	0,9800
C(8)-H(8A)	0,9800
C(8)-H(8B)	0,9800
C(8)-H(8C)	0,9800

C(2)-N(1)-C(3)	120,4(2)
C(2)-N(1)-H(1X)	121,0(17)
C(3)-N(1)-H(1X)	118,6(17)
C(4)-O(2)-H(2Z)	113(4)
C(4)-O(3)-H(3Z)	116(4)
F(2A)-C(1)-F(3A)	114,0(9)
F(3)-C(1)-F(2)	111,1(4)
F(3)-C(1)-F(1)	101,2(3)

F(2)-C(1)-F(1)	105,3(3)
F(2A)-C(1)-F(1A)	99,3(10)
F(3A)-C(1)-F(1A)	101,7(9)
F(2A)-C(1)-C(2)	120,1(5)
F(3A)-C(1)-C(2)	114,6(5)
F(3)-C(1)-C(2)	116,6(2)
F(2)-C(1)-C(2)	112,7(3)
F(1)-C(1)-C(2)	108,6(3)
F(1A)-C(1)-C(2)	103,1(4)
O(1)-C(2)-N(1)	126,2(2)
O(1)-C(2)-C(1)	117,8(2)
N(1)-C(2)-C(1)	116,0(2)
N(1)-C(3)-C(4)	109,07(19)
N(1)-C(3)-C(5)	112,25(19)
C(4)-C(3)-C(5)	112,80(19)
N(1)-C(3)-H(3)	107,5
C(4)-C(3)-H(3)	107,5
C(5)-C(3)-H(3)	107,5
O(3)-C(4)-O(2)	124,7(2)
O(3)-C(4)-C(3)	116,8(2)
O(2)-C(4)-C(3)	118,4(2)
C(6)-C(5)-C(8)	109,9(2)
C(6)-C(5)-C(7)	108,0(2)
C(8)-C(5)-C(7)	110,8(3)
C(6)-C(5)-C(3)	108,5(2)
C(8)-C(5)-C(3)	110,6(2)
C(7)-C(5)-C(3)	109,1(2)
C(5)-C(6)-H(6A)	109,5
C(5)-C(6)-H(6B)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6B)	109,5
C(5)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6C)	109,5

H(6B)-C(6)-H(6C)	109,5
C(5)-C(7)-H(7A)	109,5
C(5)-C(7)-H(7B)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7B)	109,5
C(5)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7B)-C(7)-H(7C)	109,5
C(5)-C(8)-H(8A)	109,5
C(5)-C(8)-H(8B)	109,5
H(8A)-C(8)-H(8B)	109,5
C(5)-C(8)-H(8C)	109,5
H(8A)-C(8)-H(8C)	109,5
H(8B)-C(8)-H(8C)	109,5

Chuyển hóa đối xứng được sử dụng để tạo ra các nguyên tử tương đương.

Bảng V. Các thông số chuyển vị bất đẳng hướng ($Å^2$ x 10^3) đối với **C91**. Số mũ của yếu tố chuyển vị bất đẳng hướng tạo ra dạng: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + ... + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
F(1)	84(2)	107(3)	129(3)	42(2)	67(2)	41(2)
F(2)	54(2)	128(4)	120(3)	-64(3)	-31(2)	22(2)
F(3)	36(1)	29(1)	195(4)	-15(2)	21(2)	0(1)
F(1A)	84(2)	107(3)	129(3)	42(2)	67(2)	41(2)
F(2A)	54(2)	128(4)	120(3)	-64(3)	-31(2)	22(2)
F(3A)	36(1)	29(1)	195(4)	-15(2)	21(2)	0(1)
N(1)	29(1)	27(1)	40(1)	2(1)	4(1)	-1(1)
O(1)	43(1)	30(1)	72(1)	-5(1)	14(1)	-3(1)
O(2)	52(1)	39(1)	44(1)	13(1)	11(1)	3(1)
O(3)	50(1)	60(1)	54(1)	17(1)	23(1)	12(1)
C(1)	36(1)	33(1)	83(2)	-14(1)	4(1)	-5(1)

C(2)	38(1)	30(1)	44(1)	-5(1)	7(1)	-3(1)
C(3)	32(1)	28(1)	32(1)	2(1)	6(1)	2(1)
C(4)	31(1)	33(1)	32(1)	2(1)	2(1)	-2(1)
C(5)	42(1)	42(1)	33(1)	6(1)	-2(1)	2(1)
C(6)	63(2)	67(2)	35(1)	10(1)	8(1)	9(2)
C(7)	43(2)	77(2)	55(2)	15(2)	-2(1)	14(2)
C(8)	77(2)	54(2)	50(2)	-4(1)	-22(2)	-11(2)

Bước 2. Tổng hợp lithi (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (**C92**).

Lithi hydroxit monohydrat (29,0 g, 678mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa metyl (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat, muối hydroclorua (68,5 g, 333mmol) trong tetrahydrofuran (950mL) và nước (48mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25°C cho đến khi quá trình thủy phân được hoàn thành, trong khi đó phần rắn được thu lại bằng cách lọc, được rửa bằng 5% dung dịch nước trong tetrahydrofuran (400mL), và được làm khô trong chân không ở 70°C để cho **C92** ở dạng chất rắn màu trắng đến trắng nhờ. Hiệu suất: 47,6 g, 295mmol, 89%. Dữ liệu hóa lý thu được trên các mẫu của **C92** thu được từ các phản ứng được thực hiện theo cùng cách.

HRMS–ESI$^+$ (*m/z*): $[M+H]^+$ Được tính toán đối với $C_8H_{14}NO_2$, 156,1019; Được tìm thấy, 156,1019. ^{1}H NMR (600 MHz, D_2O) δ 3,23 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H), 3,09 (dd, *J* = 11,1, 5,2 Hz, 1H), 2,63 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 1,33 – 1,24 (m, 2H), 0,86 (s, 2H), 0,83 (s, 3H). ^{13}C NMR (150,8 MHz, D_2O) δ 182,7, 62,3, 45,6, 35,5, 30,0, 25,8, 19,3, 12,7. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với **C92** được thể hiện trên Fig. 13; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng W.

Bảng W. Đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn đối với **C92**

Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối
5,1	4	20,2	6	30,2	4
6,0	100	20,8	19	30,5	2
7,3	17	21,4	2	31,4	18
8,7	3	21,9	4	32,2	5

10,2	6	22,3	16	32,6	22
12,1	20	22,8	7	33,8	3
12,7	2	23,8	3	34,3	3
13,7	2	24,5	9	35,2	3
15,3	15	24,8	3	35,9	10
15,7	6	25,5	21	36,7	4
16,7	78	26,2	5	37,4	4
17,2	8	26,5	4	37,8	4
18,0	3	28,4	10	39,0	2
18,8	95	29,0	10	39,2	1
19,5	14	29,5	4	39,8	1

Bước 3. Tổng hợp axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C42**).

Hỗn hợp chứa **C91** (1,29 g, 5,68mmol), 4-(dimetylamin)pyridin (0,60 g, 4,8mmol), và *N,N*-diisopropyletylamin (1,70mL, 9,75mmol) trong tetrahydrofuran (10mL), được xử lý bằng *p*-toluenulfonyl clorua (0,99 g, 5,2mmol). Sau khi hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở 20°C, **C92** (75,7% khối lượng, 1,00 g, 4,70mmol) được nạp và khuấy liên tục qua đêm ở 20°C. Huyền phù đặc thu được được trộn với propan-2-yl axetat (10mL) và được rửa liên tiếp bằng dung dịch nước axit xitric (10%, 10mL) và bằng nước (10mL). Lớp hữu cơ sau đó được cô, trong khi đó propan-2-yl axetat (5mL) được bổ sung, tiếp đó là từng giọt heptan bổ sung (15mL) từ phễu bổ sung. Các chất rắn được phân lập bằng cách lọc và được làm khô trong chân không để cho axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C42**) ở dạng chất rắn màu trắng. Hiệu suất: 1,2 g. Hợp chất này biểu hiện hai bộ tín hiệu NMR. Bộ chính và bộ phụ lần lượt tương ứng với các chất đồng phân *Z* và *E* của amit bậc ba, với tỷ lệ mol giữa 20:1. Mẫu còn chứa isopropyl axetat với tỷ lệ mol 37% đối với **C42**, chỉ ra rằng cộng hưởng ^{1}H ở 4,86, 1,96, và 1,17ppm, và cộng hưởng ^{13}C ở 169,7, 66,9, 21,5, và 21,0ppm. Các tín hiệu ^{1}H và ^{13}C được đưa ra sử dụng tín hiệu TMS, được thiết lập tới 0ppm ở cả hai loại.

HRMS–ESI^{+} (*m/z*): $[M+H]^{+}$ Được tính toán đối với $C_{16}H_{24}F_3N_2O_4$, 365,1683; Được tìm thấy: 365,1684. ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ **chính**: 9,44 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,44 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,15 (s, 1H), 3,85 (dd, *J* = 10,5, 5,4 Hz, 1H), 3,73 (d, *J* = 10,5 Hz,

1H), 1,53 (dd, J = 7,6, 5,3 Hz, 1H), 1,43 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,83 (s, 3H); **phụ:** 9,11 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 4,53 (s, 1H), 4,33 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 3,53 (dd, J = 12,5, 5,3 Hz, 1H), 3,41 (d, J = 12,5 Hz, 1H), 1,55 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 1,41 (dd, J = 7,5, 5,3 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,91 (s, 9H). ^{13}C NMR (150,8 MHz, DMSO-d_6) δ **chính**: 172,3, 167,5, 156,8 ($^2J_{CF}$ = 37,0 Hz), 115,7 ($^1J_{CF}$ = 287,7 Hz), 59,1, 58,0, 47,1, 34,6, 29,6, 26,7, 26,1, 25,6, 18,7, 12,0; **phụ:** 172,3, 168,1, 155,9 ($^2J_{CF}$ = 36,8 Hz), 115,8 ($^1J_{CF}$ = 288,1 Hz), 59,9, 57,3, 46,4, 36,2, 32,1, 26,2, 26,0, 24,4, 19,0, 12,7. Mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với **C42** được thể hiện trên Fig. 14; các đỉnh đặc trưng được đưa ra trong bảng X.

Sự kết tinh đối với cả hai nhiễu xạ bột tia X và việc xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể được thực hiện như sau. Dung dịch chứa **C42** (2,96 g) trong etanol (9mL) được gia nhiệt đến 40°C kèm theo khuấy (3500 vòng/phút), trong khi đó nước (10,5mL) được bổ sung trong 10 phút. Nước (16,5mL) sau đó được bổ sung tiếp trong 4 giờ, và hỗn hợp được làm lạnh đến 10°C và để khuấy qua đêm. Sau đó tiến hành lọc, bánh lọc được rửa bằng nước (6mL) và được làm khô ở 50°C để cho tinh thể **C42** (2,6 g).

Bảng X. Đỉnh nhiễu xạ bột tia X được chọn đối với **C42**

Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối	Góc (°2-theta)	Mật độ tương đối
7,4	100	24,2	3	37,4	1
9,4	73	24,4	2	38,3	1
12,0	15	25,3	4	39,0	1
12,9	16	25,5	4	39,7	1
14,1	9	27,6	6	40,1	1
14,9	26	28,6	1	41,2	1
17,4	7	29,5	4	41,9	1
17,7	35	31,4	2	42,6	1
19,0	18	31,5	3	46,3	1
19,2	12	32,4	1		
19,7	17	33,2	1		
20,4	9	34,1	1		
20,6	4	34,5	2		

22,4	3	35,7	1		
23,0	3	36,1	0		
23,2	2	36,6	1		

Biểu đồ ORTEP của dữ liệu đơn tinh thể đối với **C42** được thể hiện trên Fig. 15.

Xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của **C42**

Phân tích đơn tinh thể tia X

Việc thu thập dữ liệu được thực hiện trên nhiễu xạ kế Bruker D8 Venture ở nhiệt độ trong phòng. Việc thu thập dữ liệu bao gồm việc quét omega và phi. Chiến lược thu dữ liệu cụ thể ở chiều rộng 0,3 độ trên các khung được dùng để tách các miền, từ đó loại trừ các vấn đề về TWIN và tính đối xứng giả.

Cấu trúc được giải quyết bằng cách tạo pha nội tại sử dụng phần mềm SHELX thích hợp trong nhóm hệ trực giao *R*3. Sau đó, cấu trúc được tinh chế bằng phương pháp bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ. Toàn bộ nguyên tử không phải hydro được tìm thấy và được tinh chế sử dụng các thông số chuyển vị bất đẳng hướng.

Nguyên tử hydro nằm trên nitơ và oxy được tìm thấy từ bản đồ chênh lệch Fourier và được tinh chế với các khoảng cách hạn chế. Nguyên tử hydro còn lại được đặt ở các vị trí được tính toán và cho phép ở trên các nguyên tử mang. Bước tinh chế cuối gồm các thông số chuyển vị đẳng hướng đối với tất cả nguyên tử hydro.

Phân tích cấu trúc tuyệt đối sử dụng các phương pháp hợp lý (Hooft, 2008) được thực hiện sử dụng PLATON (Spek). Các kết quả chỉ ra rằng cấu trúc tuyệt đối được gán chính xác. Phương pháp này tính toán được khả năng mà cấu trúc được gán chính xác là 100%. Thông số Hooft được báo cáo là −0,08 với esd (độ lệch chuẩn được ước tính) là (7) và thông số Parson được báo cáo là −0,09 với esd là (6).

Vị trí quần thể lộn xộn ở phân đoạn C1_F1_F2 với tỷ lệ 78:22 được xác định và được xử lý theo đó.

Chỉ số R cuối là 5,8%. Fourier chênh lệch cuối chứng tỏ không có mật độ điện tử hoặc mật độ điện tử không đúng chỗ.

Tinh thể thích hợp, việc thu thập dữ liệu, và thông tin tinh chế được tóm tắt trong bảng Y. Liên kết phối trí nguyên tử, chiều dài liên kết, góc liên kết, và thông số chuyển vị được đưa ra trong các bảng Z – BB.

