

Contextul invenției

Invenția se referă la compuși și la compuși pentru utilizare în metode de inhibare a activității de replicare virală, care cuprind punerea în contact a unei proteaze de tip 3C ("3CL") asociată cu SARS-CoV-2 cu o cantitate eficientă terapeutic de un inhibitor de protează 3C asociată cu SARS-CoV-2. Invenția se referă, de asemenea, la compuși pentru utilizare în metodele de tratare a bolii cu coronavirus 2019 ("COVID-19") la un pacient, prin administrarea unei cantități eficiente terapeutic de un inhibitor de protează de tip 3C asociată cu SARS-CoV-2 la un pacient care are nevoie de aceasta. Invenția se referă, în plus, la compuși pentru utilizare în metode de tratare a COVID-19 la un pacient, metoda cuprinzând administrarea unei compoziții farmaceutice care cuprinde o cantitate eficientă terapeutic de inhibitor de protează de tip 3C asociată cu SARS-CoV-2 la un pacient care are nevoie de aceasta.

Un focar la nivel mondial al bolii cu coronavirus 2019 ("COVID-19") a fost asociat cu expunerile care au apărut la sfârșitul anului 2019 în Wuhan, provincia Hubei, China. Până la jumătatea anului 2020, focarul de COVID-19 a evoluat într-o pandemie globală, milioane de oameni fiind confirmați ca infectați și a condus la sute de mii de decese. Agentul cauzal pentru COVID-19 a fost identificat ca un nou coronavirus care a fost denumit virusul corona 2 al sindromului respirator acut sever ("SARS-CoV-2"). Secvența genomului SARS-CoV-2 a fost secvențiată din izolate obținute de la nouă pacienți din Wuhan, China și s-a descoperit că aparține subgenului *Sarbecovirus* din genul *Betacoronavirus*. Lu, R. și colab. The Lancet, 395, 10224, 565-574; online 29 ianuarie 2020. Secvența de SARS-CoV-2 s-a dovedit a avea o omologie de 88% cu două coronavirusuri de tip SARS provenite din lilieci, bat-SL-CoVZC45 și bat-SL-CoVZXC21, care au fost colectate în 2018 în Zhoushan, estul Chinei. S-a constatat, de asemenea, că SARS-CoV-2 are aproximativ 79% omologie cu virusul corona al sindromului respirator acut sever ("SARS-CoV"), agentul cauzator al focarului de SARS în 2002-2003, și aproximativ 50% omologie cu virusul corona al sindromului respirator din Orientul Mijlociu ("MERS-CoV"), agentul cauzal al unui focar viral respirator în 2012, cu originea în Orientul Mijlociu. Pe baza unei analize recente a 103 genomi secvențiați ai SARS-CoV-2 s-a propus ca SARS-CoV-2 poate fi împărțit în două tipuri principale (tipurile L și S), tipul S fiind ancestral și tipul L evoluând din tipul S. Lu, J.; Cui, J. și colab. Despre originea și evoluția continuă a SARS-CoV-2; National Science Review, 7(6), iunie 2020, 1012-1023, <http://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036>. Tipurile S și L pot fi definite clar de doar două SNP-uri strâns legate la pozițiile 8782 (*orf1ab*:T8517C, sinonim) și 28144 (ORF8: C251T, S84L). În cei 103 genomi analizați, aproximativ 70% erau de tip L

și aproximativ 30% erau de tip S. Nu este clar dacă evoluția tipului L de la tipul S a avut loc la oameni sau printr-un intermediar zoonotic, dar se pare că tipul L este mai agresiv decât tipul S, și intervenția umană în încercarea de a limita focarul a schimbat poate abundența relativă a tipurilor L și S la scurt timp după ce a început focarul SARS-CoV-2. Descoperirea subtipurilor propuse S- și L- de SARS-CoV-2 supune atenției posibilitatea ca un individ să poată fi infectat succesiv cu subtipurile individuale, sau să fie infectat cu ambele subtipuri în același timp. Având în vedere această amenințare în evoluție, există o nevoie acută în domeniu de un tratament eficient pentru COVID-19 și de metode de inhibare a replicării coronavirusului SARS-CoV-2.

Dovezile recente arată în mod clar că noul coronavirus SARS-CoV-2, agentul cauzal al COVID-19 (Centrul pentru Controlul Bolilor, CDC) a dobândit capacitatea de transmitere de la om la om, conducând la răspândirea în comunitate a virusului. Secvența domeniului de legare la receptorul proteinei țepușă SARS-CoV-2 ("RBD"), incluzând motivul său de legare la receptor (RBM) care contactează în mod direct receptorul enzimei de transformare a angiotensinei 2, ACE2, este similară cu RBD și RBM de SARS-CoV, sugerând cu tărie că SARS-CoV-2 utilizează ACE2 ca receptor. Wan, Y.; Shang, J.; Graham, R.; Baric, R.S.; Li, F.; Recunoașterea receptorilor de către noul coronavirus de la Wuhan: O analiză bazată pe studii structurale de un deceniu ale coronavirusului SARS; J. Virol. 2020; doi:10.1128/JVI.00127-20. Mai multe reziduuri critice din RBM SARS-CoV-2 (în special Gln⁴⁹³) oferă interacțiuni favorabile cu ACE2 uman, în concordanță cu capacitatea SARS-CoV-2 de a infecta celule umane. Mai multe alte reziduuri critice din RBM SARS-CoV-2 (în special Asn⁵⁰¹) sunt compatibile cu, dar nu sunt ideale pentru legarea ACE2 umană, ceea ce sugerează că SARS-CoV-2 utilizează legarea ACE2 într-o anumită capacitate pentru transmiterea de la om la om.

Funcția de replicare și transcripție a coronavirusului este codificată de așa-numita genă "replicază" (Ziebuhr, J., Snijder, E.J. și Gorbalenya, A.E.; Proteinaze codificate de virus și procesare proteolitică în Nidovirales. J. Gen. Virol. 2000, 81, 853-879; și Fehr, A.R.; Perlman, S.; Coronavirusuri: O privire de ansamblu asupra replicării și patogenezelor lor, Methods Mol. Biol. 2015; 1282: 1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1), care este formată din două poliproteine suprapuse care sunt procesate extensiv de proteaze virale. Regiunea C-proximală este procesată la unsprezece joncțiuni dintre domenii conservate de către proteaza principală sau "de tip 3C" a coronavirusului (Ziebuhr, Snijder, Gorbalenya, 2000 și Fehr, Perlman și colab., 2015). Denumirea de protează "de tip 3C" provine din anumite asemănări între enzima coronavirusului și bine cunoscutele proteaze 3C picornavirus.

Acestea includ preferințele de substrat, utilizarea cisteinei ca nucleofil de situs activ în cataliză și asemănări în pliurile lor polipeptidice generale presupuse. Secvența de protează 3CL SARS-CoV-2 (Nr. de acces YP_009725301.1) s-a dovedit a avea o omologie de 96,08% în comparație cu proteaza 3CL SARS-CoV (Nr. de acces YP_009725301.1) Xu, J.; Zhao, S.; Teng, T.; Abdalla, A.E.; Zhu, W.; Xie, L.; Wang, Y.; Guo, X.; Comparație sistematică a două coronavirusuri umane transmise de la animale la om: SARS-CoV-2 și SARS-CoV; *Viruses* 2020, 12, 244; doi:10.3390/v12020244. Foarte recent, Hilgenfeld și colegii au publicat o structură cu raze X de înaltă rezoluție a proteazei principale a coronavirusului SARS-CoV-2 (3CL) Zhang, L.; Lin, D.; Sun, X.; Rox, K.; Hilgenfeld, R.; Structura de raze X a proteazei principale a noului coronavirus SARS-CoV-2 permite proiectarea inhibitorilor de α -cetoamidă; bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.17.952879>. Structura indică faptul că există diferențe atunci când se compară proteazele 3CL ale SARS-CoV-2 și SARS-CoV. În SARS-CoV, dar nu în dimerul proteazei 3CL SARS-CoV-2, există o interacțiune polară între cele două domenii III care implică o legătură de hidrogen de 2,60 Å între grupările hidroxil ale lanțului lateral ale rezidului Thr²⁸⁵ al fiecărui protomer, și este susținută de un contact hidrofob între lanțul lateral al Ile²⁸⁶ și Thr²⁸⁵ Cy₂. În 3CL SARS-CoV-2, treonina este înlocuită cu alanină, iar izoleucina cu leucină, în comparație cu aceleași reziduuri din 3CL SARS-CoV. Înlocuirea Thr²⁸⁵Ala observată în proteaza 3CL SARS-CoV-2 permite celor două domenii III să se apropie oarecum unul de celălalt (distanța dintre atomii C α ai reziduurilor 285 din moleculele A și B este de 6,77 Å în proteaza 3CL SARS-CoV, și 5,21 Å în proteaza 3CL SARS-CoV-2, și distanța dintre centrele de masă ale celor două domenii III se micșorează de la 33,4 Å până la 32,1 Å). În situsul activ al 3CL SARS-CoV-2, Cys¹⁴⁵ și His⁴¹ formează o diadă catalitică, care, atunci când este luată împreună cu o moleculă de apă îngropată, care este legată cu hidrogen de His⁴¹, poate fi considerată a constitui o triadă catalitică a proteazei 3CL SARS-CoV-2. Având în vedere răspândirea în curs de desfășurare a SARS-CoV-2 care a provocat focarul actual de COVID-19 la nivel mondial, este de dorit să existe noi metode de inhibare a replicării virale SARS-CoV-2 și de tratare a COVID-19 la pacienți.

Publicarea internațională de brevet WO-2005/113580 descrie compuși anti-coronavirali care sunt inhibitori ai proteazei de tip 3C SARS.

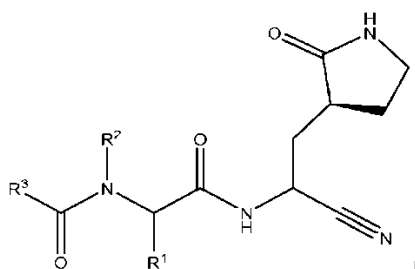
În articolul "Inhibarea replicării enterovirusului 71 de către un derivat de α -hidroxi-nitril NK-1.9k" (*Antiviral Research*, 141, 2017, 91-100), Wang și *colab*, descriu un compus specific despre care se spune că este un tratament potențial pentru boala mână-picior-gură.

Expunerea pe scurt a invenției

Prezenta invenție furnizează noi compuși care acționează pentru inhibarea sau prevenirea replicării virale a SARS-CoV-2 și, prin urmare, sunt utili în tratamentul COVID-19. Prezenta invenție furnizează, de asemenea, compoziții farmaceutice care cuprind compușii și, de asemenea, furnizează compușii pentru utilizare în metode de tratare a COVID-19 și inhibare a replicării virale SARS-CoV-2, prin administrarea compușilor din invenție sau a compozițiilor farmaceutice care cuprind compușii din invenție.

Prezenta invenție furnizează anumiți compuși, selectați dintre un compus 1, așa cum este definit în continuare, care se încadrează în sfera de întindere a

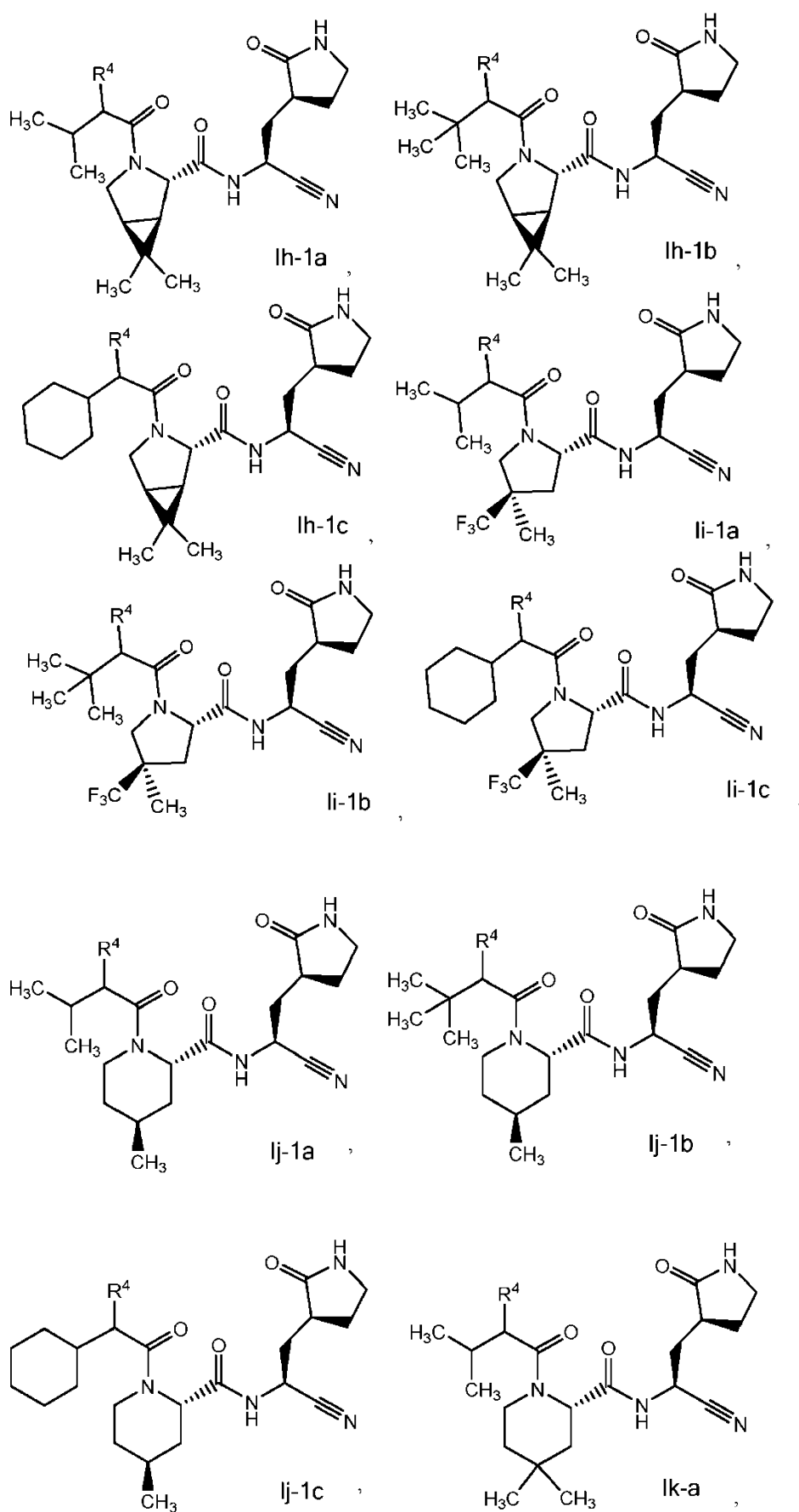
Formula I

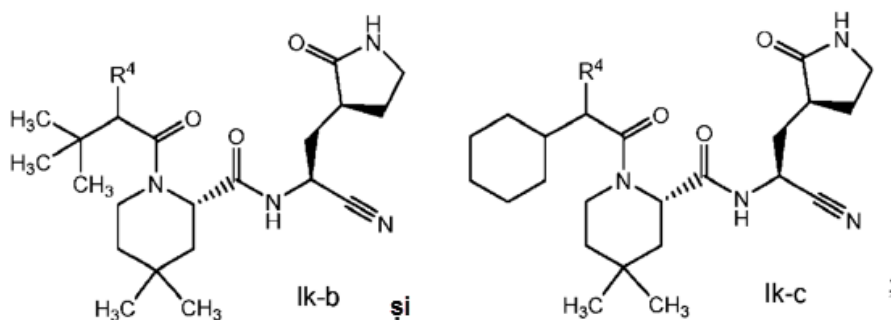


și săruri acceptabile farmaceutic ale acestora; în care R¹ este selectat din grupul constând din C₁-C₆ alchil care este opțional substituit cu un ciano sau cu unu până la cinci fluor; C₂-C₆ alchil; și (C₃-C₆ cicloalchil)-C₁-C₃ alchil care este opțional substituit cu unu până la doi substituenți selectați dintre trifluormetil și C₁-C₃ alchil sau cu unu până la cinci fluor; R² este hidrogen sau R² și R¹ luați împreună cu atomii de azot și de carbon de care sunt atașați sunt un inel pirolidină sau piperidină care este opțional substituit cu unu până la patru R^{2a}; R^{2a}, la fiecare apariție, este selectat, în mod independent, din grupul constând din fluor, C₁-C₆ alchil opțional substituit cu unu până la trei fluor și C₁-C₆ alcoxi opțional substituit cu unu până la trei fluor; sau două grupări R^{2a} atunci când sunt atașate la atomi de carbon adiacenți, și luate împreună cu atomii de carbon de care sunt atașate sunt un C₃-C₆ cicloalchil fuzionat care este opțional substituit cu unu până la patru R^{2b}; sau două grupări R^{2a} atunci când sunt atașate la același carbon și luate împreună cu atomul de carbon de care sunt atașate sunt un C₃-C₆ cicloalchil spiro care este opțional substituit cu unu până la patru R^{2b}; R^{2b}, la fiecare apariție, este selectat, în mod independent, dintre fluor, C₁-C₃ alchil opțional substituit cu unu până la trei fluor, și C₁-C₃ alcoxi opțional substituit cu unu până la trei fluor; R³ este selectat din grupul format din C₁-C₈ alchil, C₁-C₈ alcoxi, (C₁-C₆ alcoxi)-C₁-C₆ alchil, C₂-C₆ alchil, C₂-C₆ alchiniloxi, C₃-C₁₂ cicloalchil opțional fuzionat cu un heteroaril sau fenil cu 5 până la 6 membri, (C₃-C₁₂ cicloalchil)-C₁-C₆ alchil, C₃-C₁₂ cicloalcoxi, (C₃-C₁₂ cicloalcoxi)-C₁-C₆ alchil, heterocicloalchil cu 4 până la 12 membri, care este opțional condensat cu un

heteroaril sau fenil cu 5 până la 6 membri și în care heterocicloalchilul menționat cuprinde unu până la patru heteroatomi selectați, în mod independent, dintre N, O și S(O)_n, (heterocicloalchil cu 4 până la 12 membri)-C₁-C₆ alchil în care fragmentul heterocicloalchil menționat cuprinde unu până la patru heteroatomi selectați, în mod independent, dintre N, O și S(O)_n, C₆-C₁₀ aril opțional fuzionat cu un C₄-C₆ cicloalchil sau cu un heterocicloalchil cu 4 până la 7 membri, (C₆-C₁₀ aril)-C₁-C₆ alchil, heteroaril cu 5 până la 10 membri care cuprinde unu până la cinci heteroatomi selectați în mod independent dintre N, O și S, care este opțional fuzionat cu un C₅-C₆ cicloalchil; (heteroaril cu 5 până la 10 membri)-C₁-C₆ alchil în care fragmentul heteroaril cuprinde unu până la cinci heteroatomi selectați, în mod independent, dintre N, O și S; (C₆-C₁₀ aril)-(heteroaril cu 5 până la 10 membri)- în care fragmentul heteroaril cuprinde unu până la cinci heteroatomi selectați în mod independent dintre N, O și S, (heteroariloxi cu 5 până la 10 membri)-C₁-C₆ alchil în care fragmentul heteroaril cuprinde unu până la cinci heteroatomi selectați, în mod independent, dintre N, O și S; (heteroaril cu 5 până la 6 membri)-(heteroaril cu 5 până la 6 membri)- în care fiecare fragment heteroaril cuprinde unu până la patru heteroatomi selectați în mod independent dintre N, O și S; (heterocicloalchil cu 4 până la 7 membri)-(heteroaril cu 5 până la 6 membri)- în care fragmentul heterocicloalchil cuprinde unu până la trei heteroatomi selectați în mod independent dintre N, O și S(O)_n și fragmentul heteroaril cuprinde unu până la patru heteroatomi selectați, în mod independent, dintre N, O și S; (heteroaril cu 5 până la 6 membri)-(heterocicloalchil cu 4 până la 7 membri)- în care fragmentul heterocicloalchil cuprinde unu până la trei heteroatomi selectați în mod independent dintre N, O și S(O)_n și fragmentul heteroaril cuprinde unu până la patru heteroatomi selectați, în mod independent, dintre N, O și S; în care fiecare grupare R³ este opțional substituită cu unu până la cinci R⁴; R⁴, la fiecare apariție, este selectat, în mod independent, din grupul constând din oxo, halo, hidroxi, ciano, fenil, benzil, amino, (C₁-C₆alchil)amino opțional substituit cu unu până la cinci fluor, di(C₁-C₆ alchil)amino opțional substituit cu unu până la zece fluor, C₁-C₆ alchil opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C₁-C₆ alcoxi opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C₁-C₃ alcoxi-C₁-C₃ alchil opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C₃-C₆ cicloalchil opțional substituit cu unu până la trei fluor sau C₁-C₃ alchil, C₁-C₆ alchil-C(O)NH- opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C₁-C₆ alchil-S(O)₂NH- opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C₁-C₆ alchil-C(O)- opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C₁-C₆ alchilS(O)_n- opțional substituit cu unu până la cinci fluor; și n, la fiecare apariție, este selectat, în mod independent, dintre 0, 1 și 2.

Prezenta invenție furnizează un compus E11 care este un compus selectat din grupul constând din





în care R^4 este selectat din grupul constând din (C_1 - C_6 alchil)amino opțional substituit cu unu până la cinci fluor, C_1 - C_6 alchil- $C(O)NH$ - opțional substituit cu unu până la cinci fluor, și C_1 - C_6 alchil- $S(O)_2NH$ - opțional substituit cu unu până la cinci fluor; sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

E13 este compusul din E11, în care R^4 este selectat din grupul constând din $CF_3C(O)NH$ -, $CF_3S(O)_2NH$ -, $CH_3C(O)NH$ -, $CH_3CH_2C(O)NH$ - și CF_3CH_2NH -; sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

E14 este compusul din E11 sau E13, în care R^4 este $CF_3C(O)NH$ - or $CF_3S(O)_2NH$ -; sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

E29 este un compus din E11 selectat din grupul constând din:

(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(2S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-4,4-dimetil-1-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil-(4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-4-metil-4-(trifluorometil)-L-prolinamidă;

(2S,4S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-4-metil-1-[3-metil-N-[(trifluorometil)sulfonil]-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(2S,4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-4-metil-1-[N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(2S,4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-4-metil-1-[3-metil-N-(metilsulfonil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(2S,4S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-yl]etil]-4-metil-1-[N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(2S,4S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-1-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(2S,4R)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-1-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-3-((2S)-2-ciclohexil-2-[(trifluoroacetil)amino]acetil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[N-(2,2,2-trifluoroetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[N-(3,3,3-trifluoropropanoil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-(N-propanoil-L-valil)-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(2S,4R)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-1-[N-(2,2,2-trifluoroetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-N²-(etoxicarbonil)-L-leucinamidă;

N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-N²-(etoxicarbonil)-4-metil-L-leucinamidă; și

(1R,2S,5S)-3-[N-(terț-butilsulfonil)-3-metil-L-valil]-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

E30 este un compus din E11 selectat din grupul constând din:

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(2S,4S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-1-[N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(2S,4S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-1-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-3-((2S)-2-ciclohexil-2-[(trifluoroacetil)amino]acetil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă;

(2S,4S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-1-{3-metil-N-[(trifluorometil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă;

3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil-(4R)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-4-metil-4-(trifluorometil)-L-prolinamidă; și

(2S)-N-((1S)-1-ciano-2-((3S)-2-oxopiperidin-3-il)etil)-4,4-dimetil-1-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]piperidin-2-carboxamidă;

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

E31 este o compoziție farmaceutică care cuprinde o cantitate eficientă terapeutică dintr-un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E32 este compoziția farmaceutică din E31, în care compoziția este sub forma unei forme de dozare intravenoasă, subcutanată, inhalabilă sau orală.

E33 este compoziția farmaceutică din E31 sau E32, în care compoziția este într-o formă de dozare orală.

E34 este compoziția farmaceutică din oricare dintre E31 până la E33, care cuprinde în plus un agent terapeutic suplimentar.

E35 este compoziția farmaceutică din oricare dintre E31 până la E34, în care compoziția farmaceutică cuprinde, în plus, una sau mai multe dintre dexametazonă, azitromicină și remdesivir.

E36 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic de un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, la un pacient care are nevoie de aceasta.

E37 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E36, în care infecția cu coronavirus este COVID-19.

E38 este o compoziție farmaceutică din oricare dintre E31 până la E35 pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei compoziții farmaceutice din oricare dintre E31 până la E35 la un pacient care are nevoie de aceasta.

E39 este compoziția farmaceutică pentru utilizare într-o metodă din E38, în care infecția cu coronavirus este COVID-19.

E40 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare într-o metodă de inhibare sau prevenire a replicării virale SARS-CoV-2, care cuprinde punerea în contact a proteazei 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 cu o cantitate eficientă terapeutică de un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, de oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30.

E41 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare într-o metodă de inhibare sau prevenire a replicării virale SARS-CoV-2 la un pacient, care cuprinde administrarea la pacientul care are nevoie de inhibarea sau prevenirea replicării virale SARS-CoV-2 a unei cantități eficiente terapeutic de un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia de oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30.

E49 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic de un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29 și E30 sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care este administrat un agent terapeutic suplimentar, și agentul terapeutic suplimentar este selectat din grupul constând din remdesivir, galidesivir, favilavir/avifavir, molnupiravir, AT-527, AT-301, BLD-2660, favipiravir, camostat, SLV213, emtricitabină/tenofivir, clevudină, dalcetrapib, boceprevir, ABX464, dexametazonă, hidrocortizon, plasmă convalescentă, 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), heparină, apixaban, tocilizumab (Actemra), sarilumab (Kevzara), apilimoddimesilat, DNL758, DC402234, PB1046, dapagliflozin, abivertinib, ATR-002, bemcentinib, acalabrutinib, baricitinib, tofacitinib, losmapimod, famotidină, ritonavir, niclosamidă și diminazenă.

E50 este compusul (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă; sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

E50a este compusul (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă.

E51 este o compoziție farmaceutică care cuprinde o cantitate eficientă terapeutic de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă; sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E51a este o compoziție farmaceutică care cuprinde o cantitate eficientă terapeutic de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-

(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E52 este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia, pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia pentru un pacient care are nevoie de tratament.

E52a este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă la un pacient care are nevoie de tratament.

E53 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E52, în care infecția cu coronavirus este COVID-19.

E53a este compusul pentru utilizare într-o metodă din E52a, în care infecția cu coronavirus este COVID-19.

E54 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E52 sau E53, în care este administrată oral (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

E54a este compusul pentru utilizare într-o metodă din E52a sau E53a, în care este administrată oral (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă.

E55 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E54, în care sunt administrate în fiecare zi 50 mg până la 1500 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

E55a este compusul pentru utilizare într-o metodă din E54a, în care sunt administrate în fiecare zi 50 mg până la 1500 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă.

E56 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E55, în care sunt administrate de trei ori pe zi 380 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

E56a este compusul pentru utilizare într-o metodă din E55a, în care sunt administrate de trei ori pe zi 380 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia.

E57 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E55, în care sunt administrate în fiecare zi 50 mg până la 1500 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia sub formă de suspensie orală, capsulă sau tabletă.

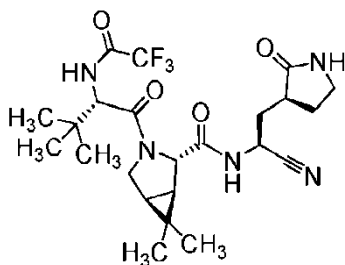
E57a este compusul pentru utilizare într-o metodă din E55a, în care sunt administrate în fiecare zi 50 mg până la 1500 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau o sare acceptabilă farmaceutic a acesteia sub formă de suspensie orală, capsulă sau tabletă.

E58 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E57, în care este administrată o tabletă.

E58a este compusul pentru utilizare într-o metodă din E57a, în care este administrată o tabletă.

E60 este compusul (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă; sau un solvat sau hidrat al acestuia, sau o sare acceptabilă farmaceutic a compusului, solvatului sau hidratului menționat.

E61 este compusul (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă care are structura



sau un solvat sau hidrat al acestuia.

E62 este compusul din E61, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă cristalină.

E63 este compusul din E62, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă cristalină, Forma solidă 1.

E64 este compusul din E62, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă cristalină, Forma solidă 4.

E65 este compusul din E61, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă amorfă.

E66 este compusul din E61, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, solvat metil *terț*-butil.

E67 este compusul din E66, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă cristalină, solvat metil *terț*-butil.

E68 este compusul din E67, care este (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă cristalină, solvat metil *terț*-butil, Forma solidă 2.

E69 este un compus conform oricăreia dintre E61 până la E68 pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic de un compus conform oricăreia dintre E61 până la E68 la un pacient care are nevoie de tratarea acesteia.

E70 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E69, în care infecția cu coronavirus este COVID-19.

E71 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E70, în care pacientului îi este administrat, de asemenea, ritonavir.

E72 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E71, în care compusul de oricare dintre E61 până la E68 și ritonavir sunt administrate pacientului pe cale orală.

E73 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E72, în care sunt administrate aproximativ 10 mg până la aproximativ 1500 mg pe zi de compus din oricare dintre E61 până la E68, și aproximativ 10 mg până la aproximativ 1000 mg pe zi de ritonavir.

E74 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E73 în care aproximativ 50 mg de compus din oricare dintre E61 până la E68 și aproximativ 100 mg de ritonavir sunt fiecare administrate pacientului de două ori pe zi.

E75 este o compoziție farmaceutică care cuprinde o cantitate eficientă terapeutic de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă; sau un solvat sau hidrat al acestuia, sau o sare acceptabilă farmaceutic a compusului, solvatului sau hidratului menționat, împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E75a este o compoziție farmaceutică care cuprinde o cantitate eficientă terapeutic de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă; sau un solvat sau hidrat al acestuia, împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E76 este compoziția farmaceutică din E75a, care cuprinde compusul conform oricăreia dintre E62 până la E68.

E77 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E69 sau E70, în care sunt administrate oral pacientului de două ori pe zi aproximativ 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 sau 750 mg de compus conform oricăreia dintre E61 până la E68.

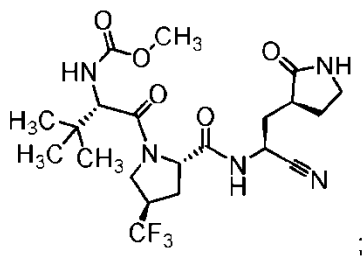
E78 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E77, în care pacientului îi este administrat concomitent ritonavir de două ori pe zi.

E79 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E78 în care aproximativ 300 mg de compus conform oricăreia dintre E61 până la E68 și aproximativ 100 mg de ritonavir sunt co-administrate pacientului de două ori pe zi.

E80 este compusul din E63 care este caracterizat printr-un vârf ^{19}F cu o deplasare chimică la $-73,3 \pm 0,1$ ppm, și prin vârfuri ^{13}C cu deplasări chimice la $31,0 \pm 0,1$ ppm, $27,9 \pm 0,1$ ppm și $178,9 \pm 0,2$ ppm.

E81 este compusul din E64 care este caracterizat prin unu sau mai multe vârfuri selectate din grupul constând dintr-un vârf ^{19}F cu deplasare chimică la $-73,6 \pm 0,1$ ppm și vârfuri ^{13}C la $26,9 \pm 0,1$ ppm, $21,6 \pm 0,1$ ppm și $41,5 \pm 0,1$ ppm.

E82 este compusul *N*-(Metoxicarbonil)-3-metil-*L*-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-*L*-prolinamidă care are structura



sau un solvat sau hidrat al acestuia.

E83 este compusul din E82 care este *N*-(Metoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă.

E84 este un produs farmaceutic care cuprinde o cantitate eficientă terapeutic de *N*-(Metoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă; sau un solvat sau hidrat al acestuia, împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E85 este un compus din E82 sau E83 pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei infecții cu coronavirus a unui pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic a unui compus de E82 sau E83 la un pacient care are nevoie de tratamentul acesteia.

E86 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E85, în care infecția cu coronavirus este COVID-19.

E87 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E85 sau E86, în care sunt administrate 10 mg până la 1500 mg pe zi de compusul E82 sau E83.

E88 este compusul pentru utilizare într-o metodă din oricare dintre E85 până la E87, în care compusul este administrat oral.

E89 este compusul pentru utilizare într-o metodă din E88, în care sunt administrate de două ori pe zi 200 mg de compus.

E91 este un compus inhibitor de protează SARS-CoV-2 din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83, pentru utilizare într-o metodă de identificare a căilor celulare sau virale care interferează cu funcționarea membrilor, care ar putea fi utilizate pentru tratarea indicațiilor cauzate de infecțiile cu SARS-CoV-2 prin administrarea unui compus inhibitor de protează SARS-CoV-2 din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83.

E92 este o metodă de utilizare a unui compus inhibitor de protează SARS-CoV-2 din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83 ca instrumente pentru înțelegerea mecanismului de acțiune al altor inhibitori de SARS -CoV-2.

E93 este o metodă de utilizare a unui compus inhibitor de protează de tip 3C SARS-CoV-2 din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83, pentru realizarea experimentelor de profilare genică pentru monitorizarea reglării în sens crescător sau descrescător a genelor în scopul identificării inhibitorilor pentru tratarea indicațiilor cauzate de infecțiile cu SARS-CoV-2, cum ar fi COVID-19.

E94 este o compoziție farmaceutică pentru tratamentul COVID-19 la un mamifer, care conține o cantitate de compus inhibitor de protează de tip 3C SARS-CoV-2 din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83, care este eficientă pentru tratarea COVID-19, împreună cu un purtător acceptabil farmaceutic.

E95 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83, pentru utilizare într-o metodă de tratare a MERS la un pacient, metoda cuprinzând administrarea unei cantități eficiente terapeutic de un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83 la un pacient care are nevoie de aceasta.

E96 este o compoziție farmaceutică din oricare dintre E31 până la E35, E51, E51a, E75, E75a, E84 și E94 pentru utilizare într-o metodă de tratare a MERS la un pacient, metoda cuprinzând administrarea unei compoziții farmaceutice din oricare dintre E31 până la E35, E51, E51a, E75, E75a, E84 și E94 la un pacient care are nevoie de aceasta.

E97 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83 pentru utilizare într-o metodă de inhibare sau prevenire a replicării virale MERS, care cuprinde punerea în contact a proteazei 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 cu o cantitate eficientă terapeutic de un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83.

E98 este un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83 pentru utilizare într-o metodă de inhibare sau prevenire a replicării virale MERS la un pacient, care cuprinde administrarea la pacient, care are nevoie de inhibare sau prevenire a replicării virale MERS, a unei cantități eficiente terapeutic de un compus din oricare dintre E11, E13, E14, E29, E30, E50, E50a, E60 până la E68 și E80 până la E83.

E102 este un compus din oricare dintre variantele de realizare E1, E13, E14, E29 și E30, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare ca un medicament.

Scurtă descriere a desenelor

Figura 1: Modelul de difracție de raze X în pulbere din 13, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2, din Sinteza Alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat; Generarea formei solide 2

Figura 2: Modelul de difracție de raze X în pulbere din 13, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2, din a doua sinteză alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat; Generarea formei solide 2

Figura 3: Model de difracție de raze X în pulbere din Exemplul 13, Forma solidă 1, din recristalizarea din Exemplul 13; Generarea formei solide 1

Figura 4: Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 1. Diagrama ORTEP desenată cu parametrii de deplasare la probabilitate de 50%

Figura 5: Suprapunerea modelului în pulbere obținut pentru Exemplul 13, Forma Solidă 1, din Recristalizarea din Exemplul 13; Generarea formei solide 1 (Figura 3) și a modelului în pulbere calculat, generat cu software-ul Mercury, din datele de raze X determinate pentru monocristalul Formei 1 (vezi Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 1) .

Figura 6: Model de difracție de raze X în pulbere din Exemplul 13, Forma solidă 4, din recristalizarea alternativă din Exemplul 13; Generarea formei solide 4

Figura 7: Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 4. Diagrama ORTEP desenată cu parametrii de deplasare la probabilitate de 50%

Figura 8: Suprapunerea modelului în pulbere obținut pentru Exemplul 13, Forma Solidă 4, din Recristalizarea Alternativă din Exemplul 13; Generarea formei solide 4 (Figura 6) și a modelului în pulbere calculat, generat cu software-ul Mercury, din datele de raze X determinate pentru monocristalul Formei 4 (vezi Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 4) .

Figura 9: Model de difracție de raze X în pulbere din Exemplul 13, Forma solidă 5, din Exemplul 96.

Figura 10: Modelul de difracție de raze X în pulbere al intermediarului C16, sare HCl.

Figura 11: Modelul de difracție de raze X în pulbere al intermediarului C91.

Figura 12: Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din intermediarul C91. Diagrama ORTEP desenată cu parametrii de deplasare la probabilitate de 50%.

Figura 13: Model de difracție de raze X în pulbere pentru intermediarul C92.

Figura 14: Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru intermediarul C42.

Figura 15: Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din intermediarul C42. Diagrama ORTEP desenată cu parametrii de deplasare la probabilitate de 50%.

Descriere detaliată a invenției

Referințele la metode de tratament din paragrafele ulterioare ale acestei descrieri trebuie interpretate ca referiri la compușii, compozițiile farmaceutice și medicamentele din prezenta invenție pentru utilizare într-o metodă de tratare a corpului uman (sau animal) prin terapie (sau pentru diagnosticare). În scopul prezentei invenții, așa cum este descris și revendicat aici, următorii termeni sunt definiți după cum urmează:

Așa cum sunt utilizați aici, termenii "care cuprinde" și "incluzând" sunt utilizați în sensul lor deschis, nelimitator. Termenul "tratare", așa cum este utilizat aici, cu excepția cazului în care se indică altfel, înseamnă inversarea, atenuarea, inhibarea progresului sau prevenirea tulburării sau afecțiunii, sau a unuia sau mai multor simptome ale unei astfel de tulburări sau afecțiuni, la care se aplică un astfel de termen. În metodele de tratare a COVID-19 este de înțeles că COVID-19 este boala cauzată la pacienți de infecția cu virusul SARS-CoV-2. Virusul SARS-CoV-2 trebuie înțeles că include tulpina virusului descoperită inițial, precum și tulpinile mutante care apar, cum ar fi, dar fără limitare la, tulpini, cum ar fi B.1.1.7 (varianta din UK), B.1.351 (varianta din Africa de Sud), P.1 (varianta braziliană) și B.1.427/B.1.429 (variantele din California). Termenul "tratament", așa cum este utilizat aici, cu excepția cazului în care se indică altfel, se referă la actul de a trata, așa cum este definit imediat mai sus "tratare".

Termenul "pacient" se referă la animale cu sânge cald, cum ar fi, de exemplu, porci de guinea, șoareci, șobolani, gerbili, pisici, iepuri, câini, vite, capre, oi, cai, maimuțe, cimpanzei și oameni. În ceea ce privește tratamentul COVID-19, metodele din invenție sunt deosebit de utile pentru tratamentul unui pacient uman.

Termenul "acceptabil farmaceutic" înseamnă că substanța sau compoziția trebuie să fie compatibilă din punct de vedere chimic și/sau toxicologic cu celelalte ingrediente pe care le cuprinde o formulare, și/sau cu mamiferul care este tratat cu aceasta.

Termenul "cantitate eficientă terapeutic" înseamnă o cantitate de un compus din prezenta invenție care (i) tratează sau previne boala, afecțiunea sau tulburarea particulară, (ii) atenuază, ameliorează sau elimină unu sau mai multe simptome ale bolii, afecțiunii sau tulburării particulare, sau (iii) previne sau întârzie debutul unuia sau mai multor simptome ale bolii, afecțiunii sau tulburării particulare descrise aici.

Termenul "alchil", așa cum este utilizat aici, se referă la un substituent hidrocarbil saturat cu catenă liniară sau ramificată (adică un substituent obținut dintr-o hidrocarbură prin îndepărtarea unui hidrogen); care conține, într-o variantă de realizare, de la unu până la opt atomi de carbon, în alta de la unu până la șase atomi de carbon, și în încă o alta, unu până

la trei atomi de carbon. Exemple nelimitative de astfel de substituenți includ metil, etil, propil (incluzând *n*-propil și izopropil), butil (incluzând *n*-butil, izobutil, *sec*-butil și *terț*-butil), pentil, izoamil, hexil, heptil, octil și altele asemenea. Într-o altă variantă de realizare, conține unu până la trei atomi de carbon și consă din metil, etil, *n*-propil și izopropil.

Termenul "alchinil", așa cum este utilizat aici, se referă la un substituent hidrocarbil saturat liniar sau ramificat care conține o legătură triplă carbon-carbon (adică, un substituent obținut dintr-o hidrocarbură, care conține o legătură triplă, prin îndepărtarea unui hidrogen); care conține, într-o variantă de realizare, de la doi până la șase atomi de carbon. Exemple nelimitative de astfel de substituenți includ prop-2-in-1-il, but-3-in-1-il, pent-4-in-1-il și hex-5-in-1-il.

Termenul "alcoxi" se referă la un substituent hidrocarbil saturat liniar sau ramificat atașat la un radical oxigen (adică, un substituent obținut dintr-un alcool hidrocarburic prin îndepărtarea hidrogenului din OH); care conține, într-o variantă de realizare, de la unu până la șase atomi de carbon. Exemple nelimitative de astfel de substituenți includ metoxi, etoxi, propoxi (incluzând *n*-propoxi și izopropoxi), butoxi (incluzând *n*-butoxi, izobutoxi, *sec*-butoxi și *terț*-butoxi), pentoxi, hexoxi, și altele asemenea. Într-o altă variantă de realizare au unu până la trei atomi de carbon și constau din metoxi, etoxi, *n*-propoxi și izopropoxi. O grupare alcoxi care este atașată la o grupare alchil este denumită alcoxialchil. Un exemplu de grupare alcoxialchil este metoximetil.

Termenul "alchiniloxi" se referă la un substituent hidrocarbil saturat liniar sau ramificat care conține o legătură triplă carbon-carbon atașată la un radical oxigen (adică un substituent obținut dintr-un alcool hidrocarburic, care conține o legătură triplă, prin îndepărtarea hidrogenului din OH); care conține, într-o variantă de realizare, de la trei până la șase atomi de carbon. Exemple nelimitative de astfel de substituenți includ propiniloxi, butiniloxi și pentiniloxi, și alții asemenea.

În unele cazuri, numărul de atomi de carbon dintr-un substituent hidrocarbil (adică alchil, cicloalchil etc.) este indicat prin prefixul "C_x-C_y-" sau "C_x-y", în care x este minimul și y este numărul maxim de atomi de carbon din substituent. Astfel, de exemplu, "C₁-C₈ alchil" sau "C₁₋₈ alchil" se referă la un substituent alchil care conține de la 1 până la 8 atomi de carbon, "C₁-C₆ alchil" sau "C₁₋₆ alchil" se referă la un substituent alchil care conține de la 1 până la 6 atomi de carbon, "C₁-C₃ alchil" sau "C₁₋₃ alchil" se referă la un substituent alchil care conține de la 1 până la 3 atomi de carbon. Ilustrând în continuare, C₃-C₆ cicloalchil sau C₃₋₆-cicloalchil se referă la o grupare cicloalchil saturată care conține de la 3 până la 6 atomi de carbon în inel.

Termenul "cicloalchil" se referă la un substituent carbociclic obținut prin îndepărtarea unui hidrogen dintr-o moleculă carbociclică saturată, de exemplu, una care are trei până la șapte atomi de carbon. Termenul "cicloalchil" include carbocicluri saturate monociclice. Termenul "C₃-C₇ cicloalchil" înseamnă un radical dintr-un sistem inelar cu trei până la șapte membri, care include grupările ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil și cicloheptil. Termenul "C₃-C₆ cicloalchil" înseamnă un radical dintr-un sistem inelar cu trei până la șase membri, care include grupările ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil și ciclohexil. Grupările cicloalchil pot fi, de asemenea, carbocicluri biciclice sau spirociclice. De exemplu, termenul "C₃-C₁₂ cicloalchil" include carbocicluri monociclice și fragmente cicloalchil biciclice și spirociclice, cum ar fi biciclopentil, biciclohexil, bicicloheptil, biciclooctil, biciclononil, spiropentil, spirohexil, spiroheptil, spirooctil și spirononil.

Termenul "C₃-C₆ cicloalcoxi" se referă la o grupare cicloalchil cu trei până la șase membri atașată la un radical oxigen. Exemple includ ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxi și ciclohexoxi.

Termenul "aril" se referă la un sistem aromatic carbociclic. Termenul "C₆-C₁₀ aril" se referă la sisteme aromatice carbociclice cu 3 până la 10 membri, și include fenil și naftil.

În unele cazuri, numărul de atomi dintr-un substituent ciclic, care conține unu sau mai mulți heteroatomi (adică heteroaril sau heterocicloalchil), este indicat prin prefixul "x- până la y-membri", în care x este minimul și y este numărul maxim de atomi care formează fragmentul ciclic al substituentului. Astfel, de exemplu, "heterocicloalchil cu 4 până la 6 membri" se referă la un heterocicloalchil care conține de la 4 până la 6 atomi, incluzând unu până la trei heteroatomi, în fragmentul ciclic al heterocicloalchilului. De asemenea, expresia "heteroaril cu 5 până la 6 membri" se referă la un heteroaril care conține de la 5 până la 6 atomi, și "heteroaril cu 5 până la 10 membri" se referă la un heteroaril care conține de la 5 până la 10 atomi, fiecare incluzând unu sau mai mulți heteroatomi, în fragmentul ciclic al heteroarilului. Mai mult, expresiile "heteroaril cu 5 membri" și "heteroaril cu 6 membri" se referă la un sistem inelar heteroaromatic cu cinci membri și, respectiv, un sistem inelar heteroaromatic cu șase membri. Heteroatomii prezenți în aceste sisteme inelare sunt selectați dintre N, O și S.

Termenul "hidroxi" sau "hidroxil" se referă la -OH. Atunci când este utilizat în combinație cu alt termen(i), prefixul "hidroxi" indică faptul că substituentul la care este atașat prefixul este substituit cu unu sau mai mulți substituenți hidroxi. Compuși care au un carbon la care sunt unu sau mai mulți substituenți hidroxi includ, de exemplu, alcooli, enoli și fenol. Termenii ciano și nitril se referă la o grupare -CN. Termenul "oxo" înseamnă un oxigen care este

atașat la un carbon printr-o legătură dublă (adică, dacă R^4 este oxo, atunci R^4 împreună cu carbonul de care este atașat sunt un fragment $C=O$).

Termenul "halo" sau "halogen" se referă la fluor (care poate fi reprezentat ca -F), clor (care poate fi reprezentat ca -Cl), brom (care poate fi reprezentat ca -Br) sau iod (care poate fi reprezentat ca -I).

Termenul "heterocicloalchil" se referă la un substituent obținut prin îndepărtarea unui hidrogen dintr-o structură inelară saturată sau parțial saturată care conține un număr total de atomi specificat, cum ar fi 4 până la 6 atomi în inel sau 4 până la 12 atomi, în care cel puțin unul dintre atomii din inel sunt un heteroatom (adică, oxigen, azot sau sulf), atomii din inel rămași fiind selectați, în mod independent, din grupul constând din carbon, oxigen, azot și sulf. Sulful poate fi oxidat [adică $S(O)$ sau $S(O)_2$] sau nu. Într-o grupare care are un substituent heterocicloalchil, atomul din inel al substituentului heterocicloalchil, care este legat la grupare, poate fi un heteroatom de azot sau poate fi un atom de carbon din inel. În mod similar, dacă substituentul heterocicloalchil este la rândul său substituit cu o grupare sau substituent, gruparea sau substituentul poate fi legat la un heteroatom de azot sau poate fi legat la un atom de carbon din inel. Trebuie înțeles că o grupare heterociclică poate fi monociclică, biciclică, policiclică sau spirociclică.

Termenul "heteroaril" se referă la o structură inelară aromatică care conține numărul specificat de atomi în inel, în care cel puțin unul dintre atomii din inel este un heteroatom (adică, oxigen, azot sau sulf), atomii din inel rămași fiind selectați, în mod independent, dintre grupul constând din carbon, oxigen, azot și sulf. Exemple de substituenți heteroaril includ substituenți heteroaril cu 6 membri, cum ar fi piridil, pirazil, pirimidinil și piridazinil; și substituenți heteroaril cu 5 membri, cum ar fi triazolil, imidazolil, furanil, tiofenil, pirazolil, pirolil, oxazolil, izoxazolil, tiazolil, 1,2,3-, 1,2,4-, 1,2,5- sau 1,3,4-oxadiazolil și izotiazolil. Gruparea heteroaril poate fi, de asemenea, o grupare heteroaromatică biciclică, cum ar fi indolil, benzofuranil, benzotienil, benzimidazolil, benzotiazolil, benzoxazolil, benzoizoxazolil, oxazolopiridinil, imidazopiridinil, imidazopirimidinil, și altele asemenea. Într-o grupare care are un substituent heteroaril, atomul din inel al substituentului heteroaril care este legat la grupare poate fi unul dintre heteroatomi, sau poate fi un atom de carbon din inel. În mod similar, dacă substituentul heteroaril este la rândul său substituit cu o grupare sau substituent, gruparea sau substituentul poate fi legat la unul dintre heteroatomi sau poate fi legat la un atom de carbon din inel. Termenul "heteroaril" include, de asemenea, *N*-oxizi de piridil și grupări care conțin un *N*-oxid de piridină în inel. În plus, gruparea heteroaril poate să conțină o grupare oxo, cum ar fi cea prezentă într-o grupare piridonă. Alte exemple includ

furil, tienil, oxazolil, tiazolil, imidazolil, pirazolil, triazolil, tetrazolil, izoxazolil, izotiazolil, oxadiazolil, tiadiazolil, piridinil, piridazinil, pirimidinil, pirazinil, piridin-2(1*H*)-onil, piridazin-2(1*H*)-onil, pirimidin-2(1*H*)-onil, pirazin-2(1*H*)-onil, imidazo[1,2-*a*]piridinil, și pirazolo[1,5-*a*]piridinil. Heteroarilul poate fi substituit suplimentar așa cum este definit aici.

Exemple de heteroarili și heterocicloalchili cu un singur inel includ furanil, dihidrofuranil, tetrahidrofuranil, tiofenil, dihidrotiofenil, tetrahidrotiofenil, pirolil, izopirolil, pirolinil, pirolidinil, imidazolil, izoimidazolil, imidazolinil, imidazolidinil, pirazolil, pirazolinil, pirazolidinil, triazolil, tetrazolil, ditiolil, oxatiolil, oxazolil, izoxazolil, tiazolil, izotiazolil, tiazolinil, izotiazolinil, tiazolidinil, izotiazolidinil, tiaoxadiazolil, oxatiazolil, oxadiazolil (incluzând oxadiazolil, 1,2,4-oxadiazolil, 1,2,5-oxadiazolil, or 1,3,4-oxadiazolil), piranil (incluzând 1,2-piranil sau 1,4-piranil), dihidropiranil, piridinil, piperidinil, diazinil (incluzând piridazinil, pirimidinil, piperazinil, triazinil (incluzând *s*-triazinil, *as*-triazinil și *v*-triazinil), oxazinil (incluzând 2*H*-1,2-oxazinil, 6*H*-1,3-oxazinil, sau 2*H*-1,4-oxazinil), izoxazinil (incluzând *o*-izoxazinil sau *p*-izoxazinil), oxazolidinil, izoxazolidinil, oxatiazinil (incluzând 1,2,5-oxatiazinil sau 1,2,6-oxatiazinil), oxadiazinil (incluzând 2*H*-1,2,4-oxadiazinil sau 2*H*-1,2,5-oxadiazinil) și morfolinil.

Termenul "heteroaril" poate include, de asemenea, atunci când este specificat ca atare, sisteme inelare care au două cicluri, în care astfel de inele pot fi fuzionate, și în care un inel este aromatic și celălalt inel nu face parte integral din sistemul aromatic conjugat (adică, inelul heteroaromatic poate fi fuzionat la un inel cicloalchil sau heterocicloalchil). Exemple nelimitative de astfel de sisteme inelare includ 5,6,7,8-tetrahidroizochinolinil, 5,6,7,8-tetrahidrochinolinil, 6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[*b*]piridinil, 6,7-dihidro-5*H*-ciclopenta[*c*]piridinil, 1,4,5,6-tetrahidrociclopenta[*c*]pirazolil, 2,4,5,6-tetrahidrociclopenta[*c*]pirazolil, 5,6-dihidro-4*H*-pirolo[1,2-*b*]pirazolil, 6,7-dihidro-5*H*-pirolo[1,2-*b*][1,2,4]triazolil, 5,6,7,8-tetrahidro-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]piridinil, 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridinil, 4,5,6,7-tetrahidro-1*H*-indazolil și 4,5,6,7-tetrahidro-2*H*-indazolil. Trebuie înțeles că, dacă un fragment carbociclic sau heterociclic poate fi legat sau atașat în alt mod la un substrat indicat prin diferiți atomi din inel fără a indica un punct specific de atașare, atunci toate punctele sunt posibile, fie printr-un atom de carbon, fie, de exemplu, printr-un atom de azot trivalent. De exemplu, termenul "piridil" înseamnă 2-, 3- sau 4-piridil, termenul "tienil" înseamnă 2- sau 3-tienil, și așa mai departe.

Dacă substituenții care au mai mult decât o variabilă sunt descriși ca "în mod independent", fiecare caz al unui substituent este selectat independent față de celălalt (ceilalți) din lista de variabile disponibile. Prin urmare, fiecare substituent poate fi identic sau diferit de celălalt substituent (substituenți).

Dacă substituenții sunt descriși ca fiind "selectați în mod independent" dintr-o grupare, fiecare caz al unui substituent este selectat independent față de celălalt (ceilalți). Prin urmare, fiecare substituent poate fi identic sau diferit de celălalt substituent (substituenți).

Un compus cu formula I, care este un compus cu formula lh-1a, lh-1b, lh-1c, li-1a, li-1b, li-1c, lj-1a, lj-1b, lj-1c, lk-a, lk-b sau lk-c, poate fi denumit în continuare un "compus din invenție". Compuși cu formula I care sunt compuși cu formula lh-1a, lh-1b, lh-1c, li-1a, li-1b, li-1c, lj-1a, lj-1b, lj-1c, lk-a, lk-b sau lk-c pot fi denumiți în continuare "compuși din invenție". Astfel de termeni sunt definiți, de asemenea, pentru a include toate formele compuşilor, incluzând hidrați, solvați, izomeri, forme cristaline și necristaline, izomorfi, polimorfi și metaboliți ale acestora. De exemplu, compușii din invenție, sau sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, pot exista în forme nesolvatate și solvate. Atunci când solventul sau apa este strâns legată, complexul va avea o stoechiometrie bine definită, independentă de umiditate. Atunci când, totuși, solventul sau apa se leagă slab, ca în solvații de canal și compușii higroscopici, conținutul de apă/solvent va depinde de umiditate și de condițiile de uscare. În astfel de cazuri, non-stoechiometria va fi norma.

Compușii din invenție pot exista ca clatrați sau alte complexe. În sfera de întindere a invenției sunt incluse complexe, cum ar fi clatrații, complexe de incluziune medicament-gazdă în care medicamentul și gazda sunt prezente în cantități stoechiometrice sau nestoechiometrice. De asemenea, sunt incluse complexe cu compușii din invenție care conțin două sau mai multe componente organice și/sau anorganice, care pot fi în cantități stoechiometrice sau nestoechiometrice. Complexele rezultate pot fi ionizate, parțial ionizate sau neionizate. Pentru o reamintire a unor astfel de complexe, vezi J. Pharm. Sci., 64 (8), 1269-1288 de Haleblan (august 1975)).

Compușii din invenție au atomi de carbon asimetrici. Legăturile carbon-carbon ale compuşilor din invenție pot fi reprezentate aici folosind o linie continuă (——), o pană plină (◄), sau o pană punctată (·····). Utilizarea unei linii continue pentru a reprezenta legăturile la atomii de carbon asimetrici este menită să indice faptul că toți stereoizomerii posibili (de ex., enantiomeri specifici, amestecuri racemice etc.) la acel atom de carbon sunt incluși. Utilizarea, fie a unei pene pline, fie punctate pentru a reprezenta legăturile la atomi de carbon asimetrici este menită să indice faptul că numai stereoizomerul arătat se intenționează să fie inclus. Este posibil ca compușii cu Formula I, pot să conțină mai mult decât un atom de carbon asimetric. În acești compuși, utilizarea unei linii continue pentru a reprezenta legăturile la atomi de carbon asimetrici este menită să indice faptul că toți stereoizomerii posibili se intenționează să fie incluși. De exemplu, cu excepția cazului în

care se precizează altfel, se intenționează ca compușii cu Formula I să poată exista ca enantiomeri și diastereomeri sau ca racemați și amestecuri ale acestora. Utilizarea unei linii continue pentru a reprezenta legături la unu sau mai mulți atomi de carbon asimetrici într-un compus cu formula I, și utilizarea unei pene pline sau punctate pentru a reprezenta legături la alți atomi de carbon asimetrici din același compus se intenționează să indice faptul că este prezent un amestec de diastereomeri.

Stereoizomeri ai formulei I includ izomeri *cis* și *trans*, izomeri optici cum ar fi enantiomeri *R* și *S*, diastereomeri, izomeri geometrici, izomeri de rotație, izomeri conformaționali și tautomeri ai compușilor din invenție, incluzând compuși care prezintă mai mult decât un tip de izomerie; și amestecuri ale acestora (cum ar fi racemați și perechi diastereomerice). De asemenea, sunt incluse sărurile de adiție acidă sau bazică, în care contraionul este optic activ, de exemplu, D-lactat sau L-lizină, sau racemice, de exemplu, DL-tartrat sau DL-arginină.

Atunci când orice racemat cristalizează, sunt posibile cristale de două tipuri diferite. Primul tip este compus racemic (racemat adevărat) menționat mai sus, în care este produsă o formă omogenă de cristal care conține ambii enantiomeri în cantități echimolare. Al doilea tip este amestec racemic sau conglomerat, în care sunt produse două forme de cristal în cantități echimolare, fiecare cuprinzând un singur enantiomer.

Compușii din invenție pot prezenta fenomenul de tautomerism; astfel de tautomeri sunt considerați, de asemenea, compuși din invenție. Toate aceste forme tautomere și amestecurile acestora sunt incluse în sfera de întindere a invenției. Tautomerii există ca amestecuri ale unui set tautomeric în soluție. În formă solidă, de obicei, predomină un tautomer. Chiar dacă poate fi descris un tautomer, prezenta invenție include toți tautomerii compușilor din invenție.

Expresia "sare (săruri) acceptabilă farmaceutic", așa cum este utilizată aici, cu excepția cazului în care se indică altfel, include săruri ale grupărilor acide sau bazice care pot fi prezente în compușii descriși aici. Compușii utilizați în metodele din invenție, care sunt bazici în natură, sunt capabili să formeze o mare varietate de săruri cu diferiți acizi anorganici și organici. Acizii care pot fi utilizați pentru a prepara săruri de adiție acidă acceptabile farmaceutic ale unor astfel de compuși bazici sunt cei care formează săruri de adiție acidă netoxice, adică săruri care conțin anioni acceptabili farmacologic, cum ar fi săruri acetat, benzensulfonat, benzoat, bicarbonat, bisulfat, bitartrat, borat, bromură, edetat de calciu, camsilat, carbonat, clorură, clavulanat, citrat, diclorhidrat, edetat, edisliat, estolat, esilat, etilsuccinat, fumarat, gluceptat, gluconat, glutamat, hexilresorcinat, hidrabamină,

bromhidrat, clorhidrat, iodură, izetionat, lactat, lactobionat, laurat, malat, maleat, mandelat, mesilat, metilsulfat, mucat, napsilat, nitrat, oleat, oxalat, pamoat (embonat), palmitat, pantotenat, fosfat/difosfat, poligalacturonat, salicilat, stearat, subacetat, succinat, tanat, tartrat, teoclat, tosilat, trietiodod și valerat.

În ceea ce privește compușii din invenție utilizați în metodele din invenție, dacă compușii există și ca forme tautomerice, atunci această invenție se referă la acei tautomeri și la utilizarea tuturor acestor tautomeri și amestecuri ale acestora.

Prezenta invenție include, de asemenea, compuși și metode de tratare a infecțiilor cu coronavirus, cum ar fi COVID-19, și metode de inhibare a SARS-CoV-2 cu compuși marcați izotopic, care sunt identici cu cei menționați aici, dar pentru faptul că unu sau mai mulți atomi sunt înlocuiți cu un atom care are o masă atomică sau un număr de masă diferit de masa atomică sau numărul de masă găsit de obicei în natură. Exemple de izotopi care pot fi încorporați în compușii din invenție includ izotopi de hidrogen, carbon, azot, oxigen, fosfor, fluor și clor, cum ar fi ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F și, respectiv, ^{36}Cl . Compușii din prezenta invenție, promedicamentele acestora, și sărurile acceptabile farmaceutic ale compușilor menționați sau ale promedicamentelor menționate care conțin izotopii și/sau izotopii altor atomi menționați mai sus sunt în sfera de întindere a acestei invenții. Anumiți compuși marcați izotopic din prezenta invenție, de exemplu, cei în care sunt încorporați izotopi radioactivi, cum ar fi ^3H și ^{14}C , sunt utili în testele de distribuție a medicamentului și/sau a substratului în țesut. Izotopii tritiat, adică ^3H și carbon-14, adică ^{14}C , sunt preferați în special pentru ușurința de preparare și detectabilitate. În plus, înlocuirea cu izotopi mai grei, cum ar fi deuteriu, adică ^2H , poate oferi anumite avantaje terapeutice rezultate dintr-o stabilitate metabolică mai mare, de exemplu, timpul de înjumătățire crescut *in vivo* sau cerințe de dozare redusă și, prin urmare, pot fi preferate în anumite circumstanțe. Compușii marcați izotopic utilizați în metodele din această invenție și promedicamentele acestora pot fi preparate, în general, prin efectuarea procedurilor de preparare a compușilor dezvăluiți în domeniu, prin înlocuirea unui reactiv marcat izotopic ușor disponibil cu un reactiv nemarcat izotopic.

Această invenție cuprinde, de asemenea, metode care utilizează compoziții farmaceutice și metode de tratare a infecțiilor cu coronavirus, cum ar fi infecțiile cu COVID-19, prin administrarea de promedicamente ale compușilor din invenție. Compușii care au grupări amino, amido sau hidroxi libere pot fi transformați în promedicamente. Promedicamentele includ compuși în care un reziduu de aminoacid sau un lanț polipeptidic de două sau mai multe (de ex., două, trei sau patru) reziduuri de aminoacizi sunt unite covalent, printr-o

legătură ester, la un hidroxi al compușilor utilizați în metodele din această invenție. Reziduurile de aminoacizi includ, dar nu se limitează la, cei 20 de aminoacizi existenți în mod natural indicați în mod obișnuit prin simboluri cu trei litere, și includ, de asemenea, 4-hidroxiprolină, hidroxilizină, desmozină, izodesmozină, 3-metilhistidină, norvalin, beta-alanină, acid gamma-aminobutiric, citrulină, homocisteină, homoserină, ornitină și metionin sulfonă. Sunt incluse, de asemenea, alte tipuri de promedicamente. De exemplu, grupările hidroxi libere pot fi derivatizate folosind grupări care includ, dar fără limitare la, hemisuccinați, esteri fosfați, dimetilaminoacetați și fosforiloximetiloxicarbonili, așa cum este evidențiat în *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1996, 19, 115. De asemenea, sunt incluse promedicamente carbamat ale grupărilor hidroxi și amino, precum sunt promedicamentele carbonat, esterii sulfonați și esterii sulfați ai grupărilor hidroxi. De asemenea, sunt incluse derivatizarea grupărilor hidroxi ca eteri (aciloxi)metil și (aciloxi)etil, în care gruparea acil poate fi un ester alchilic, opțional substituit cu grupări care includ, dar fără limitare la, funcționalități eter, amină și acid carboxilic, sau în care gruparea acil este un ester al aminoacidului, așa cum este descris mai sus. Promedicamentele de acest tip sunt descrise în *J. Med. Chem.*, 1996, 29, 10. Aminele libere pot fi, de asemenea, derivatizate ca amide, sulfonamide sau fosfonamide. Toate aceste fragmente de promedicament pot încorpora grupări incluzând, dar fără limitare la, funcționalități eter, amină și acid carboxilic.

Compușii din prezenta invenție pot fi utilizați în metodele din invenție în combinație cu alte medicamente. De exemplu, administrarea la un pacient infectat cu coronavirus SARS-CoV-2 (adică un pacient cu COVID-19) a inhibitorului de protează 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 conform invenției și a unui interferon, cum ar fi interferon alfa, sau a unui interferon pegilat, cum ar fi PEG-Intron sau Pegasus, poate asigura un beneficiu clinic mai mare decât administrarea în monoterapie, fie a interferonului, a interferonului pegilat, fie a inhibitorului a coronavirusului SARS-CoV-2. Alți agenți suplimentari care pot fi utilizați în metodele din prezenta invenție includ dexametazonă, azitromicină și remdesivir. Exemple de beneficii clinice mai mari ar putea include o reducere mai mare a simptomelor COVID-19, un timp mai rapid pentru ameliorarea simptomelor, reducerea patologiei pulmonare, o reducere mai mare a cantității de coronavirus SARS-CoV-2 la pacient (încărcare virală), și mortalitate scăzută.

Coronavirusul SARS-CoV-2 infectează celule care exprimă glicoproteina P. Unii dintre inhibitorii de protează 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 din invenției sunt substraturi ale glicoproteinei P. Compușii care inhibă coronavirusul SARS-CoV-2 care sunt, de asemenea, substraturi ale glicoproteinei P pot fi administrați cu un inhibitor al glicoproteinei P. Exemple

de inhibitori ai glicoproteinei P sunt verapamil, vinblastină, ketoconazol, nelfinavir, ritonavir sau ciclosporină. Inhibitorii glicoproteinei P acționează prin inhibarea efluxului de inhibitori a coronavirusului SARS-CoV-2 din invenție în afara celulei. Inhibarea efluxului pe bază de glicoproteină P va preveni reducerea concentrațiilor intracelulare ale inhibitorului a coronavirusului SARS-CoV-2 din cauza efluxului de glicoproteină P. Inhibarea efluxului de glicoproteină P va avea ca rezultat concentrații intracelulare mai mari ale inhibitorilor a coronavirusului SARS-CoV-2. Administrarea de inhibitori de protează 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 conform invenției, și de un inhibitor al glicoproteinei P la un pacient infectat cu coronavirus SARS-CoV-2 poate să scadă cantitatea de inhibitor de protează 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 necesară pentru a se obține o doză eficientă prin creșterea concentrației intracelulare a inhibitorului de protează 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2.

Printre agenții care pot fi utilizați pentru a crește expunerea unui mamifer la un compus din prezenta invenție, sunt cei care pot acționa ca inhibitori ai cel puțin unei izoforme a enzimelor citocromului P450 (CYP450). Izoformele CYP450 care pot fi inhibitate benefic includ, dar nu se limitează la CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 și CYP3A4. Compușii utilizați în metodele din invenție includ compuși care pot fi substraturi CYP3A4, și sunt metabolizați de către CYP3A4. Administrarea unui inhibitor a coronavirusului SARS-CoV-2, care este un substrat CYP3A4, cum ar fi inhibitorul de protează 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2, și a unui inhibitor de CYP3A4, cum ar fi ritonavir, nelfinavir sau delavirdina, la un pacient infectat cu coronavirus SARS-CoV-2, va reduce metabolismul inhibitorului a coronavirusului SARS-CoV-2 prin CYP3A4. Acest lucru va avea ca rezultat o eliminare redusă a inhibitorului a coronavirusului SARS-CoV-2 și creșterea concentrațiilor plasmatice de inhibitor a coronavirusului SARS-CoV-2. Eliminarea redusă și concentrațiile plasmatice mai mari pot avea ca rezultat o doză eficientă mai scăzută de inhibitor a coronavirusului SARS-CoV-2.

Agenții terapeutici suplimentari, care pot fi utilizați în combinație cu inhibitorii de SARS-CoV-2 în metodele din prezenta invenție, includ următorii:

Inhibitori PLpro, Apilomod, EIDD-2801, Ribavirină, Valganciclovir, β -Timidină, aspartam, oxprenolol, doxiciclină, acetofenazină, lopromidă, riboflavină, reproterol, 2,2'-ciclocitidină, cloramfenicol, clorfenesin carbamat, levodropropizină, cefamandol, floxuridină, tigeciclină, pemetrexed, acid L(+)-Ascorbic, glutation, hesperetin, Ademetionină, Masoprocol, Isotretinoin, Dantrolen, Sulfasalazină Anti-bacteriană, Silibină, Nicardipină, Sildenafil, Platycodin, Chrysin, Neohesperidin, Baicalin, Sugetriol-3,9-diacetat, (-)-Epigallocatechin galat, Phaitanthrin D, 2-(3,4-dihidroxifenil)-2-[[2-(3,4-dihidroxifenil)-3,4-dihidro-5,7-dihidroxi-2H-1-benzopiran-3-il]oxi]-3,4-dihidro-2H-1-benzopiran-3,4,5,7-tetrol, 2,2-di(3-indolil)-3-

indolonă, (S)-(1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-formamido-1,4a-dimetil-6-metilen-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)etenil)decahidronaftalen-2-il-2-amino-3-fenilpropanoat, piceatanol, acid rosmarinic și magnolol.

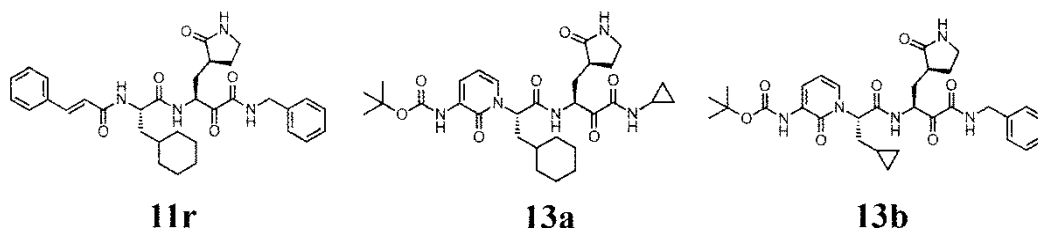
Inhibitori de 3CLpro, limeciclină, clorhexidină, alfuzosin, cilastatină, famotidină, almitrină, progabide, nepafenac, carvedilol, amprenavir, tigeciclină, montelukast, acid carminic, mimozină, flavină, luteină, cefpiramidă, feneticilină, candoxatril, nicardipină, estradiol valerat, pioglitazonă, conivaptan, Telmisartan, Doxiciclină, Oxitettraciclină, (1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-formamido-1,4a-dimetil-6-metilen-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)etenil)decahidronaftalen-2-il-5-((R)-1,2-ditiolan-3-il) pentanoat, Betulonal, Chrysin-7-O- β -glucuronidă, andrografizidă, (1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-formamido-1,4a-dimetil-6-metilen-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)etenil)decahidronaftalen-2-il 2-nitrobenzoat, acid 2 β -hidroxi-3,4-seco-friedelolactona-27-oic (S)-(1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-formamido-1,4a-dimetil-6-metilen-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)etenil) decahidronaftalen-2-il-2-amino-3-fenilpropanoat, izodecortinol, Cerevisterol, Hesperidin, Neohesperidin, Andrograpanin, benzoat de 2-((1R,5R,6R,8aS)-6-hidroxi-5-(hidroximetil)-5,8a-dimetil-2-metilendecahidronaftalen-1-il)etil, Cosmosiin, Cleistocaltonă A, 2,2-Di(3-indolil)-3-indolonă, Biorobin, Gnidicin, Phillaemblinol, Theaflavin 3,3'-di-O-galat, acid rosmarinic, Kouitchenside I, acid oleanolic, Stigmast-5-*ro*-3-ol, deacetylcentapicrin și Berchemol.

Inhibitori de RdRp, Valganciclovir, Clorhexidină, Ceftributen, Fenoterol, Fludarabină, Itraconazol, Cefuroximă, Atovaquonă, Acid chenodeoxicolic, Cromolyn, Bromură de pancuroniu, Cortizon, Tibolon, Novobiocin, Silybin, Idarubicin Bromocriptină, Difenoxilat, Benzilpenicilloil G, Dabigatran etexilat, Betulonal, Gnidicin, 2 β ,30 β -Dihidroxi-3,4-seco-friedelolactonă-27-lactonă, 14-Deoxi-11,12-didehidroandrografolidă, Gniditrin, Teaflavin 3,3'-di-O-galat, (R)-((1R,5aS,6R,9aS)-1,5a-Dimetil-7-metilen-3-oxo-6-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)etenil)decahidro-1H-benzo[c]azepin-1-il)metil-2-amino-3-fenilpropanoat, acid 2 β -hidroxi-3,4-seco-friedelolactona-27-oic, 2-(3,4-dihidroxifenil)-2-[[2-(3,4-dihidroxifenil)-3,4-dihidro-5,7-dihidroxi-2H-1-benzopiran-3-il]oxi]-3,4-dihidro-2H-1-benzopiran-3,4,5,7-tetrol, Phillaemblicin B, 14-hidroxiciperotundonă, Andrografizidă, Benzoat de 2-((1R,5R,6R,8aS)-6-hidroxi-5-(hidroximetil)-5,8a-dimetil-2-metilendecahidronaftalen-1-il)etil, andrografolidă, sugetriol-3,9-diacetat, baicalin, (1S,2R,4aS,5R,8aS)-1-formamido-1,4a-dimetil-6-metilen-5-((E)-2-(2-oxo-2,5-dihidrofuran-3-il)etenil) decahidronaftalen-2-il 5-((R)-1,2-ditiolan-3-il)pentanoat, 1,7-dihidroxi-3-metoxixantonă, 1,2,6-trimetoxi-8-[(6-O- β -D-xilopiranozil- β -D-glucopiranozil)oxi]-9H-xanten-9-onă și 1,8-

dihidroxi-6-metoxi-2-[(6-O- β -D-xilopiranozil- β -D-glucopiranozil)oxi]-9H-xanten-9-onă, 8-(β -D-glucopiranosiloxi)-1,3,5-trihidroxi-9H-xanten-9-onă,

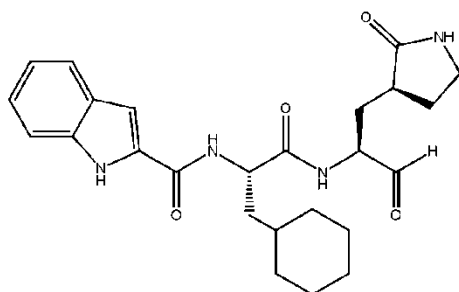
Agenții terapeutici suplimentari care pot fi utilizați în metodele din invenție includ Diosmin, Hesperidin, MK-3207, Venetoclax, Dihidroergocristină, Bolazin, R428, Ditercalinium, Etoposide, Teniposide, UK-432097, Irinotecan, Lumacaftor, Velpatasvir, Eluxadolină, Ledipasvir, Lopinavir / Ritonavir + Ribavirină, Alferon și prednison. Alți agenți suplimentari utili în metodele din prezenta invenție includ dexametazonă, azitromicină și remdesivir, precum și boceprevir, umifenovir și favipiravir.

Alți agenți suplimentari care pot fi utilizați în metodele din prezenta invenție includ compuși α -cetoamide denumiți ca 11r, 13a și 13b, prezentați mai jos, așa cum este descris în Zhang, L.; Lin, D.; Sun, X.; Rox, K.; Hilgenfeld, R.; Structura cu raze X a proteazei principale a noului coronavirus SARS-CoV-2 permite proiectarea inhibitorilor de α -cetoamidă; bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.17.952879>



Agenți suplimentari care pot fi utilizați în metodele din prezenta invenție includ activatori ai căii RIG 1, cum ar fi cei descriși în brevetul US Nr. 9,884,876.

Alți agenți terapeutici suplimentari includ inhibitori de protează, cum ar fi cei descriși în Dai W, Zhang B, Jiang X-M și colab. Proiectare bazată pe structură a candidaților medicamente antivirale care țintesc proteaza principală a SARS-CoV-2. Science. 2020;368(6497):1331-1335, incluzând compuși, cum ar fi compusul prezentat mai jos și un compus indicat ca DC402234



O altă variantă de realizare a prezentei invenții este un compus din prezenta invenție pentru utilizare într-o metodă de tratare a COVID-19 la un pacient, în care, în plus față de administrarea unui compus din prezenta invenție, este administrat un agent suplimentar, și agentul suplimentar este selectat dintre antivirale, cum ar fi remdesivir, galidesivir,

favilavir/avifavir, molnupiravir (MK-4482/EIDD 2801), AT-527, AT-301, BLD-2660, favipiravir, camostat, SLV213 emtricitabină/tenofivir, clevudină, dalcetrapib, boceprevir și ABX64, glucorticoizi, cum ar fi dexametazonă și hidrocortizon, plasmă convalescentă, o plasmă umană recombinată, cum ar fi gelsolin (Rhu-p65N), anticorpi monoclonali, cum ar fi regdanvimab (Regkirova), ravulizumab (Ultomiris), VIR-7831/VIR-7832, BRIL-196/BRIL-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 și otilimab, amestec de anticorpi, cum ar fi casirivimab/imdevimab (REGN-Cov2), proteină de fuziune recombinantă, cum ar fi MK-7110 (CD24Fc/SACCOVID), anticoagulante, cum ar fi heparină și apixaban, agoniști ai receptorilor IL-6, cum ar fi tocilizumab (Actemra) și sarilumab (Kevzara), inhibitori PIKfyve, cum ar fi apilimod dimesilate, inhibitori RIPK1, cum ar fi DNL758, DC402234, agoniști ai receptorilor VIP, cum ar fi PB1046, inhibitori SGLT2, cum ar fi dapagliflozin, inhibitori TYK, cum ar fi abivertinib, inhibitori ai kinazei, cum ar fi ATR-002, bemcentinib, acalabrutinib, losmapimod, baricitinib și tofacitinib, blocați de H₂, cum ar fi famotidină, antihelmintice, cum ar fi niclosamidă, inhibitori de furină, cum ar fi diminazen.

Termenul "agent inhibitor de SARS-CoV-2" înseamnă orice compus inhibitor de protează de tip 3C a coronavirusului înrudit cu SARS-CoV-2 descris aici, sau o sare acceptabilă farmaceutic, hidrat, promedicament, metabolit activ sau solvat al acestuia, sau un compus care inhibă replicarea SARS-CoV-2 în orice mod.

Termenul "interferează cu sau previne" replicarea virală a coronavirusului asociat cu SARS-CoV-2 ("SARS-CoV-2") într-o celulă, înseamnă reducerea replicării SARS-CoV-2 sau a producerii componentelor SARS-CoV-2 necesare pentru descendenții virusului într-o celulă tratată cu un compus din această invenție, în comparație cu o celulă care nu este tratată cu un compus din această invenție. Testele simple și convenabile pentru a determina dacă replicarea virală SARS-CoV-2 a fost redusă includ un test ELISA pentru prezența, absența sau prezența redusă a anticorpilor anti-SARS-CoV-2 în sângele subiectului (Nasoff, și colab., PNAS 88:5462-5466, 1991), RT-PCR (Yu, și colab., în Viral Hepatitis and Liver Disease 574-577, Nishioka, Suzuki and Mishiro (eds.); Springer-Verlag, Tokyo, 1994). Astfel de metode sunt bine cunoscute persoanelor cu calificare obișnuită în domeniu. În mod alternativ, ARN-ul total din celulele "de control" transduse și infectate poate fi izolat și supus analizei prin dot blot sau northern blot, și este testat cu ADN specific SARS-CoV-2 pentru a determina dacă replicarea SARS-CoV-2 este redusă. În mod alternativ, reducerea exprimării proteinei SARS-CoV-2 poate fi, de asemenea, utilizată ca indicator al inhibării replicării

SARS-CoV-2. O reducere mai mare de cincizeci la sută a replicării SARS-CoV-2 în comparație cu celulele de control cuantifică de obicei o prevenire a replicării SARS-CoV-2. Dacă un compus inhibitor de SARS-CoV-2 utilizat în metoda din invenție este o bază, o sare dorită poate fi preparată prin orice metodă adecvată cunoscută în domeniu, incluzând tratarea bazei libere cu un acid anorganic (cum ar fi acid clorhidric, acid bromhidric, acid sulfuric, acid azotic, acid fosforic și altele asemenea), sau cu un acid organic (cum ar fi, acid acetic, acid maleic, acid succinic, acid mandelic, acid fumaric, acid malonic, acid piruvic, acid oxalic, acid glicolic, acid salicilic, acid piranosidil (cum ar fi, acid glucuronic sau acid galacturonic), acid alfa-hidroxi (cum ar fi, acid citric sau acid tartric), aminoacizi (cum ar fi, acid aspartic sau acid glutamic), acid aromatic (cum ar fi, acid benzoic sau acid cinamic), acid sulfonic (cum ar fi, acid p-toluensulfonic sau acid etansulfonic), și altele asemenea.

Dacă un compus inhibitor de SARS-CoV-2 utilizat în metoda din invenție este un acid, o sare dorită poate fi preparată prin orice metodă adecvată cunoscută în domeniu, incluzând tratarea acidului liber cu o bază anorganică sau organică [cum ar fi o amină (primară, secundară sau terțiară)], un hidroxid de metal alcalin sau hidroxid de metal alcalino-pământos. Exemple ilustrative de săruri adecvate includ săruri organice derivate din aminoacizi (cum ar fi, glicină și arginină), amoniac, amine primare, amine secundare, amine terțiare și amine ciclice (cum ar fi, piperidină, morfolină și piperazină), precum și săruri anorganice derivate din sodiu, calciu, potasiu, magneziu, mangan, fier, cupru, zinc, aluminiu și litiu.

În cazul compușilor inhibitori de SARS-CoV-2, promedicamentelor, sărurilor sau solvațiilor care sunt solide, specialiștii în domeniu înțeleg că compusul, promedicamentele, sărurile și solvații utilizați în metoda din invenție pot exista în diferite forme polimorfe sau cristaline, fiind intenționat ca toate să fie în sfera de întindere a prezentei invenții și a formulelor specificate. În plus, compusul, sărurile, promedicamentele și solvații utilizați în metoda din invenție pot exista ca tautomeri, fiind intenționat ca toate acestea să fie în sfera largă de întindere a prezentei invenții.

Agenții de solubilizare pot fi utilizați, de asemenea, cu compușii din invenție pentru a crește solubilitatea compușilor în apa soluțiilor acceptabile fiziologic. Acești agenți de solubilizare includ ciclodextrine, propilenglicol, dietilacetamidă, polietilenglicol, Tween, etanol și agenți formatori de miceli. Agenții de solubilizare oferiți sunt ciclodextrinele, în special, beta-ciclodextrine și, în particular, hidroxipropil beta-ciclodextrină și sulfobutyleter beta-ciclodextrină.

În unele cazuri, compușii inhibitori de SARS-CoV-2, sărurile, promedicamentele și solvații utilizați în metoda din invenție pot avea centri chirali. Atunci când sunt prezenți centri chirali, compusul, sărurile, promedicamentele și solvații pot exista ca stereoizomeri unici, racemați și/sau amestecuri de enantiomeri și/sau diastereomeri. Toți astfel de stereoizomeri unici, racemați și amestecuri ale acestora se intenționează să fie în sfera largă de întindere a prezentei invenții.

După cum este înțeles în general de către specialiștii în domeniu, un compus optic pur este unul care este pur enantiomeric. Așa cum este utilizat aici, termenul "optic pur" se intenționează să însemne un compus care cuprinde cel puțin o activitate suficientă. Preferabil, o cantitate optic pură dintr-un singur enantiomer pentru a produce un compus care are compusul pur farmacologic dorit din invenție, cuprinde cel puțin 90% de un singur izomer (80% exces enantiomeric), mai preferabil, cel puțin 95% (90% e.e.), chiar mai preferabil, cel puțin 97,5% (95% e.e.) și, cel mai preferabil, cel puțin 99% (98% e.e.).

Termenul "tratare", așa cum este utilizat aici, cu excepția cazului în care se indică altfel, înseamnă inversarea, atenuarea, inhibarea progresului sau prevenirea tulburării sau afecțiunii, sau a unuia sau mai multor simptome ale unei astfel de tulburări sau afecțiuni, la care se aplică un astfel de termen. Termenul "tratament", așa cum este utilizat aici, cu excepția cazului în care se indică altfel, se referă la actul de a trata, așa cum este definit imediat mai sus "tratare". Într-o variantă de realizare preferată a prezentei invenții, "tratare" sau "tratament" înseamnă cel puțin atenuarea unei stări de boală la un om, care este atenuată prin inhibarea activității proteazei de tip 3C SARS-CoV-2, care este principala protează a SARS-CoV-2, agentul cauzal al COVID-19. Pentru pacienții care suferă de COVID-19, febra, oboseala și tusea uscată sunt principalele manifestări ale bolii, în timp ce congestia nazală, curgerea nazală și alte simptome ale tractului respirator superior sunt rare. Centrele pentru Controlul și Prevenirea Bolilor din Beijing au indicat că cazul tipic de COVID-19 are un proces de agravare progresivă. COVID-19 poate fi clasificat în tipuri ușor, normal, sever și critic, în funcție de severitatea bolii. Comisia Națională de Sănătate a Republicii Populare Chineze. Diagnosticul și tratamentul pneumoniei cauzate de 2019-nCoV (Versiunea de studiu 4). Disponibil online: <http://www.nhc.gov.cn/jkj/s3577/202002/573340613ab243b3a7f61df260551dd4/files/c791e5a7ea5149f680fdcb34dac0f54e.pdf> : (1) Cazuri ușoare - simptomele clinice au fost ușoare și nu a fost găsită nicio pneumonie pe tomografia computerizată toracică (CT); (2) cazuri normale - febră, simptome respiratorii și a fost găsit că pacienți au manifestări imagistice de pneumonie; (3) cazuri severe - una dintre următoarele trei condiții: detresă

respiratorie, frecvență respiratorie ≥ 30 de ori/min (în stare de repaus, se referă la saturația de oxigen $\leq 93\%$), presiunea arterială parțială a oxigenului (PaO_2)/concentrația de absorbție a oxigenului (FiO_2) ≤ 300 mmHg ($1 \text{ mm Hg} = 0,133 \text{ kPa}$); (4) cazuri critice - una dintre următoarele trei condiții: Insuficiență respiratorie și necesitatea ventilației mecanice, șoc sau insuficiența asociată a altor organe care necesită unitatea de terapie intensivă. Datele clinice actuale arată că majoritatea deceselor au avut loc la pacienții mai în vârstă. Cu toate acestea, au fost documentate cazuri severe la adulții tineri care au factori unici, în special cei cu boli cronice, cum ar fi diabet sau hepatită B. Cei care utilizează pe termen lung hormoni sau imunosupresoare, și cu funcție imunitară scăzută sunt susceptibili să se infecteze grav.

Metodele de tratament pentru atenuarea unei stări de boală cu coronavirus, cum ar fi COVID-19, includ utilizarea unuia sau mai multor compuși din invenție în orice mod convențional acceptabil. Conform anumitor variante de realizare preferate ale invenției, compusul sau compușii utilizați în metodele din prezenta invenție sunt administrați unui mamifer, cum ar fi un om, care are nevoie de aceasta. Preferabil, mamiferul care are nevoie de aceasta este infectat cu un coronavirus, cum ar fi agentul cauzal al COVID-19, și anume SARS-CoV-2.

Prezenta invenție include, de asemenea, metode profilactice, care cuprind administrarea unei cantități eficiente de un inhibitor de SARS-CoV-2 din invenție sau a unei sări acceptabile farmaceutic, promedicament, metabolit activ farmaceutic sau solvat al acestuia, la un mamifer, cum ar fi un om expus riscului de infectare cu SARS-CoV-2. Conform anumitor variante de realizare preferate, o cantitate eficientă de unu sau mai mulți compuși din invenție, sau o sare acceptabilă farmaceutic, promedicament, metabolit activ farmaceutic sau solvat al acestuia, este administrată unui om cu risc de infecție cu SARS-CoV-2, agent cauzal pentru COVID-19. Metodele profilactice din invenție includ utilizarea unuia sau mai multor compuși din invenție în orice mod convențional acceptabil.

Unii dintre compușii utilizați în metodele din invenție, de exemplu, dexametazona, azitromicina și remdesivirul, sunt cunoscuți și pot fi obținuți prin metode cunoscute în domeniu.

Dovezi recente indică faptul că un nou coronavirus SARS-CoV-2 este agentul cauzal al COVID-19. Secvența de nucleotide a coronavirusului SARS-CoV-2, precum și subtipurile L- și S- recent determinate au fost recent determinate și puse la dispoziția publicului.

Activitatea compușilor inhibitori ca inhibitori ai activității virale a SARS-CoV-2 poate fi măsurată prin oricare dintre metodele adecvate disponibile în domeniu, incluzând teste *in*

vivo și *in vitro*. Activitatea compușilor din prezenta invenție ca inhibitori ai activității proteazei de tip 3C a coronavirusului (cum ar fi proteaza de tip 3C a coronavirusului SARS-CoV-2) poate fi măsurată prin oricare dintre metodele adecvate cunoscute specialiștilor în domeniu, incluzând teste *in vivo* și *in vitro*. Exemple de teste adecvate pentru măsurătorile activității includ testele de cultură celulară antivirale descrise aici, precum și testele de antiprotează descrise aici, cum ar fi testele descrise în secțiunea Experimentală.

Administrarea compușilor inhibitori ai SARS-CoV-2 și a promedicamentelor, sărurilor, metaboliților activi și solvaților acestora acceptabile farmaceutic poate fi efectuată în conformitate cu oricare dintre modurile acceptate de administrare disponibile specialiștilor în domeniu. Exemple ilustrative de modalități adecvate de administrare includ orală, nazală, pulmonară, parenterală, topică, intravenoasă, prin injectare, transdermică și rectală. Sunt preferate administrările orale, intravenoase, subcutanate și nazale.

Un agent de inhibare a SARS-CoV-2 poate fi administrat ca o compoziție farmaceutică în orice formă farmaceutică adecvată. Formele farmaceutice adecvate includ formulări solide, semisolide, lichide sau liofilizate, cum ar fi tablete, pulberi, capsule, supozitoare, suspensii, lipozomi și aerosoli. Agentul de inhibare a SARS-CoV-2 poate fi preparat sub forma unei soluții folosind oricare dintre o varietate de metodologii. De exemplu, agentul de inhibare a SARS-CoV-2 poate fi dizolvat cu acid (de ex., 1 M HCl) și diluat cu un volum suficient de soluție de 5% dextroză în apă (D5W) pentru a obține concentrația finală dorită de agent de inhibare a SARS-CoV-2 (de ex., aproximativ 15 mM). În mod alternativ, o soluție de D5W care conține aproximativ 15 mM HCl poate fi utilizată pentru a se obține o soluție de agent de inhibare a SARS-CoV-2 la concentrația corespunzătoare. Mai mult, agentul de inhibare a SARS-CoV-2 poate fi preparat sub forma unei suspensii folosind, de exemplu, o soluție de 1% carboximetilceluloză (CMC).

Metode acceptabile de preparare a formelor farmaceutice adecvate ale compozițiilor farmaceutice sunt cunoscute sau pot fi determinate în mod obișnuit de către specialiștii în domeniu. De exemplu, preparatele farmaceutice pot fi preparate urmând tehnici convenționale ale chimistului farmaceutic, care implică etape, cum ar fi amestecare, granulare și comprimare atunci când este necesar pentru formele de tablete, sau amestecare, umplere și dizolvare a ingredientelor, după caz, pentru a se obține produsele dorite pentru administrare intravenoasă, orală, parenterală, topică, intravaginală, intranazală, intrabronșică, intraoculară, intraaurală, și/sau rectală.

De obicei, un compus din invenție este administrat într-o cantitate eficientă pentru a trata o afecțiune, așa cum este descris aici. Compușii din invenție sunt administrați pe orice cale

adecvată sub forma unei compoziții farmaceutice adaptate unei astfel de căi și într-o doză eficientă pentru tratamentul dorit. Dozele de compuși eficiente terapeutic necesare pentru a trata progresul afecțiunii medicale sunt constatate cu ușurință de către un specialist în domeniu utilizând abordări preclinice și clinice familiare în domeniul medical.

Compușii din invenție pot fi administrați oral. Administrarea orală poate implica înghițirea, astfel încât compusul să intre în tractul gastrointestinal, sau poate fi utilizată administrarea bucală sau sublinguală, prin care compusul intră în fluxul sanguin direct din gură.

Într-o altă variantă de realizare, compușii din invenție pot fi administrați, de asemenea, direct în fluxul sanguin, în mușchi sau într-un organ intern. Mijloacele adecvate pentru administrare parenterală includ intravenoasă, intraarterială, intraperitoneală, intratecală, intraventriculară, intrauretrală, intrasternală, intracraniană, intramusculară și subcutanată. Dispozitivele adecvate pentru administrare parenterală includ injectoare cu ace (incluzând microac), injectoare fără ace și tehnici de perfuzie.

Într-o altă variantă de realizare, compușii din invenție pot fi administrați, de asemenea, topic pe piele sau mucoasă, adică pe cale dermică sau transdermică. Într-o altă variantă de realizare, compușii din invenție pot fi administrați, de asemenea, intranazal sau prin inhalare.

Într-o altă variantă de realizare, compușii din invenție pot fi administrați rectal sau vaginal.

Într-o altă variantă de realizare, compușii din invenție pot fi administrați, de asemenea, direct în ochi sau ureche.