Danh sách phần mềm và tài liệu viện dẫn được sử dụng có thể được tìm thấy trong

việc xác định cấu trúc tia X của đơn tinh thể của Ví dụ 13, Dạng rắn 1.

Bảng Y. Dữ liệu tinh thể và tinh chế cấu trúc đối với **C42**.

Công thức thực nghiệm	$C_{16}H_{23}F_3N_2O_4$	
Khối lượng công thức	364,36	
Nhiệt độ	296(2) K	
Bước sóng	1,54178 Å	
Hệ tinh thể	hệ tam giác	
Nhóm không gian	*R*3	
Kích thước ô đơn vị	a = 14,1740(6) Å	α = 114,11°
	b = 14,1740(6) Å	β = 114,11°
	c = 14,1740(6) Å	γ = 114,11°
Thể tích	1715,9(4) Å^3	
Z	3	
Tỷ trọng (được tính toán)	1,058 Mg/m^3	
Hệ số hấp thu	0,788 mm^{-1}	
F(000)	576	
Cỡ tinh thể	0,220 x 0,100 x 0,100 mm^3	
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	6,445 đến 80,034°	
Khoảng chỉ số	$-17<=h<=16$,	$-14<=k<=16$,
$-14<=l<=17$		
Độ phản xạ được thu thập	13310	
Độ phản xạ độc lập	4011 [R_{int} = 0,0369]	
Độ toàn vẹn đối với theta = 67,679°	98,9%	
Hiệu chỉnh độ hấp thu	Theo thực nghiệm	
Phương pháp tinh chế	Bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ trên F^2	
Dữ liệu / hạn chế / các thông số	4011 / 6 / 244	
Mức độ phù hợp trên F^2	1,056	
Chỉ số R cuối [$I>2\sigma(I)$]	$R1$ = 0,0582, $wR2$ = 0,1675	
Chỉ số R (tất cả dữ liệu)	$R1$ = 0,0611, $wR2$ = 0,1710	

Thông số cấu trúc tuyệt đối	−0,09(6)
Hệ số tắt	không xác định
Đỉnh và lỗ khuếch tán lớn nhất	0,292 và −0,174 e.Å^{-3}

Bảng Z. Liên kết phối trí nguyên tử (x 10^4) và các thông số chuyển vị đẳng hướng tương đương (Å^2 x 10^3) đối với **C42**. U(eq) được xác định bằng một phần ba vết của tenxơ được trực giao hóa U^{ij}.

	x	y	z	U(eq)
C(1)	9738(11)	9749(11)	7504(7)	172(4)
F(1)	9100(20)	9860(20)	7899(14)	233(6)
F(3)	9757(18)	8823(16)	7411(12)	171(4)
F(1A)	9950(80)	10650(90)	8270(60)	233(6)
F(3A)	10320(70)	9400(60)	7630(50)	171(4)
F(2)	11182(13)	11032(10)	8680(7)	296(6)
N(1)	9252(4)	8810(4)	5336(3)	75(1)
N(2)	6546(2)	6624(2)	1650(2)	49(1)
O(1)	9065(6)	10407(6)	6229(5)	130(2)
O(2)	7738(3)	6229(3)	2739(3)	88(1)
O(3)	7054(3)	5611(3)	-16(3)	79(1)
O(4)	5159(3)	3362(2)	-1315(3)	80(1)
C(2)	9318(6)	9683(6)	6263(5)	97(2)
C(3)	8891(4)	8676(4)	4135(3)	66(1)
C(4)	10197(4)	9437(4)	4311(4)	80(1)
C(5)	9748(5)	9404(6)	3121(6)	98(1)
C(6)	10798(6)	8766(7)	4324(7)	109(2)
C(7)	11359(5)	10996(5)	5744(6)	110(2)
C(8)	7683(3)	7092(3)	2793(3)	60(1)
C(9)	5449(3)	5104(3)	340(3)	50(1)
C(10)	5997(3)	4749(3)	-338(3)	56(1)
C(11)	4191(3)	4863(3)	-607(3)	53(1)

C(12)	3540(3)	5182(4)	-65(3)	60(1)
C(13)	1999(4)	4426(5)	-1228(5)	78(1)
C(14)	3859(5)	5374(5)	1178(5)	80(1)
C(15)	4643(3)	6293(3)	127(3)	54(1)
C(16)	6198(3)	7435(3)	1506(3)	59(1)

Bảng AA. Chiều dài liên kết [Å] và góc [°] đối với **C42**.

C(1)-F(1A)	1,09(5)
C(1)-F(3A)	1,12(5)
C(1)-F(1)	1,271(14)
C(1)-F(3)	1,277(13)
C(1)-F(2)	1,404(14)
C(1)-C(2)	1,556(9)
N(1)-C(2)	1,321(6)
N(1)-C(3)	1,463(5)
N(1)-H(1X)	0,94(2)
N(2)-C(8)	1,333(4)
N(2)-C(9)	1,464(4)
N(2)-C(16)	1,477(3)
O(1)-C(2)	1,230(6)
O(2)-C(8)	1,231(4)
O(3)-C(10)	1,199(4)
O(4)-C(10)	1,311(4)
O(4)-H(4Y)	0,98(2)
C(3)-C(8)	1,517(5)
C(3)-C(4)	1,556(6)
C(3)-H(3)	0,9800
C(4)-C(5)	1,512(8)
C(4)-C(6)	1,515(6)
C(4)-C(7)	1,533(6)

C(5)-H(5A)	0,9600
C(5)-H(5B)	0,9600
C(5)-H(5C)	0,9600
C(6)-H(6A)	0,9600
C(6)-H(6B)	0,9600
C(6)-H(6C)	0,9600
C(7)-H(7A)	0,9600
C(7)-H(7B)	0,9600
C(7)-H(7C)	0,9600
C(9)-C(11)	1,508(4)
C(9)-C(10)	1,521(4)
C(9)-H(9)	0,9800
C(11)-C(15)	1,507(4)
C(11)-C(12)	1,510(4)
C(11)-H(11)	0,9800
C(12)-C(14)	1,496(5)
C(12)-C(15)	1,512(5)
C(12)-C(13)	1,530(5)
C(13)-H(13A)	0,9600
C(13)-H(13B)	0,9600
C(13)-H(13C)	0,9600
C(14)-H(14A)	0,9600
C(14)-H(14B)	0,9600
C(14)-H(14C)	0,9600
C(15)-C(16)	1,510(4)
C(15)-H(15)	0,9800
C(16)-H(16A)	0,9700
C(16)-H(16B)	0,9700

F(1A)-C(1)-F(3A)	133(4)
F(1)-C(1)-F(3)	109,3(14)
F(1A)-C(1)-C(2)	105(2)

F(3A)-C(1)-C(2)	109,0(19)
F(1)-C(1)-C(2)	115,0(7)
F(3)-C(1)-C(2)	118,2(6)
F(2)-C(1)-C(2)	104,7(9)
C(2)-N(1)-C(3)	119,5(3)
C(2)-N(1)-H(1X)	112(3)
C(3)-N(1)-H(1X)	128(3)
C(8)-N(2)-C(9)	118,3(2)
C(8)-N(2)-C(16)	128,7(2)
C(9)-N(2)-C(16)	113,0(2)
C(10)-O(4)-H(4Y)	103(3)
O(1)-C(2)-N(1)	127,2(5)
O(1)-C(2)-C(1)	118,2(4)
N(1)-C(2)-C(1)	114,5(4)
N(1)-C(3)-C(8)	106,8(3)
N(1)-C(3)-C(4)	113,3(3)
C(8)-C(3)-C(4)	113,4(3)
N(1)-C(3)-H(3)	107,7
C(8)-C(3)-H(3)	107,7
C(4)-C(3)-H(3)	107,7
C(5)-C(4)-C(6)	111,0(5)
C(5)-C(4)-C(7)	108,8(4)
C(6)-C(4)-C(7)	108,5(4)
C(5)-C(4)-C(3)	108,7(3)
C(6)-C(4)-C(3)	112,1(4)
C(7)-C(4)-C(3)	107,5(4)
C(4)-C(5)-H(5A)	109,5
C(4)-C(5)-H(5B)	109,5
H(5A)-C(5)-H(5B)	109,5
C(4)-C(5)-H(5C)	109,5
H(5A)-C(5)-H(5C)	109,5
H(5B)-C(5)-H(5C)	109,5

C(4)-C(6)-H(6A)	109,5
C(4)-C(6)-H(6B)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6B)	109,5
C(4)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6A)-C(6)-H(6C)	109,5
H(6B)-C(6)-H(6C)	109,5
C(4)-C(7)-H(7A)	109,5
C(4)-C(7)-H(7B)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7B)	109,5
C(4)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7A)-C(7)-H(7C)	109,5
H(7B)-C(7)-H(7C)	109,5
O(2)-C(8)-N(2)	119,3(3)
O(2)-C(8)-C(3)	121,0(3)
N(2)-C(8)-C(3)	119,8(2)
N(2)-C(9)-C(11)	105,0(2)
N(2)-C(9)-C(10)	110,4(2)
C(11)-C(9)-C(10)	112,2(2)
N(2)-C(9)-H(9)	109,7
C(11)-C(9)-H(9)	109,7
C(10)-C(9)-H(9)	109,7
O(3)-C(10)-O(4)	124,6(3)
O(3)-C(10)-C(9)	125,1(3)
O(4)-C(10)-C(9)	110,4(3)
C(15)-C(11)-C(9)	107,9(2)
C(15)-C(11)-C(12)	60,1(2)
C(9)-C(11)-C(12)	118,0(2)
C(15)-C(11)-H(11)	118,7
C(9)-C(11)-H(11)	118,7
C(12)-C(11)-H(11)	118,7
C(14)-C(12)-C(11)	121,8(3)
C(14)-C(12)-C(15)	121,6(3)

C(11)-C(12)-C(15)	59,8(2)
C(14)-C(12)-C(13)	113,5(3)
C(11)-C(12)-C(13)	114,8(3)
C(15)-C(12)-C(13)	115,3(3)
C(12)-C(13)-H(13A)	109,5
C(12)-C(13)-H(13B)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13B)	109,5
C(12)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13A)-C(13)-H(13C)	109,5
H(13B)-C(13)-H(13C)	109,5
C(12)-C(14)-H(14A)	109,5
C(12)-C(14)-H(14B)	109,5
H(14A)-C(14)-H(14B)	109,5
C(12)-C(14)-H(14C)	109,5
H(14A)-C(14)-H(14C)	109,5
H(14B)-C(14)-H(14C)	109,5
C(11)-C(15)-C(16)	108,6(2)
C(11)-C(15)-C(12)	60,04(19)
C(16)-C(15)-C(12)	120,2(3)
C(11)-C(15)-H(15)	117,9
C(16)-C(15)-H(15)	117,9
C(12)-C(15)-H(15)	117,9
N(2)-C(16)-C(15)	104,0(2)
N(2)-C(16)-H(16A)	111,0
C(15)-C(16)-H(16A)	111,0
N(2)-C(16)-H(16B)	111,0
C(15)-C(16)-H(16B)	111,0
H(16A)-C(16)-H(16B)	109,0

Chuyển hóa đối xứng được sử dụng để tạo ra các nguyên tử tương đương.

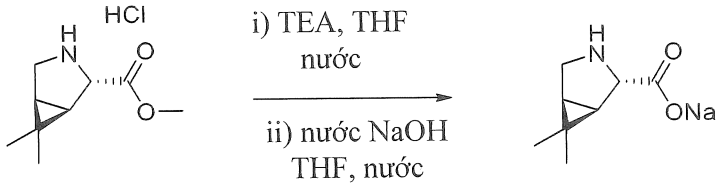
Bảng BB. Các thông số chuyển vị bất đẳng hướng ($Å^2$ x 10^3) đối với **C42**. Số mũ của yếu tố

chuyển vị bất đẳng hướng tạo ra dạng: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + ... + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
C(1)	249(10)	244(10)	92(4)	107(6)	116(6)	219(9)
F(1)	349(14)	444(17)	236(8)	274(10)	264(10)	348(15)
F(3)	299(12)	246(10)	152(5)	168(7)	178(7)	234(10)
F(1A)	349(14)	444(17)	236(8)	274(10)	264(10)	348(15)
F(3A)	299(12)	246(10)	152(5)	168(7)	178(7)	234(10)
F(2)	294(11)	235(8)	94(3)	84(4)	57(5)	147(8)
N(1)	80(2)	83(2)	52(1)	41(1)	37(1)	65(2)
N(2)	52(1)	49(1)	44(1)	31(1)	30(1)	39(1)
O(1)	170(4)	160(4)	107(3)	88(3)	95(3)	145(4)
O(2)	83(2)	74(2)	73(2)	50(1)	32(1)	59(1)
O(3)	82(2)	56(1)	91(2)	43(1)	69(2)	42(1)
O(4)	71(1)	50(1)	93(2)	32(1)	61(1)	39(1)
C(2)	109(3)	117(4)	73(2)	59(3)	57(2)	93(3)
C(3)	62(2)	62(2)	51(2)	33(1)	28(1)	47(2)
C(4)	62(2)	64(2)	71(2)	36(2)	35(2)	42(2)
C(5)	76(2)	85(3)	94(3)	58(2)	54(2)	44(2)
C(6)	97(3)	111(4)	134(4)	83(4)	80(3)	82(3)
C(7)	69(2)	70(2)	84(3)	30(2)	32(2)	34(2)
C(8)	62(2)	59(2)	56(2)	40(1)	36(1)	46(1)
C(9)	55(1)	48(1)	49(1)	33(1)	35(1)	37(1)
C(10)	56(2)	50(1)	57(2)	34(1)	39(1)	38(1)
C(11)	53(1)	54(1)	45(1)	31(1)	32(1)	38(1)
C(12)	61(2)	69(2)	63(2)	46(2)	44(1)	50(2)
C(13)	62(2)	85(2)	86(2)	57(2)	50(2)	54(2)
C(14)	91(3)	109(3)	89(2)	77(2)	72(2)	77(2)
C(15)	57(2)	57(2)	50(1)	38(1)	33(1)	43(1)
C(16)	60(2)	51(1)	57(2)	35(1)	33(1)	42(1)

Ngoài việc điều chế axit (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylic (**C42**) theo các phương pháp đã mô tả ở trên, hợp chất cũng có thể được điều chế như được mô tả trong các sơ đồ phản ứng chỉ ra trực tiếp dưới đây. Ở bước 1, metyl (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat hydroclorua trước tiên được xử lý bằng trietylamin trong hỗn hợp chứa tetrahydrofuran và nước để trung hòa muối hydroclorua tiếp đó là thủy phân metyl este sử dụng natri hydroxit trong hỗn hợp chứa tetrahydrofuran và nước để tạo ra natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat.