Regimul de dozare pentru compușii și/sau compozițiile care conțin compuși se bazează pe o varietate de factori, incluzând tipul, vârsta, greutatea, sexul și starea medicală a pacientului; severitatea afecțiunii; calea de administrare; și activitatea compusului particular utilizat. Astfel, regimul de dozare poate varia foarte mult. Nivelurile de dozare de ordinul de la aproximativ 0,01 mg până la aproximativ 100 mg pentru fiecare kilogram de greutate corporală pe zi sunt utile în tratamentul afecțiunilor indicate mai sus. Într-o variantă de realizare, doza zilnică totală de un compus din invenție (administrată în doze unice sau divizate) este, de obicei, de la aproximativ 0,01 până la aproximativ 100 mg/kg. Într-o altă variantă de realizare, doza zilnică totală de compus din invenție este de la aproximativ 0,1 până la aproximativ 50 mg/kg, iar într-o altă variantă de realizare, de la aproximativ 0,5 până la aproximativ 30 mg/kg (adică, mg de compus din invenție pentru fiecare kg de greutate corporală). Într-o variantă de realizare, doza este de la 0,01 până la 10 mg/kg/zi. Într-o altă variantă de realizare, doza este de la 0,1 până la 1,0 mg/kg/zi. Compozițiile de unitate de dozare pot conține astfel de cantități sau submultipli ai acestora pentru a constitui doza zilnică. În multe cazuri, administrarea compusului va fi repetată de mai multe ori într-o zi (de

obicei, nu mai mult decât de 4 ori). Doze multiple pe zi pot fi utilizate în mod obișnuit pentru a crește doza zilnică totală, dacă se dorește.

Pentru administrare orală, compozițiile pot fi furnizate sub formă de tablete care conțin de la aproximativ 0,01 mg până la aproximativ 500 mg de ingredient activ, sau într-o altă variantă de realizare, de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 100 mg de ingredient activ. Pe cale intravenoasă, dozele pot varia de la aproximativ 0,1 până la aproximativ 10 mg/kg/minut în timpul unei perfuzii cu viteză constantă.

Pacienții adecvați conform prezentei invenții includ pacienți mamifere. Mamiferele conform prezentei invenții includ, dar nu se limitează la, canine, feline, bovine, caprine, ecvine, ovine, porcine, rozătoare, lagomorfe, primate, și altele asemenea, și includ mamifere în uter. Într-o variantă de realizare, oamenii sunt pacienți adecvați. Pacienții umani pot fi de orice gen și în orice stadiu de dezvoltare.

Într-o altă variantă de realizare, invenția cuprinde utilizarea unuia sau mai multor compuși din invenție pentru prepararea unui medicament pentru tratamentul afecțiunilor menționate aici.

Pentru tratamentul afecțiunilor menționate mai sus, compusul din invenție poate fi administrat ca compus în sine. În mod alternativ, sărurile acceptabile farmaceutic sunt adecvate pentru aplicații medicale datorită solubilității lor mai mari în apă față de compusul de bază.

Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție cuprinde compoziții farmaceutice. Astfel de compoziții farmaceutice cuprind un compus din invenție prezentat cu un purtător acceptabil farmaceutic. Purtătorul acceptabil farmaceutic include orice formă de dozare adecvată care este acceptabilă pentru administrare la un pacient. Purtătorul poate fi un solid, un lichid, sau ambele, și poate fi formulat cu compusul sub forma unei compoziții de doză unitară, de exemplu, o tabletă, care poate să conțină de la 0,05% până la 95% în greutate de compuși activi. Un compus din invenție poate fi cuplat cu polimeri adecvați ca purtători de țintire a medicamentului. Pot fi prezente și alte substanțe active farmacologic.

Compușii din prezenta invenție pot fi administrați pe orice cale adecvată, preferabil, sub forma unei compoziții farmaceutice adaptate unei astfel de căi, și într-o doză eficientă pentru tratamentul dorit. Compușii activi și compozițiile, de exemplu, pot fi administrate oral, rectal, parenteral sau local.

Administrarea orală a unei forme de doză solidă poate fi, de exemplu, prezentată în unități discrete, cum ar fi capsule tari sau moi, pastile, cașete, pastile sau tablete, fiecare conținând o cantitate predeterminată de cel puțin un compus din prezenta invenție. Într-o altă variantă

de realizare, administrarea orală poate fi sub formă de pulbere sau granule. Într-o altă variantă de realizare, forma de doză orală este sublinguală, cum ar fi, de exemplu, o pastilă. În astfel de forme de dozare solide, compușii din invenție sunt combinați, de obicei, cu unu sau mai mulți adjuvanți. Astfel de capsule sau tablete pot conține o formulare cu eliberare controlată. În cazul capsulelor, tabletelor și pilulelor, formele de dozare pot conține, de asemenea, agenți de tamponare, sau pot fi preparate cu acoperiri enterice.

Într-o altă variantă de realizare, administrarea orală poate fi într-o formă de doză lichidă. Formele de dozare lichide pentru administrare orală includ, de exemplu, emulsii acceptabile farmaceutic, soluții, suspensii, siropuri și elixiruri care conțin diluanți inerți utilizați în mod obișnuit în domeniu (de ex., apă). Astfel de compoziții pot cuprinde, de asemenea, adjuvanți, cum ar fi agenți de umectare, emulsionare, suspendare, aromatizare (de ex., îndulcire) și/sau agenți de parfumare.

Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție cuprinde o formă de doză parenterală. "Administrarea parenterală" include, de exemplu, injecții subcutanate, injecții intravenoase, injecții intraperitoneale, injecții intramusculare, injecții intrasternale și perfuzie. Preparatele injectabile (de ex., suspensii apoase sau oleaginoase injectabile sterile) pot fi formulate conform tehnicii cunoscute, utilizând agenți de dispersare, umectare și/sau agenți de suspendare adecvați.

Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție cuprinde o formă de doză topică. "Administrarea topică" include, de exemplu, administrare transdermică, cum ar fi prin plasturi transdermici sau dispozitive de iontoforeză, administrare intraoculară sau administrare intranasală sau prin inhalare. Compozițiile pentru administrare topică includ, de asemenea, de exemplu, geluri topice, spray-uri, unguente și creme. O formulare topică poate include un compus care îmbunătățește absorbția sau penetrarea ingredientului activ prin piele sau prin alte zone afectate. Atunci când compușii din această invenție sunt administrați printr-un dispozitiv transdermic, administrarea va fi realizată utilizând un plasture, fie de tip rezervor și membrană poroasă, fie dintr-o varietate de matrice solidă. Formulările tipice pentru acest scop includ geluri, hidrogeluri, loțiuni, soluții, creme, unguente, pulberi de praf, pansamente, spume, pelicule, plasturi pentru piele, plachete, implanturi, bureți, fibre, bandaje și microemulsii. Se pot utiliza, de asemenea, lipozomi. Purtătorii tipici includ alcool, apă, ulei mineral, vaselină lichidă, vaselină albă, glicerină, polietilenglicol și propilenglicol. Pot fi încorporați amplificatori de penetrare; vezi, de exemplu, J. Pharm. Sci., 88 (10), 955-958, a lui Finnin și Morgan (octombrie 1999)).

Formulările adecvate pentru administrare topică la ochi includ, de exemplu, picături pentru ochi, în care compusul din această invenție este dizolvat sau suspendat într-un purtător adecvat. O formulare tipică adecvată pentru administrare oculară sau în ureche poate fi sub formă de picături de o suspensie sau soluție micronizată în soluție salină sterilă izotonică, cu pH-ul ajustat. Alte formulări adecvate pentru administrare oculară și în ureche includ unguente, implanturi biodegradabile (de ex., bureți din gel absorbabil, collagen) și nebiodegradabile (de ex., silicon), implanturi, plachete, lentile și sisteme de particule sau vezicule, cum ar fi niozomi sau lipozomi. Un polimer, cum ar fi acid poliacrilic reticulat, alcool polivinilic, acid hialuronic, un polimer celulozic, de exemplu, hidroxipropilmetil celuloză, hidroxietil celuloză sau metil celuloză, sau un polimer heteropolizaharidic, de exemplu, gumă gelan, poate fi incorporat împreună cu un conservant, cum ar fi clorura de benzalconiu. Astfel de formulări pot fi elberate, de asemenea, prin iontoforeză.

Pentru administrare intranazală sau administrarea prin inhalare, compușii activi din invenție sunt eliberați în mod convenabil sub formă de soluție sau suspensie dintr-un recipient de pulverizare cu pompă care este stors sau pompat de către pacient, sau sub formă de aerosol prin pulverizare dintr-un recipient sub presiune sau dintr-un nebulizator, cu utilizarea unui propulsor adecvat. Formulările adecvate pentru administrare intranazală sunt administrate în mod obișnuit sub formă de pulbere uscată (fie singură, sub formă de amestec, de exemplu, într-un amestec uscat cu lactoză, fie sub formă de amestec de componente sub formă de particule, de exemplu, amestecat cu fosfolipide, cum ar fi fosfatidilcolină) dintr-un inhalator de pulbere uscată sau ca pulverizat de aerosoli dintr-un recipient sub presiune, pompă, spray, atomizor (preferabil, un atomizor care utilizează electrohidrodinamică pentru a produce o ceață fină) sau nebulizator, cu sau fără utilizarea unui propulsor adecvat, cum ar fi 1,1,1,2-tetrafluoretan sau 1,1,1,2,3,3,3-heptafluorpropan. Pentru utilizare intranazală, pulberea poate cuprinde un agent bioadeziv, de exemplu, chitosan sau ciclodextrină.

Într-o altă variantă de realizare, prezenta invenție cuprinde o formă de doză rectală. O astfel de formă de doză rectală poate fi, de exemplu, sub forma unui supozitor. Untul de cacao este o bază tradițională pentru supozitoare, dar pot fi folosite diferite alternative, după caz. Pot fi utilizate, de asemenea, alte materiale purtătoare și moduri de administrare cunoscute în domeniul farmaceutic. Compozițiile farmaceutice din invenție pot fi preparate prin oricare dintre tehnicile farmaceutice bine cunoscute, cum ar fi proceduri eficiente de formulare și administrare. Considerațiile de mai sus în ceea ce privește formulările eficiente și procedurile de administrare sunt bine cunoscute în domeniu și sunt descrise în manualele standard. Formularea de medicamente este discutată în, de exemplu, Hoover, John E.,

Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman și colab., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; și Kibbe și colab., Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients (Ed. a treia), American Pharmaceutical Association, Washington, 1999.

Compușii din prezenta invenție pot fi utilizați singuri sau în combinație cu alți agenți terapeutici, în tratamentul diferitelor afecțiuni sau stări de boală. Compusul (compușii) din prezenta invenție și alt agent (agenți) terapeutic pot fi administrați simultan (fie în aceeași formă de dozare, fie în forme de dozare separate) sau succesiv. Doi sau mai mulți compuși pot fi administrați simultan, concomitent sau succesiv. În plus, administrarea simultană poate fi efectuată prin amestecarea compușilor înainte de administrare sau prin administrarea compușilor la același moment de timp, dar în locuri anatomice diferite sau folosind diferite căi de administrare. Expresiile "administrare concomitentă", "co-administrare", "administrare simultană" și "administrat simultan" înseamnă că compușii sunt administrați în combinație.

Prezenta invenție include utilizarea unei combinații de un compus din invenție și unu sau mai mulți agenți terapeutici suplimentari. Dacă este administrată o combinație de agenți activi, atunci aceștia pot fi administrați succesiv sau simultan, în forme de dozare separate sau combinați într-o singură formă de dozare. În consecință, prezenta invenție include, de asemenea, compoziții farmaceutice care cuprind o cantitate de: (a) un prim agent care cuprinde un compus din invenție sau o sare acceptabilă farmaceutic a compusului; (b) un al doilea agent terapeutic; și (c) un purtător acceptabil farmaceutic. Compozițiile farmaceutice din invenție pot include, de asemenea, excipienți, diluanți, vehicule și purtători adecvați, precum și alți agenți activi farmaceutici, în funcție de utilizarea intenționată. În compozițiile farmaceutice pot fi folosiți purtători, diluanți, vehicule sau excipienți acceptabili farmaceutici solizi sau lichizi. Purtătorii solizi ilustrativi includ amidon, lactoză, sulfat de calciu dihidrat, terra alba, zaharoză, talc, gelatină, pectină, salcâm, stearat de magneziu și acid stearic. Purtătorii lichizi ilustrativi includ sirop, ulei de arahide, ulei de măsline, soluție salină și apă. Purtătorul sau diluantul poate include un material adecvat pentru eliberare prelungită, cum ar fi monostearat de gliceril sau distearat de gliceril, singur sau cu o ceară. Atunci când este utilizat un purtător lichid, preparatul poate fi sub formă de sirop, elixir, emulsie, capsulă de gelatină moale, lichid steril injectabil (de ex., soluție) sau o suspensie lichidă neapoasă sau apoasă.

O doză de compoziție farmaceutică poate să conțină cel puțin o cantitate eficientă terapeutică de un agent de inhibare a SARS-CoV-2 și, preferabil, este alcătuită din una sau mai multe

unități de dozare farmaceutică. Doza selectată poate fi administrată unui mamifer, de exemplu, unui pacient uman, care are nevoie de tratament mediat de inhibarea activității coronavirusului asociat cu SARS-CoV-2, prin orice metodă cunoscută sau adecvată de administrare a dozei, incluzând topic, de exemplu, sub formă de unguent sau cremă; oral; rectal, de exemplu, sub formă de supozitor; parenteral prin injectare; intravenos; sau continuu prin perfuzie intravaginală, intranazală, intrabronșică, intraaurală sau intraoculară. Expresiile "cantitate eficientă terapeutică" și "cantitate eficientă" se intenționează să însemne cantitatea de un agent inventiv care, atunci când este administrată unui mamifer care necesită tratament, este suficientă pentru a efectua tratamentul pentru leziuni sau stări de boală care sunt atenuate prin inhibarea replicării virale a SARS-CoV-2. Cantitatea de un anumit agent de inhibare a SARS-CoV-2 utilizată în metoda din invenție, care va fi eficientă terapeutică, va varia în funcție de factori, cum ar fi agentul particular de inhibare a SARS-CoV-2, starea bolii și severitatea acesteia, identitatea și caracteristicile mamiferului care are nevoie de acestea, cantitatea care poate fi determinată în mod obișnuit de către specialiștii în domeniu.

Se va aprecia că dozele reale de agenți de inhibare a SARS-CoV-2 utilizați în compozițiile farmaceutice din această invenție vor fi selectate în funcție de proprietățile agentului particular utilizat, de compoziția particulară formulată, de modul de administrare și de situsul particular, și de gazdă și de afecțiunea care sunt tratate. Dozele optime pentru un set dat de condiții pot fi stabilite de către specialiștii în domeniu utilizând teste convenționale de determinare a dozei. Pentru administrare orală, de exemplu, o doză care poate fi utilizată este de la aproximativ 0,01 până la aproximativ 1000 mg/kg de greutate corporală, preferabil, de la aproximativ 0,1 până la aproximativ 500 mg/kg de greutate corporală și, chiar mai preferabil, de la aproximativ 1 până la aproximativ 500 mg/kg de greutate corporală, cu cicluri de tratament repetate la intervale adecvate. Pentru administrare intravenoasă poate fi utilizată o doză de până la 5 grame pe zi. Administrarea intravenoasă poate avea loc pe perioade intermitente pe parcursul unei zile, sau continuu pe o perioadă de 24 de ore.

Termenii "cantitate care inhibă citocromul P450" și "cantitate care inhibă activitatea enzimei citocromului P450", așa cum sunt utilizați aici, se referă la o cantitate de un compus necesară pentru a scădea activitatea enzimelor citocromului P450 sau a unei anumite izoforme a enzimei citocromului P450 în prezența unui astfel de compus. Faptul că un anumit compus scade activitatea enzimei citocromului P450 și cantitatea de astfel de

compus necesară pentru a face acest lucru, poate fi determinat prin metode cunoscute specialiștilor în domeniu și prin metodele descrise aici.

Funcțiile proteinelor necesare pentru replicarea și transcripția coronavirusului sunt codificate de așa-numita genă "replicază". Două poliproteine suprapuse sunt traduse din această genă și procesate extensiv de proteaze virale. Regiunea C-proximală este procesată la unsprezece joncțiuni dintre domenii conservate de către proteaza principală sau "de tip 3C" a coronavirusului. Denumirea de protează "de tip 3C" provine din anumite asemănări dintre enzima coronavirusului și bine cunoscutele proteaze 3C picornavirus. Acestea includ preferințele de substrat, utilizarea cisteinei ca nucleofil de situs activ în cataliză și asemănări în pliurile lor polipeptidice generale presupuse. O comparație a secvenței de aminoacizi a proteazei de tip 3C a coronavirusului asociată cu SARS-CoV-2, cu cea a altor coronavirusuri cunoscute, cum ar fi SARS-CoV, arată că secvențele de aminoacizi au o omologie comună de aproximativ 96%.

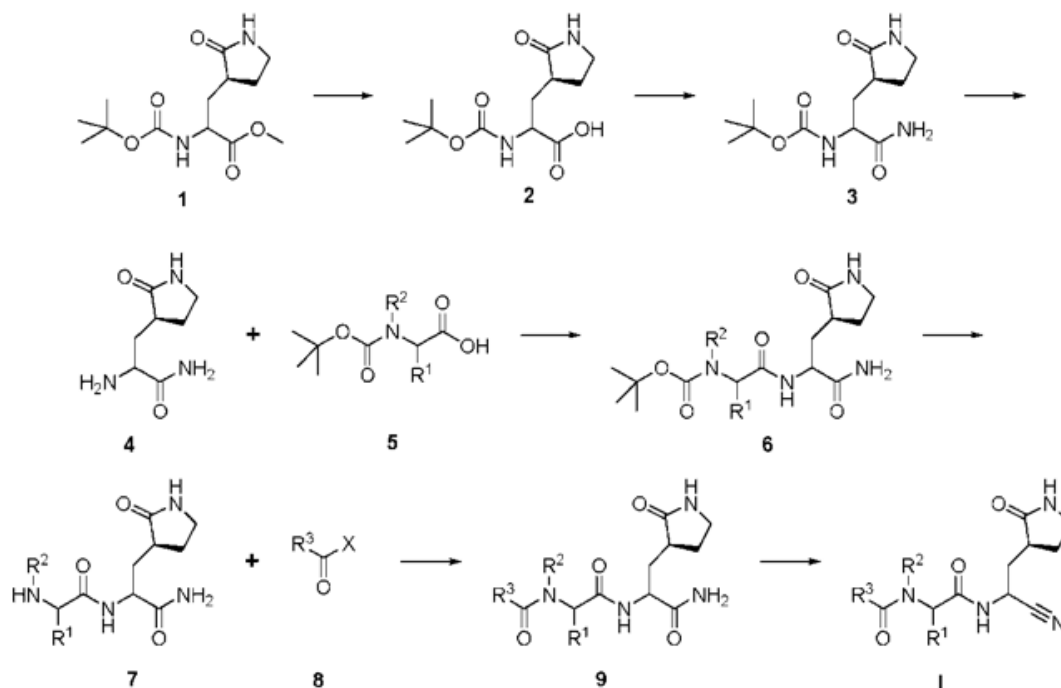
Aminoacizii substratului din situsul de scindare a proteazei sunt numerotați de la capătul N până la capătul C, după cum urmează: -P3-P2-P1-P1'-P2'-P3', cu scindare care apare între reziduurile P1 și P1' (Schechter & Berger, 1967). Specificitatea substratului este determinată în mare măsură de pozițiile P2, P1 și P1'. Specificitatea situsului principal de scindare a proteazei coronavirusului este foarte conservată, cu o cerință de glutamină la P1 și un mic aminoacid la P1' [Journal of General Virology, 83, pp. 595-599 (2002)].

Compușii din prezenta invenție pot fi preparați conform metodelor prezentate în Schemele de reacție 1 până la 3 de mai jos.

Schemele furnizate mai jos ilustrează și exemplifică suplimentar compușii din prezenta invenție și metodele de preparare a unor astfel de compuși. Trebuie înțeles că sfera de întindere a prezentei invenții nu este limitat în niciun fel prin sfera de întindere a următoarelor exemple și preparate. În următoarele exemple, moleculele cu un singur centru chiral pot exista sub forma unui singur enantiomer sau a unui amestec racemic. Acele molecule cu doi sau mai mulți centri chirali pot exista sub forma unui singur enantiomer, a unui amestec racemic, sau în altă formă de doi enantiomeri sau sub formă de diferite amestecuri de diastereomeri. Astfel de enantiomeri, racemați și diastereomeri pot fi obținuți și/sau separați prin metode cunoscute specialiștilor în domeniu. Se va aprecia de către un specialist în domeniu că anumite manipulări de sinteză pot epimeriza sau racemiza un stereocentru, iar condițiile de sinteză pot fi selectate, fie pentru a promova, fie pentru a descuraja o astfel de epimerizare sau racemizare.

Schema 1 ilustrează o secvență sintetică pentru prepararea compușilor cu Formula I, așa cum este arătat, în care esterul metilic N-BOC cu Formula 1 (WO 2005/113580) este transformată într-o amidă primară cu Formula 3 (N-BOC fiind N-*tert*-butoxicarbonil). Acest lucru poate fi realizat direct, de exemplu, prin tratare cu amoniac (NH₃) într-un vas sigilat într-un solvent, cum ar fi metanol sau etanol, de exemplu, opțional, în prezența unor aditivi cum ar fi clorură de calciu (CaCl₂) sau dimetoxid de magneziu, Mg(OMe)₂.

Schema 1



Transformarea compusului cu Formula 1 în compusul cu Formula 3 poate fi, de asemenea, efectuată prin transformare prealabilă în acidul carboxilic cu Formula 2 (WO 2005/113580). În acest caz, compusul cu Formula 2 poate fi transformat în compusul cu Formula 3 utilizând metode bine cunoscute specialiștilor în domeniu. De exemplu, compusul cu Formula 2 poate fi tratat cu un reactiv, cum ar fi hexafluorofosfat de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluroniu (HATU), clorformiat de izobutil, clorhidrat de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimidă (EDCI) și hidroxibenzotriazol (HOBt) sau 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), opțional, în prezența unei baze, cum ar fi N,N-diizopropiletilamină (DIEA), 4-metilmorfolină (NMM) sau trietilamină (TEA), urmată de tratament cu NH₃ administrat sub formă de gaz sau soluție într-un solvent compatibil cu reacția, sau cu o sare de NH₃ cum ar fi acetat de amoniu sau clorură de amoniu în prezența unei baze, cum ar fi N,N-diizopropiletilamină, 4-metilmorfolină sau trietilamină. Solvenții adecvați includ, dar nu sunt limitați la, diclormetan (CH₂Cl₂), N,N-dimetilformamidă (DMF), tetrahidrofuran (THF) sau acetonitril (CH₃CN).

Compusul cu formula **3** poate fi deprotejat de N, pentru a se obține o amină cu Formula **4**, folosind metode bine cunoscute specialiștilor în domeniu pentru efectuarea unor astfel de deprotejări. În mod frecvent, sunt utilizați reactivi acizi, cum ar fi acid clorhidric, acid metansulfonic sau acid trifluoracetic, de obicei, într-un solvent compatibil cu reacția, cum ar fi CH_2Cl_2 , 1,4-dioxan, 1,2-diclorețan sau CH_3CN . O persoană de specialitate în domeniu va aprecia că compusul cu Formula **4** se va obține frecvent sub formă de sare de adiție acidă. Compusul cu formula **4** poate fi apoi transformat într-un compus cu Formula **6** prin tratare cu compus aminoacid protejat cu N, cu Formula **5**, în condiții adecvate. Astfel de metode sunt bine cunoscute specialiștilor în domeniu și, în general, pot fi selectate condiții standard de cuplare a peptidei.

Compusul cu Formula **6** poate deprotejat de N pentru a se obține o amină cu Formula **7** folosind metode bine cunoscute specialiștilor în domeniu pentru efectuarea unor astfel de deprotejări. În mod frecvent, sunt utilizați reactivi acizi, cum ar fi acid clorhidric, acid metansulfonic sau acid trifluoracetic, de obicei, într-un solvent compatibil cu reacția, cum ar fi CH_2Cl_2 , 1,4-dioxan, 1,2-diclorețan sau CH_3CN . O persoană de specialitate în domeniu va aprecia că compusul cu Formula **7** se va obține frecvent sub formă de sare de adiție acidă. Compusul cu formula **7** poate fi apoi transformat într-un compus cu Formula **9** prin tratare cu un compus acid carboxilic cu Formula **8** în condiții adecvate. Astfel de metode sunt bine cunoscute specialiștilor în domeniu. De exemplu, atunci când X = un atom de clor, compusul acid carboxilic este cunoscut ca o clorură de acid, și reacția este desfășurată în prezența unei baze pentru a consuma halogenură de hidrogen HX produsă ca produs secundar al reacției. Exemple de baze adecvate includ, dar nu se limitează la, amine terțiare, cum ar fi 4-metilmorfolină, 2,6-dimetilpiridină sau N,N-diizopropiletilamină, sau baze anorganice, cum ar fi oxid de magneziu (MgO), carbonat de sodiu (Na_2CO_3), sau bicarbonat de potasiu (KHCO_3). Solvenții adecvați includ, dar nu sunt limitați la, CH_2Cl_2 , DMF, THF sau CH_3CN . Atunci când X = OH, se obișnuiește să se utilizeze un reactiv sau o combinație de reactivi pentru a facilita reacția compusului acid carboxilic cu Formula **8**. O persoană de specialitate în domeniu poate alege să utilizeze, de exemplu, un reactiv carbodiimidic, cum ar fi clorhidrat de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimidă (EDCI) sau N,N'-dicitlohexil carbodiimidă (DCC), opțional, în prezența unui nucleofil auxiliar, cum ar fi hidroxibenzotriazol (HOBt) sau 2-hidroxipiridin-N-oxid (HOPO). În plus, atunci când X = OH, un specialist în domeniu poate alege să utilizeze reactivi care sunt adecvați pentru formarea amestecurilor de anhidride carboxil/carbonice, cum ar fi CDI, izobutil sau cloroformiat de etil, frecvent, în prezența unei baze cum ar fi cea descrisă mai sus. Solvenții adecvați includ, dar

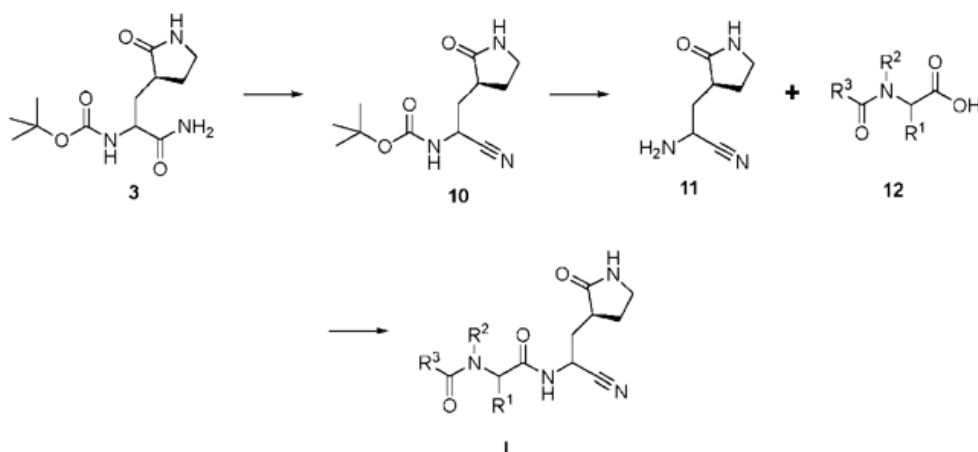
nu sunt limitați la, CH_2Cl_2 , THF sau CH_3CN . O altă abordare utilizată în mod obișnuit de către specialiștii în domeniu atunci când $\text{X} = \text{OH}$ este tratarea compusului acid carboxilic cu Formula **8** cu o clorură de acid carboxilic, de exemplu, cum ar fi Me_3CCOCl , în prezența unei baze, așa cum este descris mai sus, pentru a genera o anhidridă carboxilică amestecată cu Formula $\text{R}_3\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{O})\text{CCMe}_3$. Solvenții adecvați includ, dar nu sunt limitați la, CH_2Cl_2 , THF sau CH_3CN . În multe cazuri este posibil să se utilizeze o anhidridă simetrică a compusului acid carboxilic dorit cu Formula **8** pentru a efectua reacția, opțional, în prezența unei baze, cum ar fi cele descrise mai sus, caz în care $\text{X} = \text{O}(\text{O})\text{CR}_3$ și compusul acid carboxilic cu Formula **8** este deci $\text{R}_3\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{O})\text{CR}_3$. Solvenții adecvați includ, dar nu sunt limitați la, CH_2Cl_2 , THF sau CH_3CN .

Compusul cu Formula **9** poate fi transformat în compusul cu Formula **1** prin tratament în condiții de deshidratare bine cunoscute specialiștilor în domeniu. Frecvent, această etapă de deshidratare poate fi realizată folosind un exces de anhidridă trifluoracetică sau oxiclurură de fosfor, în general, în prezența unei baze, cum ar fi piridină, N,N-diizopropiletilamină, 4-metilmorfolină sau trietilamină.

O persoană de specialitate în domeniu va ști că aminoacizii din Formula **5** protejați cu N-BOC sunt cunoscuți în literatura din domeniul chimiei, sunt disponibili comercial și pot fi preparați din aminoacizii corespunzători cunoscuți și disponibili comercial de către un specialist în domeniu, utilizând proceduri bine consacrate pentru sinteza aminoacizilor protejați cu N. De asemenea, un specialist în domeniu va înțelege că compușii acid carboxilic cu Formula **8** pot fi cunoscuți în literatura de specialitate din domeniul chimiei și/sau sunt disponibili comercial și/sau pot fi preparați prin metode publicate sau prin analogie cu metodele publicate.

O persoană de specialitate în domeniu va aprecia că etapele de formare a legăturilor din Schema 1 pot fi efectuate într-o ordine diferită, cu aprecieri adecvate, de exemplu, așa cum este arătat în Schema 2.

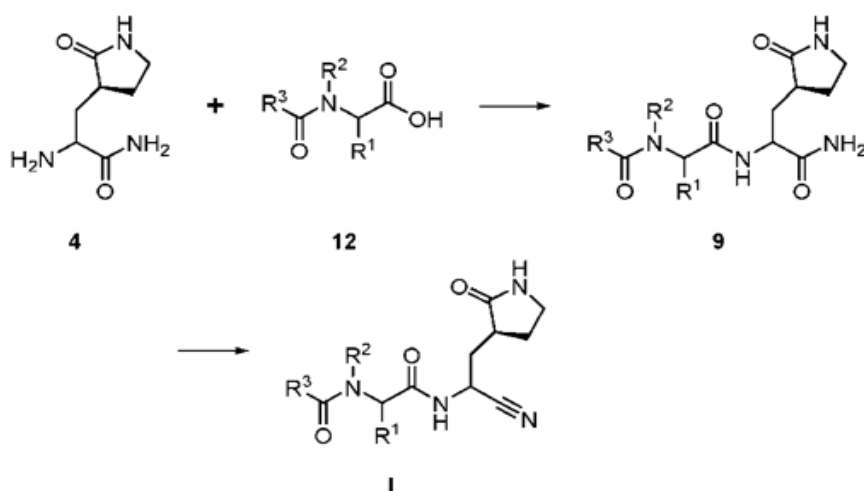
Schema 2



În Schema 2, compusul cu Formula **3** este transformat în compusul cu Formula **10** prin tratament în condiții de deshidratare bine cunoscute specialiștilor în domeniu. Frecvent, această etapă de deshidratare poate fi realizată folosind un exces de anhidridă trifluoracetică sau oxiclорură de fosfor, în general, în prezența unei baze, cum ar fi piridină, N,N-diizopropiletilamină, 4-metilmorfolină sau trietilamină. Compusul cu formula **10** este deprotejat de N pentru a se obține o amină cu Formula **11** folosind metode bine cunoscute specialiștilor în domeniu pentru efectuarea unor astfel de deprotejări. Frecvent, sunt utilizați reactivi acizi, cum ar fi acid clorhidric, acid metansulfonic sau acid trifluoracetic, de obicei, într-un solvent compatibil cu reacția, cum ar fi CH₂Cl₂, 1,4-dioxan, 1,2-diclorețan sau CH₃CN. O persoană de specialitate în domeniu va aprecia că compusul cu Formula **11** se va obține frecvent sub formă de sare de adiție acidă. Compusul cu formula **11** poate fi apoi transformat într-un compus cu Formula **I** prin tratare cu un compus cu Formula **12** în condiții adecvate. Astfel de metode sunt bine cunoscute specialiștilor în domeniu și, în general, pot fi selectate condiții standard de cuplare a peptidei. Compuși cu formula **12** sunt excepțional de bine cunoscuți în literatura de specialitate din domeniul chimiei, iar un specialist în domeniu poate alege să prepare orice compus dat cu Formula **12** folosind metode analoge celor descrise în literatura de specialitate din domeniul chimiei.

O persoană de specialitate în domeniu va aprecia că etapele de formare a legăturilor din Schemele 1 și 2 pot fi desfășurate în încă alte diverse succesiuni, cu aprecieri adecvate, de exemplu, așa cum este prezentat în Schema 3.

Schema 3



În Schema 3, compusul cu Formula 4 poate fi apoi transformat într-un compus cu Formula 9 prin tratare cu un compus cu Formula 12 în condiții adecvate. Astfel de metode sunt bine cunoscute specialiștilor în domeniu și, în general, pot fi selectate condiții standard de cuplare a peptidei. Compuși cu formula 12 sunt excepțional de bine cunoscuți în literatura de specialitate din domeniul chimiei, iar un specialist în domeniu poate alege să prepare orice compus dat cu Formula 12 folosind metode analoge celor descrise în literatura de specialitate din domeniul chimiei. Compusul cu formula 9 este apoi transformat în compusul cu Formula I prin tratare în condiții de deshidratare bine cunoscute specialiștilor în domeniu. Frecvent, această etapă de deshidratare poate fi realizată folosind un exces de anhidridă trifluoracetică sau oxiclорură de fosfor, în general, în prezența unei baze, cum ar fi piridină, N,N-diizopropiletilamină, 4-metilmorfolină sau trietilamină.

O persoană de specialitate în domeniu va recunoaște că încă mai multe permutări ale etapelor de formare a legăturilor și manipulărilor grupărilor funcționale din Schemele 1, 2 și 3 pot fi aplicate cu aprecieri adecvate. Astfel de permutări în selectarea ordinii etapelor sunt bine cunoscute în literatura de specialitate din domeniul chimiei, și, dacă dorește, un specialist în domeniu poate consulta literatura de specialitate din domeniul chimiei pentru îndrumări suplimentare. O persoană de specialitate în domeniu va recunoaște că pot fi făcute alte selecții de grupări protectoare și reactivi pentru efectuarea diverselor transformări.

EXEMPLE

Proceduri experimentale

Următoarele ilustrează sinteza diversilor compuși din prezenta invenție. Compuși suplimentari din sfera de întindere a acestei invenții pot fi preparați utilizând metodele

ilustrate în aceste Exemple, fie singure, fie în combinație cu tehnici cunoscute în general în domeniu. Toate materiile prime din aceste Preparate și Exemple sunt, fie disponibile comercial, fie pot fi preparate prin metode cunoscute în domeniu sau așa cum este descris aici.

Toate reacțiile au fost efectuate utilizând agitare continuă într-o atmosferă de azot sau argon gazos, cu excepția cazului în care se specifică altfel. Atunci când este cazul, aparatele de reacție au fost uscate în vid dinamic folosind un pistol cu aer cald și solvenți anhidri (au fost folosite produse Sure-Seal™ de la Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin sau produse DriSolv™ de la EMD Chemicals, Gibbstown, NJ). În unele cazuri, solvenții comerciali au fost trecuți prin coloane pline cu site moleculare de 4Å, până când au fost atinse următoarele standarde QC pentru apă: a) <100 ppm pentru diclormetan, toluen, *N,N*-dimetilformamidă și tetrahidrofuran; b) <180 ppm pentru metanol, etanol, 1,4-dioxan și diizopropilamină. Pentru reacții foarte sensibile, solvenții au fost tratați în plus cu sodiu metalic, hidrură de calciu sau site moleculare, și au fost distilați chiar înainte de utilizare. Alți solvenți și reactivi comerciali au fost utilizați fără purificare suplimentară. Pentru sintezele care fac referire la proceduri din alte Exemple sau Metode, condițiile de reacție (timpul de reacție și temperatura) pot varia. Produsele au fost, în general, uscate în vid înainte de a fi transmise la reacții ulterioare sau de a fi supuse testelor biologice.

Atunci când a fost indicat, reacțiile au fost încălzite prin iradiere cu microunde utilizând microunde Biotage Initiator sau Personal Chemistry Emrys Optimizer. Progresul reacției a fost monitorizat folosind analize de cromatografie în strat subțire (TLC), cromatografie de lichid - spectrometrie de masă (LCMS), cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC) și/sau cromatografie de gaz - spectrometrie de masă (GCMS). TLC a fost efectuată pe plăci de silicagel acoperite în prealabil cu un indicator de fluorescență (lungime de undă de excitare de 254 nm) și colorarea a fost vizualizată la lumină UV și/sau cu I₂, KMnO₄, CoCl₂, acid fosfomolibdic și/sau molibdat de amoniu ceric. Datele LCMS au fost achiziționate pe un instrument Agilent din seria 1100 cu un automat de probe Leap Technologies, coloane Gemini C18, gradienti acetonitril/apă și modificatori de acid trifluoracetic, acid formic sau hidroxid de amoniu. Eluatul coloanei a fost analizat utilizând un spectrometru de masă Waters ZQ prin scanare în moduri, atât de ioni pozitivi, cât și negativi, de la 100 până la 1200 Da. Au fost folosite și alte instrumente similare. Datele HPLC au fost în general obținute pe un instrument din seria Agilent 1100, utilizând coloanele indicate, gradienti acetonitril/apă și modificatori de acid trifluoracetic sau hidroxid de amoniu. Datele GCMS au fost obținute utilizând un cuptor Hewlett Packard 6890 cu un injector HP 6890, coloană HP-

1 (12 m x 0,2 mm x 0,33 μ m) și gaz purtător de heliu. Proba a fost analizată pe un detector selectiv de masă HP 5973 care a scanat de la 50 până la 550 Da utilizând ionizare de electroni. Purificările au fost efectuate prin cromatografie de lichid de performanță medie (MPLC) folosind instrumente Isco CombiFlash Companion, AnaLogix IntelliFlash 280, Biotage SP1 sau Biotage Isolera One și cartușe de silice Isco RediSep sau Biotage Snap umplute în prealabil. Purificările chirale au fost efectuate prin cromatografie de fluid chirală supercritică (SFC), utilizând în general instrumente Berger sau Thar; coloane, cum ar fi coloane ChiralPAK-AD, -AS, -IC, Chiralcel-OD sau -OJ; și amestecuri de CO₂ cu metanol, etanol, 2-propanol sau acetonitril, singure sau modificate folosind acid trifluoracetic sau propan-2-amină. Detectarea UV a fost folosită pentru a declanșa colectarea fracțiunilor. Pentru sinteze care fac referire la proceduri din alte exemple sau metode, purificările pot varia: în general, solvenții și rapoartele de solvenți utilizați pentru eluanți/gradienți au fost selectate pentru a se obține R_s sau timpii de retenție adecvați.

Datele de spectrometrie de masă sunt raportate din analizele LCMS. Spectrometria de masă (MS) a fost efectuată prin ionizare chimică la presiune atmosferică (APCI), ionizare prin electropulverizare (ESI), ionizare prin impact de electroni (EI) sau ionizare prin împrăștiere a electronilor (ES). Deplasările chimice de spectroscopie magnetică nucleară de protoni (¹H RMN) sunt date în părți per milion în jos de la tetrametilsilan, și au fost înregistrate pe spectrometre Varian, Bruker sau Jeol de 300, 400, 500 sau 600 MHz. Deplasările chimice sunt exprimate în părți per milion (ppm, δ) raportate la vârfurile reziduale de solvent deuterat (cloroform, 7,26 ppm; CD₂HOD, 3,31 ppm; acetonitril-*d*₂, 1,94 ppm; dimetil sulfoxid-*d*₅, 2,50 ppm; DHO, 4,79 ppm). Formele vârfurilor sunt descrise după cum urmează: s, singlet; d, dublet; t, triplet; q, cvartet; quin, cvintet; m, multiplet; br s, singlet larg; app, aparent. Datele analitice SFC au fost în general achiziționate pe un instrument analitic Berger, așa cum este descris mai sus. Datele de rotație optică au fost achiziționate pe un polarimetru PerkinElmer model 343 folosind o celulă de 1 dm. Microanalizele au fost efectuate cu Quantitative Technologies Inc. și au fost în 0,4% din valorile calculate.

Cu excepția cazului în care se menționează altfel, reacțiile chimice au fost efectuate la temperatura camerei (aproximativ 23 de grade Celsius).

Cu excepția cazului în care se menționează altfel, toți reactanții au fost obținuți comercial și au fost utilizați fără purificare suplimentară sau au fost preparați folosind metode cunoscute în literatură.

Termenii "concentrat", "evaporat" și "concentrat *in vid*" se referă la îndepărtarea solventului la presiune redusă pe un evaporator rotativ cu o temperatură a băii mai mică decât 60 °C.

Abrevierile "min" și "h" reprezintă "minute" și, respectiv, "ore". Termenul "TLC" se referă la cromatografia în strat subțire, "temperatura camerei sau temperatura ambiantă" înseamnă o temperatură între 18 și 25 °C, "GCMS" se referă la cromatografie de gaz - spectrometrie de masă, "LCMS" se referă la cromatografie de lichid - spectrometrie de masă, "UPLC" se referă la cromatografie de lichid de ultra-performanță, "HPLC" se referă la cromatografie de lichid de înaltă performanță, iar "SFC" se referă la cromatografie de fluid supercritic.

Hidrogenarea poate fi efectuată într-un agitator Parr în hidrogen gazos presurizat, sau într-un aparat de hidrogenare cu flux Thales-nano H-Cube la hidrogen complet și un debit între 1-2 ml/min la temperatura specificată.

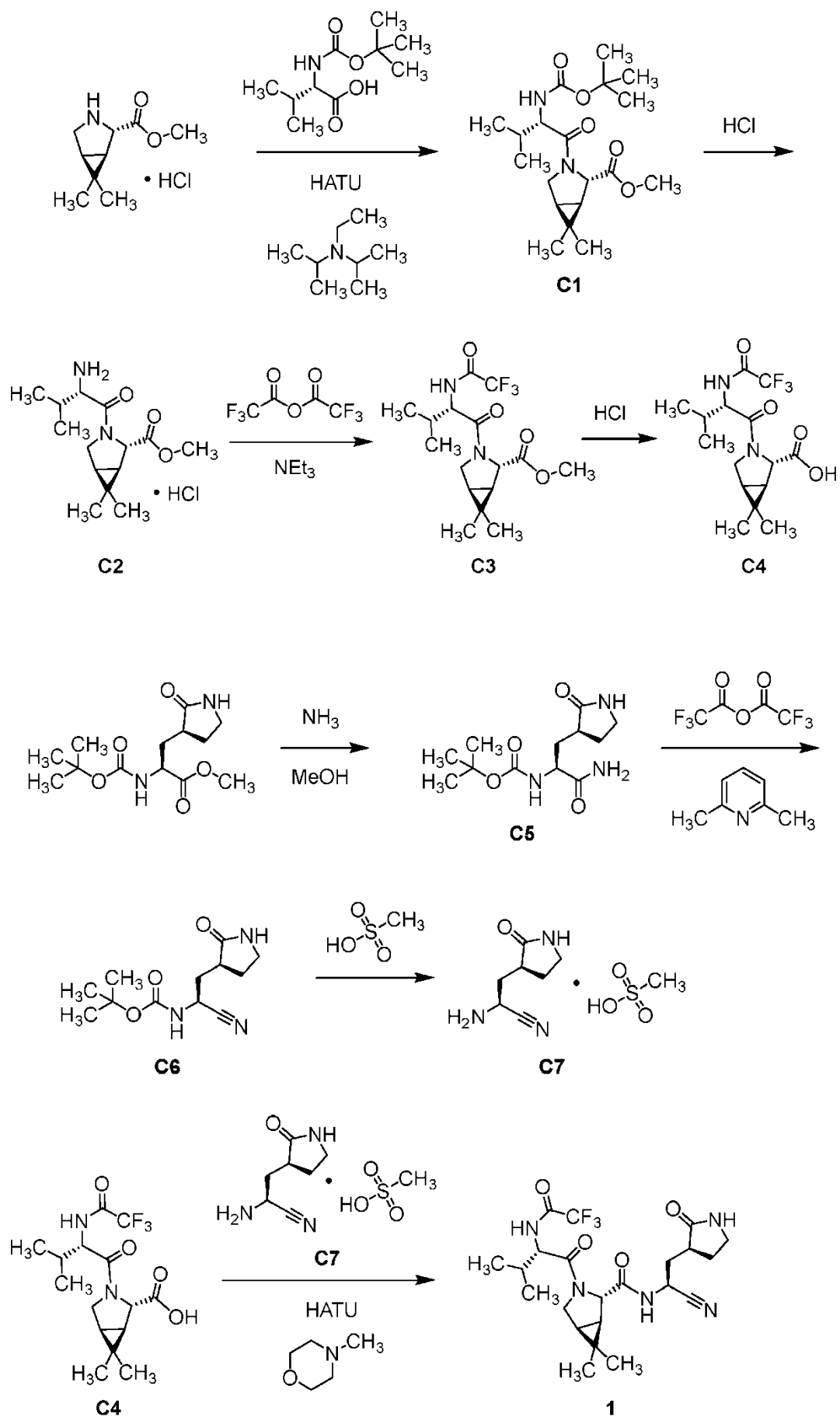
Timpii de retenție la HPLC, UPLC, LCMS, GCMS și SFC au fost mășurați folosind metodele menționate în proceduri.

În unele exemple, separările chirale au fost efectuate pentru a separa enantiomerii sau diastereomerii anumitor compuși din invenție (în unele exemple, enantiomerii separați sunt denumiți ENT-1 și ENT-2, conform ordinii lor de eluare; în mod similar, diastereomerii separați sunt denumiți DIAST-1 și DIAST-2, în funcție de ordinea lor de eluare). În unele exemple, rotația optică a unui enantiomer a fost măsurată folosind un polarimetru. Conform datelor sale de rotație observate (sau a datelor sale specifice de rotație), un enantiomer cu o rotație în sensul acelor de ceasornic a fost denumit enantiomer (+) și un enantiomer cu o rotație în sens invers acelor de ceasornic a fost denumit enantiomer (-). Compușii racemici sunt indicați, fie prin absența stereochemiei desenate sau descrise, fie prin prezența (+/-) adiacent structurii; în acest ultim caz, stereochemia indicată reprezintă doar unul dintre cei doi enantiomeri care alcătuiesc amestecul racemic.

Compușii și intermediarii descriși mai jos au fost denumiți folosind convenția de denumire furnizată de către ACD/ChemSketch 2019.1.1, versiunea fișierului C05H41, Build 110712 (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Ontario, Canada). Convenția de denumire furnizată de către ACD/ChemSketch 2019.1.1 este bine cunoscută de către specialiștii în domeniu și se crede că convenția de denumire furnizată de către ACD/ChemSketch 2019.1.1 este în general compatibilă cu recomandările IUPAC (Uniunea Internațională pentru Chimie Pură și Aplicată) privind Nomenclatura în Chimia Organică și cu regulile pentru indicele CAS.