Điều chế natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat



Bổ sung tetrahydrofuran (30mL), nước (7,5mL), trietylamin (7,62mL, 54,7mmol) và metyl (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0] hexan-2-carboxylat hydroclorua (7,59 g, 36,9mmol) vào bình thích hợp. Hỗn hợp được khuấy ở 25°C trong ít nhất 30 phút. Quá trình khuấy được tạm dừng và các lớp được tách. Trong bình riêng rẽ, 28% khối lượng/khối lượng nước natri hydroxit (4,19mL, 38,3mmol) và tetrahydrofuran (71mL) được bổ sung vào kèm theo khuấy ở 40°C. 25% lớp hữu cơ chứa dung dịch chứa metyl (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0] hexan-2-carboxylat trong tetrahydrofuran từ việc tách được bổ sung và dung dịch được cấy mầm với natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat (0,1182 g, 0,7336mmol – trước đó được điều chế từ quy trình tương tự). Hỗn hợp được giữ ở 40°C trong ít nhất 15 phút và 75% lớp hữu cơ còn lại được bổ sung từ từ. Hỗn hợp được giữ kèm theo khuấy ở 40°C trong 16 giờ, sau đó được làm nguội từ từ đến 20°C và giữ trong ít nhất 4 giờ. Chất rắn thu được là natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat được phân lập bằng cách lọc, được rửa bằng dung dịch bao gồm tetrahydrofuran (43mL) và nước (2,25mL). Nguyên liệu rắn được làm khô ở 70°C trong chân không để tạo ra 6,13 g (93,8%) natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat ở dạng tinh thể rắn. PXRD được xác định theo các phương pháp như được mô tả trên đây.

Các đỉnh PXRD được chọn của tinh thể natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat.

Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối	Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối	Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối
5,5	19	19,0	15	29,8	4
5,9	9	19,3	100	30,3	8
6,6	59	21,3	45	30,8	8
10,7	2	23,2	12	32,0	3
16,0	9	23,5	17	32,5	5
16,3	6	24,2	20	33,8	7
16,7	10	25,8	11	34,6	4
17,0	52	26,0	8	35,8	6
17,3	42	26,7	4	36,6	8
17,7	15	28,1	3	36,9	7
18,5	7	28,9	6	37,6	3

Các đỉnh PXRD được chọn của axit (S)-3,3-dimetyl-2-(2,2,2-trifloaxetamido)butanoic (**C91**)

Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối	Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối	Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối
9,7	27	28,1	4	37,7	1
11,8	6	28,7	2	38,2	2
12,6	3	28,9	5	38,7	2
13,2	20	29,7	4	39,3	3
14,7	28	29,9	4	39,6	1
15,6	69	30,3	10	40,0	1
17,2	4	30,8	3	40,5	5
17,9	2	31,0	1	40,7	3
18,3	2	31,3	1	40,9	3

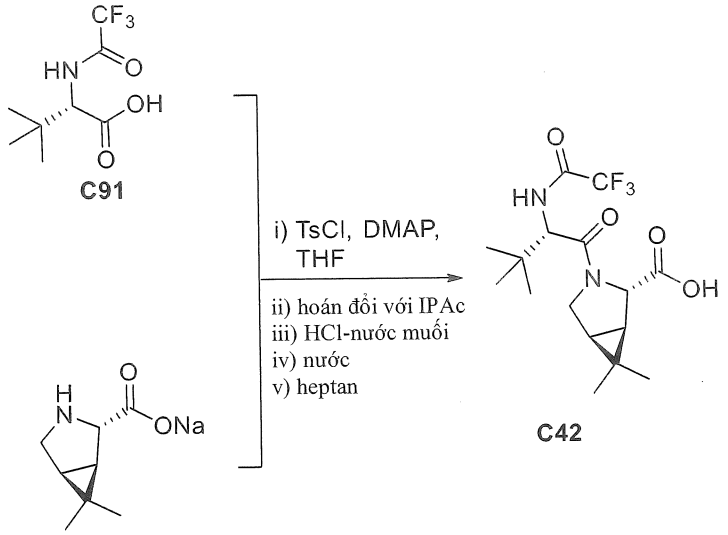
19,5	100	32,6	3	41,5	1
20,0	14	33,5	2	41,8	1
20,4	2	34,0	1	42,4	3
21,5	22	34,2	2	43,1	1
23,2	8	34,7	3	44,2	1
23,3	11	36,2	2	44,8	1
23,8	6	36,4	3	45,7	1
25,2	1	36,7	2	45,9	3
25,4	17	37,1	1	46,4	1
25,7	2	37,2	2	47,0	1
26,6	7	37,4	1	47,3	2
26,7	6	37,6	3	49,5	2

Dữ liệu tinh thể và tinh chế cấu trúc đối với axit (S)-3,3-dimetyl-2-(2,2,2-trifloaxetamido) butanoic (**C91**).

Mã xác định	E178	
Công thức thực nghiệm	C8 H12 F3 N O3	
Khối lượng công thức	227,19	
Nhiệt độ	173(2) K	
Bước sóng	1,54178 Å	
Hệ tinh thể	Hệ tứ giác	
Nhóm không gian	$P4_12_12$	
Kích thước ô đơn vị	a = 9,9168(6) Å	a= 90°.
	b = 9,9168(6) Å	b= 90°.
	c = 22,721(2) Å	g = 90°.
Thể tích	2234,5(4) $Å^3$	
Z	8	
Tỷ trọng (được tính toán)	1,351 Mg/m^3	
Hệ số hấp thu	1,184 mm^{-1}	
F(000)	944	

Cỡ tinh thể	0,200 x 0,170 x 0,080 mm^3
Khoảng theta để thu thập dữ liệu	4,866 đến 70,114°.
Khoảng chỉ số	-11<=h<=10, -12<=k<=12, -27<=l<=27
Độ phản xạ được thu thập	48160
Độ phản xạ độc lập	2122 [R(int) = 0,0392]
Độ toàn vẹn đối với theta = 67,679°	99,8 %
Hiệu chỉnh độ hấp thu	Theo thực nghiệm
Phương pháp tinh chế	Bình phương tối thiểu ma trận toàn bộ trên F^2
Dữ liệu / hạn chế / thông số	2122 / 9 / 158
Mức độ phù hợp trên F^2	1,010
Chỉ số R cuối [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0408, wR2 = 0,1012
Chỉ số R (tất cả dữ liệu)	R1 = 0,0429, wR2 = 0,1039
Thông số cấu trúc tuyệt đối	0,03(4)
Hệ số tắt	không xác định
Đỉnh và lỗ khuếch tán lớn nhất	0,280 và -0,215 e.$Å^{-3}$

Ở bước 2, natri (1R,2S,5S)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxylat thu được sau đó được liên hợp với axit (S)-3,3-dimetyl-2-(2,2,2-trifloaxetamido)butanoic với sự có mặt của tosyl clorua và dimetylamin pyridin trong tetrahydrofuran. Tetrahydrofuran được loại bỏ và thay bằng isopropyl axetat tiếp đó là xử lý với HCl trong nước muối tiếp đó là xử lý nước và heptan để tạo ra C42.



Tinh thể **C42** được đặc trưng ở chỗ PXRD và dạng bổ sung thu được từ việc làm khô kéo dài hoặc nhiệt độ cao hơn được xác định.

Các đỉnh PXRD được chọn đối với **C42** – Dạng kết tinh thu được từ thời gian làm khô kéo dài hoặc nhiệt độ cao hơn

Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối	Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối	Góc độ 2-Θ ± 0,2 °2-Θ	Mật độ tương đối
10,2	3	25,7	11	33,7	1
10,8	100	26,1	3	34,1	1
12,6	22	26,8	2	34,6	4
13,3	21	27,1	2	35,1	3
13,8	88	27,4	7	35,5	1
16,3	59	27,8	7	36,3	4
17,1	39	28,0	3	36,9	6
18,7	5	28,2	3	38,2	6
18,9	2	29,0	2	38,8	2
19,5	20	29,5	4	39,3	1
19,9	18	29,8	2	39,6	2
20,3	2	30,1	2	39,8	2
20,6	26	30,6	7	40,2	2
20,8	63	30,9	3	42,2	3

21,7	6	31,2	3	44,2	2
22,2	20	32,0	8	44,7	3
23,4	8	32,7	4	47,0	2
23,7	18	32,9	4	47,3	2
24,5	7	33,1	5		
25,4	9	33,5	1		

Hoạt tính kháng virut từ việc nhiễm SARS-CoV-2

Khả năng ngăn ngừa việc gây chết tế bào do hoặc tác dụng gây bệnh tế bào coronavirut SARS-CoV-2 của các hợp chất để có thể được đánh giá thông qua khả năng sống của tế bào, sử dụng dạng thử nghiệm dùng luxiferaza để đo ATP nội bào làm điểm cuối. Tóm lại, các tế bào VeroE6 mà được làm giàu để biểu hiện hACE2 được chủng ngừa theo mẻ bằng SARS-CoV-2 (USA_WA1/2020) với số bội nhiễm là 0,002 trong thử nghiệm BSL-3. Các tế bào đã được chủng ngừa virut sau đó được bổ sung vào các đĩa hợp chất sẵn để thử nghiệm ở mật độ 4.000 tế bào/lỗ. Sau khi ủ 3 ngày, thời gian tại đó tác dụng gây bệnh tế bào do virut là 95% trong điều kiện đối chứng bị nhiễm, không được xử lý, khả năng sống của tế bào được đánh giá sử dụng Cell Titer-Glo (Promega), theo quy trình của nhà sản xuất, định lượng nồng độ ATP. Độc tính tế bào của các hợp chất được đánh giá trong các tế bào không bị nhiễm song song. Các hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm riêng lẻ hoặc với sự có mặt của chất ức chế P-glycoprotein (P-gp) CP-100356 ở nồng độ của 2 μM. Việc bao gồm CP-100356 là nhằm đánh giá xem các hợp chất thử nghiệm bị thoát ra ngoài các tế bào VeroE6, mà có mức biểu hiện P-glycoprotein cao nhất. Phần trăm hiệu lực ở mỗi nồng độ của hợp chất thử nghiệm được tính toán trên cơ sở các giá trị đối với lỗ đối chứng không chứa virut và lỗ đối chứng chứa virut trên mỗi đĩa thử nghiệm. Nồng độ cần có giá trị đáp ứng 50% (EC_{50}) được xác định từ các dữ liệu này sử dụng mô hình logistic 4 thông số. Các đường cong EC_{50} phù hợp với độ dốc Hill bằng 3 khi >3 và liều đỉnh đạt hiệu lực ≥ 50%. Nếu độc tính tế bào được phát hiện với hiệu lực lớn hơn 30%, thì dữ liệu nồng độ tương ứng được loại trừ từ việc xác định EC_{50}.

Đối với các đĩa độc tính tế bào, phần trăm hiệu lực ở mỗi nồng độ của hợp chất thử nghiệm được tính toán trên cơ sở các giá trị đối với lỗ đối chứng chỉ có thế bào và các lỗ đối chứng

chứa hyamin trên mỗi đĩa thử nghiệm. Giá trị CC_{50} được tính toán sử dụng mô hình logistic 4 thông số. Sau đó, TI được tính toán bằng cách chia giá trị CC_{50} cho giá trị EC_{50}.

Thử nghiệm và phân tích FRET đối với 3C Proteaza của Coronavirut SARS-CoV-2

Hoạt tính phân giải protein của proteaza chính, 3CLpro, của SARS-CoV-2 được kiểm tra sử dụng thử nghiệm truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET) liên tục. Thử nghiệm SARS-CoV-2 3CLpro đo hoạt tính của 3CL proteaza chiều dài đầy đủ của SARS-CoV-2 để phân giải cơ chất peptit tạo huỳnh quang tổng hợp theo thứ tự sau: Dabcyl-KTSAVLQ-SGFRKME-Edans được mô hình hóa trên peptit liên ứng (V. Grum-Tokars et al. Evaluating the 3C-like protease activity of SARS-coronavirus: recommendations for standardized assays for drug discovery. Virus Research 133 (2008) 63–73). Sự phát huỳnh quang của peptit Edans đã được phân giải (kích thích ở 340 nm / phát ra ở 490 nm) được đo sử dụng quy trình đo mật độ huỳnh quang trên máy đọc Flexstation (Molecular Devices). Tín hiệu phát huỳnh quang được khử khi có mặt PF-835231, chất ức chế tiềm năng của SARS-CoV-2 3CLpro. Chất đệm phản ứng thử nghiệm chứa 20 mM Tris-HCl (pH 7,3), 100 nM NaCl, 1 mM EDTA và 25 μM cơ chất peptit. Các phản ứng enzym được bắt đầu với việc bổ sung 15 nM 3CL proteaza của SARS-CoV-2 và tiến hành trong 60 phút ở 23°C. Phần trăm ức chế hoặc hoạt tính được tính toán trên cơ sở các lỗ đối chứng không chứa hợp chất (0% ức chế/100% hoạt tính) và hợp chất đối chứng (100% ức chế/0% hoạt tính). Giá trị IC50 được tạo ra sử dụng mô hình phù hợp bốn thông số sử dụng phần mềm ABASE (IDBS). Các giá trị Ki phù hợp với đẳng thức Morrison với thông số nồng độ enzym được cố định đến 15 nM, thông số Km được cố định đến 14 μM và thông số nồng độ cơ chất được cố định đến 25 μM sử dụng phần mềm ABASE (IDBS).

Hoạt tính phân giải protein của 3CL proteaza của Coronavirut SARS-CoV-2 được đo sử dụng thử nghiệm truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang liên tục. Thử nghiệm FRET đối với SARS-CoV-2 $3CL^{pro}$ đo khả năng phân giải proteaza được xúc tác của TAMRA-SITSAVLQSGFRKMK-(DABCYL)-OH thành TAMRA - SITSAVLQ và SGFRKMK(DABCYL)-OH. Sự phát huỳnh quang của peptit TAMRA được phân giải (kích thích ở 558 nm *I* phát ra ở 581 nm) được đo sử dụng máy đọc đĩa huỳnh quang TECAN SAFIRE trong khoảng thời gian 10 phút. Dung dịch phản ứng thông thường chứa

20 mM HEPES (pH 7,0), 1 mM EDTA, 4,0 μM cơ chất FRET, 4% DMSO và 0,005% Tween-20. Các thử nghiệm được bắt đầu với việc bổ sung 25 nM SARS $3CL^{pro}$ (trình tự nucleotit 9985-10902 của chủng Urbani của trình tự bộ gen đầy đủ của coronavirut SARS (số truy cập NCBI là AY278741)). Phần trăm ức chế được xác định hai lần ở nồng độ chất ức chế 0,001 mM. Dữ liệu được phân tích bằng chương trình phân tích thoái biến không tuyến tính Kalidagraph sử dụng đẳng thức:

$$FU = \text{độ lệch} + (\text{giới hạn})(1 - e^{-(kobs)}t)$$

Trong đó độ lệch bằng tín hiệu phát huỳnh quang của cơ chất peptit không được phân giải, và giới hạn bằng sự phát huỳnh quang của cơ chất peptit được phân giải toàn bộ. kobs là hằng số tốc độ thứ tự thứ nhất đối với phản ứng này, và khi không có mặt chất ức chế bất kỳ thể hiện việc sử dụng cơ chất. Trong phản ứng khởi đầu enzym chứa chất ức chế không thuận nghịch, và trong đó giới hạn được tính toán nhỏ hơn 20% giới hạn tối đa lý thuyết, kobs được tính toán thể hiện tốc độ bất hoạt của coronavirut 3C proteaza. Độ dốc (kobs/ I) của đồ thị giữu kobs và [I] là thước đo giữa ái lực của chất ức chế đối với enzym. Đối với các chất ức chế không thuận nghịch rất nhanh, kobs/I được tính toán từ các quan sát chỉ ở một hoặc hai [I] chứ không phải là độ dốc.

Bảng 2. Hoạt tính sinh học và tên gọi IUPAC của các hợp chất ví dụ 1 – 84.

Số ví dụ	Giá trị trung bình hình học K_i (μM)	Số đếm được sử dụng K_i (μM)	Giá trị trung bình hình học EC_{50} (μM)	Số đếm được sử dụng EC_{50} (μM)	Tên gọi IUPAC
1	0,013	4	0,246	7	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

2	1,08	3	7,52	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(pyrolidin-1-ylaxetyl)-L-leuxinamit, muối trifloaxetat
3	0,439	2	6,74	6	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(2,6-diclobenzoyl)-4-metyl-L-leuxinamit
4	0,026	3	1,36	15	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
5	>0,351	2	>3,33	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
6	0,023	2	0,279	4	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
7	0,798	1	43,1	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metylimidazo[2,1-*b*][1,3]thiazol-2-carboxamit
8	0,917	3	5,75	2	*N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-1

9	0,254	4	0,970	4	*N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[xyclohexyl(metoxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-2
10	0,056	4	2,09	4	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
11	0,297	3	4,78	4	N^2-[(4-bromo-1-etyl-3-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit
12	0,539	3	6,33	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(3,3-difloxyclobutyl)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit
13	0,003	6	0,075	18	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
14	0,302	2	N.D.[1]		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-5,5,5-triflo-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
15	0,002	1	0,360	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit

16	0,018	2	>2,53	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
17	0,053	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
18	0,019	2	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
19	0,208	2	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-3,5-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
20	0,005	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
21	N.D.	N.D.	>3,17	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
22	0,066	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-flo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit

23	0,021	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5,7-diflo-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
24	1,93	2	6,30	6	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit
25	N.D.		37	2	*N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(xyclohexylcarbonyl)-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-1
26	N.D.		>100	1	*N*-{1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-(xyclohexylcarbonyl)-4-metyl-L-leuxinamit, DIAST-2
27	4,50	2	44,9	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-[(propan-2-yloxy)axetyl]-L-leuxinamit
28	1,79	2	7,26	4	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(xyclohexyloxy)axetyl]-4-metyl-L-leuxinamit
29	2,23	2	28,1	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-(4,4,4-triflo-3-metylbutanoyl)-L-leuxinamit
30	>10,8	1	9,37	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2*S*)-2-(dimetylamin)-2-phenylaxetyl]-4-metyl-L-leuxinamit

31	0,606	3	40,7	2	N^2-[(*trans*-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit hoặc N^2-[(*trans*-4-xyanoxyclohexyl)carbonyl]-*N*-{(1*R*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit
32	0,690	3	4,90	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[2-(xyclohexyloxy)propanoyl]-4-metyl-L-leuxinamit hoặc *N*-{(1*R*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[2-(xyclohexyloxy)propanoyl]-4-metyl-L-leuxinamit
33	0,068	2	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-hydroxy-1*H*-indol-2-carboxamit
34	0,074	2	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-hydroxy-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
35	0,176	3	3,56	4	N^2-[(4-clo-1,3-dimetyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-L-leuxinamit

36	0,241	4	1,03	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-[(2*R*)-2-(dimetylamin)-2-phenylaxetyl]-4-metyl-L-leuxinamit
37	0,168	1	>3,33	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
38	0,023	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
39	0,111	1	>3,33	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,7-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
40	0,131	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,5-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
41	0,104	1	>0,333	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,6-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit[2]

42	>0,356	1	>0,333	1	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{(2*R*)-2-(dimetylamin)-2-[3-(triflometyl)phenyl]axetyl}-4-metyl-L-leuxinamit
43	>0,356	1	>0,333	1	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-N^2-{(2*R*)-2-(dimetylamin)-2-[4-(triflometyl)phenyl]axetyl}-4-metyl-L-leuxinamit
44	0,302	2	5,88	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
45	0,227	2	6,42	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-6-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
46	0,283	1	>3,33	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,7-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
47	>0,359	1	>3,33	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,6,7-tris(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit

48	>0,359	1	>3,33	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-3,5,7-tris(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
49	0,083	3	2,68	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometoxy)-1*H*-indol-2-carboxamit
50	0,147	3	3,95	1	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometoxy)-1*H*-indol-2-carboxamit
51	0,192	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
52	0,032	3	N.D.		7-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
53	0,025	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-metyl-1*H*-indol-2-carboxamit

54	0,049	3	N.D.		6-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
55	0,104	3	N.D.		4-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
56	0,151	3	N.D.		5-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
57	0,052	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
58	0,091	3	N.D.		4,6-diclo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
59	0,152	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
60	0,261	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-5-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit

61	0,034	3	N.D.		7-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
62	0,029	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-7-metyl-1*H*-indol-2-carboxamit
63	0,122	3	N.D.		6-clo-N-[(2S)-1-({(1S)-1-xyano-2-[(3S)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1H-indol-2-carboxamit
64	0,038	3	N.D.		4-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
65	0,117	3	N.D.		5-clo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
66	0,073	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-7-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit

67	0,041	3	N.D.		4,6-diclo-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-1*H*-indol-2-carboxamit
68	0,092	3	N.D.		*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit
69	0,083	1	>2,67	2	*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-3-metyl-5-(triflometyl)imidazo[2,1-*b*][1,3]thiazol-2-carboxamit
70	6,95	2	4,09	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[5-metyl-2-(triflometyl)-1,3-thiazol-4-yl]carbonyl}-L-leuxinamit
71	0,254	3	4,99	2	*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-metyl-N^2-{[4-metyl-2-(triflometyl)-1,3-thiazol-5-yl]carbonyl}-L-leuxinamit
72	0,173	3	1,35	2	N^2-[(4-bromo-1-etyl-3-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit
73	0,226	3	2,03	2	N^2-[(4-clo-1,3-dimetyl-1*H*-pyrazol-5-yl)carbonyl]-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-L-leuxinamit

74	>0,356	1	>3,33	1	3-axetyl-*N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4-metyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-1*H*-indol-2-carboxamit
75	0,017	2	0,551	4	Chất đồng phân không đối quang 1: (2*S*,4*R*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit hoặc (2*R*,4*S*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit
76	>8,16	2	>100	1	Chất đồng phân không đối quang 2: (2*S*,4*R*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit hoặc (2*R*,4*S*)-4-*tert*-butyl-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-1-{*N*-[(triflometyl)sulfonyl]-L-valyl}piperidin-2-carboxamit

77	0,004	2	0,085	4	3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit
78	0,005	3	2,74	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(metylcarbamoyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
79	0,001	4	0,080	4	metyl {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}carbamoyl)-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-3-yl]-3,3-dimetyl-1-oxobutan-2-yl}carbamat
80	0,037	2	0,158	3	*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit
81	0,003	2	0,690	3	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-5-hydroxy-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
82	0,139	1	N.D.	N.D.	(1*R*,2*S*,5*S*,6*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

83	0,092	1	N.D.	N.D.	(1*R*,2*S*,5*S*,6*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6-(hydroxymetyl)-6-metyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
84	0,003	1	N.D.	N.D.	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-(hydroxymetyl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
85	0,004	1	0,334	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*R*)-2,5-dioxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
86	0,018	2	0,237	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[5,5,5-triflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
87	0,021	2	0,230	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-2-xyclohexyl-2-{[(triflometyl)sulfonyl]amino}axetyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

88	0,006	2	0,050	4	Chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ nhất: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit hoặc (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-D-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
89	0,007	3	0,040	4	Chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai: (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit hoặc (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[3-xyclobutyl-*N*-(trifloaxetyl)-D-alanyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit

90	0,015	2	0,571	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(pyridin-2-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
91	0,007	2	0,011	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-{*N*-[(4-flophenoxy)axetyl]-3-metyl-L-valyl}-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
92	0,004	2	0,019	4	3-metyl-*N*-[(4-metylphenyl)axetyl]-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit
93	0,014	2	0,882	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-*N*-(trifloaxetyl)-L-alanyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
94	0,011	2	0,379	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-3-[(2*S*)-4,4-diflo-2-(2,2,2-trifloaxetamido)butanoyl]-6,6-dimetyl-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
95	0,003	2	0,098	4	*N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit

96	0,844	1	9,190	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*R*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit
97	0,011	5	0,082	16	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C86 (DIAST-2)**
98	0,188	1	1,738	2	(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[2-(2,2,2-trifloaxetamido)-3-(triflometyl)pentanoyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, từ **C85 (DIAST-1)**

1. Không được xác định.

2. Hóa lập thể của Ví dụ 41 được xác định nghiêm ngặt; các cấu trúc có thể có khác đối với ví dụ này là *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-5,6-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit và *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}amino)-4,4-dimetyl-1-oxopentan-2-yl]-4-metoxy-6,7-bis(triflometyl)-1*H*-indol-2-carboxamit.

Các thông số dược động học được dự đoán của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit (hợp chất của Ví dụ 13) ở người

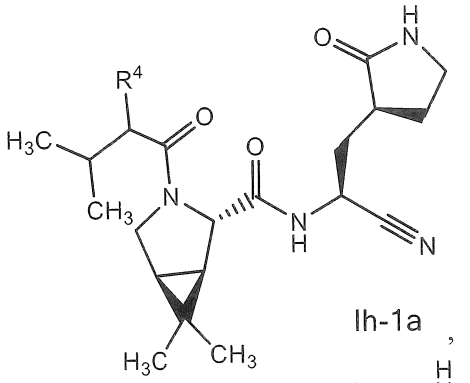
Trên cơ sở mô hình hóa dược động học trên cơ sở sinh lý (PBPK) của CL_{int} kết hợp dữ liệu in-vitro từ các vi thể gan người và CL_{bile} từ các tế bào gan người trong các điều kiện được nuôi cấy kiểu sandwich, CL và V_{ss} huyết tương người được dự đoán của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-

{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit lần lượt là 5,9mL/phút/kg và 0,97 L/kg, thu được thời gian bán thải hữu hiệu, $t_{1/2}$, là 1,9 giờ. C_{eff} đích là 0,16 μM (nồng độ huyết tương không được gắn kết) được xác định trên cơ sở dữ liệu ức chế kháng virut thu được từ các thử nghiệm *in vitro* của (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit với các tế bào VeroE6 với sự có mặt của chất ức chế P-gp (giá trị EC_{90} là 0,156 μM) hoặc trong thử nghiệm tế bào biểu mô phế quản người khỏe mạnh được biệt hóa (differentiated normal human bronchial epithelial - dNHBE) (giá trị EC_{90} là 0,149 μM). Liều 380 mg (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit được dùng qua đường miệng ba lần một ngày (TID) được ước đoán để bao phủ nồng độ không gắn kết hiệu quả là 0,16 μM ở C_{min}.