Exemplul 1

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (1)



Etapa 1. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*terț*-butoxicarbonil)-*L*-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C1).

O soluție de *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-*L*-valină (69,7 g, 321 mmoli) într-un amestec de acetonitril și *N,N*-dimetilformamidă (10:1, 1,10 L) la 0 °C a fost tratată cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronium (HATU; 122 g, 321 mmoli), urmat de *N,N*-diizopropiletilamină (127 mL, 729 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat timp de 5 minute, a fost adăugat (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de metil, sare clorhidrat (60,0 g, 292 mmoli), și agitarea a fost continuată la 0°C timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu soluție apoasă de acid citric (1 N; 50 ml) și apă (100 ml), a fost agitat timp de 2 minute și a fost concentrat *in vid* până la aproximativ jumătate din volumul inițial. Amestecul rezultat a fost împărțit între acetat de etil și apă, și stratul apos a fost extras de trei ori cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost apoi spălate de trei ori cu apă și o dată cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Reziduul a fost agitat într-o cantitate minimă de acetat de etil și apoi a fost filtrat; materialul insolubil a fost spălat cu acetat de etil până a devenit alb. Filtratele combinate au fost concentrate la presiune redusă și apoi au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Eluent: acetat de etil/heptan 1:1), obținându-se **C1** sub forma unui ulei galben. Randament: 109 g, cantitativ. LCMS *m/z* 369,3 [L+H]⁺. ¹H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,1 Hz, 1H), 3,86 (dd, componentă a sistemului AB, *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).

Etapa 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-*L*-valil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil, sare clorhidrat (C2).

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 15 mL, 60 mmoli) a fost adăugată la o soluție **C1** (1,00 g, 2,71 mmoli) în acetat de etil (50 mL) la 0 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 2 ore, după care a fost adăugat suplimentar acid clorhidric în soluție de 1,4-dioxan (4 M; 10 mL, 40 mmoli) și agitarea a fost continuată la 0 °C timp de 3 ore, apoi la temperatura camerei timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost apoi tratat cu o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 10 mL, 40 mmoli) și metanol (15 mL) și a fost lăsat să se agite peste noapte la temperatura camerei. Concentrarea *in vid* a condus la obținere de **C2** sub forma unei gume; acest material a fost utilizat în reacții chimice ulterioare fără purificare suplimentară și s-a presupus că reacția este cantitativă. LCMS *m/z* 269,3

[M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a cvartetului AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,09 - 0,88 (m, 12H).

Etapă 3. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C3).

A fost adăugată trietilamină (1,55 mL, 11,1 mmoli) la o soluție de **C2** (1,0 g, 3,3 mmoli) în diclormetan (37 mL) la 0 °C, urmată de adăugarea prin picurare de anhidridă trifluoracetică (0,57 mL, 4,0 mmoli) timp de 30 minute. Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 30 de minute, după care a fost diluat cu diclormetan (100 ml), a fost spălat succesiv cu soluție apoasă de bisulfat de potasiu 10% (50 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (30 ml), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid* pentru a se obține **C3** sub forma unui ulei galben-deschis. Randament: 1,2 g, 3,3 mmoli, cantitativ. LCMS *m/z* 365,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (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).

Etapă 4. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C4).

Acid clorhidric concentrat (0,57 mL, 6,6 mmoli) a fost adăugat la o soluție de **C3** (1,25 g, 3,43 mmoli) într-un amestec de acid acetic (40,8 mL) și apă (8,2 mL). Amestecul de reacție a fost încălzit la 55°C timp de 3 zile, după care a fost împărțit între apă (50 ml) și acetat de etil (100 ml). Stratul apos a fost extras cu acetat de etil (2 x 50 ml), și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (50 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține **C4** sub forma unei spume albe. Randament: 1,00 g, 2,85 mmoli, 83%. LCMS *m/z* 351,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, cloroform-*d*), vârfuri caracteristice: δ 4,56 - 4,44 (m, 2H), 2,24 - 2,12 (m, 1H), [1,66 (d, componentă a cvartetului AB, *J* = 7,5 Hz) și 1,59 - 1,47 (m), 2H total], 1,10 - 1,01 (m, 6H), 0,96 - 0,91 (m, 6H).

Etapă 5. Sinteza de {(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}carbamatului de *terț*-butil (C5).

O soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 150 mL, 1,0 mol) a fost adăugată la o soluție de *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninat de metil (5,00 g, 17,5 mmoli) în metanol (25 mL) la 0 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 zile, acesta a fost concentrat *in vid*; reziduul a fost diluat și concentrat din nou

succesiv cu un amestec de acetat de etil și heptan (1:1, 4 x 50 ml) urmat de heptan (50 ml) pentru a se obține **C5** sub forma unui solid (5,27 g, presupus cantitativ) care conținea solvent rezidual. O parte din acest material a fost utilizată în etapa următoare. LCMS m/z 216,2 [(M-2-metilprop-1-en)+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 4,16 - 3,96 (m, 1H), 3,40 - 3,27 (m, 2H, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Etapă 6. Sinteza {(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}carbamatului de *terț*-butil (C6).

2,6-Dimetilpiridină (2 mL, 17 mmoli) și anhidridă trifluoracetică (0,94 mL, 6,6 mmoli) au fost adăugate la o soluție de **C5** (din etapa anterioară; 1,0 g, ≤3,3 mmoli) în diclormetan (12 mL) la 0 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1,5 ore, după care a fost tratat cu acid clorhidric (1 M; 30 mL) și diclormetan (60 mL). Stratul organic a fost spălat succesiv cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (30 ml) și soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 ml), a fost uscat pe sulfat de sodiu și a fost concentrat *in vid*; cromatografia pe silicagel (Gradient: 40% până la 100% acetat de etil în heptan) a condus la obținerea de **C6** sub forma unui solid. Randament: 737 mg, 2,91 mmoli, 88% în 2 etape. LCMS m/z 254,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 4,72 (dd, *J* = 9,3, 6,8 Hz, 1H), 3,39 - 3,27 (m, 2H, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Etapă 7. Sinteza (2S)-2-amino-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propanenitril, sare metansulfonat (C7).

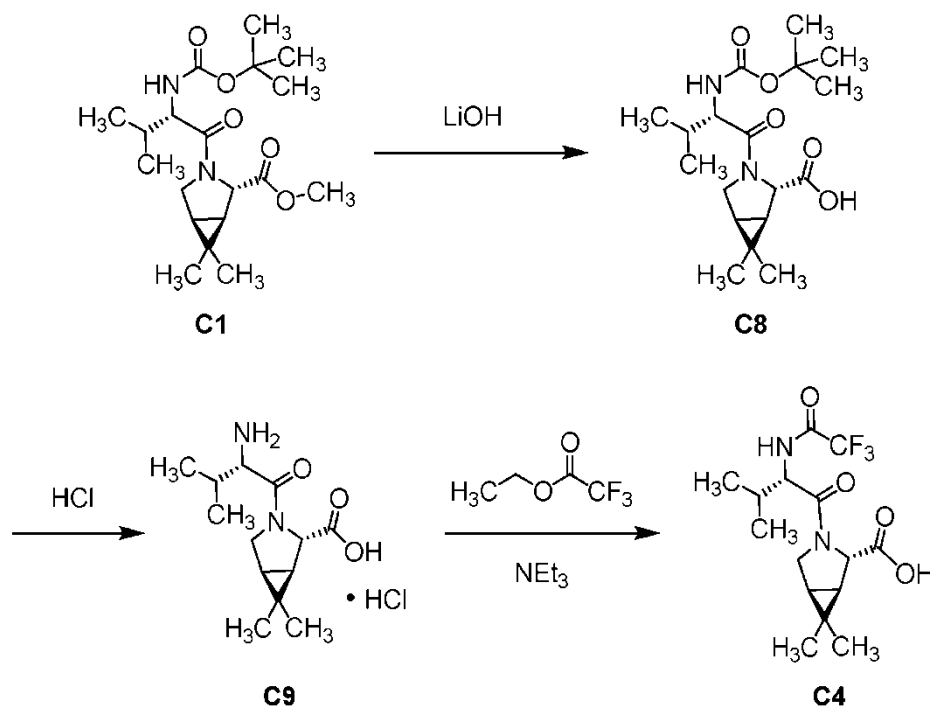
La o soluție de **C6** (317 mg, 1,25 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (3 mL) a fost adăugat acid metansulfonic (81,2 μL, 1,25 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 45 de minute, acesta a fost concentrat *in vid*, apoi a fost preluat în mod repetat într-un amestec de solvenți și a fost concentrat din nou: acetonitril și acetat de etil (1:1, 2 x 10 ml), urmate de acetat de etil și heptan (1:1, 2 x 10 ml). **C7** rezultat a fost obținut sub forma de sticlă (423 mg), care a fost lipsit de epimerul de nitril prin analiză ¹H și ¹³C RMN. O parte din acest material a fost utilizată în reacții ulterioare fără purificare suplimentară. LCMS m/z 154,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (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).

Etapa 8. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (1).

Un amestec de **C7** (din etapa anterioară; 98,8 mg, ≤0,292 mmoli) și **C4** (100 mg, 0,285 mmoli) în acetonitril (1,5 ml) a fost răcit la 0°C. A fost adăugat hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU, 97%; 112 mg, 0,286 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (94,0 μL, 0,855 mmoli) în acetonitril (0,5 mL), iar amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de aproximativ 2 ore. Soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 mL) a fost apoi adăugată la amestecul de reacție la 0 °C, urmată de diclormetan (50 mL), și stratul organic a fost spălat cu acid clorhidric (1 M; 30 mL). Straturile apoase combinate au fost extrase cu diclormetan (60 ml), după care straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, concentrate *in vid*, și au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în acetat de etil). Deoarece materialul rezultat a fost apreciat prin RMN și LCMS ca fiind contaminat cu un epimer al produsului, acesta a fost apoi purificat prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 × 100 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 8,54 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,46 minute; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**1**). Randament: 14,6 mg, 30,1 μmoli, 11%. LCMS *m/z* 486,5 [L+H]⁺. Timp de retenție: 2,33 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis C18, 4,6 × 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v). Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut. Debit: 2 ml/minut).

Sintează alternativă a C4

Acid (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C4)



Etapa 1. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*terț*-butoxicarbonil)-*L*-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C8).

O soluție apoasă de hidroxid de litiu (2,0 M; 436 mL, 872 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C1** (107 g, 290 mmoli) în tetrahidrofuran (730 mL). După ce amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de aproximativ 2 ore, acesta a fost diluat cu apă și acetat de etil, apoi a fost tratat cu soluție apoasă 1 M de hidroxid de sodiu. Stratul apos a fost spălat cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost extrase de trei ori cu soluție apoasă de hidroxid de sodiu 1 M, până când analiza LCMS a indicat că **C8** a fost complet îndepărtat din stratul organic. Acidifierea straturilor apoase combinate la pH 2 a fost efectuată prin adăugare de acid clorhidric concentrat, după care amestecul a fost extras de trei ori cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate; a rezultat triturarea rezidului cu heptan **C8** sub forma unui solid alb. Randament: 92,8 g, 262 mmoli, 90%. LCMS m/z 355,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 4,32 (s, 1H), 4,05 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,5$ Hz, 1H), 4,01 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,88 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,4$, 5,3 Hz, 1H), 2,03 - 1,91 (m, 1H), 1,57 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 7,5$, 5,2 Hz, 1H), 1,50 (d, jumătate din cvartetul 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).

Etapa 2. Sinteza acidului (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-L-valil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic, sare clorhidrat (C9).

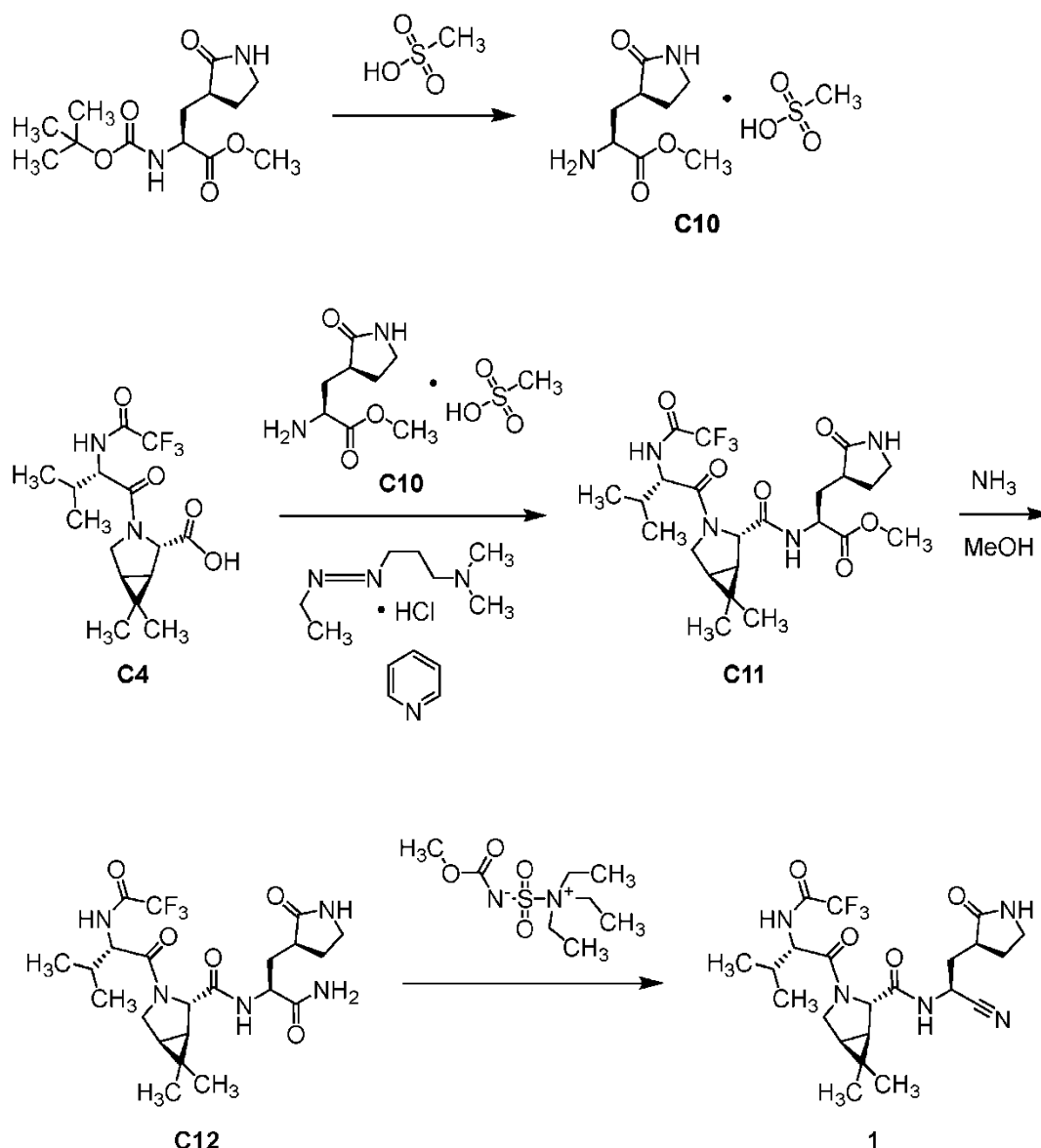
La o soluție de **C8** (82,8 g, 234 mmoli) în diclormetan (230 mL) a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4,0 M; 409 mL, 1,64 moli). Amestecul de reacție a fost agitat peste noapte la temperatura camerei, după care a fost concentrat *in vid*, pentru a se obține **C9** sub forma unei spume albe. Acest material a fost folosit direct în etapa următoare. LCMS m/z 255,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 4,42 (s, 1H), 4,05 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,89 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,5, 5,2$ Hz, 1H), 3,74 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,5$ Hz, 1H), 2,36 - 2,25 (m, 1H), 1,62 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 7,5, 5,1$ Hz, 1H), 1,57 (d, jumătate din cvartetul 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).

Etapa 3. Sinteza acidului (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C4).

O soluție de **C9** (din etapa anterioară; ≤ 234 mmoli) în metanol (230 mL) a fost răcită la 0 °C, a fost tratată cu trietilamină (66,7 mL, 479 mmoli) și a fost agitată timp de 5 minute, după care a fost adăugat încet trifluoracetat de etil (36,1 mL, 303 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la temperatura camerei timp de 90 de minute, acesta a fost concentrat *in vid*. Reziduul a fost diluat cu apă, soluție apoasă de hidroxid de sodiu 1 M și acetat de etil, și stratul organic rezultat a fost extras de două ori cu soluție apoasă de hidroxid de sodiu 1 M. Straturile apoase combinate au fost acidificate la pH 2 prin adăugare de acid clorhidric 1 M, apoi au fost extrase de trei ori cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost spălate cu apă și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*, obținându-se **C4** sub forma unei spume albe. Randament: 73,4 g, 210 mmoli, 90% în 2 etape. LCMS m/z 351,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,4$ Hz, 1H), 3,81 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,5, 5,0$ Hz, 1H), 2,18 - 2,05 (m, 1H), 1,54 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 7,7, 4,6$ Hz, 1H), 1,42 (d, jumătate din cvartetul 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).

Sinteza alternativă din Exemplul 1

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (1)



Eta pa 1. Sinteza 3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninatului de metil, sare metansulfonat (**C10**).

La o soluție de *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninat de metil (10,1 g, 35,3 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (70 mL) a fost adăugat acid metansulfonic (2,30 mL, 35,4 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 70 de minute, analiza LCMS a indicat că materia primă a fost transformată în **C10**: LCMS m/z 187,2 $[\text{L}+\text{H}]^+$. Amestecul de reacție a fost concentrat *in vid*, iar reziduul a fost dizolvat din nou de două ori, urmată de concentrare la presiune redusă, într-un amestec de acetonitril și acetat de etil (1:1, 2 x 20 ml). Materialul rezultat a fost preluat într-un amestec de acetonitril și acetat de etil (1:1, 30 ml), a fost concentrat, apoi a fost dizolvat din nou de două ori în acetat de etil (2 x 40 ml) și a fost concentrat. Reziduul a fost triturat

cu acetat de etil (60 mL) pentru a se obține **C10**. Randament: 9,87 g, 35,0 mmoli, 99%. ^1H RMN (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).

Etapă 2. Sinteza N -{((1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-il}carbonil)-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninatului de metil (C11**).**

La o soluție de **C10** (2,76 g, 9,78 mmoli) și **C4** (3,43 g, 9,79 mmoli) în acetonitril (40 mL) de 0 °C a fost adăugat clorhidrat de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimidă (1,88 g, 9,81 mmoli), urmat de adăugarea prin picurare de piridină (2,37 mL, 29,3 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 2,25 ore, după care a fost tratat cu acid clorhidric (1 M; 50 ml) și a fost extras cu acetat de etil (150 ml). Stratul organic a fost spălat succesiv cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (50 ml), soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (50 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (50 ml), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vacuo*. Reziduul a fost preluat în metil *terț*-butil eter (30 ml) și a fost concentrat la presiune redusă, iar sticla rezultată a fost agitată cu metil *terț*-butil eter (50 ml) la temperatura camerei peste noapte. După filtrare, turta de filtrare a fost spălată cu metil *terț*-butil eter (3 x 6 mL) pentru a se obține **C11** sub forma unui solid, care, prin analiză ^1H RMN, a conținut substanțial metil *terț*-butil eter rezidual. O parte din acest material a fost utilizată în etapa următoare. Randament: 3,74 g; corectat pentru metil *terț*-butil eter rezidual: 2,94 g, 5,67 mmoli, 58%. LCMS m/z 519,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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, componentă a sistemului ABX₂, $J = 7,7, 3,1$ Hz, 1H), 1,49 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,09 (s, 3H), 1,02 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,99 - 0,95 (m, 6H).

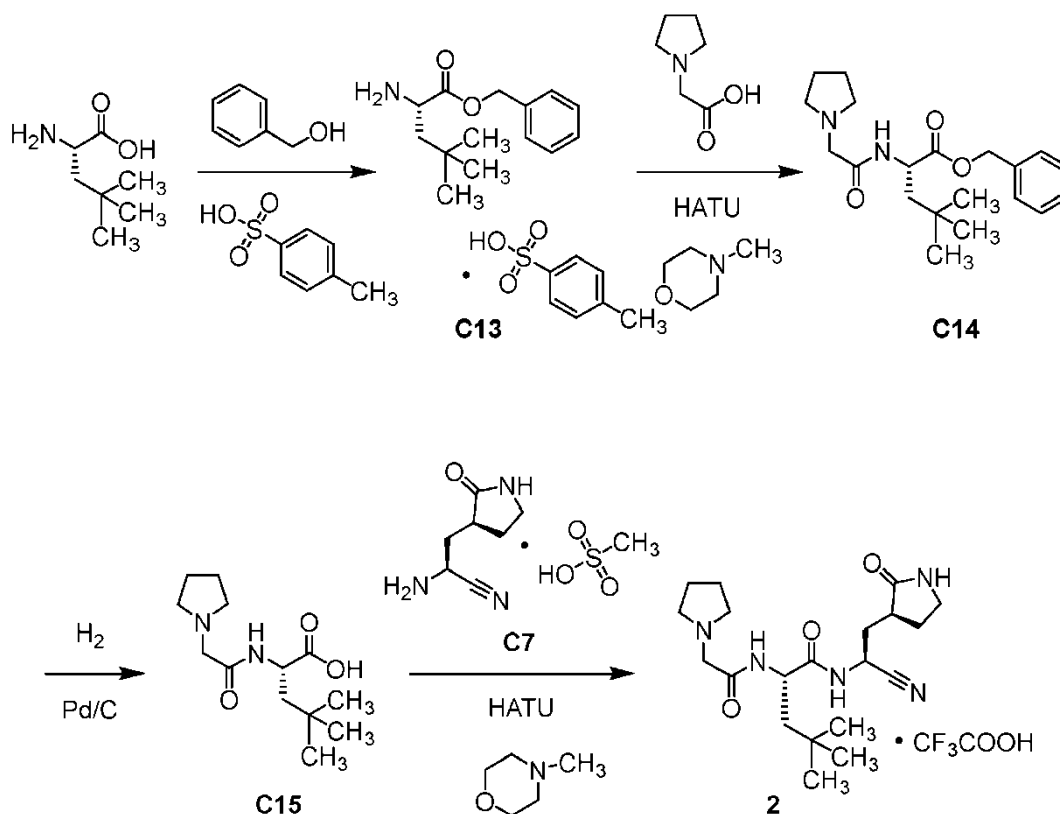
Etapă 3. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)- N -{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-[*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C12**).**

O soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 5 mL, 40 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C11** (din etapa anterioară: 205 mg, 0,311 mmoli) în metanol (1 mL). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de 1,5 ore, după care a fost adăugată din nou o

soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 5 mL, 40 mmoli), și agitarea a fost continuată peste noapte. Amestecul de reacție a fost apoi tratat pentru a treia oară cu aceeași cantitate de amoniac în metanol; după încă 8 ore de reacție, a fost concentrat *in vid*. Reziduul a fost diluat și concentrat din nou succesiv cu acetat de etil (2 x 20 ml) și un amestec de acetat de etil și heptan (1:1, 2 x 20 ml). Materialul rezultat a fost dizolvat în diclormetan (50 mL), a fost spălat cu acid clorhidric (1 M; 30 mL) și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (30 mL), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid* pentru a se obține **C12** sub forma unui solid. Randament: 87 mg, 0,17 mmoli, 55%. LCMS m/z 504,5 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 8,68 (d, $J = 7,9$ Hz, <1H, schimbat incomplet cu solvent), 4,44 (ddd, $J = 11,9, 7,9, 4,0$ Hz, 1H), 4,37 - 4,26 (m, 2H), 4,01 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,3, 5,1$ Hz, 1H), 3,94 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,2$ Hz, 1H), 3,39 - 3,24 (m, 2H, presupus; în mare parte ascuns de vârful solventului), 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, componentă a sistemului ABX, $J = 7,5, 5$ Hz, 1H), 1,54 (d, jumătate din cvartetul 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).

Etapă 4. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabaciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (1).

N-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 88,4 mg, 0,371 mmoli), a fost adăugat la o soluție de **C12** (85,0 mg, 0,17 mmoli) în diclormetan (4,0 mL), și amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei. După 3 ore, *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 20 mg, 84 μ moli) a fost adăugat din nou; 30 de minute mai târziu, amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (60 ml), a fost spălat succesiv cu acid clorhidric (1 M; 30 ml), soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (30 ml), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Reziduul a fost preluat în heptan și a fost concentrat din nou înainte de a fi purificat prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 5% metanol în acetat de etil). (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabaciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**1**) a fost izolată sub forma unui solid. Randament: 35 mg, 72 μ moli, 42%. LCMS m/z 486,5 $[L+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; în mare parte ascuns de vârful solventului), 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).

Exemplul 2 (doar pentru referință)***N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-metil-*N*²-(pirolidin-1-ilacetil)-*L*-leucinamidă, sare trifluoracetat (2)****Etapa 1. Sinteza 4-metil-L-leucinatului de benzil, sare a acidului *p*-toluensulfonic (C13).**

O suspensie de 4-metil-L-leucină (9,5 g, 65 mmoli), alcool benzilic (28,3 g, 262 mmoli) și acid *p*-toluensulfonic monohidrat (14,9 g, 78,3 mmoli) în toluen (200 ml) a fost încălzită la reflux peste noapte; a fost folosită o capcană Dean-Stark pentru a îndepărta azeotropic apa rezultată. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat *in vid*, după care reziduul a fost diluat cu dietil eter (200 ml) și acetat de etil (100 ml). Suspensia rezultată a fost agitată timp de 1,5 ore și a fost filtrată; turta de filtrare a fost spălată cu dietil eter pentru a se obține **C13** sub forma unui solid alb. Randament: 24,9 g, 61,1 mmoli, 94%. LCMS *m/z* 236,3 [L+H]⁺. ¹H RMN (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 (cvartet AB, *J*_{AB} = 12,3 Hz, Δ*v*_{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).

Etapa 2. Sinteza 4-metil-*N*-(pirolidin-1-ilacetil)-L-leucinatului de benzil (C14).

Un amestec de **C13** (800 mg, 1,96 mmoli) și acid pirolidin-1-ilacetic (254 mg, 1,97 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (4 ml) la 0 °C a fost tratat cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 746 mg, 1,96 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (0,496 mL, 4,51 mmoli) în diclormetan (1 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 2 ore, a fost adăugată soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 ml) la 0°C; amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (2 x 60 mL), și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Purificarea prin cromatografie pe silicagel a fost efectuată de două ori (Gradient: 0% până la 20% acetat de etil în heptan, urmată de o a doua purificare cromatografică folosind 0% până la 10% acetat de etil în heptan), pentru a se obține **C14** sub forma unei gume (761 mg). Acest material a fost utilizat direct în etapa următoare. LCMS *m/z* 347,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 7,40 - 7,29 (m, 5H), 5,16 (cvartet AB, *J*_{AB} = 12,2 Hz, Δ*v*_{AB} = 11,1 Hz, 2H), 4,56 (dd, *J* = 9,0, 3,1 Hz, 1H), 3,76 (cvartet AB, *J*_{AB} = 15,6 Hz, Δ*v*_{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).

Etapă 3. Sinteza 4-metil-*N*-(pirolidin-1-ilacetil)-L-leucinei (C15**).**

La o soluție de **C14** (din etapa anterioară; 760 mg, ≤1,96 mmoli) în metanol (5 mL) a fost adăugat paladiu pe cărbune (76,0 mg). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei sub hidrogen (50 psi) peste noapte, după care analiza LCMS a indicat transformarea în **C15**: LCMS *m/z* 257,4 [M+H]⁺. Amestecul de reacție a fost filtrat de două ori printr-un filtru de 0,15 μm, și filtratul a fost concentrat *in vid*. Reziduul a fost dizolvat de două ori într-un amestec de acetat de etil și heptan (1:1, 2 x 20 ml), urmat de concentrare la presiune redusă; aceasta a condus la obținerea de **C15** sub forma unui solid (646 mg). Porțiuni din acest material au fost utilizate în reacții chimice ulterioare fără purificare suplimentară. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 14,3, 3,0 Hz, 1H), 1,56 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 14,3, 9,2 Hz, 1H), 0,90 (s, 9H).

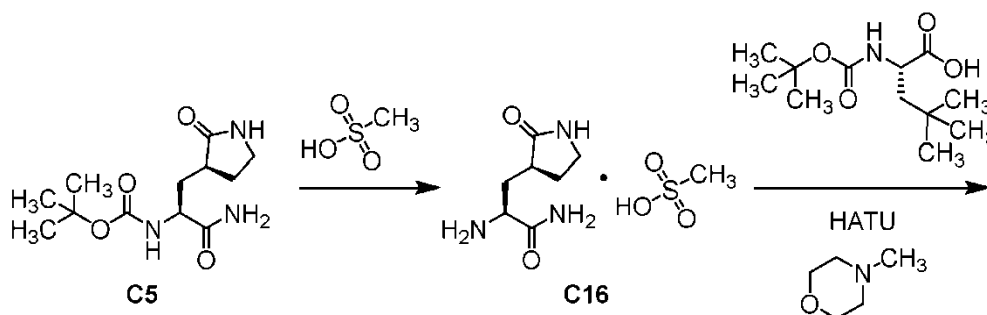
Etapă 4. Sinteza *N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil-*N*²-(pirolidin-1-ilacetil)-L-leucinamidei, sare trifluoracetat (2).

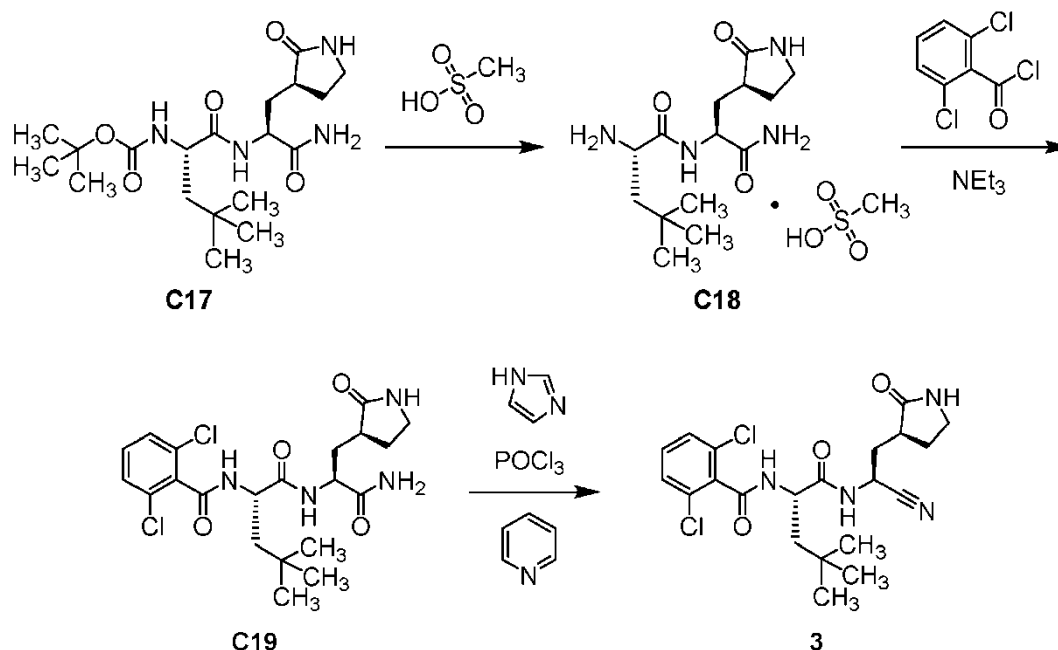
Un amestec de **C15** (din etapa anterioară; 30 mg, ≤91 μmoli) și **C7** (din Etapa 7 din Exemplul 1; 35,3 mg, ≤0,104 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (1 ml) a fost răcit la 0°C și a fost tratat cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU, 97%; 39,9 mg, 0,102 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (28,0 μL, 0,255

mmoli) în diclormetan (0,25 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de aproximativ 1,5 ore, acesta a fost diluat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3 mL) la 0 °C și a fost extras cu diclormetan (4 x 4 mL). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vacuo* și au fost purificate prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 × 100 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5% până la 25% B pe parcursul a 8,5 minute, apoi 25% până la 95% acetonitril timp de 0,5 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține *N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil-*N*²-(pirolidin-1-ilacetil)-*L*-leucinamidă, sare trifluoracetat (**2**) sub forma unei gume. Randament: 8,1 mg, 16 μmoli, 18% în 3 etape. LCMS *m/z* 392,6 [M+H]⁺. Timp de retenție: 1,47 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis C18, 4,6 × 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v). Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut. Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 3 (doar pentru referință)

N-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-(2,6-diclorbenzoil)-4-metil-*L*-leucinamidă (**3**)





Etapa 1. Sinteza 3-[(3S)-2-oxopiperidin-3-il]-L-alaninamidei, sare metansulfonat (C16).

La o soluție de **C5** (6,13 g, <19 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (40 mL) a fost adăugat acid metansulfonic (1,83 g, 19 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, după care a fost concentrat *in vid*, a fost suspendat din nou într-un amestec de toluen și heptan, și a fost concentrat încă o dată, obținându-se o sticlă higroscopică (7,47 g). O porțiune din acest material (6,47 g) a fost diluată și a fost concentrată din nouă succesiv cu următoarele: un amestec de diclormetan și etanol (2:3, 2 x 50 mL); acetat de etil și etanol (2:3, 50 ml); acetat de etil, heptan și diclormetan (4:4:1, 2 x 50 ml). Materialul rezultat a fost dizolvat într-un amestec de acetonitril și apă (1:1, 22 ml) și a fost liofilizat timp de 2 zile pentru a se obține **C16** sub forma de sticlă. Randament: 3,23 g, 12,1 mmoli, 73% în 2 etape. LCMS m/z 172,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (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).

Etapa 2. Sinteza *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-4-metil-L-leucil-3-[(3S)-2-oxopiperidin-3-il]-L-alaninamidei (C17).

O soluție de **C16** (1,34 g, 5,02 mmoli) și *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-4-metil-L-leucină (1,28 g, 5,22 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (7,0 ml) la 0 °C a fost tratată cu hexafluorfosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU, 97%; 2,04 g, 5,20 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (1,43 mL, 13,0 mmoli) în diclormetan (3 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 2,25 ore, acesta a fost stins la 0°C prin

adăugare de acid clorhidric (1 M; 30 ml) și apoi a fost diluat cu diclormetan (50 ml). Stratul organic a fost spălat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 ml), și straturile apoase combinate au fost extrase cu diclormetan (60 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și suspendate/concentrate cu heptan (3 × 10 ml). Purificarea reziduului prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în acetat de etil) a condus la obținerea de **C17** sub forma unui solid. Randament: 1,42 g, 3,56 mmoli, 71%. LCMS m/z 399,4 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 6,83 (d, $J = 7,4$ Hz, <1H, schimbat incomplet cu solvent), 4,43 (dd, $J = 11,2, 4,2$ Hz, 1H), 4,11 - 4,05 (m, 1H), 3,38 - 3,24 (m, 2H, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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, componentă a sistemului ABX, $J = 14,4, 3,2$ Hz, 1H), 1,51 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 14,4, 9,3$ Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 0,97 (s, 9H).

Etapa 3. Sinteza 4-metil-L-leucil-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei, sare metansulfonat (C18).

Acid metansulfonic (32,6 μ L, 0,502 mmoli) a fost adăugat la o soluție de **C17** (200 mg, 0,502 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (1,5 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 40 de minute, după care a fost concentrat *in vid*, a fost dizolvat în acetat de etil și a fost concentrat încă o dată, pentru a se obține **C18** sub forma unui solid (238 mg). Cea mai mare parte a acestui material a fost folosită în etapa următoare. LCMS m/z 299,4 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Etapa 4. Sinteza N-(2,6-diclorbenzoil)-4-metil-L-leucil-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C19).

O suspensie de **C18** (din etapa anterioară: 234 mg, $\leq 0,49$ mmoli) în diclormetan (2 mL) la 0 °C a fost tratată cu trietilamină (170 μ L, 1,2 mmoli) urmată de adăugarea prin picurare a unei soluții de clorură de 2,6-diclorbenzoil (130 mg, 0,621 mmoli) în diclormetan (0,2 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, după care a fost diluat cu diclormetan (60 mL), apoi a fost spălat cu acid clorhidric (1 M; 30 mL) urmat de soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 mL). Stratul organic a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat, concentrat *in vid*, și a fost supus cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% metanol în acetat de etil) pentru a se obține **C19**. Randament: 120 mg,

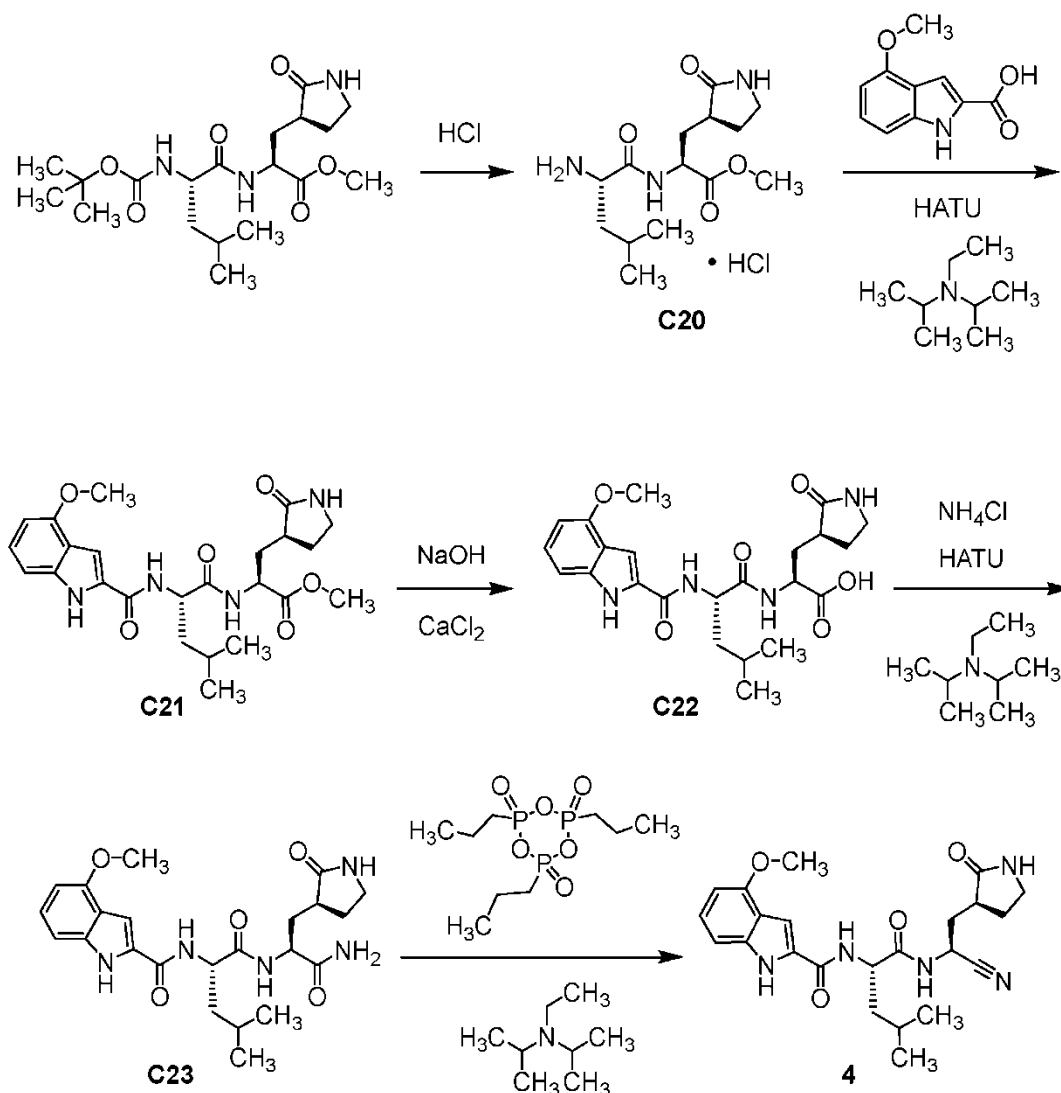
0,255 mmoli, 52% în 2 etape. LCMS m/z 471,4 (a fost observat model de izotop dicloro) $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 8,45 (d, $J = 7,9$ Hz, $<1H$, schimbat incomplet cu solvent), 7,45 - 7,35 (m, 3H), 4,59 (dd, $J = 7,8, 4,5$ Hz, 1H), 4,52 - 4,44 (m, 1H), 3,37 - 3,24 (m, 2H, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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, componentă a sistemului ABX, $J = 14,4, 7,8$ Hz, 1H), 1,03 (s, 9H).

Etapă 5. Sinteza N -{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- N^2 -(2,6-diclorbenzoil)-4-metil-L-leucinamidei (3).

O soluție de **C19** (90 mg, 0,19 mmoli) și 1H-imidazol (33,8 mg, 0,496 mmoli) în piridină (1 ml) a fost răcită într-o baie de acetone/gheață carbonică (-35 °C). La aceasta a fost adăugată oxiclurură de fosfor (0,100 mL, 1,07 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la -30 °C până la -20 °C. După 30 de minute, a fost adăugată piridină (2 ml) pentru a facilita agitarea; după 1 oră, a fost adăugat diclormetan (2 mL) din același motiv. La 2 ore de reacție, a fost adăugată din nou oxiclurură de fosfor (0,100 mL, 1,07 mmoli) și agitarea a fost continuată timp de 30 de minute la -30 °C, după care amestecul de reacție a fost încălzit la 0 °C și a fost agitat timp de încă 40 de minute. Apoi a fost tratat cu acid clorhidric (1 M; 30 ml) și a fost extras cu diclormetan (2 x 60 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 15% metanol în acetat de etil) pentru a se obține un solid (67 mg). Acest material a fost combinat cu produsul (12 mg) dintr-o reacție similară efectuată folosind **C19** (30 mg, 64 μ moli) și a fost preluat de două ori în acetat de etil (2 x 3 mL), urmat de concentrare la presiune redusă. Reziduul a fost agitat cu un amestec de acetat de etil și heptan (1:3, 4 ml) la temperatura camerei timp de 40 de minute și a fost filtrat; turta de filtru a fost spălată cu un amestec de acetat de etil și heptan (1:3, 5 x 2 mL), pentru a se obține N -{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- N^2 -(2,6-diclorbenzoil)-4-metil-L-leucinamidă (**3**) sub forma unui solid. Randament combinat: 70 mg, 0,15 mmoli, 59%. LCMS m/z 453,3 (a fost observat model de izotop dicloro) $[M+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,70 - 2,59 (m, 1H), 2,42 - 2,29 (m, 2H), 1,95 - 1,77 (m, 3H), 1,67 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 14,4, 7,0$ Hz, 1H), 1,04 (s, 9H).

Exemplul 4 (doar pentru referință)

***N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**4**)**



Etapa 1. Sinteza L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninului de metil, sare clorhidrat (C20**).**

O soluție de *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninat de metil (vezi Prior, A.M., și colab., Bioorg. Med. Chim. Lett. 2013, 23, 6317-6320; 2,0 g, 5,0 mmoli) într-un amestec de metanol (2 mL) și o soluție de acid clorhidric în acetat de etil (4 M; 20 mL) a fost agitată la 25°C timp de 1 oră. Concentrarea *in vid* a condus la obținerea de **C20** sub forma unui solid alb (1,92 g, presupus cantitativ). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), vârfuri caracteristice: 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de

solvent), 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).

Etapă 2. Sinteza *N*-(4-metoxi-1*H*-indol-2-carbonil)-*L*-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninatului de metil (C21).

Hexafluorofosfat de *O*-(7-Azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluroni (HATU; 494 mg, 1,30 mmoli) și *N,N*-diizopropiletilamină (388 mg, 3,00 mmoli) au fost adăugate la o soluție de **C20** (dintr-un experiment la scară mai mică similar cu Etapa 1; 336 mg, $\leq 0,840$ mmoli) și acid 4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxilic (159 mg, 0,832 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (6 mL) la 0 °C. Soluția a fost agitată la 0 °C timp de 1,5 ore, după care a fost turnată în apă/gheață (10 ml) și a fost extrasă cu acetat de etil (3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Eluent: 10:1 diclormetan/metanol) a condus la obținerea de **C21** sub forma unui ulei galben. Randament: 380 mg, 0,804 mmoli, 97%. LCMS m/z 473,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a cvartetului 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).

Etapă 3. Sinteza *N*-(4-metoxi-1*H*-indol-2-carbonil)-*L*-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninei (C22).

La un amestec sub agitare de clorură de calciu (0,887 g, 7,99 mmoli) și hidroxid de sodiu (0,168 g, 4,20 mmoli) în 2-propanol (7 mL) și apă (3 mL) a fost adăugat **C21** (1,8 g, 3,8 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 20°C timp de 6 ore, după care a fost concentrat *in vid*, a fost diluat cu apă (4 ml), ajustat la pH 4 prin adăugare de acid clorhidric 1 M, și a fost extras cu acetat de etil (3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Prin cromatografie pe silicagel (Eluent: 10:1: 0,1 diclormetan/metanol/acid acetic) a rezultat **C22** sub forma unui solid galben. Randament: 1,76 g, 3,84 mmoli, 100%. LCMS m/z 459,2 $[L+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, cloroform- d), vârfuri caracteristice: 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).

Etapă alternativă 3. Sinteza *N*-(4-metoxi-1*H*-indol-2-carbonil)-*L*-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninei (C22).

O soluție de **C21** (20 mg, 42 μ mol) în tetrahidrofuran (0,4 mL) a fost tratată cu o soluție apoasă care conține hidroxid de litiu (14,2 mg, 0,593 mmol). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 2,5 ore, acesta a fost diluat cu acetat de etil și a fost spălat cu soluție apoasă de bisulfat de potasiu 10%. Stratul organic a fost apoi uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*, pentru a se obține **C22** sub forma unui solid alb. Randament: 20 mg, cantitativ. LCMS m/z 459,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,27 (s, 1H), 7,14 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 8, 8$ Hz, 1H), 7,02 (d, componentă a cvartetului 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).

Etapă 4. Sinteza *N*-(4-metoxi-1*H*-indol-2-carbonil)-*L*-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninamidei (C23**).**

La o soluție de **C22** (1,76 g, 3,84 mmol) și clorură de amoniu (0,246 g, 4,60 mmol) în *N,N*-dimetilformamidă (15 ml) la 0 °C au fost adăugate hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroni (HATU; 1,90 g, 5,00 mmol) și *N,N*-diizopropiletilamină (1,49 g, 11,5 mmol). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 1,5 ore, *N,N*-diizopropiletilamină (2,3 g, 18 mmol) a fost utilizată pentru a ajusta pH-ul la 8. Amestecul de reacție a fost agitat timp de încă 30 de minute, după care a fost turnat într-un amestec de acid clorhidric (1 M; 20 ml, 20 mmol) și gheață. Amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (3 x 10 mL); straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu acid clorhidric (1 M; 10 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (10 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Eluent: 10:1 diclormetan/metanol), obținându-se **C23** sub forma unui solid galben. Randament: 1,09 g, 2,38 mmol, 62%. LCMS m/z 458,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 8, 8$ Hz, 1H), 7,06 (br s, 1H), 7,00 (d, componentă a cvartetului 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).

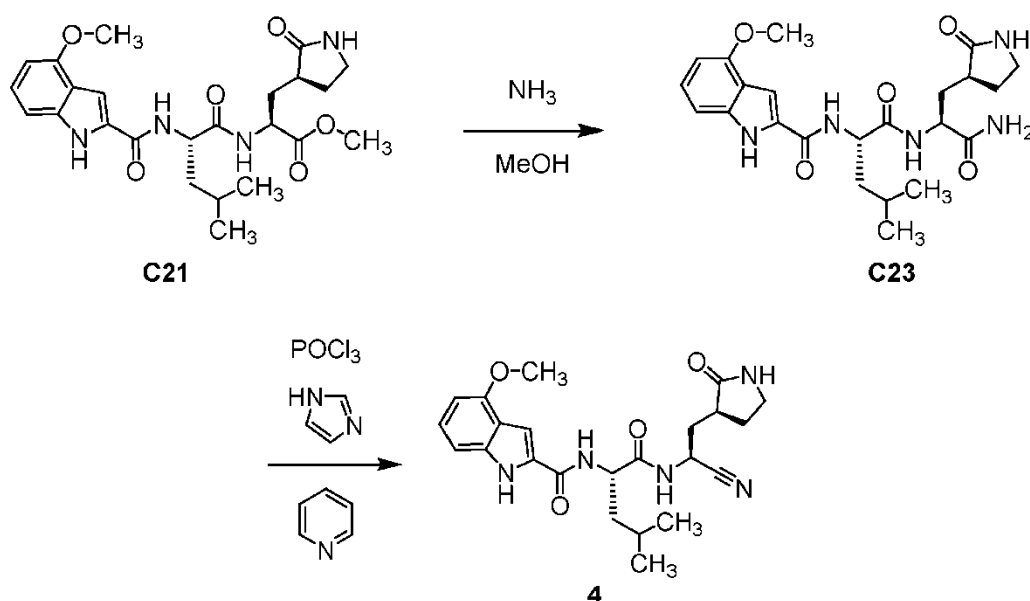
Etapă 5. Sinteza *N*-[(2*S*)-1-[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidei (4**).**

La un amestec de **C23** (500 mg, 1,09 mmol) și *N,N*-diizopropiletilamină (565 mg, 4,37 mmol) în tetrahidrofuran (8 mL) la 0 °C a fost adăugat 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-

1,3,5,2,4,6-trioxatrifosfinan (soluție 50% în greutate în acetat de etil: 2,78 g, 4,37 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 50°C timp de 3 ore, acesta a fost concentrat *in vacuo*, a fost diluat cu apă (5 ml) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 5 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vacuo*; cromatografia pe silicagel (Eluent: 10:1 diclormetan/metanol) urmată de purificare prin HPLC în fază inversă (Coloană: YMC-Actus Triart C18, 50 x 250 mm, 7 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,225% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 18% până la 58% B; Debit: 25 ml/minut) a condus la obținerea *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**4**) sub forma unui solid galben. Randament: 130 mg, 0,296 mmoli, 27%. LCMS *m/z* 440,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 8, 8 Hz, 1H), 7,00 (d, componentă a cvartetului 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).

Sinteza alternativă din Exemplul 4 (doar pentru referință)

N-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**4**)



Etapă 1. Sinteza *N*-[(4-metoksi-1*H*-indol-2-il)carbonil]-L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C23**).**

O soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 21 ml, 150 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C21** (500 mg, 1,06 mmoli) în metanol (2,0 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 6 ore, a fost adăugată din nou o soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 7,0 mL, 49 mmoli) și agitarea a fost continuată peste noapte. A fost adăugată din nou o soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 7,0 mL, 49 mmoli) și a fost continuată agitarea timp de 24 de ore, după care a fost efectuată o tratare finală cu o soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 7,0 mL, 49 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat încă o zi, moment în care a fost concentrat *in vid*. Reziduul a fost combinat cu produsul unei reacții similare (350 mg din 512 mg izolate) efectuată folosind **C21** (500 mg, 1,06 mmoli), și amestecul a fost dizolvat în mod repetat în acetat de etil (5×10 mL) și a fost concentrat la presiune redusă, obținându-se **C23** (835 mg). Acest material a fost folosit direct în etapa următoare. LCMS m/z 458,4 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 7,29 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 7,15 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 8, 8$ Hz, 1H), 7,03 (br d, componentă a cvartetului 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

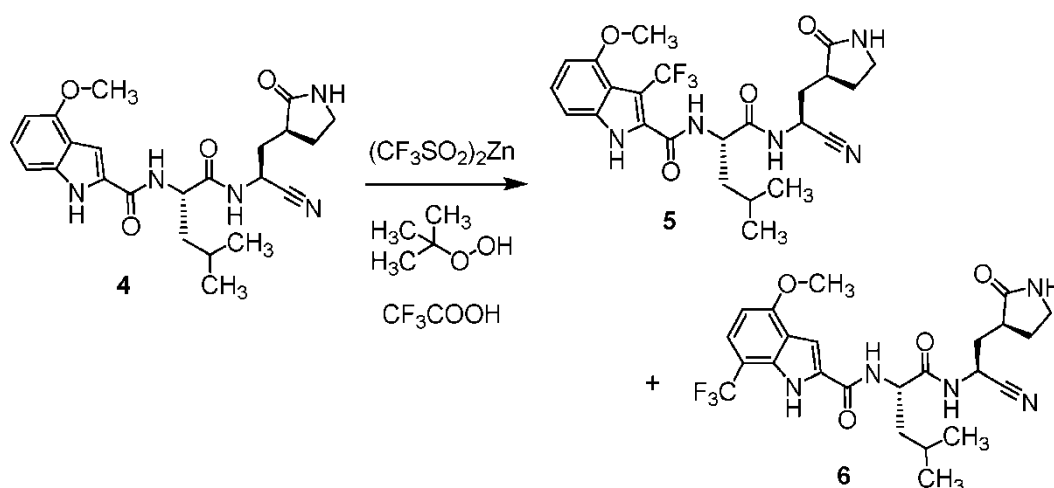
Etapă 2. Sinteza *N*-[*(2S)*-1-({*(1S)*-1-ciano-2-[(*(3S)*-2-oxopirolidin-3-il)etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidei (4**).**

O soluție de **C23** (din etapa anterioară; 835 mg, $\leq 1,78$ mmoli) și 1*H*-imidazol (323 mg, 4,74 mmoli) într-un amestec de piridină (4 mL) și diclormetan (4 mL) a fost răcită la $-35^\circ C$ folosind o baie de acetonitril/gheață carbonică, după care a fost adăugată prin picurare oxiclurură de fosfor (0,956 mL, 10,2 mmoli) timp de 5 minute. Reacția a fost agitată la o temperatură între $-30^\circ C$ și $-20^\circ C$ timp de aproximativ 1,5 ore, apoi a fost tratată cu acid clorhidric (1 M; 50 ml) și a fost agitată timp de 1 oră. După extracție cu diclormetan (3×60 mL), straturile organice rezultate au fost combinate, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Reziduul a fost combinat cu **4** purificat dintr-un lot diferit (75 mg, 0,17 mmoli) și au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 5% metanol în acetat de etil) pentru a se obține **4** sub forma unui solid (800 mg). Acest material a fost combinat cu produsul (80 mg) dintr-o reacție similară efectuată folosind **C23** (161 mg, 0,352 mmoli); materialul rezultat a fost agitat în dietil eter (25 ml) timp de 3 zile, după care a fost filtrat. Turta de filtrare a fost spălată cu un amestec de dietil eter și heptan (1:1, 4×2 mL) pentru a se obține *N*-[*(2S)*-1-({*(1S)*-1-ciano-2-[(*(3S)*-2-oxopirolidin-3-il)etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-

indol-2-carboxamidă (**4**) sub forma unui solid. Randament combinat: 519 mg, 1,18 mmoli, aproximativ 50% în 2 etape. LCMS m/z 440,5 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 8, 8$ Hz, 1H), 7,00 (d, componentă a cvartetului 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).

Exemplele 5 și 6 (doar pentru referință)

N-[(2S)-1-({(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă (**5**) și *N*-[(2S)-1-({(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă (**6**)



La un flacon cu eliberarea presiunii, care conține trifluormetansulfat de zinc (II) (98%, 2,44 mg, 7,21 μ moli) au fost adăugate succesiv o soluție de **4** (0,79 mg, 1,8 μ moli) în dimetil sulfoxid (60 μ L), acid trifluoracetic (0,56 μ L, 7,3 μ moli) și hidroperoxid de *terț*-butil (70% în apă; 1,25 μ L, 9,03 μ moli). Flaconul a fost închis și încălzit la 50 °C peste noapte, după care amestecul de reacție a fost răcit și a fost diluat cu acetonitril și cu o soluție 1% de acid formic în apă, până la un volum de aproximativ 2 până la 3 ml. Compoziția finală de solvent a fost astfel încât amestecul rezultat să aibă aspect limpede, în general, aproximativ 20% până la 30% acetonitril. Întregul amestec a fost supus HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 $\times$ 250 mm, 10 μ m; Faza mobilă A: acid acetic 0,5% în apă; Faza mobilă B: acetonitril/metanol 9:1; Gradient: 15 % B pe parcursul a 5 minute, apoi gradient liniar 15% până la 70% B pe parcursul a 84 de minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 1 minut,

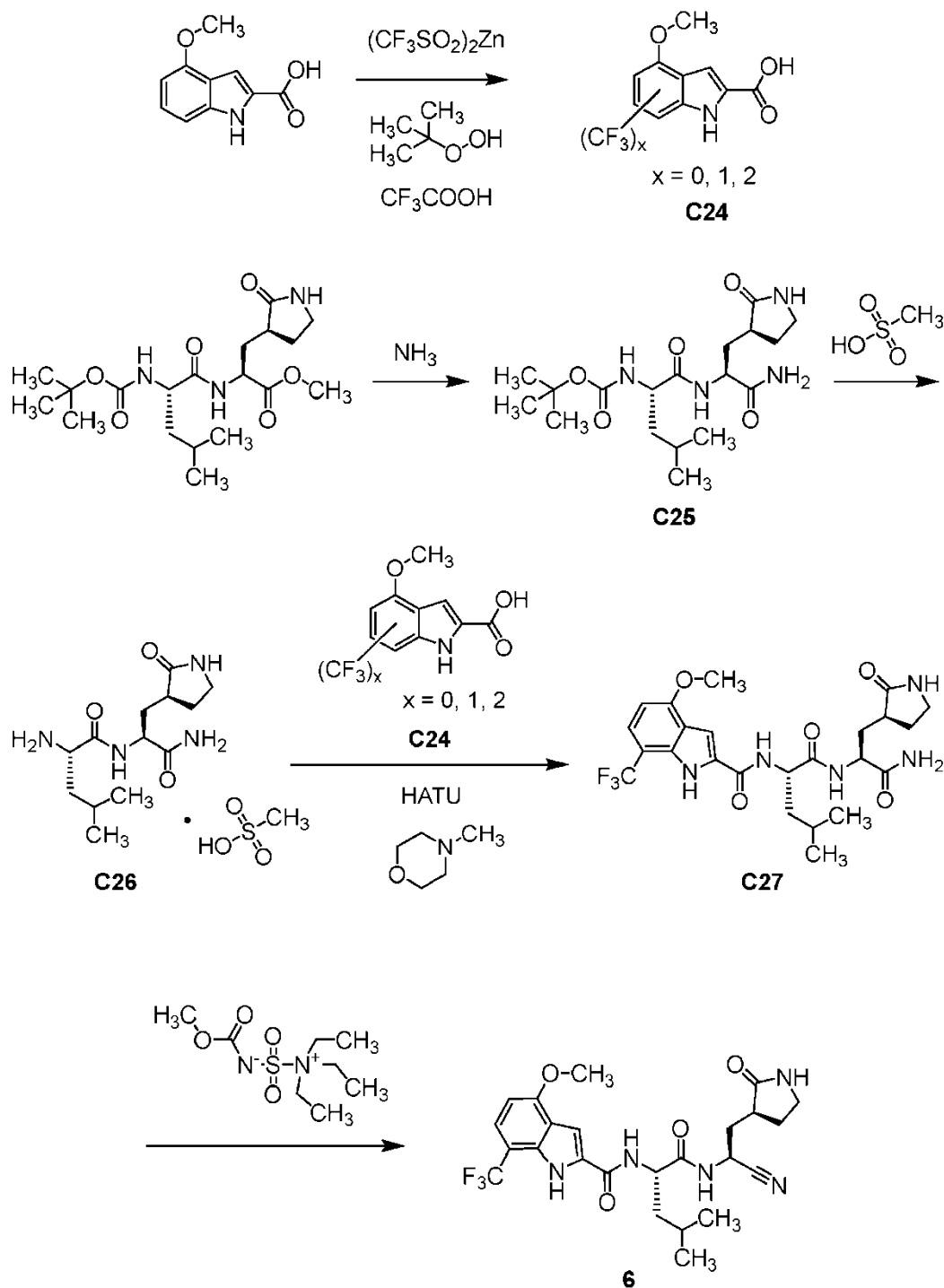
apoi 95% B pe parcursul a 9 minute; Debit: 2 ml/min). Eluatul a fost trecut printr-un detector UV/VIS și apoi a fost împărțit la aproximativ 15:1 între un colector de fracțiuni și un spectrometru de masă cu capcană de ioni. Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde, iar cele care ar putea să conțină produse de interes au fost evaluate prin UHPLC-UV-HRMS înainte de reunirea lor. Cele două produse au eluat la aproximativ 71 și 75 de minute. Primul produs care a eluat a fost **5** {*N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă}, și al doilea produs care a eluat a fost **6** {*N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă}.

5 - Randament: 0,101 mg, 0,199 pmoli, 11%. MS de înaltă rezoluție *m/z* 508,2171 [M+H]⁺; calculat pentru C₂₄H₂₉F₃N₅O₄, 508,2172. ¹H RMN (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). Timp de retenție: 8,43 minute (Condiții analitice. Coloană: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 × 100 mm, 2,6 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 5% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 5% până la 70% B în 10,5 minute, apoi 70% până la 95% B în 2 minute; Debit: 0,4 ml/min).

6 - Randament: 14,7 μg, 0,029 μmoli, 1,6%. MS de înaltă rezoluție *m/z* 508,2178 [M+H]⁺; calculat pentru C₂₄H₂₉F₃N₅O₄, 508,2172. ¹H RMN (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). Timp de retenție: 8,92 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **5**).

Sinteza alternativă din Exemplul 6 (doar pentru referință)

***N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă (**6**)**



Etapa 1. Sinteza acidului trifluormetilat 4-metoxi-1 *H*-indol-2-carboxilic (**C24**).

Un amestec de acid 4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxilic (100 mg, 0,523 mmoli) și trifluormetansulfinat de zinc (II) (120 mg, 0,362 mmoli) a fost tratat cu dimetil sulfoxid (1,5 mL) urmat de acid trifluoracetic (56 μL , 0,727 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost răcit la 0 °C, a fost adăugat hidroperoxid de *terț*-butil (70% în apă; 143 μL , 1,03 mmoli) și agitarea a fost continuată la 0°C timp de 20 minute, apoi la temperatura camerei timp de 25 minute. Amestecul de reacție a fost ulterior încălzit la 52°C timp de 2 ore, după care a fost

răcit la temperatura camerei și a fost tratat prin picurare cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu până când barbotarea a încetat. După ce amestecul rezultat a fost împărțit între soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și acetat de etil, stratul apos a fost extras o dată cu acetat de etil, și straturile organice au fost aruncate. Stratul apos a fost apoi acidifiat la pH 7 cu acid clorhidric 1 M; a fost adăugat acetat de etil și amestecul a fost agitat în timp ce pH-ul a fost ajustat la 1 prin adăugare de acid clorhidric 1 M. După ce amestecul bifazic a fost agitat timp de 10 minute, stratul organic a fost spălat cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, a fost uscat pe sulfat de magneziu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Prin analiza LCMS, reziduul (115 mg) a conținut un amestec de materie primă și produse mono-trifluormetilate, precum și o cantitate mică de material di-trifluormetilat. Cea mai mare parte a acestui amestec a fost utilizată în Etapa 4. Randament: 115 mg, <0,4 mmol. LCMS m/z 189,8, 257,8, 325,8 (minor) $[M-H]^-$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4), vârfuri caracteristice din cele trei componente principale: 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).

Etapa 2. Sinteza *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C25).

La o soluție de *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninat de metil (vezi Prior, A.M., și colab., Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013, 23, 6317-6320; 1,5 g, 3,8 mmoli) în metanol (5 mL) la 0 °C a fost adăugată o soluție de amoniac în metanol (7 M; 43 mL, 300 mmoli). După ce vasul de reacție a fost acoperit, amestecul de reacție a fost agitat peste noapte la temperatura camerei. A fost adăugată din nou o soluție de amoniac în metanol (7 M; 10,7 mL, 74,9 mmoli) și reacția a fost lăsată să continue la temperatura camerei timp de 3 zile, după care a fost concentrată *in vid*. Reziduul a fost preluat de două ori în dietil eter (40 ml) și a fost concentrat la presiune redusă, obținându-se **C25** sub forma unui solid alb. Randament: 1,46 g, 3,80 mmoli, cantitativ. LCMS m/z 385,4 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 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).

Etapa 3. Sinteza L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei, sare metansulfonat (C26).

O soluție de acid metansulfonic (0,861 mL, 13,3 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (5 mL) a fost adăugată încet la o soluție de **C25** (5,1 g, 13 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (43 mL). După 30 de minute, analiza LCMS a indicat transformarea în **C26**: LCMS m/z 285,3 $[M+H]^+$. Amestecul de reacție a fost concentrat *in vid*, apoi a fost preluat în următoarele amestecuri de solvenți și a fost concentrat din nou: un amestec de acetonitril și acetat de etil (1:1, 2 × 20 ml), apoi un amestec de acetat de etil și heptan (1:1, 2 × 20 ml). Solidul rezultat a fost azeotropat de două ori cu un amestec de acetonitril și acetat de etil, apoi de două ori cu un amestec de acetat de etil și heptan, obținându-se **C26** sub forma unui solid alb (6,05 g), care a reținut solvenții conform analizei 1H RMN. Randament: presupus cantitativ. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Etapă 4. Sinteza *N*-{[4-metoxi-7-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-il]carbonil}-*L*-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninamidei (C27**).**

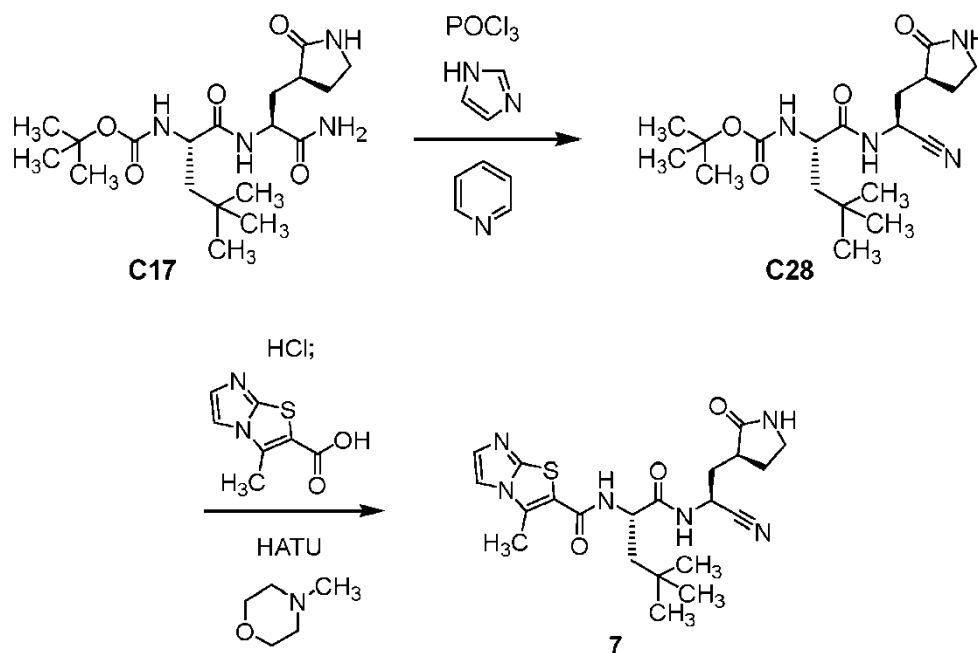
O soluție de **C24** (din Etapa 1; 101 mg, <0,35 mmoli) și **C26** (din etapa anterioară; 204 mg, ≤0,438 mmoli) în acetonitril (1,7 mL) și *N,N*-dimetilformamidă (1 ml) a fost răcită la 0°C și a fost tratată cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 163 mg, 0,429 mmoli) urmat de 4-metilmorfolină (0,129 mL, 1,17 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 40 de minute, după care a fost adăugat încet un amestec 1:1 de soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și gheață până s-a format un precipitat tulbure. A fost adăugat apoi acetat de etil, și amestecul bifazic a fost agitat timp de 5 minute. Stratul apos a fost extras o dată cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Purificarea prin cromatografie pe silicagel a fost efectuată de două ori (Gradient #1: 0% până la 10% metanol în diclormetan; Gradient #2: 5% până la 10% metanol în diclormetan) pentru a se obține **C27**. Regiochimia acestui material a fost confirmată prin experimente 2D RMN. Randament: 19 mg, 36 μ moli, aproximativ 10%. LCMS m/z 526,5 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Etapa 5. Sinteza *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidei (6).

N-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 17,2 mg, 72,2 μmoli), a fost adăugat la o soluție de **C27** (19 mg, 36 μmoli) într-un amestec de diclormetan (0,5 ml) și acetonitril (0,2 ml). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, acesta a fost diluat cu acetat de etil și a fost spălat cu un amestec 1:1 de soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și gheață. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu și au fost trecute printr-un cartuș de extracție în fază solidă umplut cu sulfat de magneziu. Concentrarea filtratului *in vid* a condus la obținerea unui reziduu, care a fost purificat prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 × 100 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05 % acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 25% până la 65% B pe parcursul a 8,5 minute, apoi 65% până la 95% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă (**6**). Randament: 4,3 mg, 8,5 μmoli, 24%. LCMS *m/z* 508,6 [M+H]⁺. Timp de retenție: 2,83 minute (Coloană: Waters Atlantis C18, 4,6 × 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v)); Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 7 (doar pentru referință)

***N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-metilimidazo[2,1-*b*][1,3]tiazol-2-carboxamidă (7)**



Etapă 1. Sinteza *N*²-(*terț*-butoxicarbonil)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-metil-L-leucinamidei (C28).

O soluție de **C17** (560 mg, 1,41 mmoli) și 1*H*-imidazol (249 mg, 3,65 mmoli) într-un amestec de piridină (3 mL) și diclormetan (3 mL) a fost răcită la -35 °C utilizând o baie de acetonitril/gheață carbonică. A fost adăugată prin picurare oxiclurură de fosfor (0,74 mL, 7,94 mmoli) timp de 4 minute, urmată de diclormetan suplimentar (2 mL), și agitarea a fost continuată la -30 °C până la -20 °C. După 1 oră, amestecul de reacție a fost diluat cu diclormetan (2 mL). După aproximativ 1,5 ore, a fost adăugat acid clorhidric (1 M; 30 mL); amestecul rezultat a fost agitat timp de 30 de minute, apoi a fost extras cu diclormetan (2 x 60 mL). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*, obținându-se **C28** sub forma unui solid. Randament: 492 mg, 1,29 mmoli, 91%. LCMS *m/z* 381,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,64 - 2,52 (m, 1H), 2,40 - 2,27 (m, 2H), 1,97 - 1,78 (m, 2H), 1,70 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 14,3, 4,1 Hz, 1H), 1,54 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 14,3, 8,7 Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,00 (s, 9H).

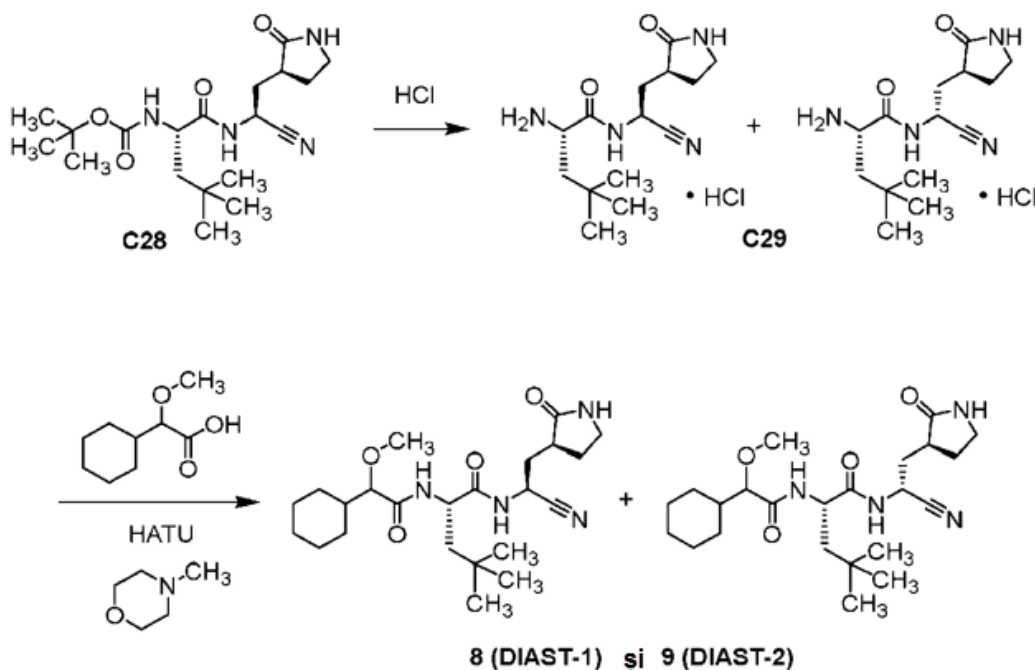
Etapă 2. Sinteza *N*-[(2*S*)-1-({[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-metilimidazo[2,1-*b*][1,3]tiazol-2-carboxamidei (7).

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4,0 M; 0,3 mL, 1,2 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C28** (100 mg, 0,263 mmoli) într-un amestec de acetonitril (1,5 mL) și metanol (1,0

mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 30 de minute, după care a fost tratat cu 4-metilmorfolină (0,144 mL, 1,31 mmoli). După ce solventii au fost îndepărtați *in vid*, reziduul a fost suspendat din nou de două ori într-un amestec de diclormetan și heptan (1:1, 2 x 10 ml) și a fost concentrat la presiune redusă. Reziduul a fost combinat cu acid 3-metilimidazo[2,1-*b*][1,3]tiazol-2-carboxilic (47,9 mg, 0,263 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3,3 ml), au fost răcite la 0 °C și au fost tratate cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 99,9 mg, 0,263 mmoli) urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (72 μL, 0,655 mmoli) în diclormetan (0,2 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de aproximativ 2 ore, a fost tratat la 0 °C cu acid clorhidric (1 M; 30 mL), și amestecul rezultat a fost extras cu diclormetan (2 x 60 mL). Stratul apos a fost apoi alcalinizat la pH 9 prin adăugare de soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu, după care a fost extras cu diclormetan (3 x 60 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (50 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Analiza ¹H RMN a acestui material a indicat prezența unui epimer minor, presupus că provine din racemizarea parțială la centrul care poartă nitrilul. Produsul principal a fost izolat folosind cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în acetat de etil), obținându-se *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-metilimidazo[2,1-*b*][1,3]tiazol-2-carboxamidă (**7**) sub forma unui solid. Randament: 56 mg, 0,13 mmoli, 49%. LCMS *m/z* 445,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (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; presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Exemplele 8 și 9 (doar pentru referință)

N-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidă, **DIAST-1** (8) și *N*-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidă, **DIAST-2** (9)



Etapa 1. Sinteza *N*-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil-L-leucinamidei (**C29**).

La o soluție de **C28** (114 mg, 0,300 mmoli) într-un amestec de acetonitril (1 mL) și metanol (1 mL) a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 0,4 mL, 1,6 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 30 de minute, după care a fost adăugată 4-metilmorfolină (0,165 mL, 1,50 mmoli), aducând pH-ul la 7 până la 8. După ce solvenții au fost îndepărtați *in vid*, reziduul a fost preluat de două ori într-un amestec de acetat de etil și heptan (1:1, 2 x 10 ml) și a fost concentrat la presiune redusă pentru a se obține **C29** sub forma unui solid (269 mg); prin analiză ^1H RMN, acesta a constatat dintr-un amestec de epimeri, presupus a fi în centrul care poartă nitrilul, într-un raport de 2-3 la 1. O parte din acest material a fost utilizată în etapa următoare. LCMS m/z 281,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (400 MHz, metanol- d_4), vârfuri caracteristice: δ [5,11 (dd, $J = 8,8, 7,3$ Hz, major) și 5,01 (dd, $J = 6,5, 6,5$ Hz, minor), 1H total], [2,75 - 2,65 (m, minor) și 2,64 - 2,54 (m, major), 1H total], 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, major), 1,01 (s, minor), 9H total].

Etapa 2. Sinteza *N*-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidei, DIAST-1 (**8**) și a *N*-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidei, DIAST-2 (**9**).

La o soluție de **C29** (din etapa anterioară; 83,4 mg, ≤ 93 μmoli) și acid ciclohexil(metoxi)acetic (17,2 mg, 99,9 μmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (1 ml) la 0 °C, au fost

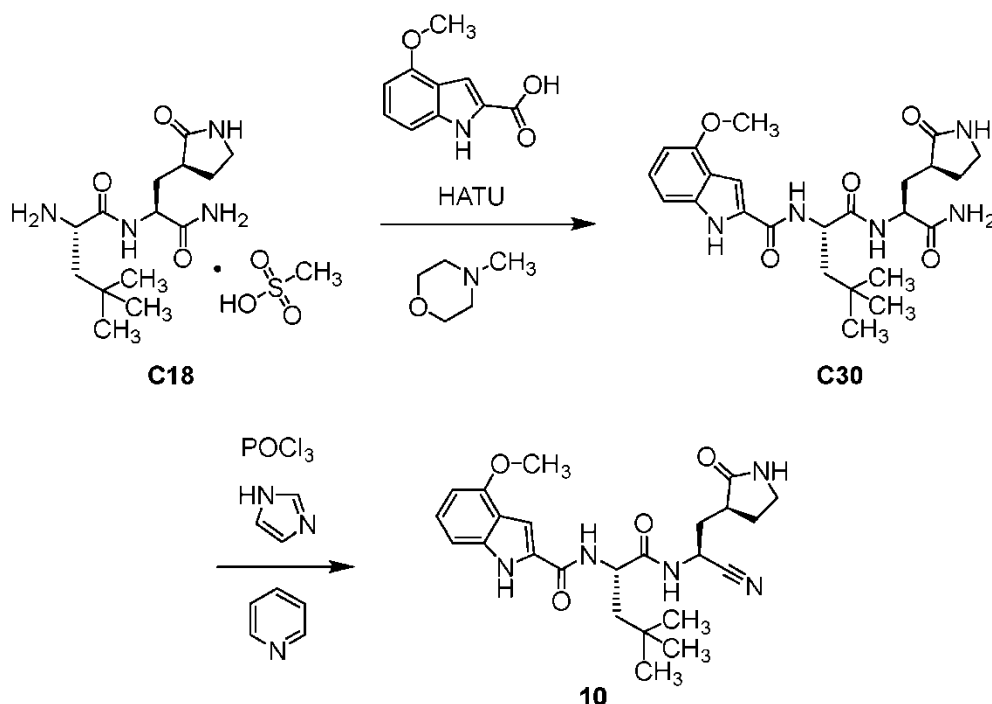
adăugate hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 38,0 mg, 0,100 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (30,8 μ L, 0,280 mmoli) în diclormetan (0,2 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de aproximativ 2 ore, acesta a fost diluat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3 mL) la 0 °C și a fost extras cu diclormetan (4 x 4 mL). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vacuo*; prin analiza LCMS, reziduul a constat din două componente, presupuse a corespunde celor doi epimeri din centrul care poartă nitrilul. Acești diastereomeri au fost separați prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters XBridge C18, 19 × 100 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: apă; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 8,54 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,46 minute; Debit: 25 ml/minut). Primul diastereomer care eluează a fost denumit **8** (*N*-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidă, DIAS-1), și al doilea diastereomer care a eluat a fost denumit **9** (*N*-{1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidă, DIAS-2).

8 - Randament: 12,8 mg, 29,4 μ moli, 32% în 2 etape. LCMS *m/z* 435,6 [M+H]⁺. Timp de retenție: 2,63 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis C18, 4,6 × 50 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v). Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut. Debit: 2 ml/minut).

9 - Randament: 10 mg, 23,0 μ moli, 25% în 2 etape. LCMS *m/z* 435,6 [M+H]⁺. Timp de retenție: 2,72 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **8**).

Exemplul 10 (doar pentru referință)

***N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (10)**



Etapă 1. Sinteza *N*-[(4-metoksi-1*H*-indol-2-il)carbonil]-4-metil-L-leucil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C30).

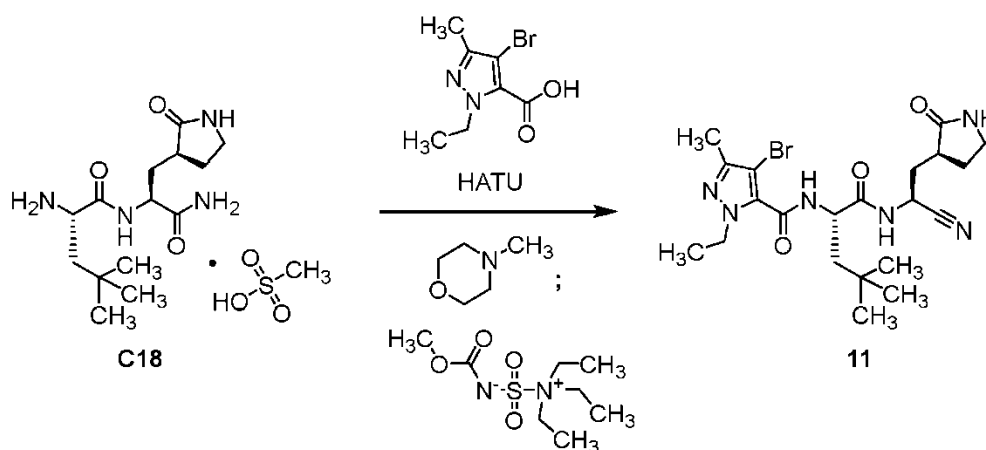
La o soluție de **C18** (200 mg, $\leq 0,46$ mmoli) și acid 4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxilic (88,2 mg, 0,460 mmoli) în acetonitril (2 ml) la 0 °C au fost adăugate hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 175 mg, 0,460 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (0,127 mL, 1,16 mmoli) în acetonitril (0,2 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 2,5 ore, după care a fost diluat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 ml) la 0°C, apoi a fost extras cu diclormetan (50 ml). Stratul organic a fost spălat cu acid clorhidric (1 M; 30 mL), și straturile apoase au fost extrase cu diclormetan (60 mL). După ce straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*, reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% metanol în acetat de etil) pentru a se obține **C30** sub forma unui solid. Randament: 148 mg, 0,314 mmoli, 68% în 2 etape. LCMS m/z 472,4 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a cvartetului 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, componentă a sistemului ABX, $J = 14,5, 3,4$ Hz, 1H), 1,85 - 1,74 (m, 3H), 1,02 (s, 9H).

Etapa 2. Sinteza *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidei (10).

O soluție de **C30** (143 mg, 0,303 mmoli) și 1*H*-imidazol (53,7 mg, 0,789 mmoli) într-un amestec de piridină (1 mL) și diclormetan (1 mL) a fost răcită într-o baie de acetonitril/gheață carbonică (-35 °C). A fost adăugată prin picurare oxiclurură de fosfor (0,159 ml, 1,71 mmoli) timp de 5 minute, și amestecul de reacție a fost agitat la -30 °C până la -20 °C timp de 2 ore, după care a fost tratat cu acid clorhidric (1 M; 30 mL), a fost agitat timp de 20 de minute și a fost extras cu diclormetan (2 x 60 mL). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în acetat de etil) a furnizat *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**10**) sub forma unui solid. Randament: 68 mg, 0,15 mmoli, 50%. LCMS *m/z* 454,5 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a cvartetului 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).

Exemplul 11 (doar pentru referință)

***N*'-[(4-brom-1-etil-3-metil-1*H*-pirazol-5-il)carbonil]-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil-L-leucinamidă (11)**

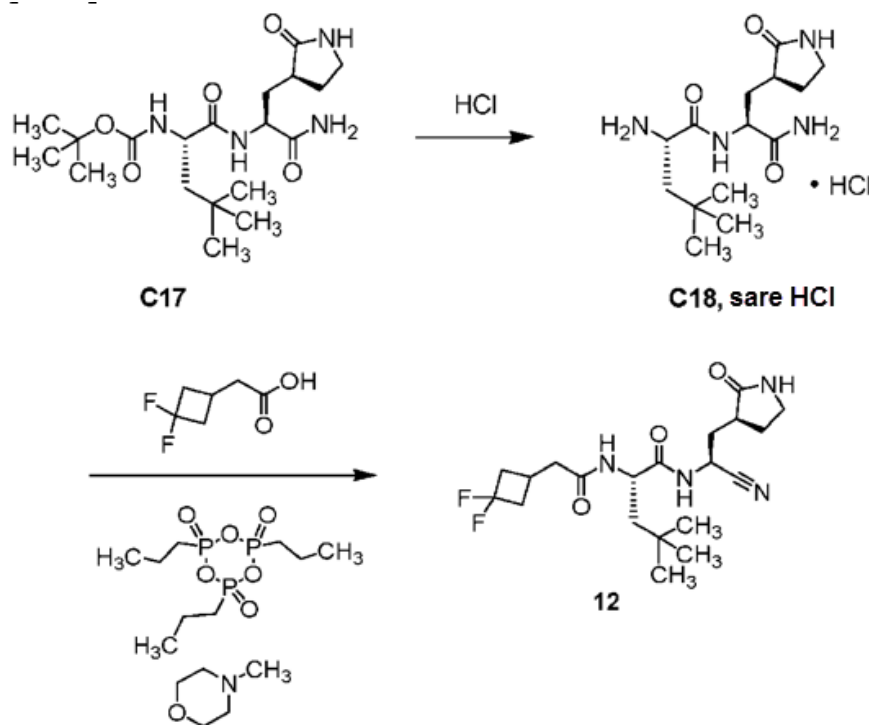


La o suspensie de **C18** (43,4 mg, ≤0,10 mmoli) și acid 4-brom-1-etil-3-metil-1*H*-pirazol-5-carboxilic (23,3 mg, 0,100 mmoli) în acetonitril (1,0 ml) la 0 °C au fost adăugate hexafluorofosfat de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 38,0 mg, 0,100 mmoli), urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (30 μL, 0,27 mmoli) în acetonitril (0,2 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de aproximativ 80 de minute, a fost adăugat *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamate de metil, sare internă (reactiv Burgess; 71,5

mg, 0,300 mmoli) și agitarea a fost continuată. După aproximativ 2,75 ore, *N*-(trietilamoniosulfonil)carbammat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 71,5 mg, 0,300 mmoli) a fost adăugat din nou, și reacția a fost lăsată să continue timp de 1,5 ore, după care a fost tratată cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3 ml) la 0° C și a fost extrasă cu diclormetan (2 x 8 ml). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vid*, apoi au fost dizolvate în acetonitril (4 mL) și au fost concentrate din nou utilizând un evaporator Genevac pentru a se obține produsul brut (138 mg). O porțiune din acest material (80 mg) a fost purificată prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 × 100 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B : acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 8,54 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,46 minute; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține *N*²-[(4-brom-1-etil-3-metil-1*H*-pirazol-5-il)carbonil]-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil-*L*-leucinamidă (**11**). Randament: 24,7 mg, 49,8 μmoli, 86% în 2 etape. LCMS *m/z* 495,5 (a fost observat modelul izotopului de brom) [M+H]⁺. Timp de retenție: 2,48 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis C18, 4,6 × 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v). Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut. Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 12 (doar pentru referință)

***N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-*N*²-[(3,3-difluorciclobutil)acetil]-4-metil-*L*-leucinamidă (**12**)**



Etapă 1. Sinteza 4-metil-L-leucil-3-[(3S)-2-oxopiperidin-3-il]-L-alaninamidei, sare clorhidrat (C18, sare HCl).

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 1,7 mL, 6,8 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C17** (260 mg, 0,652 mmoli) în acetonitril (3 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1,5 ore, după care a fost concentrat *in vid*, apoi a fost dizolvat în mod repetat într-un amestec de diclormetan și heptan (1:1, 3 × 10 mL) și a fost concentrat din nou, obținându-se **C18, sare HCl** (242 mg) sub forma unei sticle. O parte din acest material a fost utilizată în etapa următoare. LCMS m/z 299,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

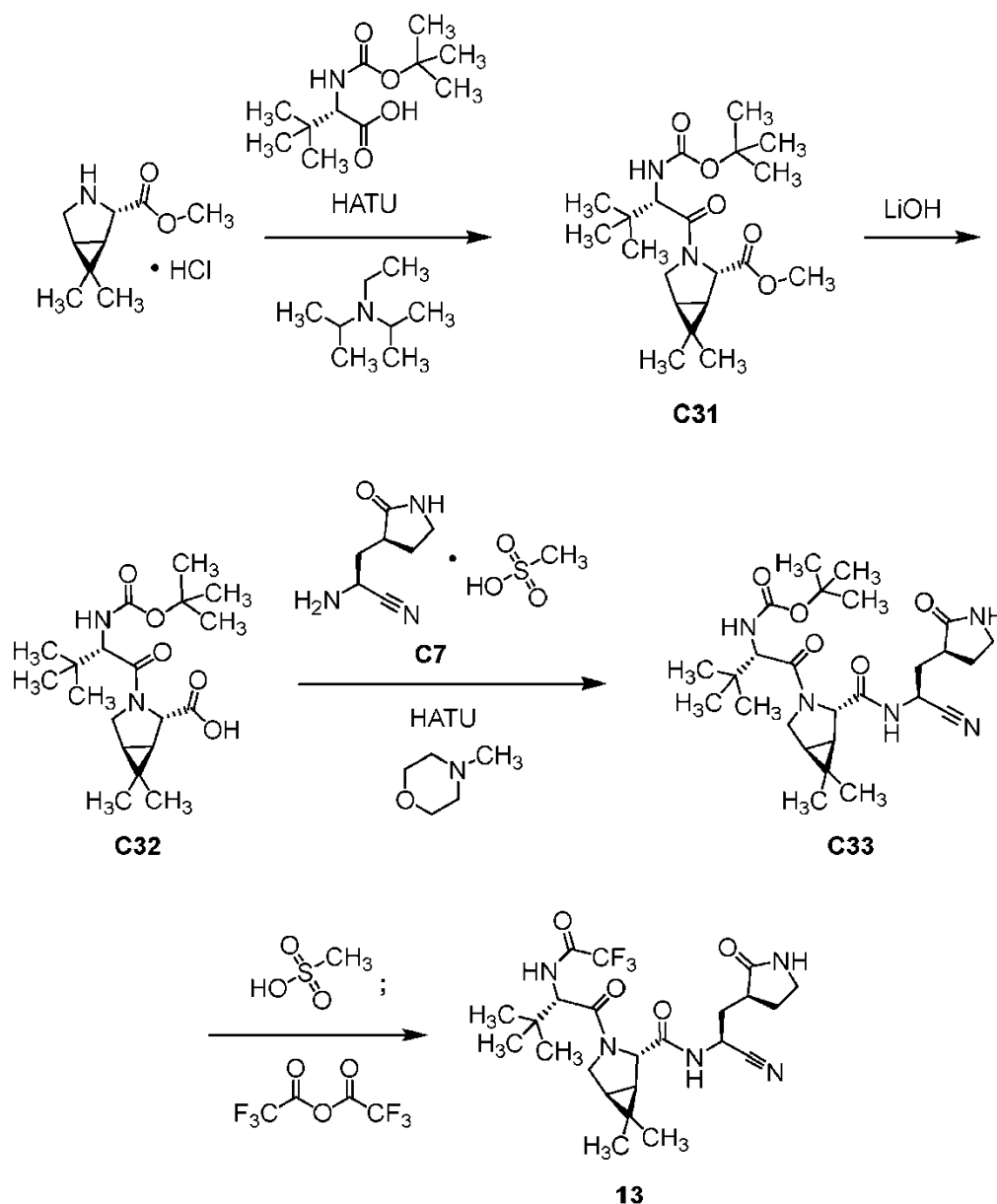
Etapă 2. Sinteza *N*-{[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopiperidin-3-il]etil]-*N*'-[3,3-difluorciclobutil)acetyl]-4-metil-L-leucinamidei (12).

O suspensie de **C18, sare HCl** (din etapa anterioară; 37,2 mg, $\leq 0,100$ mmoli) și acid (3,3-difluorciclobutil)acetic (15,8 mg, 0,105 mmoli) în tetrahidrofuran (1,0 mL) a fost tratată cu trioxid 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrifosfinan (soluție 50% în greutate în acetat de etil; 65,5 μ L, 0,110 mmoli) și 4-metilmorfolină (27,5 μ L, 0,250 mmoli). După ce

amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei peste noapte, acesta a fost încălzit la 50 °C timp de 4,5 ore, după care au fost adăugate din nou trioxid 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrifosfinan (soluție 50% în greutate în acetat de etil; 2,2 echivalenți) și 4-metilmorfolină (5 echivalenți). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 50 °C timp de încă 3 zile, a fost tratat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3 ml) și a fost extras cu diclormetan (4 x 4 ml). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost purificate prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters XBridge C18, 19 × 100 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 20% până la 40% B pe parcursul a 8,5 minute, apoi 40% până la 95% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține *N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-*N*²-[(3,3-difluorciclobutil)acetil]-4-metil-*L*-leucinamidă (**12**). Randament: 10,1 mg, 24,5 μmoli, 24% în 2 etape. LCMS *m/z* 413,5 [M+H]⁺. Timp de retenție: 1,96 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis C18, 4,6 × 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v). Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut. Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 13

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (13**)**



Etapa 1. Sinteza (1R,2S,5S)-3-[*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metil-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C31).

Hexafluorofosfat de *O*-(7-Azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 7,92 g, 20,8 mmoli) a fost adăugat la un amestec de *N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-metil-L-valină (4,38 g, 18,9 mmoli) și (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de metil, sare clorhidrat (3,9 g, 19 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (95 ml) la 0°C. După ce amestecul de reacție a fost agitat timp de 5 minute, a fost adăugată *N,N*-diizopropiletilamină (8,25 mL, 47,4 mmoli); agitarea a fost continuată la 0°C timp de 2 ore, după care au fost adăugate soluție apoasă de acid citric (1 N, 20 mL) și apă (40 mL). Amestecul rezultat a fost agitat timp de 2 minute și apoi a fost diluat cu acetat de etil (250 ml). Stratul organic a fost spălat

cu apă (3 x 150 ml) și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vacuo*. Purificarea prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% acetat de etil în heptan) a condus la obținerea de **C31** sub forma unui ulei. Randament: 3,60 g, 9,41 mmoli, 50%. ¹H RMN (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 6,42 (d, *J* = 9,7 Hz, <1 H; schimbat incomplet cu solvent), 4,35 (s, 1H), 4,21 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,02 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,91 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,3, 5,3 Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 1,57 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 7,5, 5,1 Hz, 1H), 1,47 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,5 Hz, 1H), 1,41 (s, 9H), 1,07 (s, 3H), 1,02 (s, 9H), 0,93 (s, 3H).