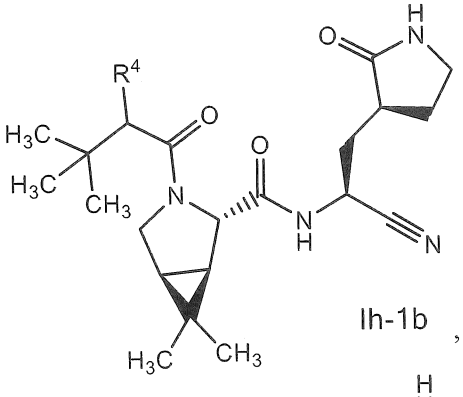
Tất cả các bằng sáng chế và các công bố được mô tả trên đây được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn. Trong khi sáng chế được mô tả trong các thuật ngữ của các phương án được ưu tiên khác nhau và các ví dụ cụ thể, sáng chế cần được hiểu là không bị giới hạn bởi phần mô tả chi tiết nêu trên, nhưng đã được xác định bởi phần yêu cầu bảo hộ kèm theo và các dạng tương đương của chúng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

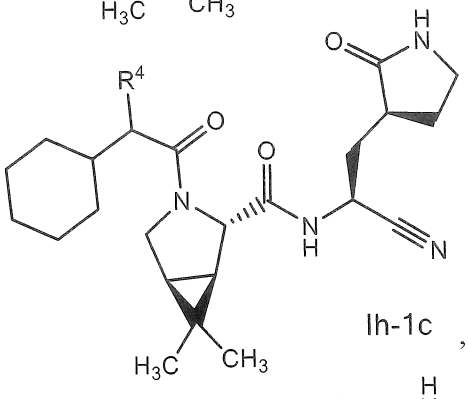
1. Hợp chất có công thức bất kỳ trong số các công thức Ih-1a, Ih-1b, Ih-1c, Ii-1a, Ii-1b, Ii-1c, Ij-1a, Ij-1b, Ij-1c, Ik-a, Ik-b và Ik-c:



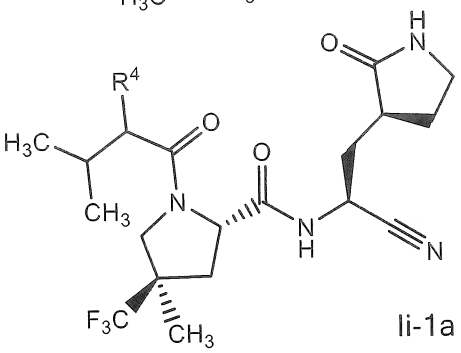
Ih-1a ,



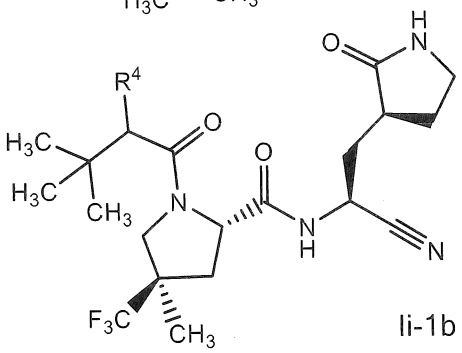
Ih-1b ,



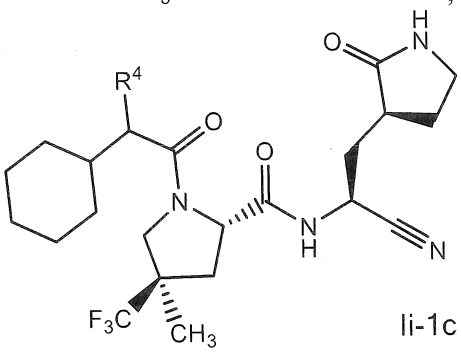
Ih-1c ,



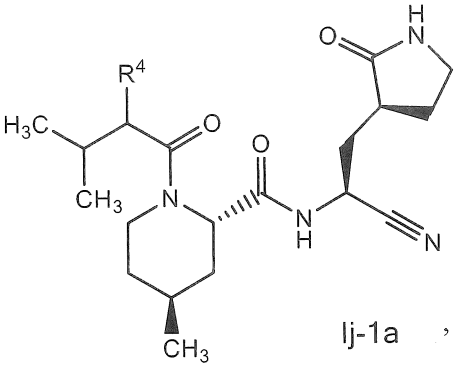
Ii-1a ,



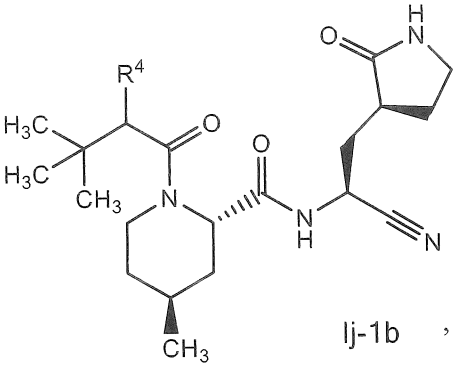
Ii-1b ,



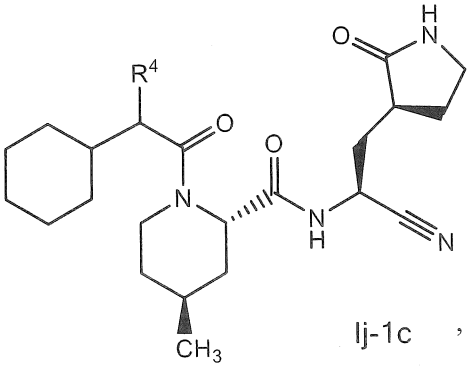
Ii-1c ,



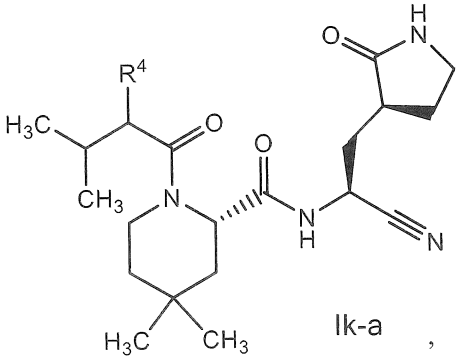
Ij-1a ,



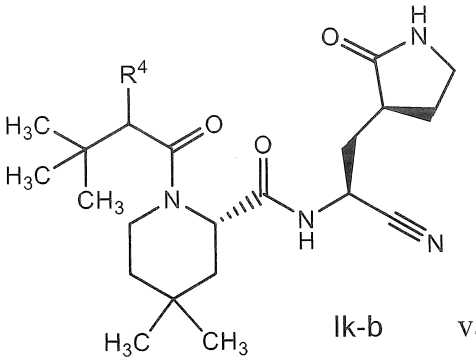
Ij-1b ,



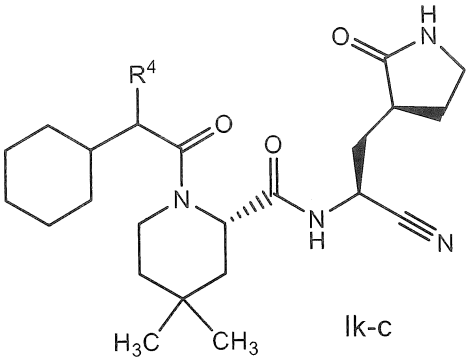
Ij-1c ,



Ik-a ,



Ik-b và



Ik-c ;

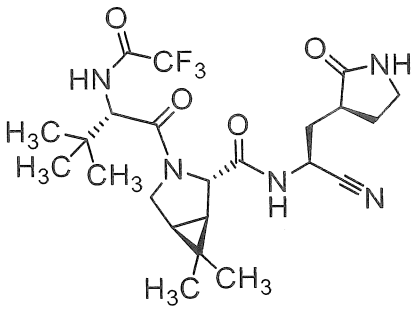
trong đó R^4 được chọn từ nhóm bao gồm (C_1-C_6 alkyl)amino tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, C_1-C_6 alkyl-C(O)NH- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo, và C_1-C_6 alkyl-$S(O)_2NH$- tuỳ ý được thế bằng một đến năm flo;

hoặc solvat hoặc hydrat của chúng, hoặc muối dược dụng của hợp chất, solvat hoặc hydrat này.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^4 được chọn từ nhóm bao gồm $CF_3C(O)NH$-, $CF_3S(O)_2NH$-, $CH_3C(O)NH$-, $CH_3CH_2C(O)NH$- và CF_3CH_2NH-; hoặc solvat hoặc hydrat của chúng, hoặc muối dược dụng của hợp chất, solvat hoặc hydrat này.

3. Hợp chất theo điểm 2, trong đó R^4 là $CF_3C(O)NH$- hoặc $CF_3S(O)_2NH$-; hoặc solvat hoặc hydrat của chúng.

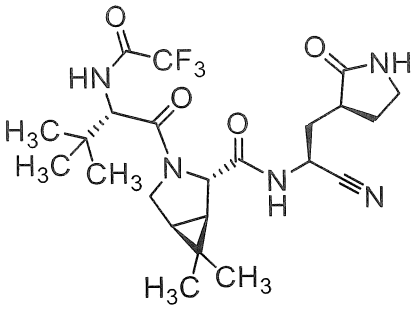
4. Hợp chất theo điểm 1 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit có cấu trúc



;

hoặc solvat hoặc hydrat của nó.

5. Hợp chất theo điểm 4 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit có cấu trúc



.

6. Hợp chất theo điểm 4 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng tinh thể.

7. Hợp chất theo điểm 6 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, Dạng rắn 1, được đặc trưng bởi mẫu bột nhiễu xạ tia X (nguồn bức xạ Cu, trung bình K-α) chứa các đỉnh ở °2-theta +/- 0,2° là 7,6, 9,8, 11,4, 11,9, 12,7, 15,7, 15,8, 17,3, 17,8, 18,3, 18,9, 19,7, 19,9, 20,5, 21,0, 21,7, 22,2, 22,5, 23,1, 23,6, 24,7, 25,3, 27,0, 27,2, 27,9, 28,1, 29,5, 32,6, 35,7 và 37,0.

8. Hợp chất theo điểm 6 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-N-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, Dạng rắn 4, được đặc trưng bởi mẫu bột nhiễu xạ tia X (nguồn bức xạ Cu, trung bình K-

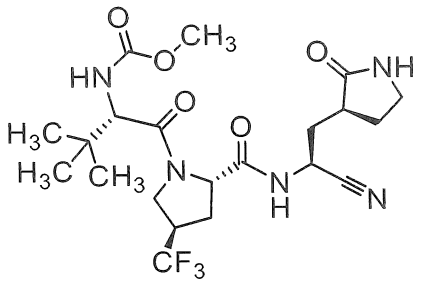
α) chứa các đỉnh ở °2-theta +/- 0,2° là 7,6, 9,8, 10,8, 11,2, 11,4, 11,4, 11,7, 12,0, 12,3, 12,7, 13,7, 14,9, 15,1, 15,9, 17,5, 18,0, 18,2, 18,5, 18,8, 20,0, 20,4, 20,7, 21,1, 21,6, 21,8, 22,3, 23,1, 23,4, 24,2, 24,9, 25,2, 26,1, 27,0, 27,2, 28,1, 28,9, 29,4, 29,5, 29,8, 30,0, 30,6, 30,8, 31,3, 31,8, 32,5, 32,8, 33,2, 34,4, 35,5, 35,6, 36,0, 36,4, 37,1, 38,7, 39,4, 39,5 và 39,8.

9. Hợp chất theo điểm 4 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit dạng vô định hình.

10. Hợp chất theo điểm 4 là (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-6,6-dimetyl-3-[3-metyl-*N*-(trifloaxetyl)-L-valyl]-3-azabixyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamit, metyl *tert*-butyl ete solvat.

11. Hợp chất theo điểm 10 trong đó hợp chất này là tinh thể.

12. Hợp chất *N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit có cấu trúc



;

hoặc solvat hoặc hydrat của nó.

13. Hợp chất theo điểm 12 là *N*-(metoxycarbonyl)-3-metyl-L-valyl-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-xyano-2-[(3*S*)-2-oxopyrolidin-3-yl]etyl}-4-(triflometyl)-L-prolinamit.