Etapă 2. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C32).

Soluție apoasă de hidroxid de litiu (1,0 M; 14,7 mmoli, 14,7 mL) a fost adăugată prin picurare la o soluție de **C31** (3,60 g, 9,41 mmoli) într-un amestec de tetrahidrofuran și metanol (1:1, 30 mL) la 0 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 1 oră, a fost lăsat să se încălzească la temperatura camerei și a fost agitat timp de 1 oră, după care analiza LCMS a indicat transformarea în **C32**: LCMS *m/z* 367,3 [M-H]⁻. Ajustarea la pH 3 a fost efectuată prin adăugare de acid clorhidric 1 M, după care amestecul a fost diluat cu apă (30 mL). Stratul apos a fost extras cu acetat de etil (2 x 75 mL), și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate la presiune redusă pentru a se obține **C32** sub forma unui solid alb murdar. Randament: 3,10 g, 8,41 mmoli, 89%. ¹H RMN (400 MHz, metanol-*d*₄) δ 6,39 (d, *J* = 9,7 Hz, aproximativ 0,5H; schimbat incomplet cu solvent), 4,33 (s, 1H), [4,21 (d, *J* = 9,6 Hz) și 4,21 (s), 1H total], 4,01 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,91 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,4, 5,2 Hz, 1H), 1,56 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 7,5, 5,0 Hz, 1H), 1,50 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,07 (s, 3H), 1,02 (s, 9H), 0,93 (s, 3H).

Etapă 3. Sinteza {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]carbamoil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamatului de *terț*-butil (C33).

Un amestec de **C7** (31,9 mg, ≤94 μmoli) și **C32** (34 mg, 92 μmoli) în acetonitril (1 ml) a fost tratat cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU, 97%; 36,2 mg, 92,3 μmoli) urmat de o soluție de 4-metilmorfolină (25 μl, 0,23 mmoli) în acetonitril (0,25 mL) la 0 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de aproximativ 1 oră, a fost diluat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3 mL) la 0 °C și a fost extras cu diclormetan (4 x 4 mL). Straturile organice combinate au fost

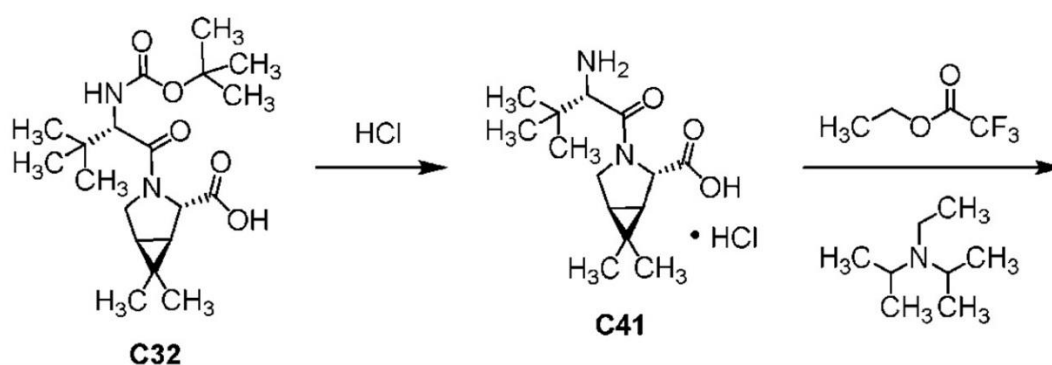
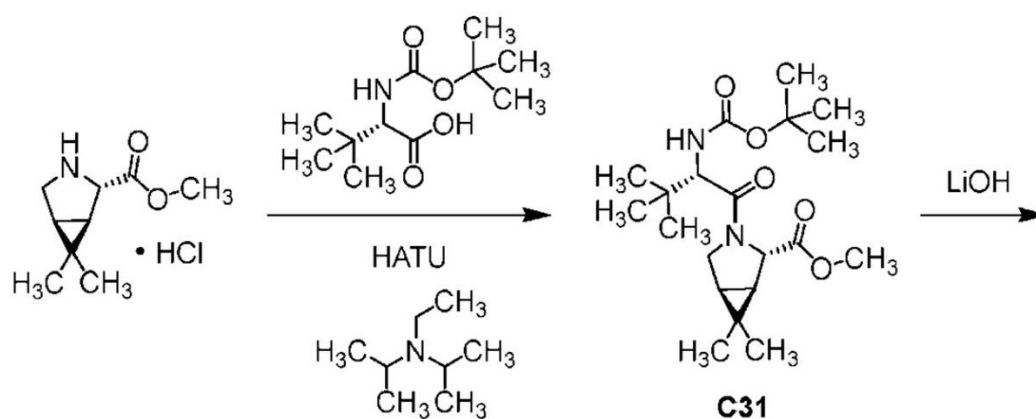
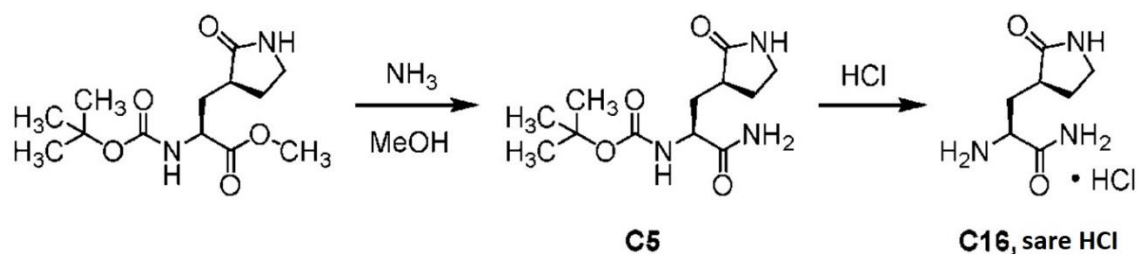
concentrate *in vid* pentru a se obține **C33** sub forma unei gume (48 mg). Cea mai mare parte a acestui material a fost utilizată în etapa următoare. LCMS m/z 504,6 $[M+H]^+$.

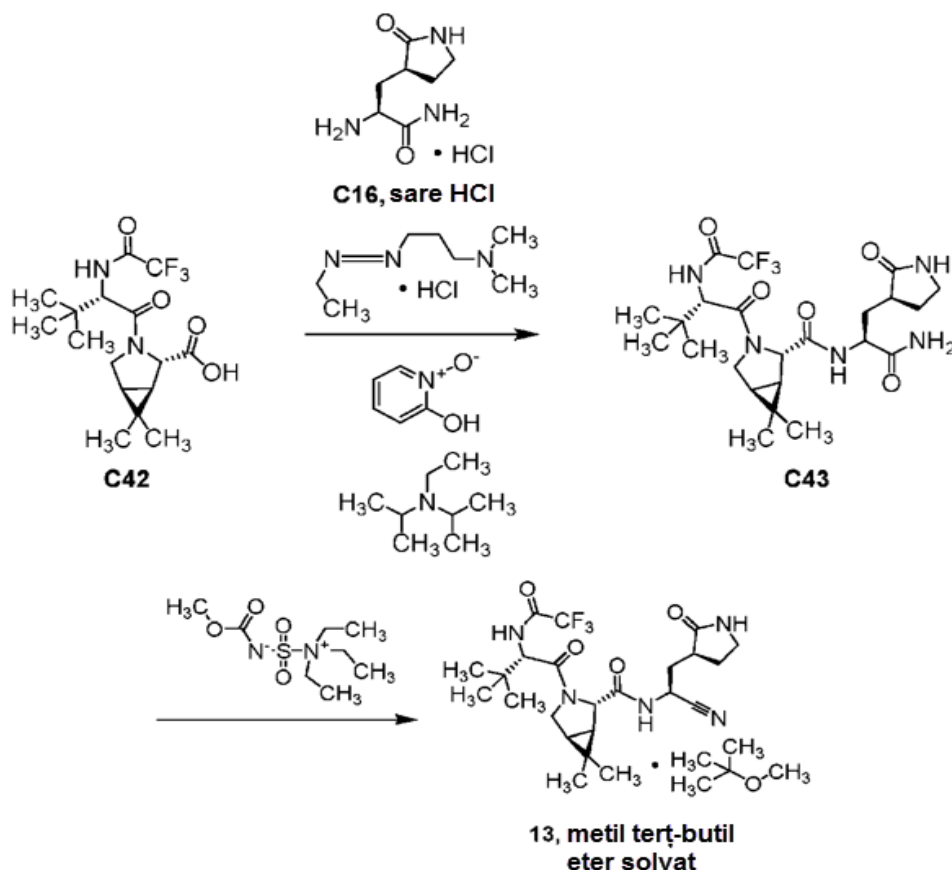
Etapă 4. Sinteza (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-((3S)-2-oxopirrolidin-3-il)etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (13).

A fost preparată o soluție stoc de acid metansulfonic (60 μ L) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (940 μ L). La o soluție de **C33** (din etapa anterioară; 47 mg, ≤ 90 μ moli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (1 mL) a fost adăugată o porție din soluția stoc de acid metansulfonic (0,1 mL; 100 μ moli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, acesta a fost concentrat *in vid*, apoi a fost preluat în următoarele amestecuri de solvenți și a fost concentrat din nou: un amestec de acetonitril și acetat de etil (1:1, 2 $\times$ 10 ml) și apoi un amestec de acetat de etil și heptan (1:1, 2 $\times$ 10 ml). Reziduul a fost dizolvat în diclormetan (1 ml) și a fost tratat cu 4-metilmorfolină (30,8 μ L, 0,280 mmoli), urmată de anhidridă trifluoracetică (0,143 ml, 1,01 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 40 minute, după care a fost tratat cu 4-metilmorfolină (30,8 μ L, 0,280 mmoli) urmată de anhidridă trifluoracetică (0,143 mL, 1,01 mmoli); după 30 de minute, a fost adăugată din nou 4-metilmorfolină (30,8 μ L, 0,280 mmoli), urmată de anhidridă trifluoracetică (0,143 mL, 1,01 mmoli). După încă 15 minute de agitare, amestecul de reacție a fost tratat cu acid clorhidric (1 M; 3 mL), și amestecul rezultat a fost extras cu diclormetan (3 $\times$ 4 mL); straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost purificate utilizând HPLC în fază inversă (Waters Sunfire C18, 19 $\times$ 100 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v). Gradient: 20% până la 60% B pe parcursul a 8,5 minute, apoi 60% până la 95% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1 minut; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-((3S)-2-oxopirrolidin-3-il)etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**13**). Randament: 7,5 mg, 15 μ moli, 17% în 2 etape. LCMS m/z 500,5 $[M+H]^+$. Timp de retenție: 2,66 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis dC18, 4,6 $\times$ 50 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: 0,05% acid trifluoracetic în apă (v/v); Faza mobilă B: 0,05% acid trifluoracetic în acetonitril (v/v); Gradient: 5,0% până la 95% B pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut).

Sinteza alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat; Generarea lui 13, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2.

(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (13, metil *terț*-butil eter solvat), Forma solidă 2





Etapa 1. Sinteza {(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}carbamatului de *terț*-butil (C5).

Acest experiment a fost realizat în 2 loturi paralele. O soluție de amoniac în metanol (7 M; 2,4 L, 17 moli) a fost adăugată la *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninat de metil (600 g, 2,10 moli) și amestecul de reacție a fost agitat la 25°C timp de 40 ore. Concentrarea *in vid* și combinarea celor 2 loturi a condus la obținerea **C5** sub forma unui solid galben. Randament combinat: 1,10 kg, 4,05 moli, 96%. ¹H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 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).

Etapa 2. Sinteza 3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei, sare clorhidrat (C16, sare HCl).

Acest experiment a fost realizat în 3 loturi paralele. La o soluție de **C5** (840 g, 3,10 moli) în diclormetan (2,0 L) la 0 °C a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 2 L, 8 moli). Amestecul de reacție a fost agitat la 25°C timp de 2 ore, după care a fost

concentrat *în vid*; combinarea celor 3 loturi a condus la obținerea **C16, sare HCl** sub forma unui solid alb. Randament combinat: 1,20 kg, 5,78 moli, 62%.

MS m/z 172,1 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,35 - 2,24 (m, 1H), 2,01 (ddd, $J = 14,9$, 9,2, 6,1 Hz, 1H), 1,80 - 1,68 (m, 2H).

O probă de **C16, sare HCl** a fost triturată în 2-propanol timp de 1,5 ore, după care a fost colectată prin filtrare și clătită cu 2-propanol. Solidul colectat a fost uscat peste noapte *în vid* înalt pentru a se obține o probă pentru studiul de difracție de raze X în pulbere. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru acest material este prezentat în Figura 10; vârfurile caracteristice sunt enumerate în tabelul Q.

Colectarea datelor de difracție de raze X în pulbere

Analiza difracției de raze X în pulbere a fost efectuată utilizând un difractometru Bruker AXS D4 Endeavour echipat cu o sursă de radiație de Cu. Fanta de divergență a fost stabilită la 0,6 mm, în timp ce optica secundară a folosit fante variabile. Radiația difractată a fost detectată cu un detector PSD-Lynx Eye. Tensiunea și intensitatea tubului cu raze X au fost stabilite la 40 kV și, respectiv, 40 mA. Datele au fost colectate în goniometrul Teta-2Teta la lungimea de undă a Cu de la 3,0 până la 40,0 grade 2-Teta folosind o dimensiune a pasului de 0,020 grade și un timp al pasului de 0,3 secunde. Probele au fost pregătite prin plasarea lor într-un suport de probă din silicon cu fundal scăzut și au fost rotite în timpul colectării.

Analiza difracției de raze X în pulbere a fost efectuată utilizând un difractometru Bruker AXS D8 Advance echipat cu o sursă de radiație de Cu. Radiația difractată a fost detectată de un detector LYNXEYE_EX cu fante motorizate. Atât primar cât și secundar a fost echipat cu fante soller de 2,5. Tensiunea și intensitatea tubului cu raze X au fost stabilite la 40 kV și, respectiv, 40 mA. Datele au fost colectate în goniometrul Teta-Teta într-un cuplu de scanare blocat la lungimea de undă Cu K-alfa (medie) de la 3,0 până la 40,0 grade 2-Teta, cu un increment de 0,02 grade, folosind o viteză de scanare de 0,5 secunde pe pas. Probele au fost preparate prin plasarea într-un suport de probă din silicon cu fundal scăzut.

Datele au fost colectate cu ambele instrumente folosind software-ul Bruker DIFFRAC Plus și analiza a fost efectuată cu software-ul EVA DIFFRAC plus. Fișierul de date PXRD nu a fost procesat înainte de căutarea vârfului. Folosind algoritmul de căutare a vârfurilor din software-ul EVA, vârfurile selectate cu o valoare de prag de 1 au fost utilizate pentru a face atribuiri preliminare ale vârfurilor. Pentru a asigura valabilitatea, ajustările au fost efectuate manual; rezultatul atribuirilor automate a fost verificat vizual, iar pozițiile de vârf au fost

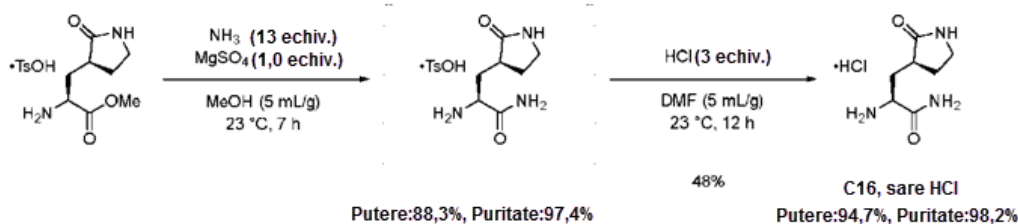
ajustate la vârful maxim. Au fost alese, în general, vârfuri cu intensitate relativă $\geq 3\%$. De obicei, vârfurile care nu au fost separate sau au fost în concordanță cu zgomotul nu au fost selectate. O eroare tipică asociată cu poziția de vârf de la PXRD exprimată în USP este până la $\pm 0,2^\circ$ 2-Teta (USP-941).

Tabelul Q. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **C16, sare HCl**

Unghi ($^\circ$ 2 teta)	Intensitate relativă	Unghi ($^\circ$ 2 teta)	Intensitate relativă
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

Sinteza alternativă a 3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei, sare clorhidrat, **C16, sare HCl**.

O preparare alternativă a compusului **C16, sare HCl**, este descrisă în schema de reacție de mai jos.



La o soluție de amoniac în metanol (7,0 M; 100 mL, 725,4 mmoli) au fost adăugate 4-metilbenzensulfonat de (S)-2-amino-3-((S)-2-oxopiperidin-3-il)propanoat de metil (20 g, 55,8 mmoli) și sulfat de magneziu (6,7 g, 55,8 mmoli) la temperatura camerei. După agitarea amestecului de reacție timp de 7 ore la temperatura camerei, a fost barbotat azot în reacție timp de 1 oră pentru a purja excesul de amoniac. Ulterior, reacția a fost filtrată printr-un strat de Celită® și apoi a fost concentrat *in vid*, și 4-metilbenzensulfonatul de (S)-2-amino-3-((S)-2-oxopiperidin-3-il)propanamidă rezultat a fost utilizat direct în etapa ulterioară fără purificare suplimentară. La o soluție de dimetilformamidă (50 mL, 647 mmoli) au fost adăugate o porție de 4-metilbenzensulfonat de (S)-2-amino-3-((S)-2-oxopiperidin-3-il)propanamidă (10 g, 25,9 mmoli) și o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4,0 M; 19,4 mL, 77,7 mmoli). După agitare timp de 12 ore la temperatura camerei, suspensia a fost filtrată și spălată cu dimetilformamidă (15 mL, 190 mmoli). Solidul rezultat a fost uscat într-un cuptor *in vid* la 40 °C timp de 12 ore pentru a se obține 3-[(3S)-2-oxopiperidin-3-il]-L-alaninamidă, sare clorhidrat, **C16, sare HCl** (2,7 g, 12,4 mmoli) sub forma unui solid cafeniu (randament total de 48%).

Etapa 3. Sinteza (1R,2S,5S)-3-[N-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C31).

Acest experiment a fost realizat în 3 loturi paralele. La o soluție de (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de metil, sare clorhidrat (237 g, 1,15 moli) și N-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valină (293 g, 1,27 moli) într-un amestec de N,N-dimetilformamidă (400 mL) și acetonitril (3,6 L) au fost adăugate hexafluorofosfat de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluroniu (HATU; 481 g, 1,26 moli), urmat de adăugare prin picurare de N,N-diizopropiletilamină (601 mL, 3,45 moli). Amestecul de reacție a fost apoi lăsat să se încălzească la 25 °C și a fost agitat timp de 16 ore, după care a fost turnat într-un amestec de apă cu gheață (1 L) și acid clorhidric (0,5 M; 1 L), cu pH aproximativ 5 și au fost amestecate timp de 6 minute. Amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (2 L), și stratul organic a fost spălat cu apă (2 L), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Reziduul a fost purificat utilizând cromatografie pe silicagel (Gradient: 0%

până la 50% acetat de etil în eter de petrol), obținându-se **C31** sub forma unui ulei incolor, după combinarea celor 3 loturi. Randament combinat: 1,17 kg, 3,06 moli, 89%. LCMS m/z 383,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul 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).

Etapă 4. Sinteza acidului(1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C32).

Acest experiment a fost realizat în 3 loturi paralele. La o soluție de **C31** (668 g, 1,75 moli) în tetrahidrofuran (2,5 L) au fost adăugate hidroxid de litiu monohidrat (220 g, 5,24 moli) și apă (500 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 25°C timp de 2 ore, acesta a fost concentrat *in vid* pentru a elimina cea mai mare parte a tetrahidrofuranului; reziduul a fost apoi ajustat la pH 2 prin adăugare de acid clorhidric 1 M. Amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (2 x 500 ml), și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (500 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține **C32** sub forma unui solid alb (2,0 kg) după combinarea celor 3 loturi. Acest material a fost folosit direct în etapa următoare. LCMS m/z 313,2 $[(M-2\text{-metilprop-1-en})+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,5$ Hz, 1H), 3,82 (dd, componentă a sistemului 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).

Etapă 5. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-(3-metil-L-valil)-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic, sare clorhidrat (C41).

Acest experiment a fost realizat în 2 loturi paralele. O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 4,0 L, 16 moli) a fost adăugată la o soluție de **C32** (din etapa anterioară; 1,00 kg, $\leq 2,62$ moli) în diclormetan (1,0 L), și amestecul de reacție a fost agitat la 25 °C timp de 16 ore. Îndepărtarea solvenților *in vid* la 50 °C a condus la obținerea **C41** sub forma unui solid alb (1,8 kg) după combinarea celor 2 loturi. Acest material a fost folosit direct în etapa următoare. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 4,42 (s, 1H), 4,00 (s, 1H), 3,94 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,7, 5,4$ Hz, 1H), 3,80 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,7$ Hz, 1H), 1,62 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 7,7, 5,2$ Hz, 1H), 1,56 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,15 (s, 9H), 1,09 (s, 3H), 1,03 (s, 3H).

Etapă 6. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C42).

Acest experiment a fost realizat în 3 loturi paralele. La o soluție de **C41** (din etapa anterioară; 600 g, $\leq 1,75$ moli) în metanol (2 L) la 0 °C au fost adăugate trietilamină (1,64 L, 11,8 moli), urmată de trifluoracetat de etil (699 g, 4,92 moli), după care amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 25°C, și a fost agitat timp de 16 ore. A fost concentrat apoi *in vid* la 50°C, iar reziduul a fost diluat cu acetat de etil (3 L) și a fost ajustat la un pH de 3 până la 4 prin adăugare de acid clorhidric 2 M. După extragerea stratului apos cu acetat de etil (1 L), straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (3 L), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate la presiune redusă. Cele 3 loturi au fost combinate în acest moment, au fost tratate cu un amestec de eter de petrol și acetat de etil (5:1, 3 L) și au fost agitate la 25 °C timp de 2 ore. Filtrarea a condus la obținerea **C42** sub forma unui solid alb. Randament combinat: 1,90 kg, 5,21 moli, 99% în 3 etape. LCMS m/z 365,1 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4) δ 8,88 (d, $J = 8,8$ Hz, $<1H$; schimbat incomplet), [4,60 (d, $J = 8,9$ Hz) și 4,59 (s), 1H total], 4,35 (s, 1H), 3,96 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,5, 5,1$ Hz, 1H), 3,90 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,4$ Hz, 1H), 1,58 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 7,6, 4,9$ Hz, 1H), 1,52 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,08 (s, 12H), 0,92 (s, 3H).

Etapă 7. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C43).

Acest experiment a fost realizat în 4 loturi paralele. A fost adăugată 1-oxid de 2-hidroxipiridină (33,9 g, 305 mmoli) la o soluție de **C42** (445 g, 1,22 moli) și **C16**, sare **HCl** (256 g, 1,23 moli) în butan-2-onă (2,5 L), și amestecul a fost răcit la 0°C. Apoi a fost adăugată *N,N*-diizopropiletilamină (638 mL, 3,66 moli), urmată de adăugare prin picurare de clorhidrat de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimidă (351 g, 1,83 moli). Amestecul de reacție a fost agitat la 25 °C timp de 16 ore, după care a fost diluat cu acetat de etil (1 L) și a fost tratat cu un amestec de acid clorhidric (1 M; 1,5 L, 1,5 moli) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (1 L). Stratul organic a fost spălat cu un amestec de soluție apoasă de hidroxid de sodiu (1 M; 1,5 L, 1,5 moli) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (1 L), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Combinarea dintre cele 4 loturi a condus la obținerea **C43** sub forma unui solid alb (2,3 kg). Randament combinat: 2,1 kg (corectat pentru acetat de etil rezidual), 4,1 moli, 84%. LCMS m/z 518,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

Etapă 8. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, metil *terț*-butil eter solvat (13**, metil *terț*-butil eter solvat), Forma solidă 2.**

Acest experiment a fost realizat în 3 loturi paralele. *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 552 g, 2,32 moli) a fost adăugat la o soluție de **C43** (600 g, 1,16 moli) în acetat de etil (3 l). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 25°C timp de 3 ore, acesta a fost tratat cu *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil suplimentar, sare internă (reactiv Burgess; 27,6 g, 116 mmoli) și amestecul de reacție a fost agitat timp de 1 oră. Apoi acesta a fost filtrat; turta de filtrare a fost spălată cu acetat de etil (2 x 500 mL), și filtratele combinate au fost spălate succesiv cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu (1 M; 2 L), soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 L), acid clorhidric (1 M; 2 L) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 L). Stratul organic a fost apoi uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Reziduul a fost tratat cu un amestec de acetat de etil și metil *terț*-butil eter (1:10, 2,5 L) și a fost încălzit la 50°C; după agitare timp de 1 oră la 50°C, a fost răcit la 25°C și a fost agitat timp de 2 ore. Solidul a fost colectat prin filtrare, și cele 3 loturi au fost combinate în acetat de etil (8 L) și au fost filtrate prin silicagel (3,0 kg); silicagelul a fost apoi spălat cu acetat de etil (2 x 2 L). După ce eluații combinați au fost concentrați *in vid*, reziduul a fost preluat în acetat de etil (900 mL) și metil *terț*-butil eter (9 L). Acest amestec a fost încălzit la 50°C timp de 1 oră, a fost răcit la 25°C și a fost agitat timp de 2 ore. Filtrarea a condus la obținerea de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (**13**, metil *terț*-butil eter solvat) sub forma unui solid alb. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru acest material, denumit Forma solidă 2, este prezentat în Figura 1; vârfurile caracteristice sunt enumerate în Tabelul A. Randament combinat: 1,41 kg, 2,82 moli, 81%. LCMS m/z 500,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (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).

Colectarea datelor de difracție de raze X în pulbere

Analiza de difracție de raze X în pulbere a fost efectuată utilizând un difractometru Bruker AXS D8 Endeavour echipat cu o sursă de radiație Cu (media K- α). Fanta de divergență a fost stabilită la 15 mm pentru iluminare continuă. Radiația difractată a fost detectată cu un detector PSD-Lynx Eye, cu deschiderea detectorului PSD stabilită la 2,99 grade. Tensiunea și intensitatea tubului cu raze X au fost stabilite la 40 kV și, respectiv, 40 mA. Datele au fost colectate în goniometrul Teta-Teta la lungimea de undă Cu de la 3,0 până la 40,0 grade 2-Teta folosind o dimensiune a pasului de 0,00998 grade și un timp al pasului de 1,0 secunde. Ecranul împotriva împrăștierii a fost stabilit la o distanță fixă de 1,5 mm. Probele au fost rotite la 15/minut în timpul colectării. Probele au fost pregătite prin plasarea lor într-un suport de probă din silicon cu fundal scăzut și au fost rotite în timpul colectării. Datele au fost colectate folosind software-ul Bruker DIFFRAC Plus și analiza a fost efectuată cu software-ul EVA DIFFRAC Plus. Folosind algoritmul de căutare a vârfurilor din software-ul EVA, vârfurile selectate cu o valoare de prag de 1 au fost utilizate pentru a face atribuiri preliminare ale vârfurilor. Pentru a asigura valabilitatea, ajustările au fost efectuate manual; ieșirea alocărilor automate a fost verificată vizual și pozițiile de vârf au fost ajustate la vârful maxim. Au fost alese în general vârfuri cu intensitate relativă $\geq 3\%$. Vârfurile care nu au fost determinate sau au fost în concordanță cu zgomotul nu au fost selectate. O eroare tipică asociată cu poziția de vârf de la PXRD exprimată în USP este până la $\pm 0,2^\circ$ 2-Teta (USP-941).

Tabelul A. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **13, metil terț-butil eter solvat**, Forma solidă 2, din Sinteza Alternativă din Exemplul 13, metil terț-butil eter solvat; Generarea lui 13, metil terț-butil eter solvat, Forma solidă 2

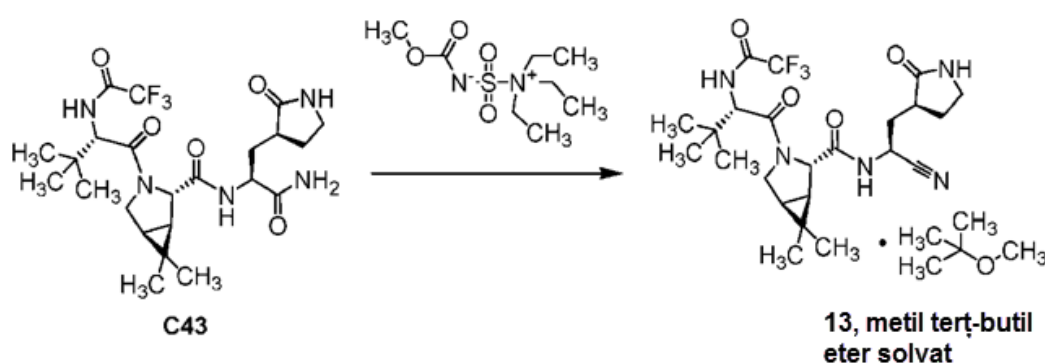
Unghi ($^\circ$ 2-teta) $\pm 0,2^\circ$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^\circ$ 2-teta) $\pm 0,2^\circ$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
7,1	78	22,7	9
10,5	8	22,9	10
11,3	15	23,1	5
11,8	36	23,4	6
12,5	49	23,7	22
12,9	4	25,3	14
14,2	34	27,3	3
15,7	10	27,9	6
16,0	24	28,3	9
16,8	100	28,5	4

Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) $\pm$ 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) $\pm$ 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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		

Sinteza alternativă a acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (**C42**).

A doua sinteză alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat; Generarea de 13, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (13, metil *terț*-butil eter solvat), Forma solidă 2



N-(triethylamoniosulfonil)carbamate de metil, sare internă (reactiv Burgess; 392 g, 1,64 moli) a fost adăugat la o soluție de **C43** (415 g, 802 mmoli) în acetat de etil (2,0 L). Amestecul de reacție a fost agitat la 25 $^{\circ}$ C timp de 3 ore, după care a fost adăugat din nou *N*-(triethylamoniosulfonil)carbamate de metil, sare internă (reactiv Burgess; 86,0 g, 361 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat timp de 1 oră, a fost filtrat și filtratul a fost spălat

succesiv cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu (1 M; 1,5 L), soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (1,5 L), acid clorhidric (1 M); 1,5 L) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (1,5 L), a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat în vid. Reziduul a fost tratat cu un amestec de acetat de etil și metil *terț*-butil eter (1:10, 2,5 L) și a fost încălzit la 50°C; după agitare timp de 1 oră la 50°C, a fost răcit la 25°C și a fost agitat timp de 2 ore. Colectarea solidului prin filtrare a condus la obținerea de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (**13**, metil *terț*-butil eter solvat) sub forma unui solid alb cristalin. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru acest material, denumit Forma solidă 2, este prezentat în Figura 2; vârfurile caracteristice sunt enumerate în Tabelul B. Randament: 338 g, 575 mmoli, 72%. LCMS *m/z* 500,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,4, 5,5 Hz, 1H), 3,69 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H); vârfuri de metil *terț*-butil eter: 3,07 (s, 3H), 1,10 (s, 9H).

Metoda de colectare a datelor de difracție de raze X în pulbere este descrisă în Sinteza alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat, Etapa 8.

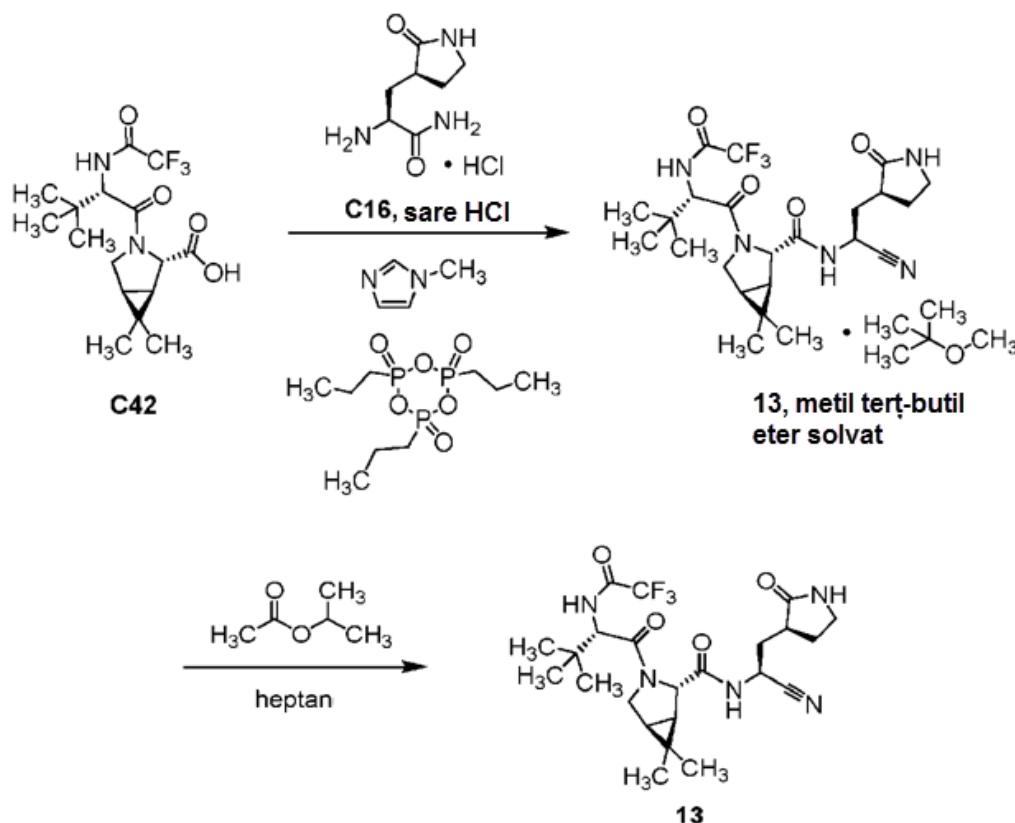
Tabelul B. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **13**, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2, din a doua sinteză alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat; Generarea de 13, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2

Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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

Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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		

A treia sinteză alternativă din Exemplul 13

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (13)



Etapa 1. Sinteza (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, metil terț-butil eter solvat (13**, metil terț-butil eter solvat)**

Un amestec de **C42** (90,5 % în masă, 5,05 g, 12,5 mmoli) și **C16, sare HCl** (98,9 % în masă, 3,12 g, 14,9 mmoli) în acetonitril (50 ml) la 0 °C a fost tratat cu 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosfinan (soluție 50% în greutate în acetonitril; 17 mL, 24,3 mmoli) timp de aproximativ 10 minute. Apoi a fost adăugat încet 1-metil-1H-imidazol (4,0 mL, 50,2 mmoli), timp de aproximativ 15 minute, și amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 0 °C timp de 3,5 ore, după care a fost încălzit la 25 °C. A fost adăugat 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosfinan (soluție 50% în greutate în acetonitril; 17 mL, 24,3 mmoli) într-o porție, și amestecul de reacție a fost agitat la 45°C timp de 16 ore. Acesta a fost răcit la 25 °C în acel moment, și apoi a fost tratat timp de 10 minute cu o soluție apoasă de bicarbonat de sodiu (1,14 M; 35 mL, 40 mmoli). După adăugarea de acetat de etil (25 ml) și apă suficientă pentru a dizolva solidele rezultate, stratul organic a fost spălat de două ori cu o soluție apoasă de bicarbonat de sodiu (1,14 M; 25 ml, 28 mmoli). După ce stratul organic a fost spălat cu soluție apoasă de clorură de sodiu (14%, 2 x 20 mL), acesta a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat în vid. Reziduul a fost amestecat cu acetat de etil (2,1 ml) și a fost tratat cu metil terț-butil eter (19 ml); suspensia rezultată a fost

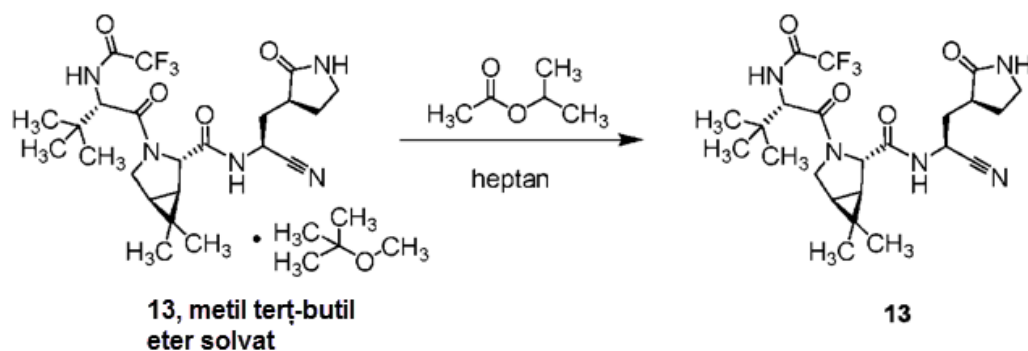
încălzită cu agitare la 50°C timp de 1 oră, a fost răcită la 25°C timp de 1 oră și a fost menținută la 25°C timp de 1,5 ore. Solidele au fost izolate prin filtrare, au fost spălate cu metil *terț*-butil eter (2 ml/g) și au fost uscate într-un cuptor cu vid peste noapte la 50 °C pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (**13**, metil *terț*-butil eter solvat) sub forma unui solid alb cristalin. Cea mai mare parte a acestui material a fost transferată la următoarea etapă. Randament: 3,71 g, 6,31 mmoli, 50%. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,3, 5,5 Hz, 1H), 3,69 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H); vârfuri de metil *terț*-butil eter: 3,07 (s, 3H), 1,10 (s, 9H).

Etapă 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (13**).**

Un amestec de acetat de propan-2-il (17 ml) și heptan (17 ml) a fost adăugat la **13**, metil *terț*-butil eter solvat (din etapa anterioară; 3,41 g, 5,80 mmoli), și agitarea a fost efectuată peste noapte la 20 °C. A fost adăugat apoi heptan (17 mL) timp de 2 ore, iar amestecul a fost agitat peste noapte la temperatura camerei. Suspensia rezultată a fost filtrată, și solidele colectate au fost spălate cu un amestec de acetat de propan-2-il (1,36 ml) și heptan (3,73 ml), și au fost uscate la 50 °C în vid, obținându-se (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**13**) sub forma unui solid cristalin. O porțiune din acest lot a fost utilizată ca material de înșămânțare în recristalizarea din Exemplul 13; Generarea formei solide 1 de mai jos. Randament: 2,73 g, 5,46 mmoli, 94%.

Recristalizarea din Exemplul 13; Generarea formei solide 1

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (13**), Forma solidă 1**



Un amestec de **13, metil terț-butil eter solvat** (din Sinteza Alternativă din Exemplul 13, metil terț-butil eter solvat; Generarea de 13, metil terț-butil eter solvat, Forma solidă 2; 60,1 g, 102 mmoli) și acetat de propan-2-il (480 ml) au fost încălzite la 60°C. A fost adăugată o probă de **13** (material de însămânțare, din a treia sinteză alternativă din Exemplul 13, Etapa 2; 1,2 g, 2,4 mmoli); după 10 minute, materialul de însămânțare era încă prezent sub formă solidă. A fost adăugat lent heptan (360 mL) la amestecul de agitare, timp de 12 ore. A fost introdus suplimentar heptan (360 mL) timp de 4 ore, iar amestecul rezultat a fost agitat timp de 30 de minute. A fost răcit apoi la 20°C, cu o viteză de 0,1 grade/minut, după care a fost agitat peste noapte. Solidul a fost colectat prin filtrare și a fost spălat cu un amestec de acetat de propan-2-il (72 mL) și heptan (168 mL). Apoi a fost uscat în vid la 50 °C pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**13**) sub forma unui solid alb, cristalin. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru acest material, denumit Forma solidă 1, este prezentat în Figura 3; vârfurile caracteristice sunt enumerate în Tabelul C. Randament: 47,8 g, 95,7 mmoli, 94%.

Metoda de colectare a datelor de difracție de raze X în pulbere este descrisă în Sinteza alternativă din Exemplul 13, metil terț-butil eter solvat, Etapa 8.

Tabelul C. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **13**, Forma solidă 1

Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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

Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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

Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 1

O probă din Exemplul 13 a fost supusă cristalizării prin difuzie, utilizând acetat de etil și hexan. Vasul de cristalizare a fost lăsat să stea la temperatura camerei în timp ce solventul s-a evaporat; după 2,5 luni, au fost prezente cristale de calitate de raze X. Unul dintre acestea a fost folosit pentru determinarea structurală. O diagramă ORTEP a datelor de monocristal este prezentată în Figura 4. Software-ul Mercury a fost utilizat pentru a calcula modelul de pulbere din structura cristalină determinată; comparație cu modelul de difracție din recristalizarea din Exemplul 13; Generarea Formei Solide 1 a identificat acest material ca fiind Forma Solidă 1 (vezi Figura 5). Vârfurile caracteristice pentru aceste date calculate sunt furnizate în tabelul D.

Tabelul D. Date despre modelul de pulbere pentru **13, Forma solidă 1** calculat din Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 1

Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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

Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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		

Analiza cu raze X a unui monocristal

Colectarea datelor a fost efectuată pe un difractometru Bruker D8 Quest la temperatura camerei. Colectarea datelor a constat în scanări omega și phi.

Structura a fost determinată prin fază intrinsecă folosind suita de software SHELX în grupul spațial al clasei ortorombice $P2_12_12_1$. Structura a fost ulterior rafinată prin metoda celor mai mici pătrate cu matrice completă. Toți atomii care nu sunt hidrogen au fost găsiți și rafinați folosind parametrii de deplasare anizotropică.

Atomii de hidrogen localizați pe azot au fost găsiți din harta diferențelor Fourier și au fost rafinați cu distanțe restrânse. Atomii de hidrogen rămași au fost plasați în poziții calculate și au fost lăsați să călătorească pe atomii lor purtători. Rafinarea finală a inclus parametrii de deplasare izotropică pentru toți atomii de hidrogen.

Analiza structurii absolute folosind metode de probabilitate (Hooft, 2008) a fost efectuată folosind PLATON (Spek). Rezultatele indică faptul că structura absolută a fost corect atribuită. Metoda calculează că probabilitatea ca structura să fie corect atribuită este de 100%. Parametrul Hooft este raportat ca -0,01 cu un esd (deviația standard estimată) de (3), iar parametrul lui Parson este raportat ca -0,01 cu un esd de (2).

Indicele R final a fost de 3,3%. O ultimă diferență Fourier a dezvăluit că nu este lipsă sau greșită nicio densitate de electroni.

Informațiile pertinente privind cristalele, colectarea datelor și rafinarea sunt prezentate pe scurt în Tabelul E. Coordonatele atomice, lungimile legăturilor, unghiurile de legătură și parametrii de deplasare sunt enumerate în Tabelele F - H.

Software și referințe

SHELXTL, Versiunea 5,1, Bruker AXS, 1997.

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

MERCUR, C. F. Macrae, P. R. Edington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler și 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 și H. Puschmann, J. Appl. Cryst. 2009, 42, 339-341.

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

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

Tabelul E. Datele cristalului și rafinarea structurii pentru **Exemplul 13, Forma solidă 1**.

Formulă empirică	C ₂₃ H ₃₂ F ₃ N ₅ O ₄	
Greutatea formulei	499,53	
Temperatură	296(2) K	
Lungime de undă	1,54178 Å	
Sistem de cristal	Ortorombic	
Grup spațial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Dimensiunile unității celulare	a = 9,6836(2) Å	$\alpha = 90^\circ$
	b = 15,0522(4) Å	$\beta = 90^\circ$
	c = 18,0272(5) Å	$\gamma = 90^\circ$
Volum	2627,64(11) Å ³	
Z	4	
Densitate (calculată)	1,263 Mg/m ³	
Coeficient de absorbție	0,862 mm ⁻¹	
F(000)	1056	
Dimensiunea cristalului	0,300 × 0,280 × 0,260 mm ³	
Gama Teta pentru colectarea datelor	3,826 până la 80,042°	
Intervale de indexare	-22 ≤ h ≤ 23 -12 ≤ k ≤ 12, -18 ≤ l ≤ 19,	
Reflecții adunate	79731	
Reflecții independente	5628 [<i>R</i> _{int} = 0,0294]	
Completitudine la teta = 67,679°	99,3%	
Corecția absorbției	Empiric	
Metoda de rafinare	Cele mai mici pătrate cu matrice completă pe <i>F</i> ²	
Date / restricții / parametri	5628 / 9 / 358	
Corectitudinea potrivirii pe <i>F</i> ²	1,040	
Indici R finali [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> 1 = 0,0326, <i>wR</i> 2 = 0,0906	
Indici R (toate datele)	<i>R</i> 1 = 0,0346, <i>wR</i> 2 = 0,0928	

Parametru de structură absolută	-0,01 (3)	
Coeficient de stingere	n/a	
Cea mai mare diferență dintre vârf și gol	0,112 și -0,121 e.Å ⁻³	

Tabelul F. Coordonatele atomice ($\times 10^4$) și parametri de deplasare izotropică echivalenți ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **Exemplul 13, Forma solidă 1**. U(echiv) este definit ca o treime din urma tensorului U^{ij} ortogonalizat.

	x	y	z	U(echivalent)
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)

	x	y	z	U(echivalent)
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)

Tabelul G. Lungimi de legături [Å] și unghiuri [°] pentru **Exemplul 13, Forma solidă 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

Transformări de simetrie utilizate pentru a genera atomi echivalenți.

Tabelul H. Parametrii de deplasare anizotropică ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **Exemplul 13, Forma solidă 1**. Exponentul factorului de deplasare anizotropică ia forma: $-2\pi^2[h^2 a^* U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	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)

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
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)

Analiza RMN în stare solidă a compusului din Exemplul 13, Formele 1 și 4, a fost efectuată pe o sondă CPMAS poziționată într-un spectrometru RMN Bruker-BioSpin Avance III 500 MHz (frecvența ¹H). A fost folosită o frecvență de rotație cu unghi magic de 15,0 kHz. Spectrele din Forma 1 au fost colectate la temperatura ambiantă (temperatură necontrolată), și spectrele din Forma 4 au fost colectate la 15°C.

Spectrele ¹³C ssRMN au fost colectate folosind un experiment de rotație cu unghi magic cu polarizare încrucișată cu proton decuplat (CPMAS). Un câmp de decuplare a protonilor modulat în fază de 80-100 kHz a fost aplicat în timpul achiziției spectrale. Timpul de contact cu polarizarea încrucișată a fost stabilit la 2 ms, și întârzierea de reciclare la 3,5 secunde

pentru Forma 1 și Forma 4. Numărul de scanări a fost ajustat pentru a obține un raport semnal/zgomot adecvat. A fost făcută referire la scala de deplasare chimică ^{13}C folosind un Experiment CPMAS ^{13}C pe un standard extern de adamantan cristalin, stabilindu-i rezonanța în câmp la 29,5 ppm.