14. Dược phẩm bao gồm hợp chất theo điểm 4 hoặc solvat hoặc hydrat của nó cùng với chất mang dược dụng.

15. Dược phẩm bao gồm hợp chất theo điểm 12 hoặc solvat hoặc hydrat của nó cùng với chất mang dược dụng.

FIG. 1

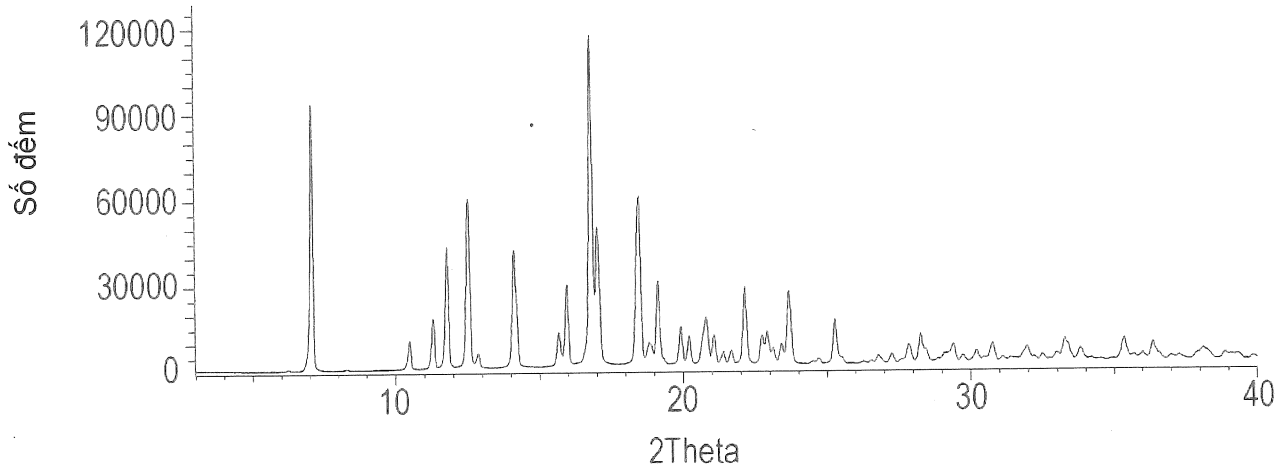


FIG. 2

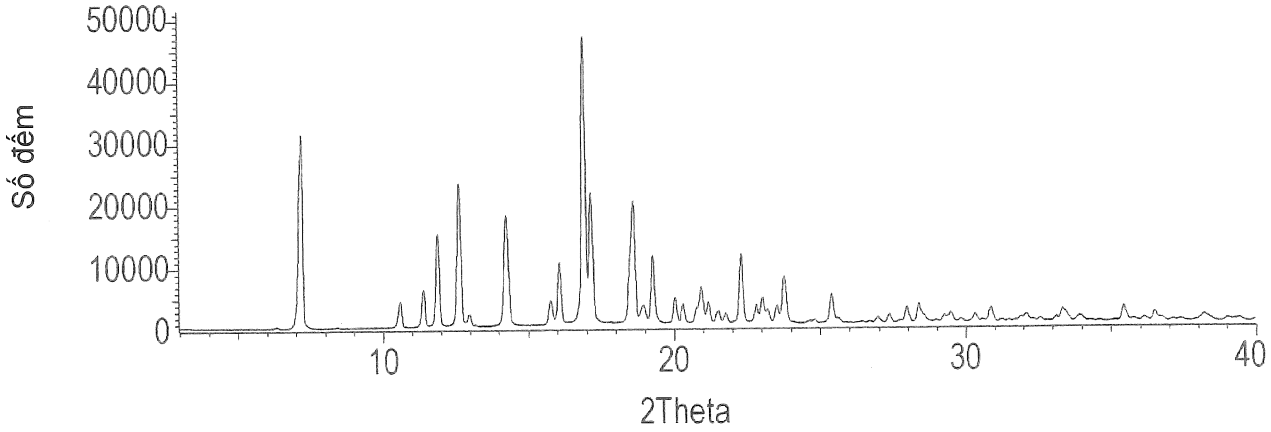


FIG. 3

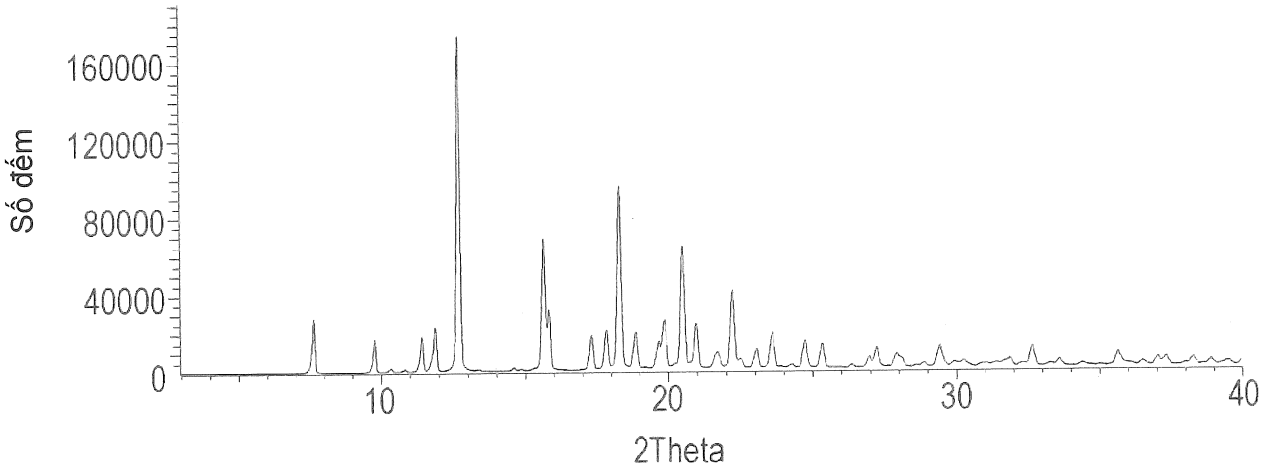


FIG. 4

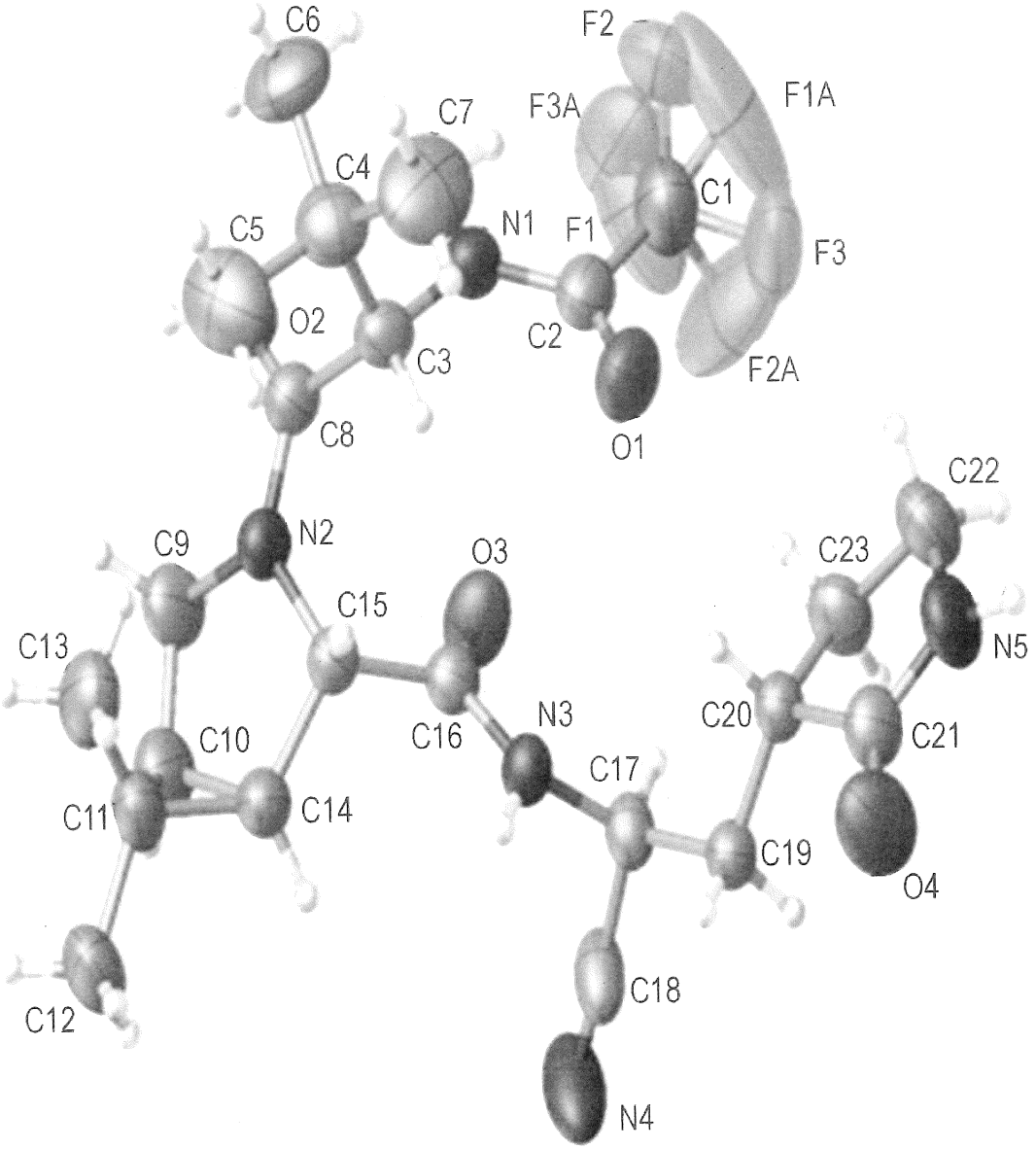

C6
F2
F1A
F3A
C7
C4
C1
N1
F1
F3
C5
O2
C2
C3
F2A
C8
O1
C22
N2
C9
O3
C23
C15
N5
C13
N3
C20
C21
C10
C16
C17
C11
C14
C19
O4
C18
C12
N4

FIG. 5

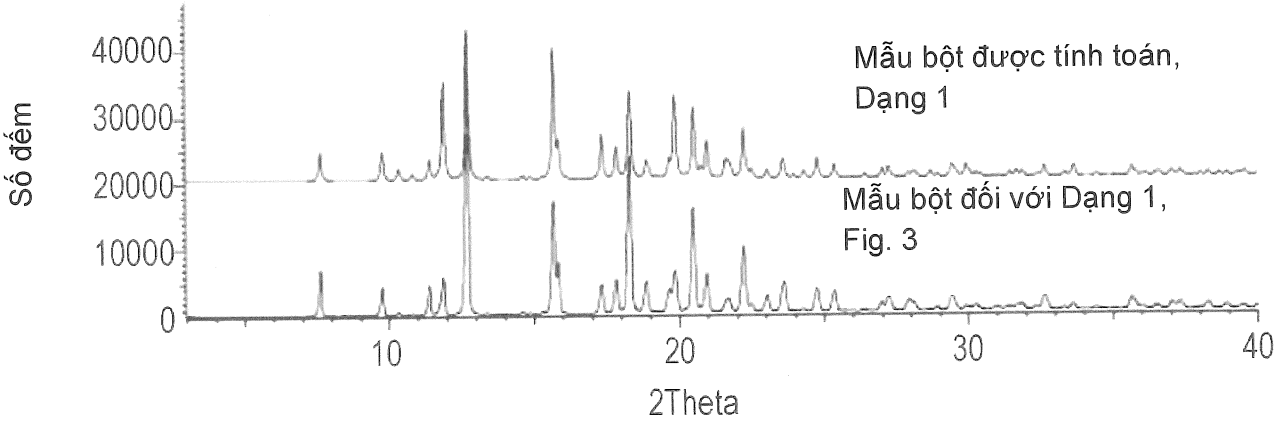

Số đếm
40000
30000
20000
10000
0
10
20
30
40
2Theta
Mẫu bột được tính toán, Dạng 1
Mẫu bột đối với Dạng 1, Fig. 3

FIG. 6

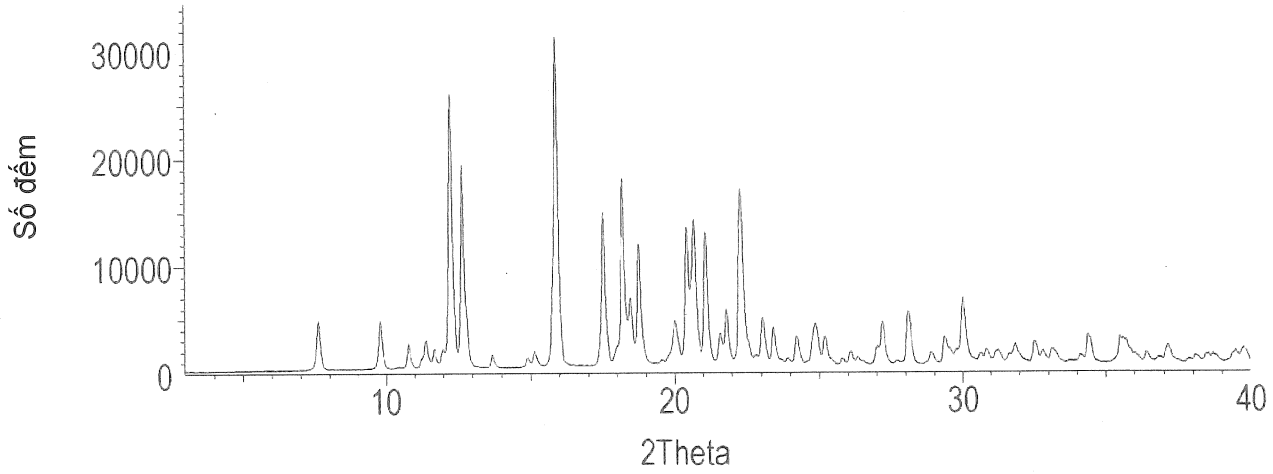


FIG. 7

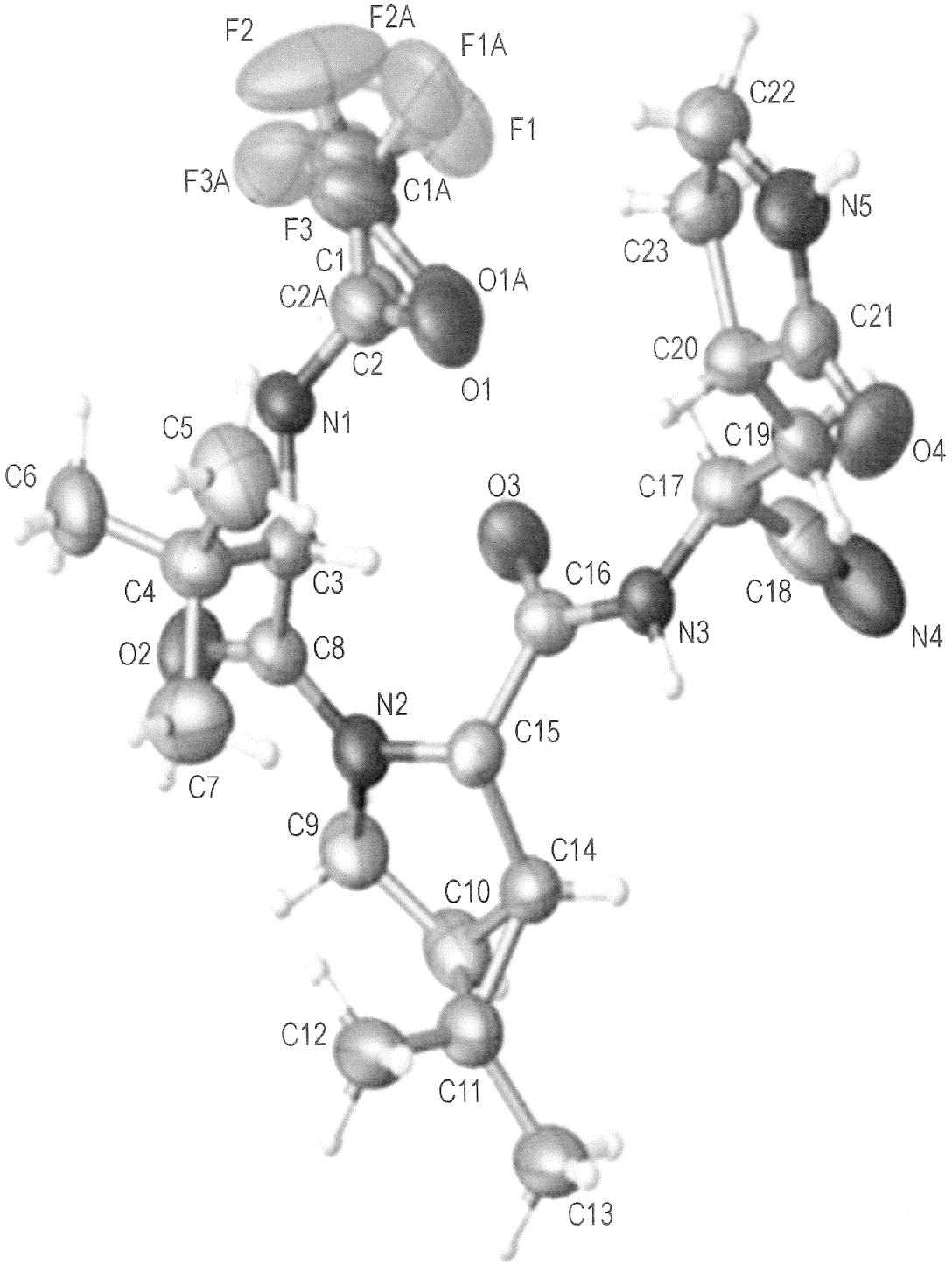

F2
F2A
F1A
F1
F3A
C1A
F3
C1
C2A
O1A
C2
O1
N1
C5
C6
C4
C3
O2
C8
C7
N2
C9
C10
C11
C12
C13
C14
C15
C16
O3
N3
C17
C18
N4
C19
O4
C20
C21
C23
N5
C22

FIG. 8

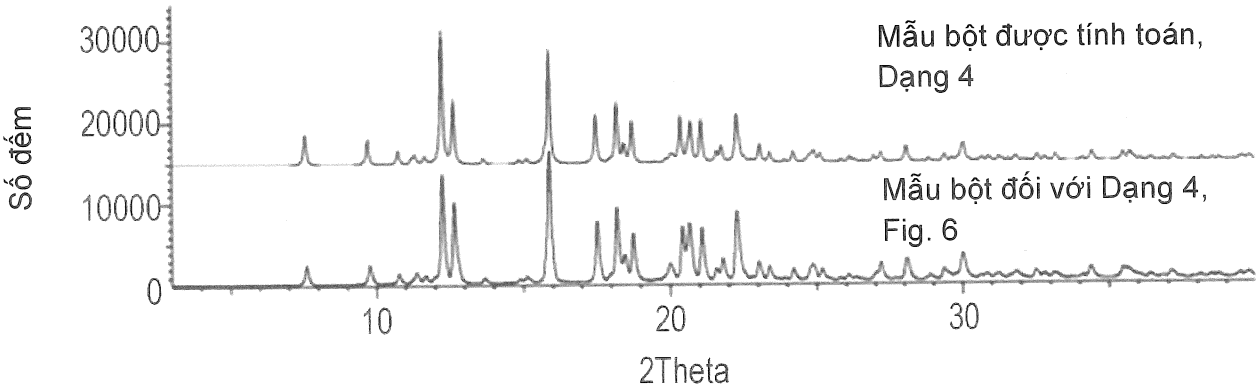

30000
20000
10000
0
Số đếm
10
20
30
2Theta
Mẫu bột được tính toán, Dạng 4
Mẫu bột đối với Dạng 4, Fig. 6

FIG. 9

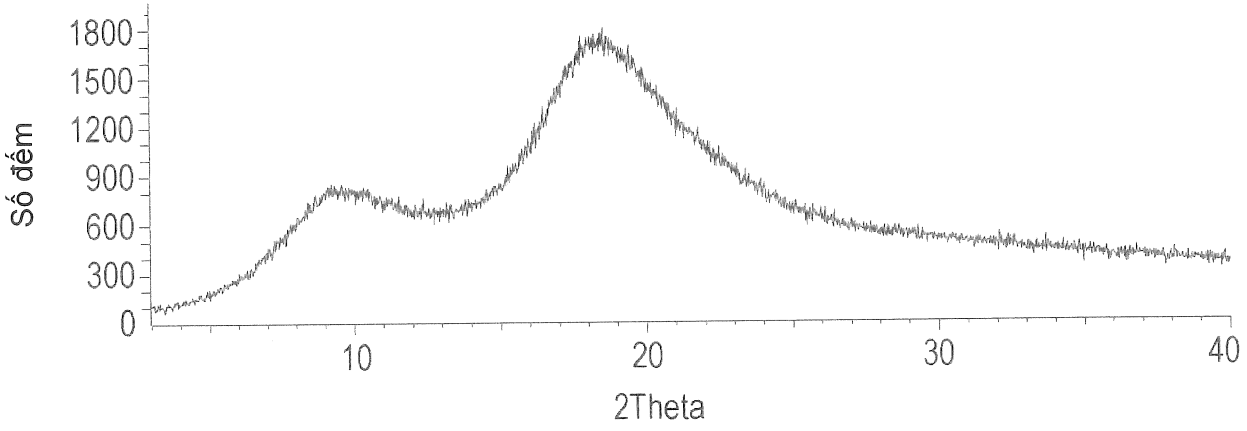


FIG. 10

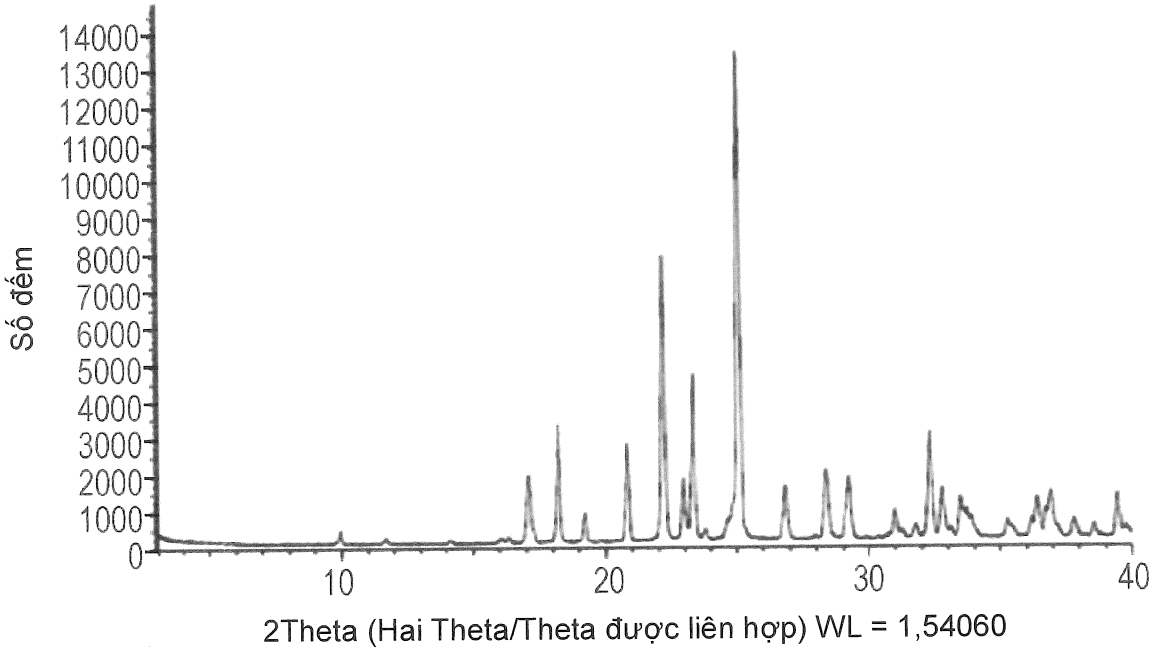

Số đếm
14000
13000
12000
11000
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
10
20
30
40
2Theta (Hai Theta/Theta được liên hợp) WL = 1,54060

FIG. 11

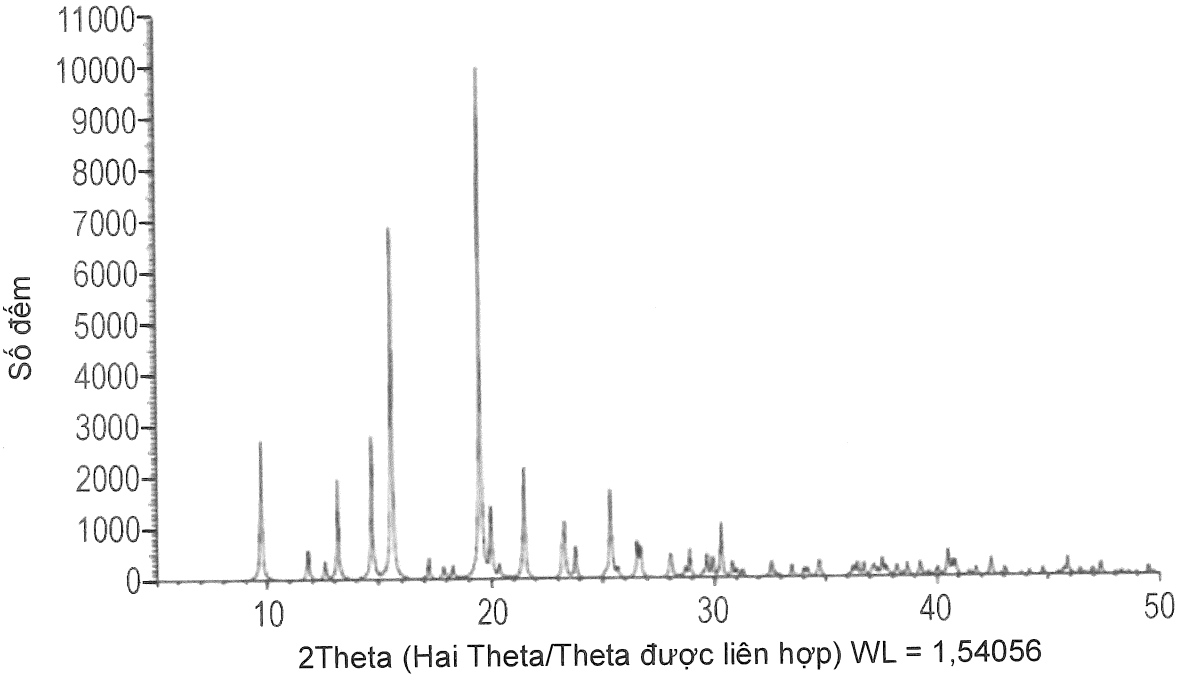

11000
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
Số đếm
10
20
30
40
50
2Theta (Hai Theta/Theta được liên hợp) WL = 1,54056