[0303] Spectrele ^{19}F ssRMN au fost colectate folosind un experiment de rotație cu unghi magic cu proton decuplat (MAS). Un câmp de decuplare a protonilor modulat în fază de 80-100 kHz a fost aplicat în timpul achiziției spectrale. Spectrele au fost colectate cu o întârziere de reciclare la 6 secunde pentru Forma 1 și 5,25 secunde pentru Forma 4. Numărul de scanări a fost ajustat pentru a obține un raport semnal/zgomot adecvat. A fost făcută referire la scala de deplasare chimică ^{19}F folosind un Experiment ^{19}F MAS pe un standard extern de acid trifluoracetic (50%/50% v/v în H_2O), stabilindu-i rezonanța la -76,54 ppm.

Alegerea automată a vârfurilor a fost efectuată folosind software-ul Bruker-BioSpin TopSpin versiunea 3,6. În general, pentru selecția preliminară a vârfului a fost utilizată o valoare de prag de intensitate relativă 4%. Ieșirea culegerii automate a vârfului a fost verificată vizual pentru asigurarea validității, și ajustările au fost făcute manual dacă a fost necesar. Deși aici sunt raportate valori de vârf specifice RMN în stare solidă, există un interval pentru aceste valori de vârf datorită diferențelor de la instrumente, probe și prepararea probei. Aceasta este o practică obișnuită în domeniul RMN în stare solidă din cauza variației inerente în pozițiile vârfurilor. O variabilitate tipică pentru o valoare a deplasării chimice ^{13}C pe axa x este de ordinul a plus sau minus 0,2 ppm, cu excepția cazului în care se specifică altfel, pentru un solid cristalin. Variabilitatea pentru valoarea deplasării chimice ^{19}F pe axa x este de ordinul plus sau minus 0,1 ppm. Înălțimile vârfurilor RMN în stare solidă raportate aici sunt intensități relative. Intensitățile RMN în stare solidă pot varia în funcție de configurația reală a parametrilor experimentali și de istoricul termic al probei.

^{13}C RMN în stare solidă din Exemplul 13, Forma 1 a fost obținută așa cum este descris mai sus și a fost determinată următoarea listă de vârfuri din Exemplul 13, Forma 1. Variabilitatea pentru valorile deplasării chimice ^{13}C sunt $\pm 0,2$ ppm, cu excepția cazului în care se specifică altfel.

Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)	Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)	Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)
178,9	24	62,7	24	33,0 $\pm$ 0,1	35

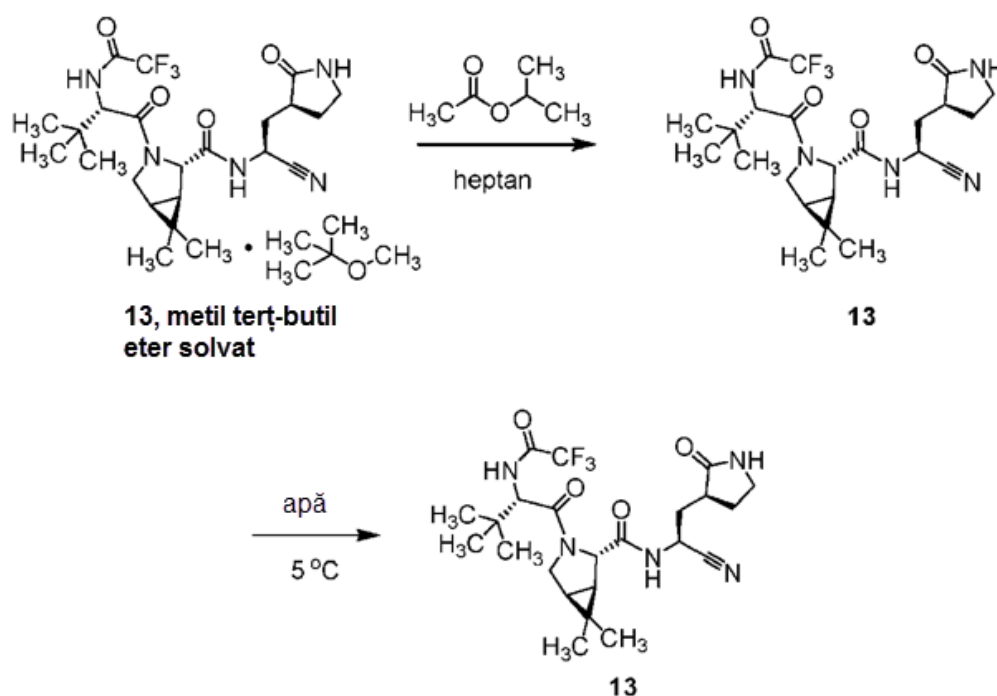
Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)	Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)	Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)
172,3	21	58,6	27	31,0 $\pm$ 0,1	31
172,1	25	47,2	26	27,9 $\pm$ 0,1	100
169,6	21	40,3	28	26,3	58
156,7	14	39,4	24	26,0	41
123,5	10	39,0	31	20,8 $\pm$ 0,1	49
122,6 $\pm$ 0,1	6	37,8 $\pm$ 0,1	48	13,0 $\pm$ 0,1	47
118,5	4	37,4 $\pm$ 0,1	41		
116,1	4	34,6 $\pm$ 0,1	33		

^{19}F RMN în stare solidă a compusului din Exemplul 13, Forma 1 a fost obținută și a fost determinat vârful ^{19}F RMN în stare solidă la o deplasare chimică de $-73,3 \pm 0,1$ ppm.

Vârfurile caracteristice pentru compusul din Exemplul 13, Forma 1 sunt vârful ^{19}F cu o deplasare chimică la $-73,3 \pm 0,1$ ppm în combinație cu vârfuri ^{13}C cu deplasări chimice la $31,0 \pm 0,1$ ppm, $27,9 \pm 0,1$ ppm și $178,9 \pm 0,2$ ppm.

Recristalizarea alternativă din Exemplul 13; Generarea formei solide 4

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (13), Forma solidă 4



Etapa 1. Recristalizarea (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (13) din acetat de propan-2-il și heptan.

Un amestec de acetat de propan-2-il (50 ml) și heptan (50 ml) a fost adăugat la **13**, metil *terț*-butil eter solvat, Forma solidă 2 (din a doua sinteză alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat; 10,02 g, 17,0 mmoli), și amestecul a fost agitat la 20°C și la 3500 rpm peste noapte. A fost adăugat apoi încet heptan (50 mL) și agitarea a fost continuată timp de 30 de minute, după care amestecul a fost răcit la 10°C timp de 30 de minute. După agitare timp de încă 2 ore, suspensia a fost filtrată; turta de filtrare a fost spălată cu un amestec de acetat de propan-2-il (4 ml) și heptan (16 ml) și apoi a fost uscată la 55 °C în vid pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**13**) sub forma unui solid cristalin. O parte din acest material a fost utilizată în următoarea recristalizare. Randament: 7,74 g, 15,5 mmoli, 91%.

Etapa 2. Recristalizarea (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (13) din apă.

O suspensie de **13** (din etapa anterioară; 1,0 g, 2,0 mmoli) în apă (12 mL) a fost agitată la 5°C timp de 21 de zile, după care solidul a fost colectat prin filtrare. Apoi a fost uscat în vid timp de 10 minute și a fost uscat la aer într-un strat subțire pe hârtie timp de 20 de minute, obținându-se (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**13**) sub forma unui solid alb, cristalin. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru acest material, denumit Forma Solidă 4, este prezentat în Figura 6; vârfurile caracteristice sunt enumerate în Tabelul J. Randament: 755 mg, 1,51 mmoli, 76%. Metoda de colectare a datelor de difracție de raze X în pulbere este descrisă în Sinteza Alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat, Etapa 8.

Tabelul J. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **13**, Forma solidă 4

Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi (°2-teta) +/- 0,2° 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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

Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) $\pm$ 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) $\pm$ 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) $\pm$ 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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		

Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 4

O probă din Exemplul 13 a fost supusă cristalizării prin difuzie la temperatura camerei, utilizând acetat de etil și pentan; unul dintre cristalele rezultate a fost folosit pentru determinarea structurii cu raze X a unui monocristal. O diagramă ORTEP a datelor de monocristal este prezentată în Figura 7. Software-ul Mercury a fost utilizat pentru a calcula modelul de pulbere din structura cristalină determinată; comparație cu modelul de difracție din recristalizarea alternativă din Exemplul 13; Generarea Formei Solide 4 a identificat acest material ca fiind Forma Solidă 4 (vezi Figura 8). Vârfurile caracteristice pentru aceste date calculate sunt furnizate în tabelul K.

Tabelul K. Date despre modelul de pulbere pentru **13, Forma solidă 1** calculat din Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 4

Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)	Unghi ($^{\circ}$ 2-teta) +/- 0,2 $^{\circ}$ 2-Teta	Intensitate relativă (%)
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		

Analiza cu raze X a monocristalului

Colectarea datelor a fost efectuată pe un difractometru Bruker D8 Venture la -100 $^{\circ}$ C. Colectarea datelor a constat în scanări omega și phi.

Structura a fost determinată prin fazare intrinsecă folosind suita de software SHELX în grupul spațial de clasă ortorombică $P2_12_12_1$. Structura a fost ulterior rafinată prin metoda celor mai mici pătrate cu matrice completă. Toți atomii care nu sunt hidrogen au fost găsiți și rafinați folosind parametri de deplasare anizotropică.

Atomii de hidrogen localizați pe azot au fost găsiți din harta diferențelor Fourier și au fost rafinați cu distanțe restrânse. Atomii de hidrogen rămași au fost plasați în poziții calculate și au fost lăsați să călătorească pe atomii lor purtători. Rafinarea finală a inclus parametri de deplasare izotropică pentru toți atomii de hidrogen.

Analiza structurii absolute folosind metode de probabilitate (Hooft, 2008) a fost efectuată folosind PLATON (Spek). Stereochimia absolută nu a fost determinată, din cauza valorilor în afara specificațiilor ale parametrilor Hooft / Parsons / Flack și a abaterilor standard. Indicele R final a fost de 6,3%. O ultimă diferență Fourier a dezvăluit că nu este lipsă sau greșită nicio densitate de electroni.

Informațiile pertinente privind cristalele, colectarea datelor și rafinare sunt prezentate pe scurt în tabelul L. Coordonatele atomice, lungimile legăturilor, unghiurile de legătură și parametrii de deplasare sunt enumerate în tabelele M - P.

Software și referințe

SHELXTL, Versiunea 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 și 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 și H. Puschmann, J. Appl. Cryst. 2009, 42, 339-341.

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

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

Tabelul L. Datele cristalului și rafinarea structurii pentru **Exemplul 13, Forma solidă 4**.

Formulă empirică	C ₂₃ H ₃₂ F ₃ N ₅ O ₄	
Greutatea formulei	499,53	
Temperatură	173(2) K	
Lungime de undă	1,54178 Å	
Sistem de cristal	Ortorombic	
Grup spațial	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Dimensiunile unității celulare	<i>a</i> = 9,2114(9) Å	$\alpha = 90^\circ$
	<i>b</i> = 15,1607(16) Å	$\beta = 90^\circ$
	<i>c</i> = 18,191(2) Å	$\gamma = 90^\circ$
Volum	2540,5(5) Å ³	
Z	4	
Densitate (calculată)	1,306 Mg/m ³	
Coeficient de absorbție	0,892 mm ⁻¹	
<i>F</i> (000)	1056	
Dimensiunea cristalului	0,100 × 0,060 × 0,040 mm ³	
Gama Teta pentru colectarea datelor	3,795 până la 54,284°	

Intervalele de indexare	-18<= <i>l</i> <=18 -9<= <i>h</i> <=9, -15<= <i>k</i> <=15,	
Reflecții adunate	15896	
Reflecții independente	3070 [$R_{int} = 0,1260$]	
Completitudine la teta = 54,284°	99,1 %	
Corecția absorbției	Empiric	
Metoda de rafinare	Cele mai mici pătrate cu matrice completă pe F^2	
Date / restricții / parametri	3070 / 9 / 349	
Corectitudinea de potrivire pe F^2	1,067	
Indici R finali [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0,0625$, $wR2 = 0,1515$	
Indici R (toate datele)	$R1 = 0,0696$, $wR2 = 0,1578$	
Parametru de structură absolută	0,14(14)	
Coeficient de stingere	N / A	
Cea mai mare diferență dintre vârf și gol	0,280 și -0,220 e.Å ⁻³	

Tabelul M. Coordonatele atomice ($\times 10^4$) și parametrii de deplasare izotropică echivalenți ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **Exemplul 13, Forma solidă 4**. U(echiv) este definit ca o treime din urma tensorului U^{ij} ortogonalizat.

	X	y	z	U(echivalent)
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)

	X	y	z	U(echivalent)
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)

Tabelul N. Lungimi de legături [Å] și unghiuri [°] pt **Exemplul 13, Forma solidă 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

Transformări de simetrie utilizate pentru a genera atomi echivalenți.

Tabelul P. Parametrii deplasării anizotropice ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **Exemplul 13, Forma solidă**

4. Exponentul factorului de deplasare anizotrop ia forma: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	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)

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
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)

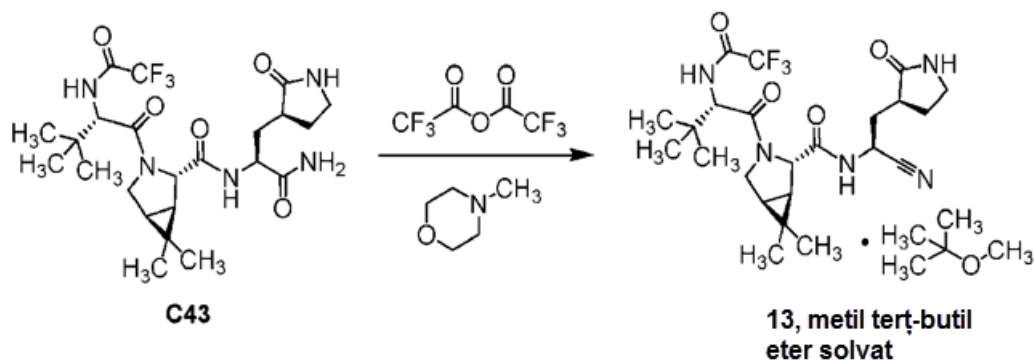
Lista de vârfuri ^{13}C RMN în stare solidă a PF-07321332-00 Forma 4. Variabilitatea pentru valorile deplasării chimice ^{13}C sunt de $\pm 0,2$ ppm, cu excepția cazului în care se specifică altfel.

Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)	Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)	Deplasare chimică ^{13}C (ppm)	Intensitate relativă (%)
179,3	16	62,0	17	32,9	16
178,8	11	58,5	26	31,9	23
172,3	20	47,1	26	$31,3 \pm 0,1$	16
169,6	8	41,5	17	29,7	18
168,6	12	40,2	12	$27,9 \pm 0,1$	100
156,7	12	38,8	22	$26,9 \pm 0,1$	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	$21,6 \pm 0,1$	31
118,5	4	37,0	25	$20,8 \pm 0,1$	22
62,4	16	34,4	13	$12,9 \pm 0,1$	46

^{19}F RMN în stare solidă a compusului din Exemplul 13, Forma 4 a fost obținută și a fost determinat un vârf la $-73,6 \pm 0,1$ cu o intensitate relativă de 100%.

Pentru compusul din Exemplul 13, Forma 4, au fost identificate șase vârfuri caracteristice: ^{19}F deplasare chimică la $-73,6 \pm 0,1$ ppm și deplasare chimică ^{13}C la $26,9 \pm 0,1$ ppm, $21,6 \pm 0,1$ ppm, $41,5 \pm 0,2$ ppm, $27,9 \pm 0,1$ ppm și $12,9 \pm 0,1$. Vârful ^{19}F cu deplasare chimică la $-73,6 \pm 0,1$ ppm este caracteristic compusului din Exemplul 13, Forma 4. Vârfurile ^{13}C la $26,9 \pm 0,1$ ppm, $21,6 \pm 0,1$ ppm și $41,5 \pm 0,1$ ppm sunt fiecare vârfuri caracteristice ale compusului din Exemplul 13, Forma 4. Vârfurile ^{13}C la $27,9$ ppm și $12,9$ ppm sunt fiecare caracteristice ale compusului din Exemplul 13, Forma 4 atunci când sunt luate în combinație cu unu sau mai multe dintre vârfurile selectate dintre vârfurile ^{13}C la $21,6$ ppm, $26,9$ ppm și $41,5$ ppm și vârful ^{19}F la $-73,6$ ppm.

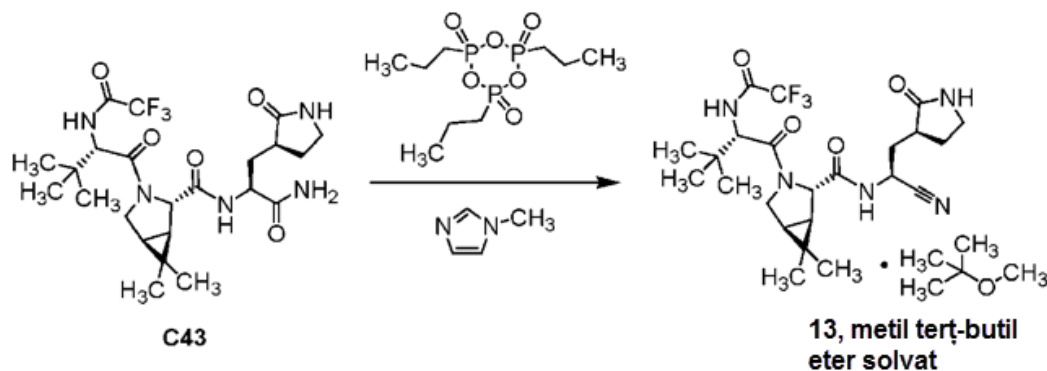
A patra alternativă de sinteză din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabiclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (13, metil *terț*-butil eter solvat)



La o suspensie de **C43** (5,0 g, 9,7 mmoli) în acetat de propan-2-il (7,6 mL/g, 38 mL) la 0 °C a fost încărcată 4-metilmorfolină (4,5 echivalenți; 4,8 mL, 44 mmoli). În suspensia rezultată a fost încărcată anhidridă trifluoracetică (2,25 echivalenți; 3,1 mL, 22 mmoli) timp de 1 oră printr-o pompă de dozare. După agitare la 0°C timp de cel puțin 1 oră, amestecul de reacție a fost încălzit la aproximativ 20°C, a fost stins cu apă (8 ml/g, 40 ml) și a fost agitat timp de cel puțin 10 minute. După decantare, stratul inferior (apos) a fost aruncat și a fost adăugată apă (8 mL/g, 40 mL) la stratul organic. După agitare timp de cel puțin 10 minute, straturile au fost separate, și stratul inferior (apos) a fost aruncat. Stratul organic a fost concentrat la presiune redusă până la aproximativ 4 ml/g (aproximativ 20 ml), după care vidul a fost spart folosind azot, și soluția a fost încălzită la aproximativ 50 °C. A fost adăugat încet metil terț-butil eter (12 ml/g, 60 ml) timp de cel puțin 4 ore prin pâlnie de adăugare, și amestecul de reacție a fost menținut la 50 °C timp de cel puțin 1 oră înainte de a fi răcit la 25 °C pe parcursul a 1 oră. Suspensia rezultată a fost menținută la 25°C peste noapte, apoi a fost filtrată, a fost spălată succesiv cu un amestec de acetat de propan-2-il și metil terț-butil eter [1:3 (v/v); 2 mL/g] și cu metil terț-butil eter (2 mL/g, 10 mL) și a fost uscată pe filtru timp de cel puțin 30 de minute. Solidele au fost apoi transferate într-un cuptor cu vid la 50 °C și au fost uscate timp de cel puțin 8 ore, obținându-se (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil terț-butil eter solvat (**13, metil terț-butil eter solvat**) sub forma unui solid alb murdar. Randament: 3,4 g, 5,8 mmoli, 60%.

A cincea sinteză alternativă din Exemplul 13, metil terț-butil eter solvat

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil terț-butil eter solvat (**13, metil terț-butil eter solvat**)



La o suspensie de **C43** (4,0 g, 7,7 mmoli) în acetonitril (10 mL/g, 40 mL) la temperatura camerei a fost încărcat 1-metil-1*H*-imidazol (4,6 echivalenți; 2,84 mL, 35,6 mmoli), și amestecul rezultat a fost încălzit la aproximativ 30°C. O soluție de 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrifosfinan (soluție 50% în greutate în acetonitril; 2 echivalenți; 10,8 mL) a fost adăugată pe parcursul a cel puțin 6 ore folosind o pompă. După ce amestecul de reacție a fost agitat timp de cel puțin 10 ore, acesta a fost răcit la 25°C și a fost stins cu grijă prin adăugare de soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (7 ml/g, 28 ml) (exotermă și gaze reziduale). Acetonitrilul a fost apoi distilat la presiune redusă; la amestecul rezultat a fost adăugat acetat de etil (10 mL/g, 40 mL) și soluție apoasă saturată suplimentară de bicarbonat de sodiu (5 mL/g, 20 mL). După divizarea fazei, stratul inferior (apos) a fost aruncat și stratul organic a fost spălat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3,5 ml/g; 14 ml). Stratul apos a fost aruncat din nou, și stratul organic a fost concentrat la presiune redusă până la aproximativ 1 mL/g (4 mL). A fost încărcat metil *terț*-butil eter (9 mL/g; 36 mL) și soluția rezultată a fost încălzită la 50 °C rezultând rapid o suspensie. Această suspensie a fost menținută la 50 °C timp de cel puțin 30 de minute, după care a fost răcită la 25 °C timp de 1 oră și a fost menținută la 25 °C timp de cel puțin 8 ore. Suspensia a fost apoi filtrată, a fost spălată cu un amestec de acetat de etil și metil *terț*-butil eter [1:3 (v/v); 2 mL/g], și apoi a fost spălată cu metil *terț*-butil eter (2 mL/g; 8 mL). Solidul colectat a fost uscat pe filtru timp de cel puțin 30 de minute, a fost transferat într-un cuptor cu vid la aproximativ 50 °C și a fost uscat timp de cel puțin 8 ore, obținându-se (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, metil *terț*-butil eter solvat (**13**, metil *terț*-butil eter solvat) sub forma unui solid alb murdar. Randament: 2,9 g, 4,9 mmoli, 64%.

Exemple de formulare pentru compusul din Exemplul 13

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau un hidrat sau solvat al acesteia sau o sare acceptabilă farmaceutic a compusului, hidratului sau solvatului este formulată pentru realizarea unei tablete acoperite o peliculă convențională cu eliberare imediată, pentru administrare orală, cu doze care variază de la 100 până la 250 mg. Ca un exemplu, o formulare cu eliberare imediată este descrisă în Tabelul de formulări și cuprinde excipienți convenționali inactivi celuloză microcristalină și lactoză monohidrat (diluanti), crospovidonă (dezintegrant), dioxid de siliciu coloidal (agent de alunecare) și stearil fumarat de sodiu (lubrifiant). Tabletele cu eliberare imediată sunt acoperite cu peliculă folosind formulări de peliculă disponibile comercial, incluzând Opadry alb și Opadry roz. Toți excipienții utilizați în tableta acoperită sunt acceptabili la nivel global și sunt prezenți la niveluri precedente. Formularea furnizată este un exemplu de formulare de tabletă cu eliberare imediată și, ca atare, un specialist în domeniu ar fi capabil să folosească tehnici de rutină ușor disponibile, folosind excipienți de formulare alternativi pentru a realiza tablete adecvate și pentru a obține atributele dorite de calitate a tabletei.

Exemple de formulare: Formulări reprezentative de tablete acoperite de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

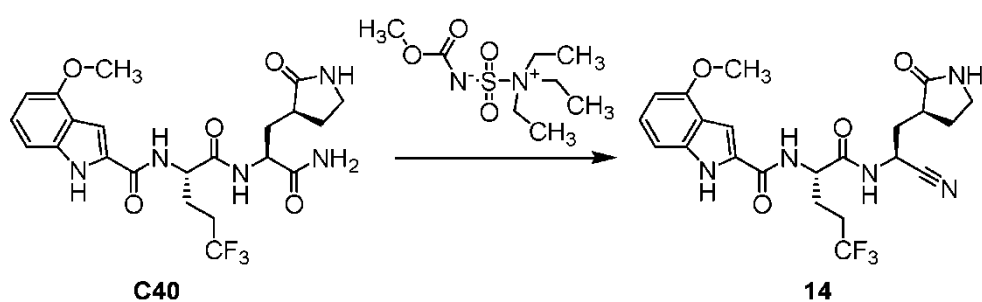
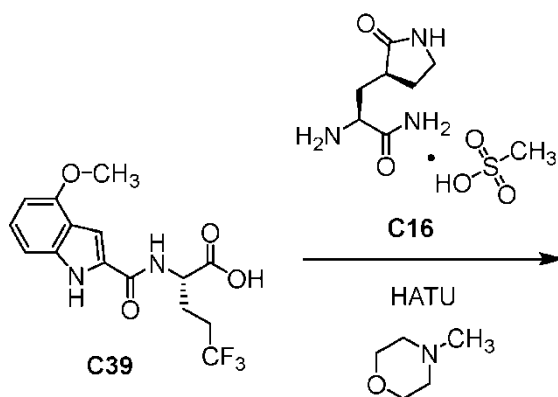
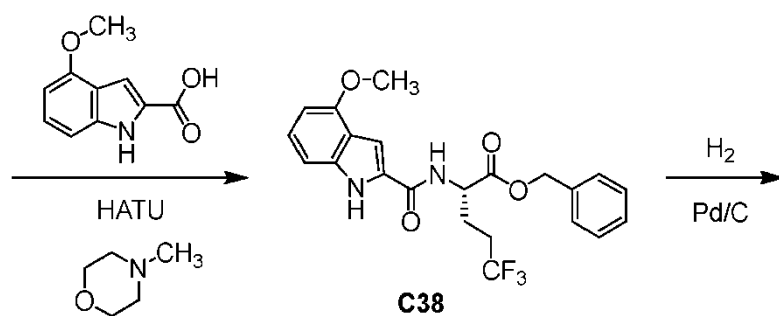
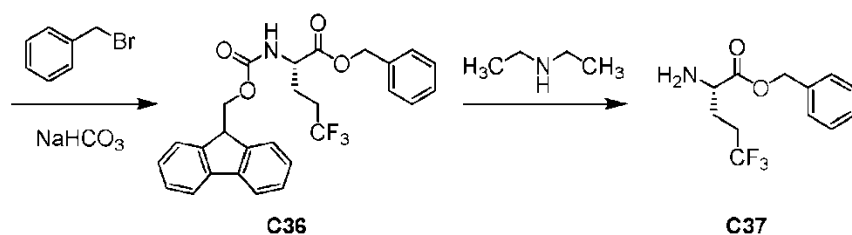
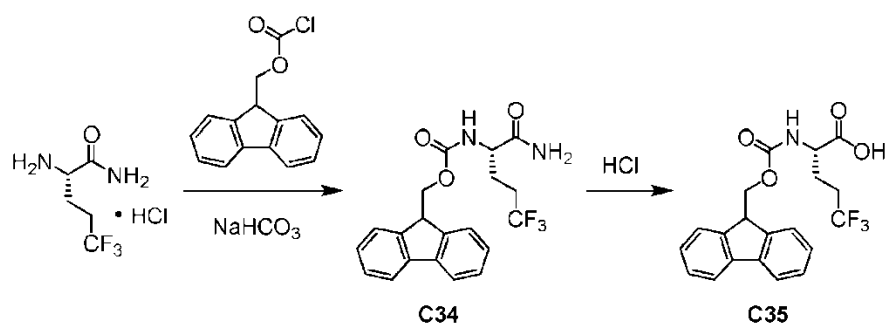
Tablete cu eliberare imediată de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (denumită mai jos API) sunt fabricate utilizând procedee de rutină, standard, pentru tablete solide, orale, cu eliberare imediată. Exemple de procese discontinue standard care ar putea fi utilizate pentru fabricarea tabletelor cu eliberare imediată de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă includ comprimare directă, granulare uscată și granulare umedă. În mod alternativ, ar putea fi utilizat un proces de fabricare cu funcționare continuă. După comprimarea tabletei, miezurile de tabletă sunt acoperite cu peliculă. Acoperirea cu peliculă a tabletei poate fi realizată printr-o operație de acoperire continuă sau folosind un proces convențional discontinuu de acoperire cu peliculă.

Tabel de formulare: Formulări de tablete de 100 mg, 150 mg și 250 mg de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Componentă	Rol	Tabletă de 100 mg (%g/g)	Tabletă de 100 mg (mg/tabletă)	Tabletă de 150 mg (%g/g)	Tabletă de 150 mg (mg/tabletă)	Tabletă de 250 mg (%g/g)	Tabletă de 250 mg (mg/tabletă)
API	Activ	20,00	100,00	20,00	150,00	25,00	250,00
Celuloză microcristalină	Diluant	49,33	246,67	49,33	370,00	46,00	460,00
Lactoză monohidrat	Diluant	24,67	123,33	24,67	185,00	23,00	230,00
Crospovidonă	Dezintegrant	3,00	15,00	3,00	22,50	3,00	30,00
Dioxid de siliciu coloidal	Glisant	1,00	5,00	1,00	7,50	1,00	10,00
Stearil fumarat de sodiu (intra-granular)	Lubrifiant	1,00	5,00	1,00	7,50	1,00	10,00
Stearil fumarat de sodiu (extra-granular)	Lubrifiant	1,00	5,00	1,00	7,50	1,00	10,00
Miez total		100,00	500,00	100,00	750,00	100,00	1000,00
Opadry alb (YS-1-7027-SP)	Strat	3,50	17,50	- -	- -	- -	- -
Opadry roz (058140011)	Strat	-	- -	3,00	22,50	- -	- -

Exemplul 14 (doar pentru referință)

***N*-[*(2S)*-1-({*(1S)*-1-ciano-2-[(*(3S)*-2-oxopirolidin-3-il)etil]amino)-5,5,5-trifluor-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (14)**



Etapă 1. Sinteza [(2S)-1-amino-5,5,5-trifluor-1-oxopentan-2-il]carbamatului de 9H-fluoren-9-ilmetil (C34).

Bicarbonat de sodiu (4,8 g, 57 mmoli) a fost adăugat la o soluție de 5,5,5-trifluor-L-norvalinamidă, sare clorhidrat (aceasta a fost sintetizată folosind metoda descrisă pentru enantiomerul său, în J. E. Starrett, cererea internațională PCT 2010107997, 23 Septembrie 2010; 4,0 g, 19 mmoli) și 9H-fluoren-9-ilmetil carbonoclorurat (clorură Fmoc; 10,2 g, 39,4 mmoli) în apă (80 mL). Suspensia rezultată a fost agitată la 15 °C până la 25 °C timp de 24 de ore, după care a fost împărțită între apă și diclormetan. Stratul organic a fost spălat succesiv cu apă și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*, pentru a se obține **C34** sub forma unui solid. Randament: 6,2 g, 16 mmoli, 83%. LCMS *m/z* 393,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (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).

Etapă 2. Sinteza N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-5,5,5-trifluor-L-norvalinei (C35).

La o soluție de **C34** (6,2 g, 16 mmoli) în 1,4-dioxan (60 mL) a fost adăugat acid clorhidric (3 M; 10 mL, 30 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la 80 °C timp de 16 ore. Apoi a fost împărțit între apă și diclormetan, și stratul organic a fost spălat cu apă și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Reziduul a fost triturat cu eter de petrol pentru a se obține **C35** sub forma unui solid. Randament: 5,5 g, 14 mmoli, 88%. LCMS *m/z* 392,1 [M-H]⁻. ¹H RMN (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).

Etapă 3. Sinteza N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-5,5,5-trifluor-L-norvalinatului de benzil (C36).

Un amestec de **C35** (435 mg, 1,11 mmoli), bromură de benzil (0,263 mL, 2,21 mmoli) și bicarbonat de sodiu (464 mg, 5,52 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (20 ml) a fost agitat timp de 15 ore la 25°C. După ce amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 30 ml), straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu și soluție apoasă de clorură de litiu 5%, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% acetat de etil în eter de petrol) a condus la obținerea de **C36** sub forma unui solid alb. Randament: 510 mg, 1,05 mmoli, 95%. LCMS *m/z* 506,1 [M+Na⁺].

Etape 4. Sinteza 5,5,5-trifluor-L-norvalinatului de benzil (C37).

A fost adăugată dietilamină (10 ml) la un amestec de **C36** (510 mg, 1,05 mmoli) în acetonitril (25 mL) la 0°C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 20°C timp de 2 ore, acesta a fost concentrat la presiune redusă; cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan), a condus apoi la obținerea de **C37** sub forma unui ulei incolor. Randament: 250 mg, 0,957 mmoli, 91%. LCMS m/z 302,9 $[M + CH_3CN + H]^+$. 1H RMN (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).

Etape 5. Sinteza 5,5,5-trifluor-N-[(4-metoxi-1H-indol-2-il)carbonil]-L-norvalinatului de benzil (C38).

La o soluție de **C37** (250 mg, 0,957 mmoli) și acid 4-metoxi-1H-indol-2-carboxilic (220 mg, 1,15 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (10 ml) a fost adăugat hexafluorfosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 437 mg, 1,15 mmoli), urmat de adăugare prin picurare de 4-metilmorfolină (194 mg, 1,92 mmoli). Agitarea a fost continuată la 0 °C până la 10 °C timp de 1 oră, după care amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 mL) și soluție apoasă de acid citric (20 mL) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 20 mL). Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (30 ml), soluție apoasă saturată de clorură de sodiu și soluție apoasă de clorură de litiu (5%, 20 ml), apoi au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Reziduul a fost purificat utilizând cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% acetat de etil în eter de petrol) pentru a se obține **C38** sub forma unui solid alb. Randament: 350 mg, 0,806 mmoli, 84%. LCMS m/z 435,1 $[M+H]^+$. 1H RMN (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 (Cvartet 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).

Etape 6. Sinteza 5,5,5-trifluor-N-[(4-metoxi-1H-indol-2-il)carbonil]-L-norvalinei (C39).

Un amestec de **C38** (350 mg, 0,806 mmoli) și paladiu pe cărbune (10%, 85,7 mg, 80,5 μ moli) în metanol (10 mL) a fost hidrogenat timp de 16 ore la 20°C și 15 psi. Amestecul de reacție a fost apoi filtrat și turta de filtrare a fost spălată cu metanol (10 ml); filtratele combinate au fost concentrate *in vid* și au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Eluent: acetat de etil) pentru a se obține **C39** sub forma unui solid alb. Randament: 270 mg, 0,784 mmoli, 97%. LCMS m/z 345,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,12-1,92 (m, 2H).

Etapă 7. Sinteza 5,5,5-trifluor-*N*-[(4-metoxi-1*H*-indol-2-il)carbonil]-*L*-norvalil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-*L*-alaninamidei (C40).

Un amestec de **C16** (58,2 mg, 0,218 mmoli) și **C39** (75,0 mg, 0,218 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (4 ml) la 0 °C a fost tratat cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 99,4 mg, 0,261 mmoli) și 4-metilmorfolină (44,1 mg, 0,436 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 1 oră, a fost diluat cu apă (20 ml) și soluție apoasă de acid citric (1 M; 20 ml) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 30 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (20 ml) și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (3 x 20 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Eluent: 10:1 acetat de etil/metanol) a condus la obținerea de **C40** sub forma unui solid alb. Randament: 72 mg, 0,145 mmoli, 66%. LCMS m/z 498,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul 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).

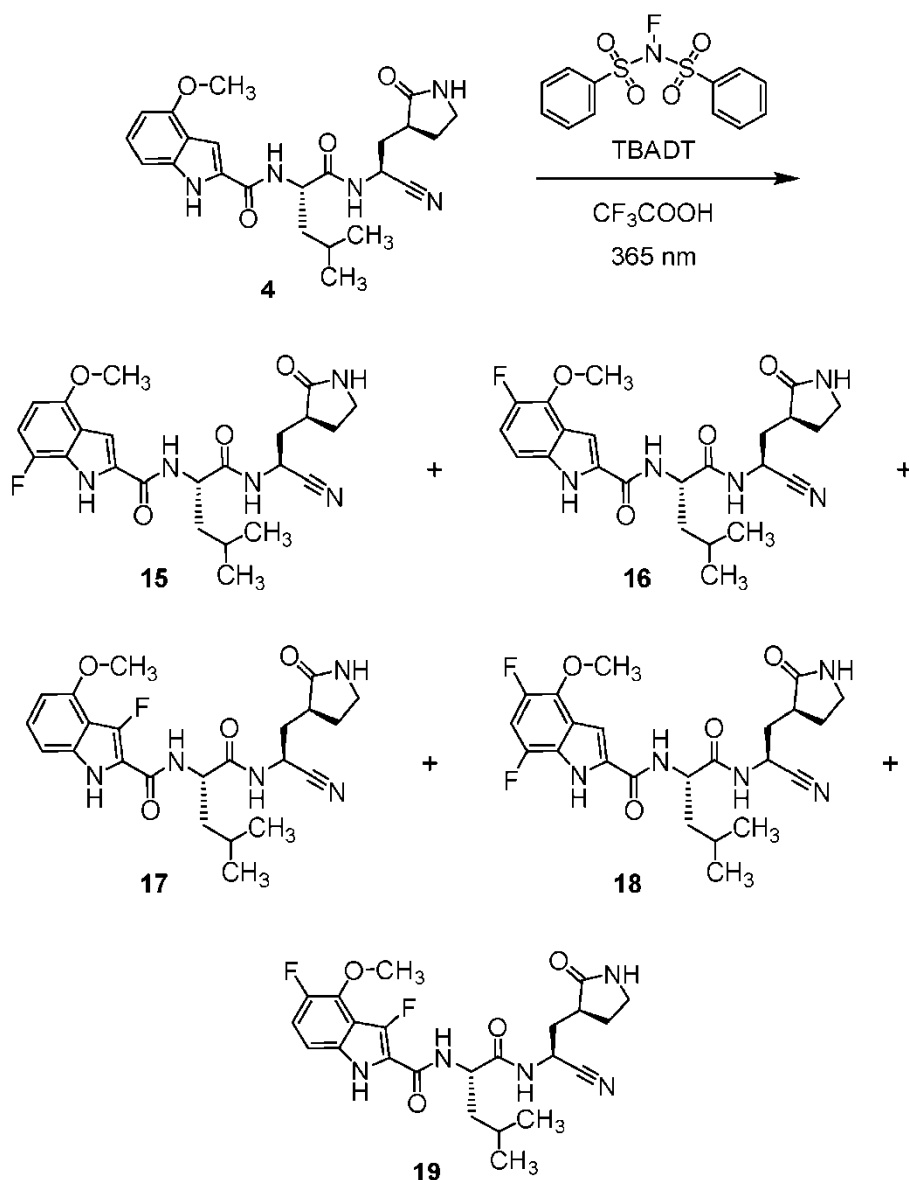
Etapă 8. Sinteza *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-5,5,5-trifluor-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidei (14).

La un amestec de **C40** (52 mg, 0,10 mmoli) în diclormetan (13 mL) a fost adăugat *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 37 mg, 0,16 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1,5 ore, după care a fost adăugat din nou *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 37 mg, 0,16 mmoli), și agitarea a fost continuată timp de 16 ore. O adăugare finală de *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 24,9 mg, 0,105 mmoli) a fost urmată de agitare timp de 2 ore, după care amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 mL) și a fost extras cu diclormetan (3 x 10 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 20 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*; cromatografia preparativă în strat subțire (Eluent: acetat de etil/metanol 20:1) a condus la obținerea de *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-

[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-5,5,5-trifluor-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**14**) sub forma unui solid alb. Randament: 17,4 mg, 36,3 μmoli, 36%. Acest material a fost combinat cu produsele purificate din alte două sinteze ale **14** (3 mg și 4 mg) și au fost supuse cromatografiei de fluid supercritic [Coloană: Chiral Technologies ChiralCel OD-H, 30 × 250 mm, 5 μm; Faza mobilă: dioxid de carbon 7:3 / (etanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 60 ml/minut] pentru a se obține *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-5,5,5-trifluor-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**14**) sub forma unui solid. Randament: 11,3 mg, 23,6 μmoli, 46% pentru cromatografia de fluid supercritic. LCMS *m/z* 480,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, jumătate din cvartetul 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).

Exemplele 15, 16, 17, 18 și 19 (doar pentru referință)

N-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-7-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**15**), *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**16**), *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-3-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**17**), *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5,7-difluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**18**), și *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-3,5-difluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**19**)



Un amestec de **4** (10,0 mg, 22,8 μmol), decatungstat de tetra-*n*-butilamoniu (TBADT; 3,78 mg, 1,14 μmol) și *N*-fluor-*N*-(fenilsulfonil)benzensulfonamidă (8,61 mg, 27,3 μmol) a fost tratat cu acetonitril (0,75 ml), apă (0,5 ml) și acid trifluoracetic (1,74 μL , 22,6 μmol) sub argon. Flaconul de reacție a fost apoi sigilat, a fost plasat într-un EvoluChem™ PhotoRedOx Box echipat cu un ventilator și iradiat cu lumină neagră (PAR20-18W LG 365 nm, 100-240 VAC) la 25 °C timp de 16 ore. La amestecul de reacție a fost adăugată soluție apoasă de fosfat de potasiu (1 M, pH 7,45; 1 mL), urmată de alicote alternative de apă și acetonitril pentru a menține o soluție limpede la un volum final de 18 mL. Alicote (3 mL) din acest amestec au fost aplicate pe cartușele de extracție în fază solidă Biotage Isolute C18 care au fost preconditionate cu metanol (3 mL) urmat de apă (3 mL). Cartușele au fost spălate

cu apă (3 ml) și cu acetonitril 20% în soluție apoasă de acetat de amoniu 20 mM (3 ml), apoi au fost eluate cu acetonitril (3 ml). După ce eluații au fost evaporați într-o centrifugă în vid, reziduurile au fost reconstituite într-un amestec de acid formic apos 1% și acetonitril, și au fost combinate până la un total de 6 ml. Această soluție a fost împărțită în jumătate, și fiecare jumătate a fost supusă HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 × 250 mm, 10 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient : 15% B pe parcursul a 5 minute, apoi 15% până la 70% B pe parcursul a 70 de minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 15 minute; Debit: 2 ml/min). Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde și fracțiunile similare de interes din cele două separări au fost reunite și concentrate. Aceste fracțiuni au fost purificate suplimentar prin HPLC în fază inversă (Coloană: Agilent Polaris C18, 4,6 × 250 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține acetat de amoniu 10 mM; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 10% B pe parcursul a 5 minute, apoi 10% până la 35% B pe parcursul a 35 de minute, apoi 35% până la 60% B pe parcursul a 15 minute, apoi 60% până la 95% B pe parcursul a 9 minute; Debit: 0,8 ml/min). Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde, obținându-se *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-7-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**15**), *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**16**), *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-3-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**17**), *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5,7-difluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**18**), și *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-3,5 -difluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**19**).

Numărul exemplului	Timp de retenție, prima purificare prin HPLC (minute)	Timp de retenție, a doua purificare prin HPLC (minute)
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 - Prima separare, numerele fracțiunilor 172-174; A doua separare, numerele fracțiunilor 136-137. Randament: 58 μg, 0,13 μmoli, 0,6%. MS de înaltă rezoluție *m/z* 458,2201 [M+H]⁺; calculat pentru C₂₃H₂₉FN₅O₄, 458,2204. ¹H RMN (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). Timp de retenție: 7,90 minute (Condiții analitice. Coloană: Phenomenex Kinetex XB-C18, $2,1 \times 100$ mm, $2,6 \mu\text{m}$; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 5% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 5% până la 70% B pe parcursul a 10,5 minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 2 minute; Debit: 0,4 ml/min).

16 - Prima separare, numerele fracțiunilor 172-174; A doua separare, numerele fracțiunilor 138-139. Randament: 153 μg , 0,33 μmoli , 1,4%. MS de înaltă rezoluție m/z 458,2201 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{FN}_5\text{O}_4$, 458,2204. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 7,94 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **15**).

17 - Prima separare, numerele fracțiunilor 176-177; A doua separare, numerele fracțiunilor 141-142. Randament: 22 μg , 0,048 μmoli , 0,21%. MS de înaltă rezoluție m/z 458,2199 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{FN}_5\text{O}_4$, 458,2204. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 8,06 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **15**).

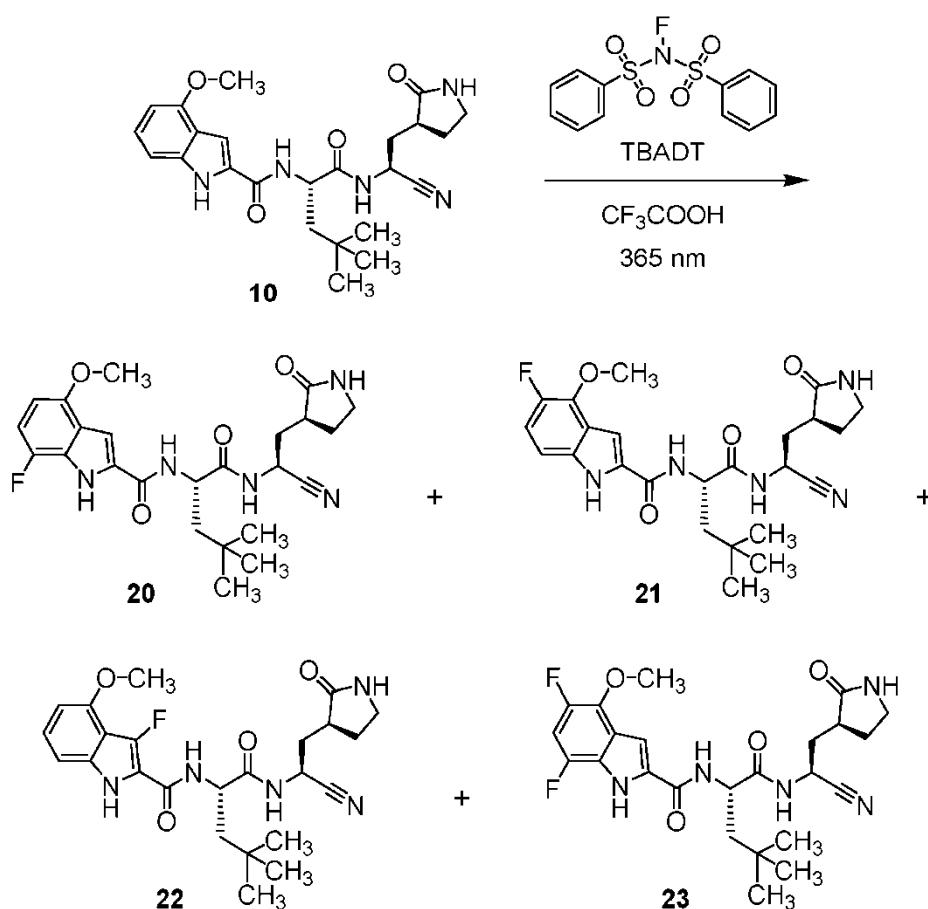
18 - Prima separare, numerele fracțiunilor 180-181; A doua separare, numărul fracțiunii 145. Randament: 17 μg , 0,036 μmoli , 0,16%. MS de înaltă rezoluție m/z 476,2100 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4$, 476,2109. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 8,20 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **15**).