FIG. 12

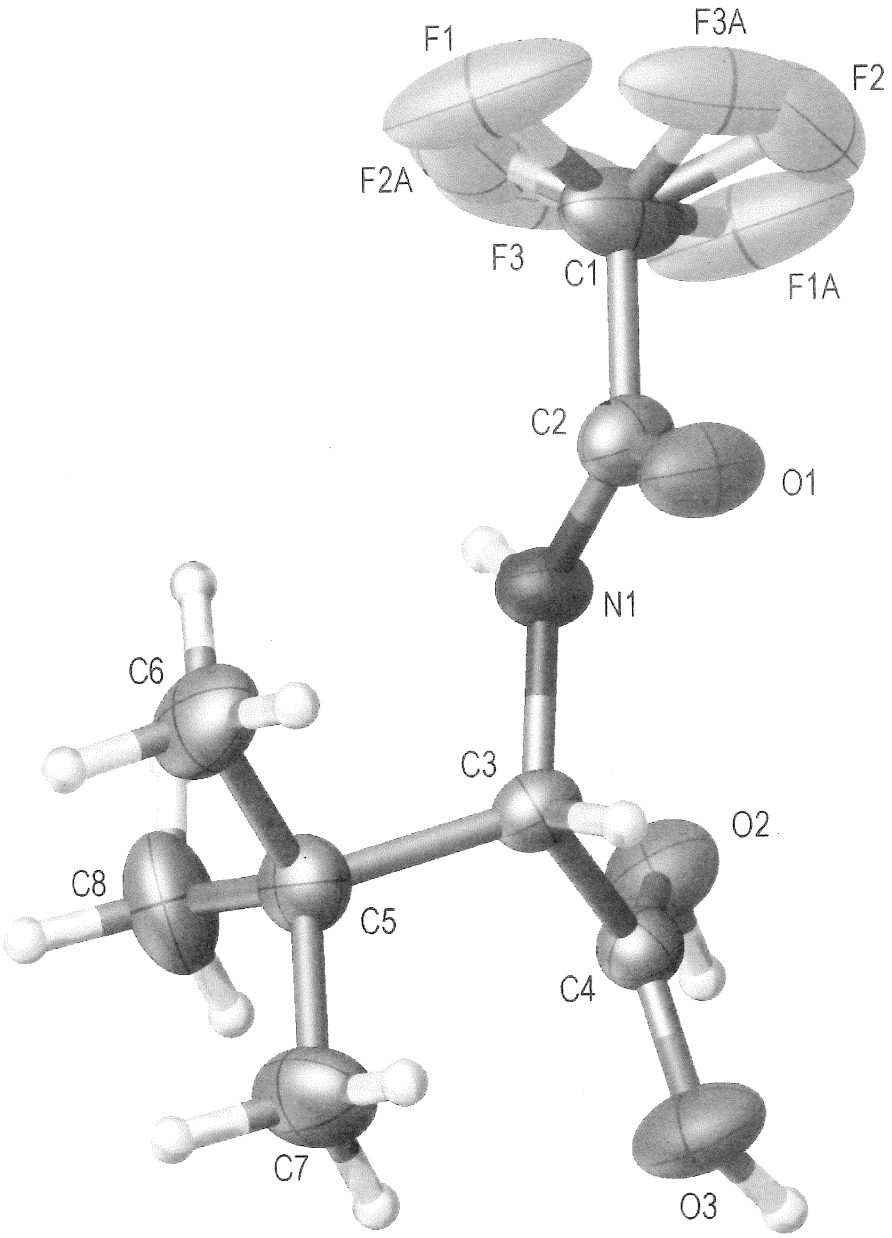


FIG. 13

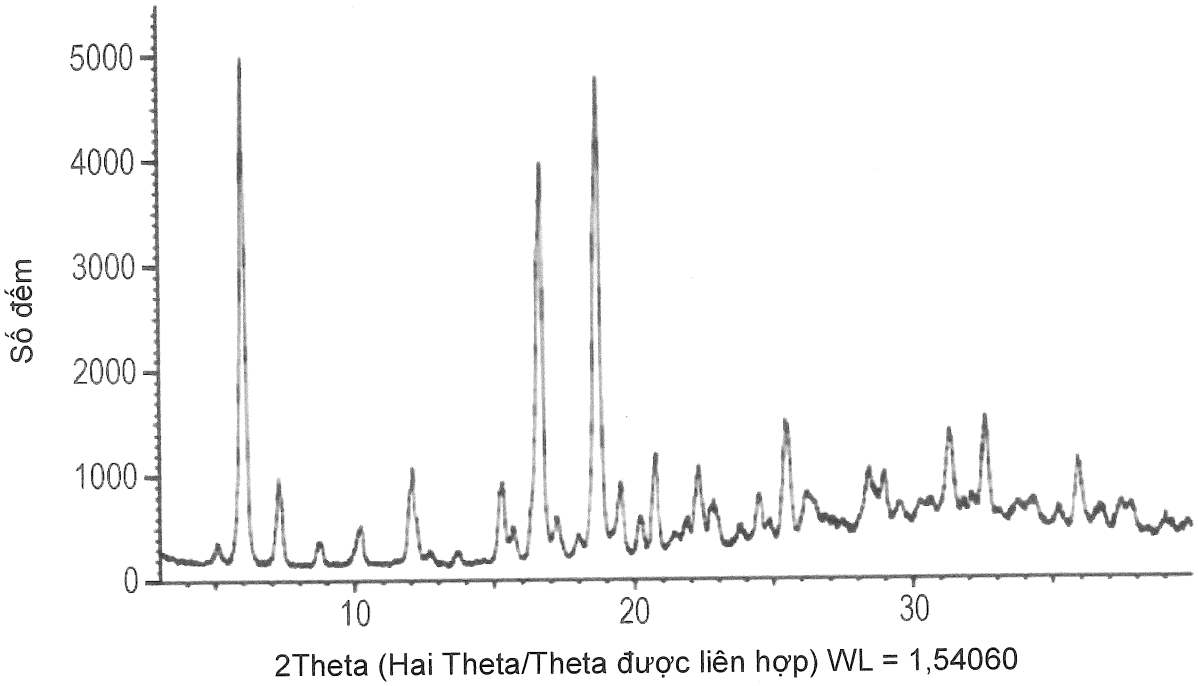
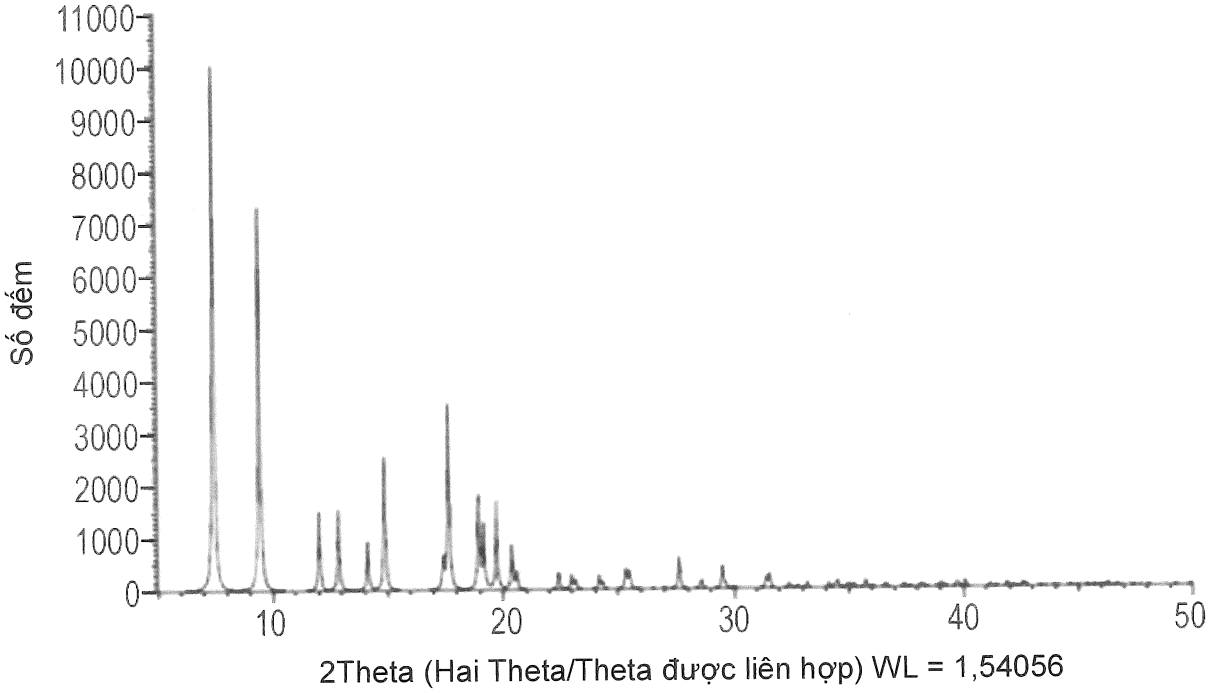
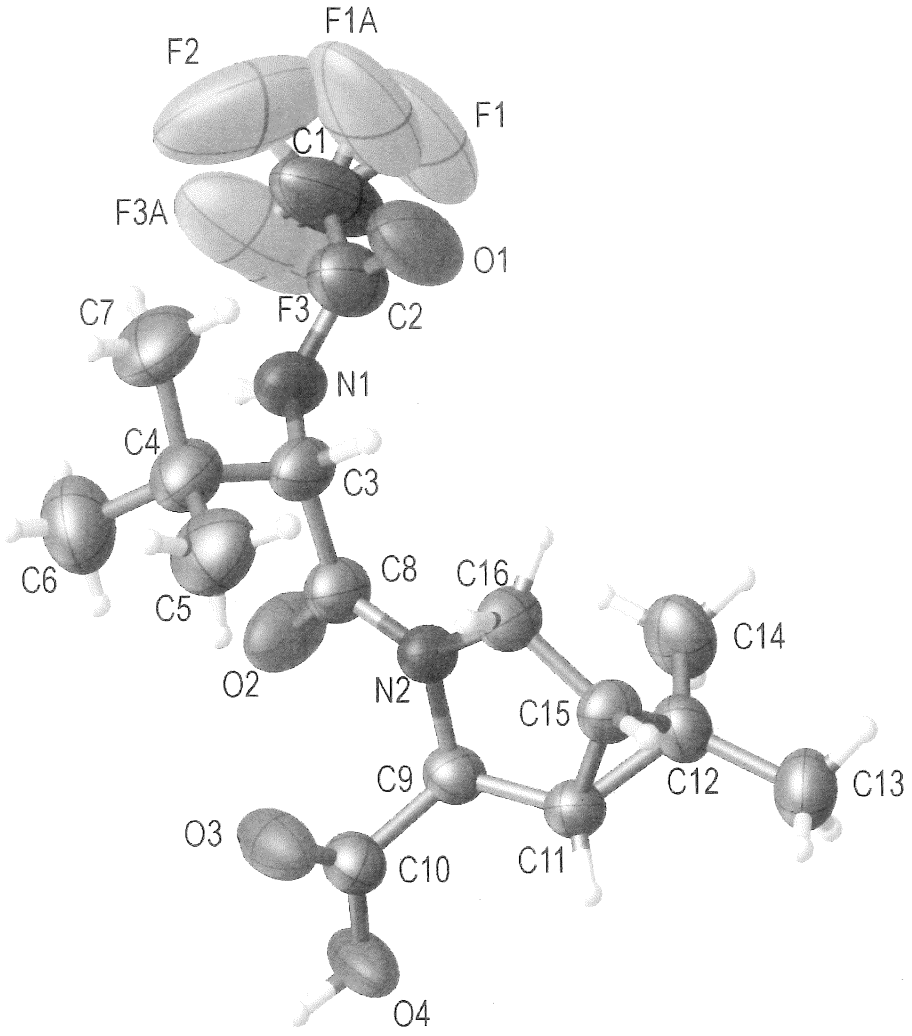

5000
4000
3000
2000
1000
0
Số đếm
10
20
30
2Theta (Hai Theta/Theta được liên hợp) WL = 1,54060

FIG. 14


11000
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
Số đếm
10
20
30
40
50
2Theta (Hai Theta/Theta được liên hợp) WL = 1,54056

15/15

FIG. 15


F1A
F2
F1
C1
F3A
O1
C7
F3
C2
N1
C4
C3
C6
C5
C8
C16
C14
O2
N2
C15
C9
C12
C13
O3
C10
C11
O4

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Pfizer Inc.
Owen, Dafydd
Pettersson, Martin
Reese, Matthew
Sammons, Matthew
Tuttle, Jamison
Yang, Qingyi
Yang, Xiaojing
Verhoest, Patrick

<120> Hợp chất kháng virut chứa nitril và dược phẩm chứa hợp chất này

<130> PC072660A

<150> US 63/073,982
<151> 2020-09-03

<150> US 63/143,435
<151> 2021-01-29

<150> US 63/170,158
<151> 2021-04-02

<150> US 63/194,241
<151> 2021-05-28

<160> 2

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 306
<212> PRT
<213> Loài người

<400> 1

Ser Gly Phe Arg Lys Met Ala Phe Pro Ser Gly Lys Val Glu Gly Cys
1 5 10 15

Met Val Gln Val Thr Cys Gly Thr Thr Thr Leu Asn Gly Leu Trp Leu
20 25 30

Asp Asp Val Val Tyr Cys Pro Arg His Val Ile Cys Thr Ser Glu Asp
35 40 45

Met Leu Asn Pro Asn Tyr Glu Asp Leu Leu Ile Arg Lys Ser Asn His
50 55 60

Asn Phe Leu Val Gln Ala Gly Asn Val Gln Leu Arg Val Ile Gly His
65 70 75 80

Ser Met Gln Asn Cys Val Leu Lys Leu Lys Val Asp Thr Ala Asn Pro
85 90 95

Lys Thr Pro Lys Tyr Lys Phe Val Arg Ile Gln Pro Gly Gln Thr Phe

100 105 110

Ser Val Leu Ala Cys Tyr Asn Gly Ser Pro Ser Gly Val Tyr Gln Cys
115 120 125

Ala Met Arg Pro Asn Phe Thr Ile Lys Gly Ser Phe Leu Asn Gly Ser
130 135 140

Cys Gly Ser Val Gly Phe Asn Ile Asp Tyr Asp Cys Val Ser Phe Cys
145 150 155 160

Tyr Met His His Met Glu Leu Pro Thr Gly Val His Ala Gly Thr Asp
165 170 175

Leu Glu Gly Asn Phe Tyr Gly Pro Phe Val Asp Arg Gln Thr Ala Gln
180 185 190

Ala Ala Gly Thr Asp Thr Thr Ile Thr Val Asn Val Leu Ala Trp Leu
195 200 205

Tyr Ala Ala Val Ile Asn Gly Asp Arg Trp Phe Leu Asn Arg Phe Thr
210 215 220

Thr Thr Leu Asn Asp Phe Asn Leu Val Ala Met Lys Tyr Asn Tyr Glu
225 230 235 240

Pro Leu Thr Gln Asp His Val Asp Ile Leu Gly Pro Leu Ser Ala Gln
245 250 255

Thr Gly Ile Ala Val Leu Asp Met Cys Ala Ser Leu Lys Glu Leu Leu
260 265 270

Gln Asn Gly Met Asn Gly Arg Thr Ile Leu Gly Ser Ala Leu Leu Glu
275 280 285

Asp Glu Phe Thr Pro Phe Asp Val Val Arg Gln Cys Ser Gly Val Thr
290 295 300

Phe Gln
305

<210> 2
<211> 306
<212> PRT
<213> Loài người

<400> 2

Ser Gly Phe Arg Lys Met Ala Phe Pro Ser Gly Lys Val Glu Gly Cys
1 5 10 15

Met Val Gln Val Thr Cys Gly Thr Thr Thr Leu Asn Gly Leu Trp Leu
20 25 30

Asp Asp Val Val Tyr Cys Pro Arg His Val Ile Cys Thr Ser Glu Asp
35 40 45

Met Leu Asn Pro Asn Tyr Glu Asp Leu Leu Ile Arg Lys Ser Asn His
50 55 60

Asn Phe Leu Val Gln Ala Gly Asn Val Gln Leu Arg Val Ile Gly His
65 70 75 80

Ser Met Gln Asn Cys Val Leu Lys Leu Lys Val Asp Thr Ala Asn Pro
85 90 95

Lys Thr Pro Lys Tyr Lys Phe Val Arg Ile Gln Pro Gly Gln Thr Phe
100 105 110

Ser Val Leu Ala Cys Tyr Asn Gly Ser Pro Ser Gly Val Tyr Gln Cys
115 120 125

Ala Met Arg Pro Asn Phe Thr Ile Lys Gly Ser Phe Leu Asn Gly Ser
130 135 140

Cys Gly Ser Val Gly Phe Asn Ile Asp Tyr Asp Cys Val Ser Phe Cys
145 150 155 160

Tyr Met His His Met Glu Leu Pro Thr Gly Val His Ala Gly Thr Asp
165 170 175

Leu Glu Gly Asn Phe Tyr Gly Pro Phe Val Asp Arg Gln Thr Ala Gln
180 185 190

Ala Ala Gly Thr Asp Thr Thr Ile Thr Val Asn Val Leu Ala Trp Leu
195 200 205

Tyr Ala Ala Val Ile Asn Gly Asp Arg Trp Phe Leu Asn Arg Phe Thr
210 215 220

Thr Thr Leu Asn Asp Phe Asn Leu Val Ala Met Lys Tyr Asn Tyr Glu
225 230 235 240

Pro Leu Thr Gln Asp His Val Asp Ile Leu Gly Pro Leu Ser Ala Gln
245 250 255

Thr Gly Ile Ala Val Leu Asp Met Cys Ala Ser Leu Lys Glu Leu Leu
260 265 270

Gln Asn Gly Met Asn Gly Arg Thr Ile Leu Gly Ser Ala Leu Leu Glu
275 280 285

Asp Glu Phe Thr Pro Phe Asp Val Val Arg Gln Cys Ser Gly Val Thr
290 295 300

Phe Gln
305