19 - Prima separare, numerele fracțiunilor 185-187; A doua separare, numerele fracțiunilor 150-151. Randament: 35 μg , 0,074 μmoli , 0,32%. MS de înaltă rezoluție m/z 476,2107 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4$, 476,2109. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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, componentă a sistemului ABX, $J = 11,9, 9,1$ Hz, 1H), 7,08 (br d, jumătate din cvartetul 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). Timp de retenție: 8,44 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **15**).

Exemplele 20, 21, 22 și 23 (doar pentru referință)

N-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-7-fluor-4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**20**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5-fluor-4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**21**), *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-fluor-4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**22**), și *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5,7-difluor-4-metoksi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**23**)



Un amestec de **10** (10,0 mg, 22,0 μmoli), decatungstat de tetra-*n*-butilamoniu (TBADT; 3,66

mg, 1,10 μ mol) și *N*-fluor-*N*-(fenilsulfonil)benzensulfonamidă (8,34 mg, 26,4 μ mol) a fost tratat cu acetonitril (0,75 ml), apă (0,5 ml) și acid trifluoracetic (1,69 μ L, 21,9 μ mol) sub argon. Flaconul de reacție a fost apoi sigilat, a fost plasat într-un EvoluChem™ PhotoRedOx Box echipat cu un ventilator, și a fost iradiat cu lumină neagră (PAR20-18W LG 365 nm, 100-240 VAC) la 25 °C timp de 16 ore. La amestecul de reacție a fost adăugată soluție apoasă de fosfat de potasiu (1 M, pH 7,45; 1 mL), urmată de alicote alternative de apă și acetonitril pentru a menține o soluție limpede la un volum final de 18 mL. Alicote (3 mL) din acest amestec au fost aplicate pe cartușele de extracție în fază solidă Biotage Isolute C18 care au fost preconditionate cu metanol (3 mL) urmat de soluție apoasă de acetat de amoniu (10 mM; 3 mL). Cartușele au fost spălate cu soluție apoasă de acetat de amoniu (10 mM; 3 mL) și cu acetonitril 20% în acetat de amoniu 20 mM (3 mL), apoi au fost eluate cu acetonitril (3 mL). După ce eluații au fost evaporați într-o centrifugă cu vid, reziduurile au fost reconstituite într-un amestec de acid formic apos 1% și acetonitril, și au fost combinate până la un total de 6 mL. Această soluție a fost împărțită în jumătate, și fiecare jumătate a fost supusă HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 × 250 mm, 10 μ m; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient : 15% B pe parcursul a 5 minute, apoi 15% până la 70% B pe parcursul a 70 de minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 15 minute; Debit: 2 ml/min). Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde, și fracțiunile similare de interes din cele două separări au fost reunite și concentrate. Aceste fracțiuni au fost purificate suplimentar prin HPLC în fază inversă (Coloană: Agilent Polaris C18, 4,6 × 250 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: apă care conține acetat de amoniu 10 mM; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 10% B pe parcursul a 5 minute, apoi o creștere imediată până la 20% B, apoi 20% până la 40% B pe parcursul a 35 de minute, apoi 40% până la 60% B pe parcursul a 15 minute, apoi 60% până la 95% B pe parcursul a 9 minute; Debit: 0,8 ml/min). Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde, obținându-se *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-7-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**20**), *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**21**), *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-fluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**22**), și *N*-[(2*S*)-1-((1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil)amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5,7-difluor-4-metoxi-1*H*-indol-2-carboxamidă (**23**).

Numărul exemplului	Timp de retenție, prima purificare HPLC (minute)	Timp de retenție, a doua purificare HPLC (minute)
20	61,2	49,8
21	61,2	50,2
22	62,3	50,8
23	63,5	51,9

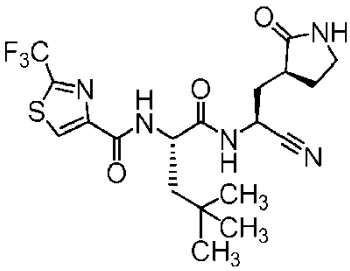
20 - Prima separare, numerele fracțiunilor 183-185; A doua separare, numerele fracțiunilor 150-151. Randament: 24 μg , 0,051 μmoli , 0,23%. MS de înaltă rezoluție m/z 472,2342 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{FN}_5\text{O}_4$, 472,2360. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 8,32 minute (Condiții analitice. Coloană: Phenomenex Kinetex XB-C18, $2,1 \times 100$ mm, $2,6 \mu\text{m}$; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 5% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 5% până la 70% B pe parcursul a 10,5 minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 2 minute; Debit: 0,4 ml/minut).

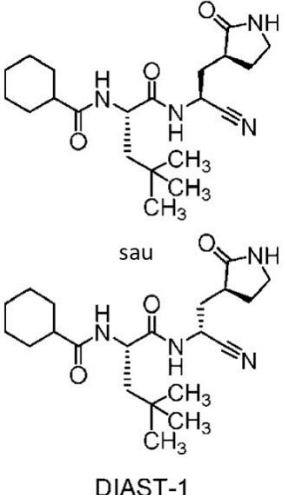
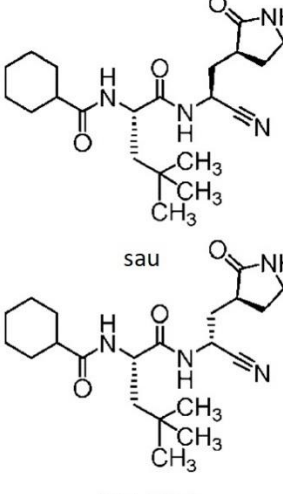
21 - Prima separare, numerele fracțiunilor 183-185; A doua separare, numerele fracțiunilor 152-153. Randament: 68 μg , 0,14 μmoli , 0,64%. MS de înaltă rezoluție m/z 472,2344 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{FN}_5\text{O}_4$, 472,2360. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 8,34 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **20**).

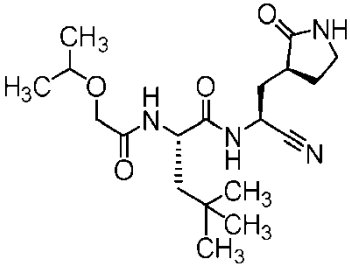
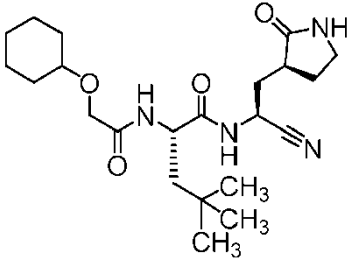
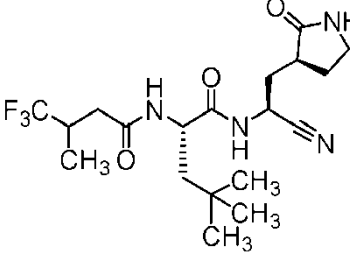
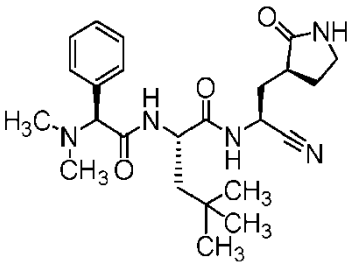
22 - Prima separare, numerele fracțiunilor 187-188; A doua separare, numărul de fracție 154. Randament: 5 μg , 0,011 μmoli , 0,05%. MS de înaltă rezoluție m/z 472,2354 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{FN}_5\text{O}_4$, 472,2360. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 8,51 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **20**).

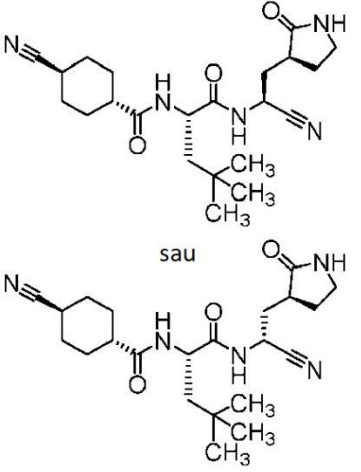
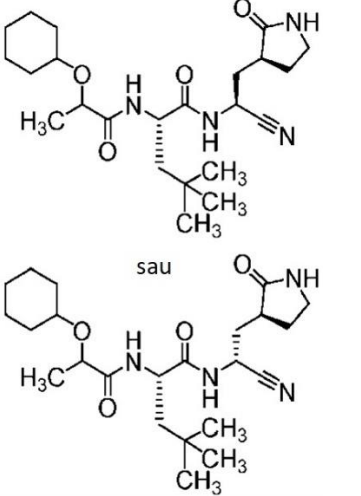
23 - Prima separare, numerele fracțiunilor 190-192; A doua separare, numerele fracțiunilor 156-157. Randament: 21 μg , 0,043 μmoli , 0,19%. MS de înaltă rezoluție m/z 490,2258 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4$, 490,2266. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 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). Timp de retenție: 8,65 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **20**).

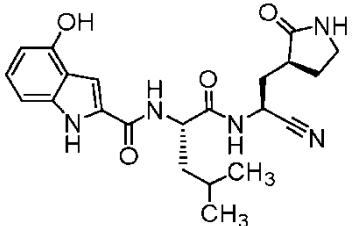
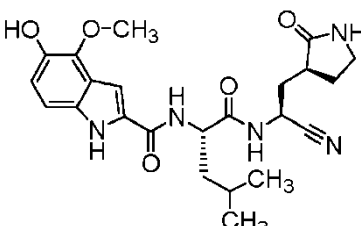
Tabelul 1. Metoda de sinteză, structura și datele fizico-chimice pentru Exemplele 24 - 74 (doar pentru referință).

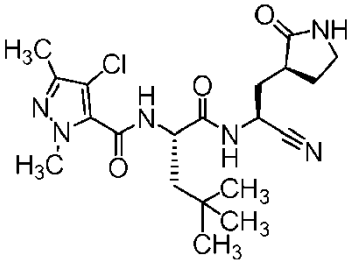
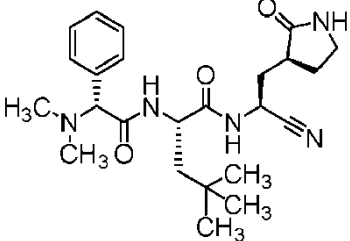
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
24	Exemplul 10; C18		^1H RMN (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; presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,61 -2,50 (m, 1H), 2,35-2,24 (m, 2H), 1,96-1,76 (m, 4H), 1,01 (s, 9H); 460,4

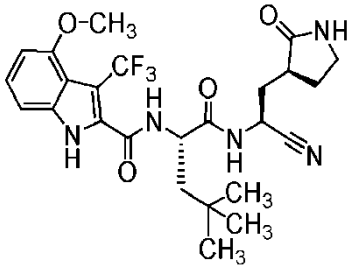
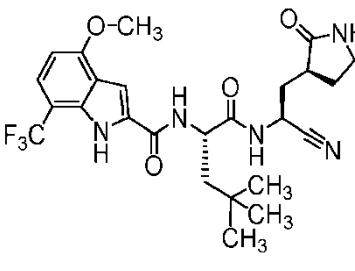
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
25	Exemplul s 8 și 9 ^{1,2} ; C28	 DIAST-1	2,29 minute ³ ; 391,4
26	Exemplul s 8 și 9 ^{1,2} ; C28	 DIAST-2	2,69 minute ³ ; 391,4

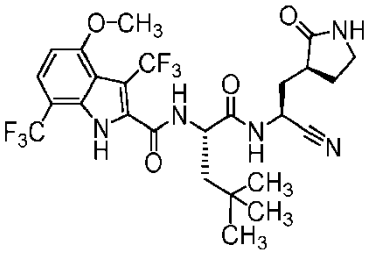
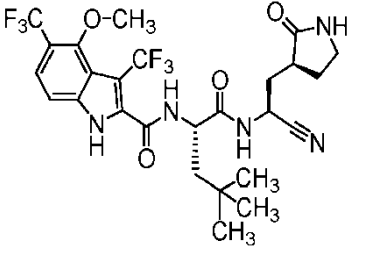
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
27	Exemplul 7; C28		2,18 minute ⁴ ; 381,4
28	Exemplul 7; C28		2,61 minute ⁴ ; 421,5
29	Exemplul 7; C28		2,31 minute ⁴ ; 419,4
30	Exemplul 7 ¹ ; C28		1,59 minute ⁴ ; 442,5 ⁵

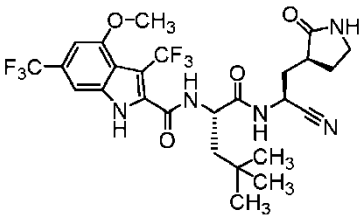
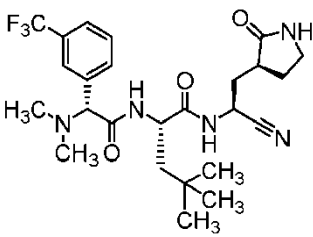
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
31	C29⁶		2,06 minute ⁴ ; 416,5
32	C29⁶		2,67 minute ⁴ ; 435,6
33	Exemplul 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, $J = 8,2$

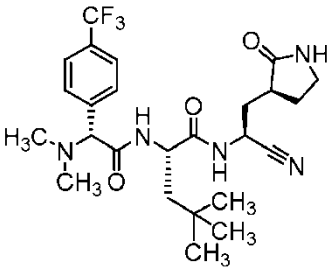
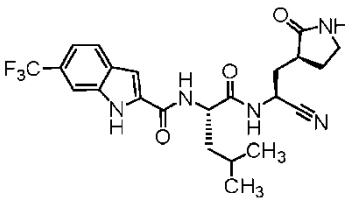
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
			Hz, 1H), 6,36 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 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, <i>J</i> = 13,6, 9,4, 6,8 Hz, 1H), 1,76-1,65 (m, 3H), 1,57 - 1,48 (m, 1H), 0,94 (d, <i>J</i> = 6,3 Hz, 3H), 0,89 (d, <i>J</i> = 6,3 Hz, 3H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 426,2139 [M+H]⁺; calculat pentru C₂₂H₂₈N₅O₄, 426,2141
34	Exemplul 4 ⁷		11,34 (s, 1H), 8,91 (d, <i>J</i> = 8,1 Hz, 1H), 8,46 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 6,95 (d, <i>J</i> = 8,6 Hz, 1H), 6,78 (d, <i>J</i> = 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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, <i>J</i> = 6,2 Hz, 3H), 0,89 (d, <i>J</i> = 6,2 Hz, 3H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 456,2238 [M+H]⁺; calculat pentru C₂₃H₃₀N₅O₅, 456,2247

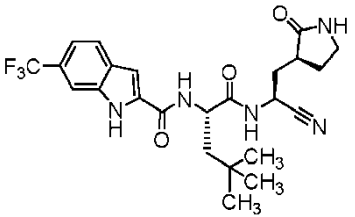
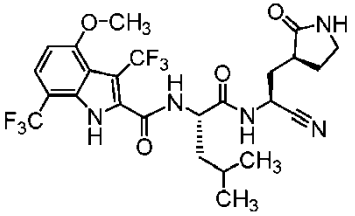
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
35	Exemplul 11 ⁸ ; C18		2,39 minute ⁴ ; 437,4 (a fost observat model de izotop de clor)
36	Exemplul 11; C18		^1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, J = 14,4, 4,3 Hz, 1H), 1,59 (dd, componentă a sistemului ABX, J = 14,4, 8,4 Hz, 1H), 0,84 (s, 9H); 442,5

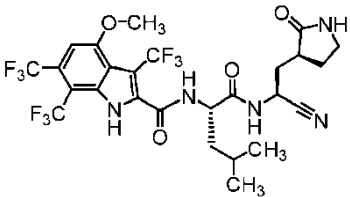
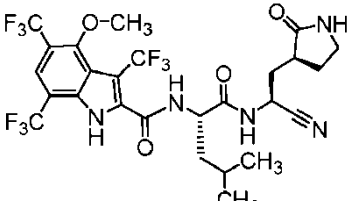
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
37	Exemplul s 5 și 6 ⁹ ; Exemplul 10		12,13 (s, 1H), 8,96 (br d, <i>J</i> = 7,6 Hz, 2H), 7,69 (s, 1H), 7,21 (dd, <i>J</i> = 8, 8 Hz, 1H), 7,08 (d, <i>J</i> = 8,2 Hz, 1H), 6,68 (d, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 14,1, 6,6 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 522,2321 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₅ H ₃₁ F ₃ N ₅ O ₄ , 522,2328; timp de retenție 7,18 minute ¹⁰
38	Exemplul s 5 și 6 ⁹ ; Exemplul 10		11,41 (s, 1H), 8,96 (d, <i>J</i> = 7,7 Hz, 1H), 8,79 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,55 (d, <i>J</i> = 8,2 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,72 (d, <i>J</i> = 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); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 522,2316 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₅ H ₃₁ F ₃ N ₅ O ₄ , 522,2328; timp de retenție 7,45 minute ¹⁰

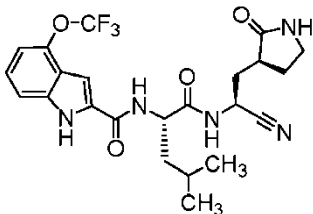
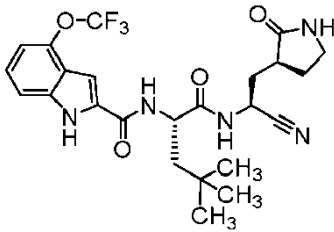
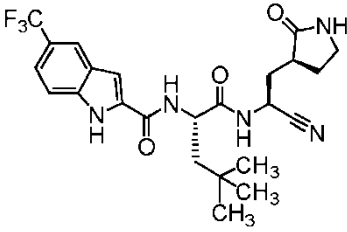
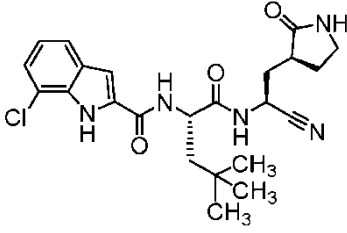
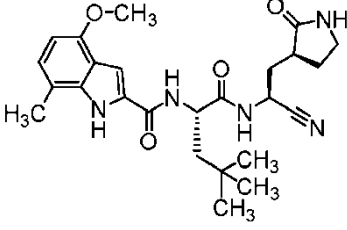
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
39	Exemplul s 5 și 6 ⁹ ; Exemplul 10		9,08 (br s, 1H), 9,03 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,60 (d, <i>J</i> = 8,3 Hz, 1H), 6,84 (d, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 13,9, 7,8 Hz, 1H), 1,80 (ddd, <i>J</i> = 13,6, 9,6, 6,5 Hz, 1H), 1,76-1,68 (m, 1H), 1,54 (dd, <i>J</i> = 13,9, 5,1 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 590,2177 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₆ H ₃₀ F ₆ N ₅ O ₄ , 590,2202; timp de retenție 7,70 minute ¹⁰
40	Exemplul s 5 și 6 ⁹ ; Exemplul 10		12,76 (br s, 1H), 9,19-9,10 (m, 1H), 9,06-9,00 (m, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,49 (Cvartet AB, <i>J</i> _{AB} = 8,6 Hz, Δ <i>v</i> _{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, componentă a sistemului ABX, <i>J</i> = 14,1, 6,5 Hz, 1H), 0,96 (s, 9H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 590,2181 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₆ H ₃₀ F ₆ N ₅ O ₄ ,

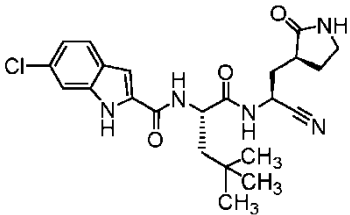
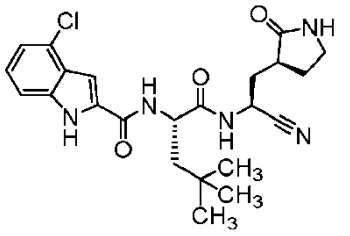
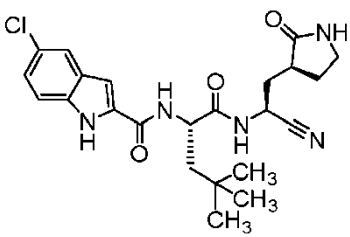
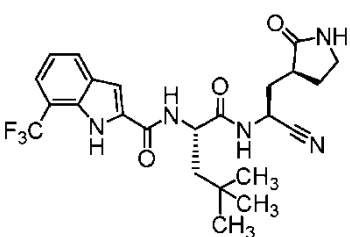
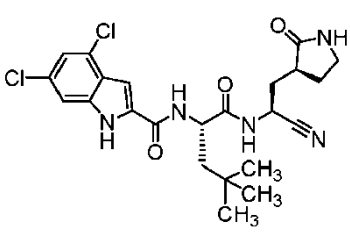
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
			590,2202; timp de retenție 7,79 minute ¹⁰
41	Exemplul s 5 și 6 ^{9,11} ; Exemplul 10		12,62 (s, 1H), 9,14 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 9,03 (d, <i>J</i> = 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, componentă a sistemului ABX, <i>J</i> = 14,0, 6,4 Hz, 1H), 0,96 (s, 9H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 590,2175 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₆ H ₃₀ F ₆ N ₅ O ₄ , 590,2202; timp de retenție 7,84 minute ¹⁰
42	Exemplul s 5 și 6 ¹² ; Exemplul 36		8,92 (d, <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H), 8,45 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H), 7,71 (s, 2H), 7,67 (d, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 6,5 Hz, 2H), 0,74 (s, 9H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 510,2679 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₅ H ₃₅ F ₃ N ₅ O ₃ ,

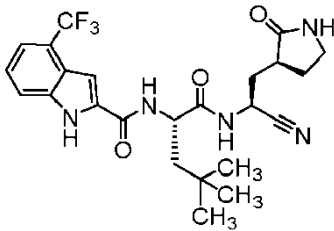
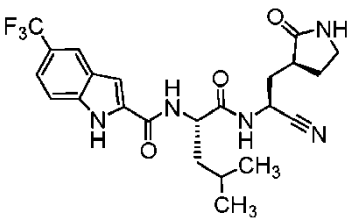
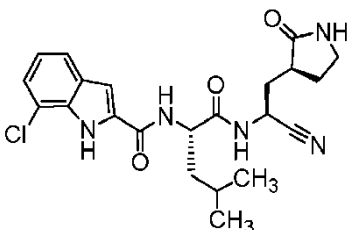
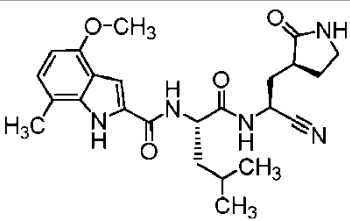
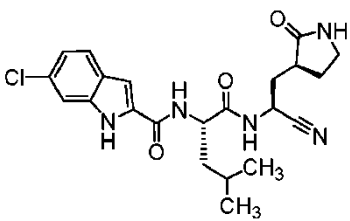
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
			510,2692; timp de retenție 5,83 minute ¹⁰
43	Exemplul s 5 și 6 ¹² ; Exemplul 36		8,93 (d, <i>J</i> = 8,1 Hz, 1H), 8,42 (d, <i>J</i> = 8,1 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,63 (Cvartet AB, <i>J</i> _{AB} = 7,6 Hz, Δ <i>v</i> _{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); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 510,2676 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₅ H ₃₅ F ₃ N ₅ O ₃ , 510,2692; timp de retenție 5,92 minute ¹⁰
44	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,85 minute ⁴ ; 478,6

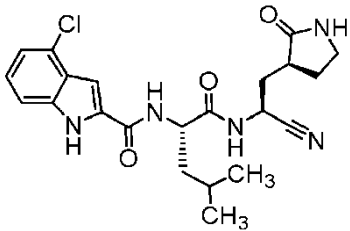
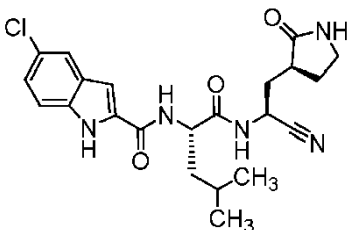
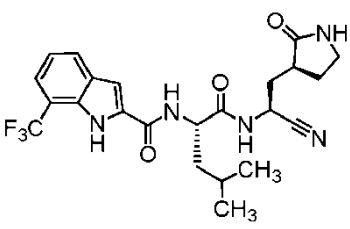
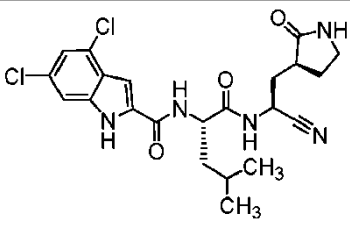
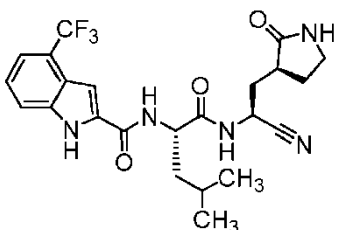
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
45	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,95 minute ⁴ ; 492,6
46	Exemplul s 5 și 6 ¹³ ; 4		12,48 (s, 1H), 9,13 (d, <i>J</i> = 7,4 Hz, 1H), 8,97 (d, <i>J</i> = 7,7 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,62 (d, <i>J</i> = 8,3 Hz, 1H), 6,86 (d, <i>J</i> = 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); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 576,2055 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₅ H ₂₈ F ₆ N ₅ O ₄ , 576,2045; timp de retenție 6,70 minute ¹⁴

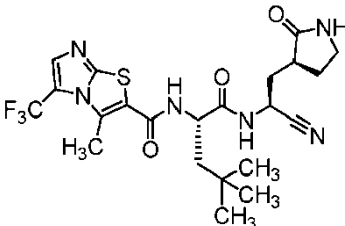
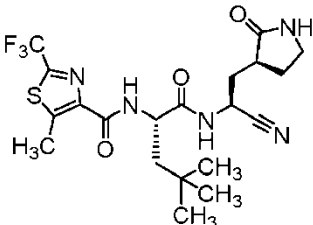
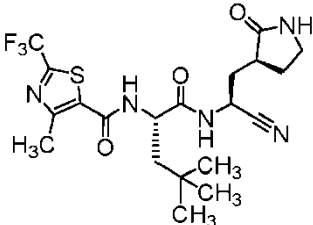
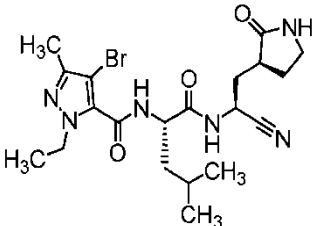
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
47	Exemplul s 5 și 6 ¹³ ; 4		12,61 (s, 1H), 9,23 (d, <i>J</i> = 7,6 Hz, 1H), 9,01 (d, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 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); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 644,1914 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₆ H ₂₇ F ₉ N ₅ O ₄ , 644,1919; timp de retenție 7,43 minute ¹⁴
48	Exemplul s 5 și 6 ¹³ ; 4		13,21 (s, 1H), 9,28 (d, <i>J</i> = 7,5 Hz, 1H), 9,05 (d, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 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); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 644,1901 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₆ H ₂₇ F ₉ N ₅ O ₄ , 644,1919; timp de retenție 7,51 minute ¹⁴

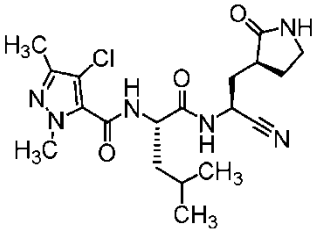
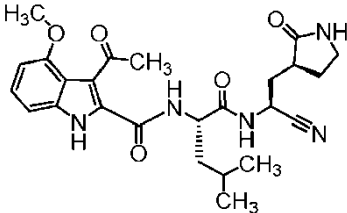
Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
49	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,95 minute ⁴ ; 494,4
50	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		3,04 minute ⁴ ; 508,4
51	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		3,00 minute ⁴ ; 492,4
52	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,84 minute ⁴ ; 458,4 (a fost observat model de izotop de clor)
53	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,80 minute ⁴ ; 468,5

Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
54	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,89 minute ⁴ ; 458,4 (a fost observat model de izotop de clor)
55	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,90 minute ⁴ ; 458,4 (a fost observat model de izotop de clor)
56	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,89 minute ⁴ ; 458,4 (a fost observat model de izotop de clor)
57	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,95 minute ⁴ ; 492,4
58	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		3,16 minute ⁴ ; 492,3 (a fost observat model de izotop de diclor)

Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
59	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,99 minute ⁴ ; 492,4
60	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,91 minute ⁴ ; 478,4
61	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,74 minute ⁴ ; 444,4 (a fost observat model de izotop de clor)
62	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,70 minute ⁴ ; 454,4
63	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,80 minute ⁴ ; 444,4 (a fost observat model de izotop de clor)

Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ; Spectru de masă, ion observat m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
64	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,81 minute ⁴ ; 444,4 (a fost observat model de izotop de clor)
65	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,80 minute ⁴ ; 444,4 (a fost observat model de izotop de clor)
66	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,86 minute ⁴ ; 478,4
67	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		3,08 minute ⁴ ; 478,3 (a fost observat model de izotop de diclor)
68	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,91 minute ⁴ ; 478,4

Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
69	Exemplul s 5 și 6 ¹⁵ ; 7		9,00 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H), 8,83 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 5,01 -4,93 (m, 1H), 4,44 (ddd, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 13,5, 9,4, 6,7 Hz, 1H), 1,77-1,64 (m, 3H), 0,95 (s, 9H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 513,1873 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₂ H ₂₈ F ₃ N ₆ O ₃ S, 513,1896; timp de retenție 6,88 minute ¹⁰
70	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,87 minute ⁴ ; 474,5
71	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C18		2,70 minute ⁴ ; 474,5
72	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,41 minute ⁴ ; 481,5 (a fost observat model de izotop de brom)

Ex. #	Metoda de sinteză; Materii prime necomerciale	Structura	¹ H RMN (600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ; Spectru de masă, ion observat <i>m/z</i> [M+H] ⁺ sau timpul de retenție HPLC; Spectru de masă <i>m/z</i> [M+H] ⁺ (cu excepția cazului în care se indică altfel)
73	Sinteza alternativă din Exemplul 6; C26		2,30 minute ⁴ ; 423,5 (a fost observat model de izotop de clor)
74	4 ¹⁶		12,20 (s, 1H), 8,99 (d, <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H), 8,97 (d, <i>J</i> = 7,4 Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,24 (dd, <i>J</i> = 8, 8 Hz, 1H), 7,12 (d, jumătate din cvartetul AB, <i>J</i> = 8,2 Hz, 1H), 6,69 (d, <i>J</i> = 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, <i>J</i> = 13,5, 9,3, 6,8 Hz, 1H), 1,75-1,63 (m, 2H), 1,59 (dd, <i>J</i> = 7,5, 6,8 Hz, 2H), 0,95 (d, <i>J</i> = 6,5 Hz, 3H), 0,91 (d, <i>J</i> = 6,5 Hz, 3H); înaltă rezoluție MS <i>m/z</i> 482,2391 [M+H] ⁺ ; calculat pentru C ₂₅ H ₃₂ N ₅ O ₅ , 482,2403; timp de retenție 8,38 minute ¹⁰

1. În acest caz, **C28** a fost deprotejat folosind acid metansulfonic, mai degrabă decât acid clorhidric.

2. Epimerii Exemplului 25 și Exemplului 26 au fost separați prin cromatografie de fluid supercritic (Coloană: Chiral Technologies Chiralpak IB, 21 × 250 mm, 5 μm; Faza mobilă:

9:1 dioxid de carbon/metanol; Contrapresiune: 120 bar, Debit: 75 mL /minut). Primul diastereomer care eluează a fost denumit Exemplul 25, iar cel de-al doilea diastereomer care eluează a fost denumit Exemplul 26.

3. Condiții pentru HPLC analitică. Coloană: Chiral Technologies Chiralpak IB, 4,6 × 100 mm, 5 μm; Faza mobilă: 85:15 dioxid de carbon/metanol; Contrapresiune: 120 bar; Debit: 1,5 ml/minut.

4. Condiții pentru HPLC analitică. Coloană: Waters Atlantis dC18, 4,6 × 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5,0% până la 95% B, liniar pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut.

5. ¹H RMN din Exemplul 30 înainte de purificarea finală: ¹H RMN (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. Cuplarea amidei cu acidul carboxilic adecvat a fost efectuată utilizând trioxid de 2,4,6-trioxid de 2,4,6-tripropil-1,3,5,2,4,6-trioxatrifosfinan.

7. Exemplul 4 (25 μM) a fost incubat cu citocrom uman P450 3A5 (4 nmoli) în tampon fosfat de potasiu (100 mM, pH 7,4; 40 mL) care conține clorură de magneziu (3,3 mM) și NADPH (1,3 mM). Incubarea a fost efectuată timp de 0,75 ore într-o baie de apă agitată menținută la 37 °C. Incubarea a fost terminată prin adăugarea unui volum egal de acetonitril, după care amestecul a fost centrifugat într-o centrifugă la 1700 x g timp de 5 minute, și supernatantul a fost supus centrifugării în vid timp de aproximativ 1,5 ore. La acest amestec au fost adăugate acid formic (0,5 ml), acetonitril (0,5 ml) și apă până la un volum final de 50 ml, și amestecul rezultat a fost centrifugat într-o centrifugă la 40000 x g timp de 30 minute. Supernatantul a fost supus HPLC în fază inversă (Coloană: Polaris C18, 4,6 × 250 mm; 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: metanol; Gradient: 15% B pe parcursul a 5 minute, apoi 15% până la 35% B pe parcursul a 75 de minute, apoi 35% până la 95% B pe parcursul a 10 minute; Debit: 0,8 ml/minut). Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde. Primul material care a eluat, Exemplul 33 impur, a eluat la 54,7 minute, iar Exemplul 34 a eluat la 55,3 minute. Exemplul 33 impur a fost purificat din nou folosind HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 x 100 mm, 2,6 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,5% acid acetic; Faza mobilă B: acetonitril/metanol 9:1; Gradient: 10% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 10% până la 35% pe parcursul a 26,5

minute, apoi 35% până la 60% B pe parcursul a 3 minute; Debit 0,5 ml/minut); fracțiunile au fost colectate la fiecare 15 secunde. În acest sistem, Exemplul 33 a avut un timp de retenție de 12,7 minute; Exemplul suplimentar 34 a eluat la 13,5 minute.

8. Necesarul de acid 4-clor-1,3-dimetil-1*H*-pirazol-5-carboxilic poate fi preparat prin hidroliza esterului etilic disponibil comercial.

9. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetonitril și acid formic apos 1%, la un volum de aproximativ 2 ml; compoziția finală de solvent a fost astfel încât amestecul rezultat să aibă aspect limpede, cu un conținut de aproximativ 20% până la 30% acetonitril. Componentele acestui amestec au fost separate prin HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 × 250 mm, 10 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 15% B pe parcursul a 5 minute, apoi 15% până la 70% B pe parcursul a 70 de minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 15 minute; Debit: 2 ml/minut); fracțiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde. Exemplele 37, 38, 39, 40 și 41 au eluat la timpii de retenție indicați mai jos.

Exemplu	Timp de retenție (minute)
37	64,9
38	68,4
39	72,1
40	73,5
41	74,2

10. Condiții pentru HPLC analitică. Coloană: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 × 100 mm, 2,6 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 5% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 5% până la 70% B pe parcursul a 10,5 minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 2 minute; Debit: 0,4 ml/min.

11. Regiochimia din Exemplul 41 nu a fost determinată riguros; alte structuri posibile pentru acest exemplu sunt *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-5,6-bis(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă și *N*-[(2*S*)-1-({(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-6,7-bis(trifluormetil)-1*H*-indol-2-carboxamidă.

12. Amestecul de reacție a fost purificat utilizând condițiile descrise în nota de subsol 9. Exemplul 42 a eluat la 58,1 minute și Exemplul 43 a eluat la 59,2 minute.

13. Amestecul de reacție a fost diluat cu un amestec de acetonitril (0,3 ml) și acid formic apos 1% (0,7 ml). Amestecul rezultat a fost centrifugat, și supernatantul a fost supus HPLC

în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 × 250 mm, 10 µm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 2% până la 10% B pe parcursul a 5,0 minute, apoi 10% până la 95% B pe parcursul a 95 minute; Debit: 2 ml/minut); fracțiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde. Exemplele 46, 47 și 48 au eluat la timpii de retenție indicați mai jos. Exemplul 5 a fost, de asemenea, izolat din această reacție, în fracțiunile 189-190.

Exemplu	Numărul fracțiunii
46	207
47	225-226
48	231-232

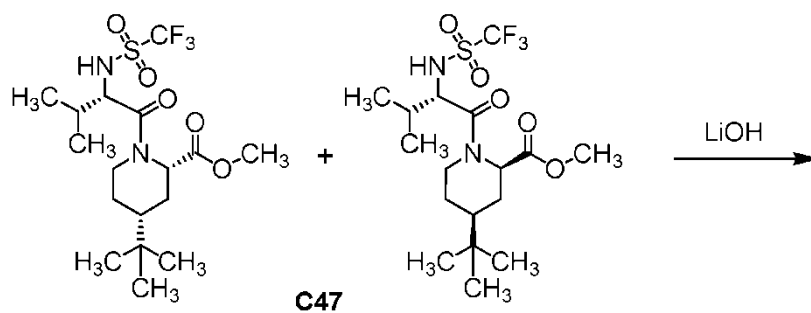
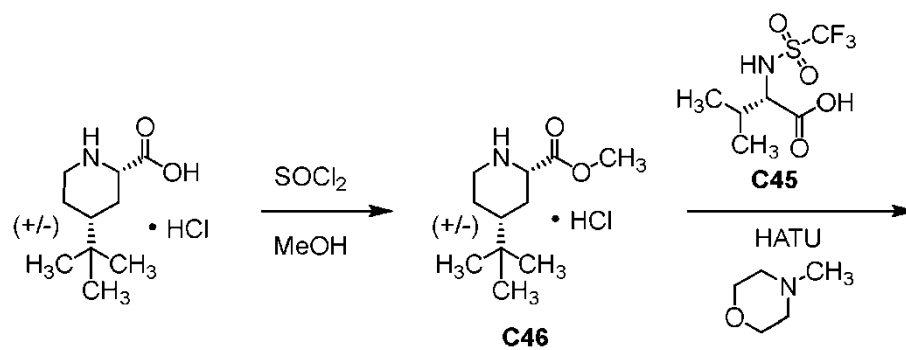
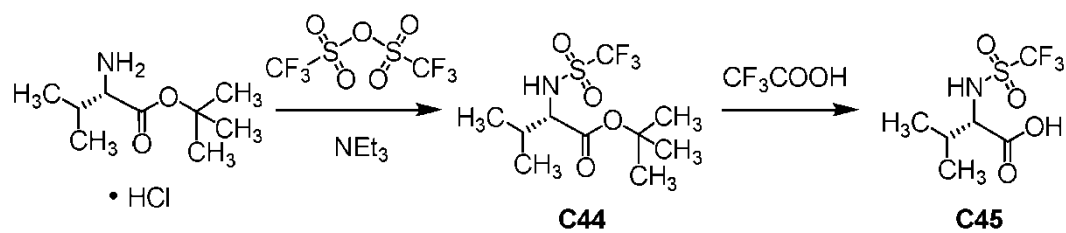
14. Condiții pentru HPLC analitică. Coloană: Phenomenex Kinetex C18, 2,1 × 50 mm, 1,7 µm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,1% acid formic; Gradient: 5% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 5% până la 50% B pe parcursul a 6,0 minute, apoi 50% până la 80% B pe parcursul a 1,5 minute, apoi 80% până la 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 0,4 ml/min.

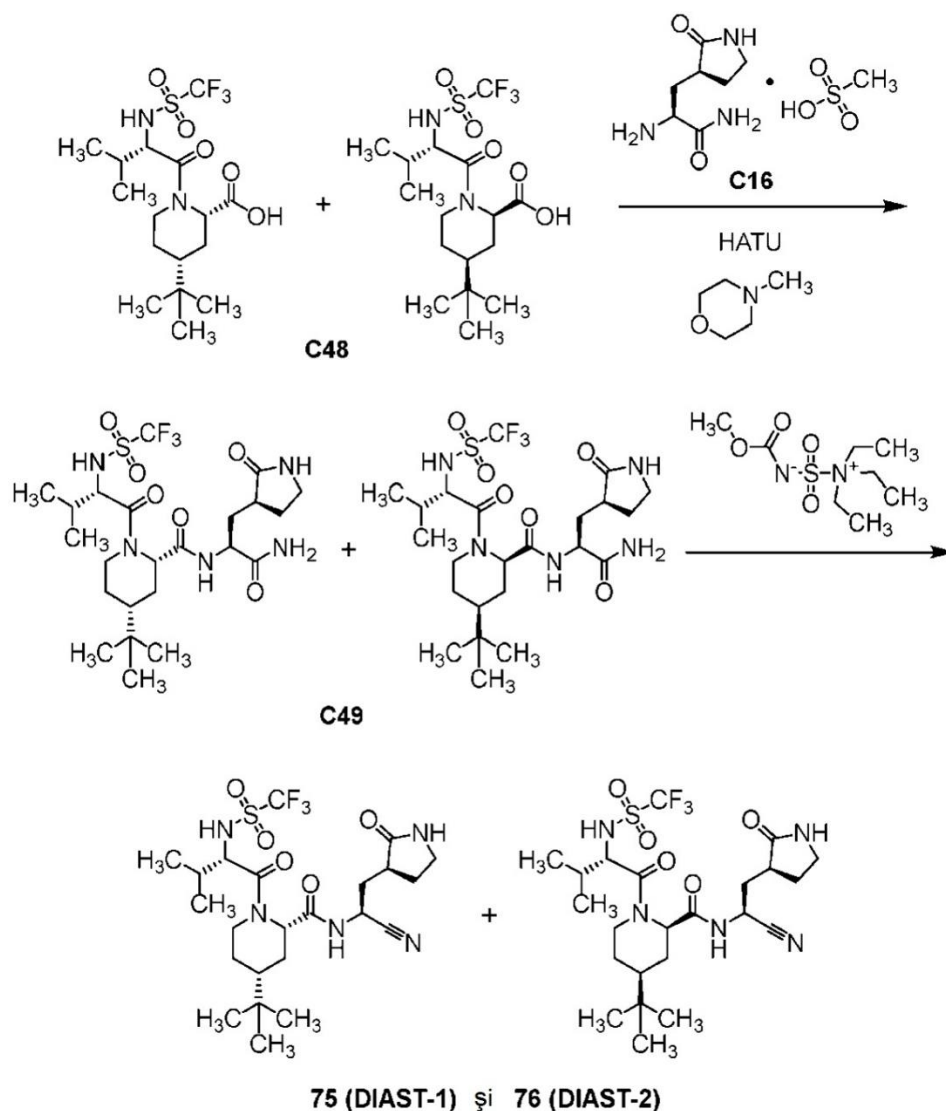
15. Doar produsul indicat a fost observat din această reacție.

16. A fost preparată o soluție stoc din Exemplul 4 (5,56 mg, 12,7 µmoli) și acid trifluoracetic (4 µL, 50 µL) în dimetil sulfoxid (420 µL). O șesime din această soluție a fost tratată cu 1,1-difluoretansulfonat de sodiu (1,3 mg, 8,5 µmoli), urmat de hidroperoxid de *terț*-butil (70% în apă; 1,4 µL, 10 µmoli) și a fost încălzită la 50 °C peste noapte. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetonitril și acid formic apos 1%, la un volum de aproximativ 2-3 mL; compoziția finală de solvent a fost astfel încât amestecul rezultat să aibă aspect limpede, cu un conținut de aproximativ 20% până la 30% acetonitril. Componentele acestui amestec au fost separate prin HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 × 250 mm, 10 µm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 15% B pe parcursul a 5 minute, apoi 15% până la 40% B pe parcursul a 70 de minute, apoi 40% până la 95% B pe parcursul a 15 minute; Debit: 2 ml/minut); fracțiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde. Exemplul 74 a eluat la 68,6 minute.

Exemplele 75 și 76 (doar pentru referință)

(2*S*,4*R*)-4-*terț*-butil-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{*N*-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă și (2*R*,4*S*)-4-*terț*-butil-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{*N*-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă [75 (DIAST-1) și 76 (DIAST-2)]





Etape 1. Sinteza *N*-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valinatului de terț-butil (C44).

O soluție de anhidridă trifluormetansulfonică (8,88 mL, 52,8 mmoli) în diclormetan (10 mL) a fost adăugată la o soluție de L-valinat de terț-butil, sare clorhidrat (10,0 g, 47,7 mmoli) și trietilamină (18,7 mL, 134 mmoli) în diclormetan (90 mL) la -78°C . Amestecul de reacție a fost agitat la -78°C timp de 2 ore, după care a fost turnat în apă și a fost acidificat la un pH de aproximativ 4 prin adăugare de acid clorhidric 1 M. Amestecul rezultat a fost extras cu diclormetan, și stratul organic a fost spălat cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Reziduul a fost combinat cu produsele a două reacții similare efectuate utilizând L-valinat de terț-butil, sare clorhidrat (1,00 g, 4,77 mmol; 1,00 g, 4,77 mmoli) și a fost purificat prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 20 % acetat de etil în eter de petrol), obținându-se **C44** sub forma unui solid alb. Randament combinat: 14,0 g, 45,9

mmoli, 80%. ^1H RMN (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).

Etapă 2. Sinteza *N*-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valinei (C45).

La o soluție de **C44** (14,0 g, 45,9 mmoli) în diclormetan (85 mL) a fost adăugat acid trifluoracetic (85 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 ore, după care a fost concentrat *in vid*; reziduul a fost spălat cu eter de petrol pentru a se obține **C45** sub forma unui solid alb. Randament: 10,9 g, 43,7 mmoli, 95%. MS m/z 248,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H RMN (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).

Etapă 3. Sinteza *cis*-4-*terț*-butilpiperidin-2-carboxilatului de metil, sare clorhidrat (C46).

La o soluție de acid *cis*-4-*terț*-butilpiperidin-2-carboxilic, sarea clorhidrat (vezi R. T. Shuman și colab., J. Org. Chim. 1990, 55, 738-741; 4,00 g, 18,0 mmoli) în metanol (40 mL) la 0 °C, a fost adăugată clorură de tionil (6,44 g, 54,1 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 25°C timp de 16 ore, acesta a fost concentrat *in vid* pentru a se obține **C46** sub forma unui solid alb murdar (4,50 g). O parte din acest material a fost utilizată în etapa următoare. LCMS m/z 200,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (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, presupus; în mare măsură ascuns de către vârful de apă), 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).

Etapă 4. Sinteza (2*S*,4*R*)-4-*terț*-butil-1-{*N*-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxilatului de metil și a (2*R*,4*S*)-4-*terț*-butil-1-{*N*-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxilatului de metil (C47).

La un amestec de **C45** (300 mg, 1,20 mmoli) și **C46** (din etapa anterioară; 341 mg, $\leq 1,36$ mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 mL) la 25 °C a fost adăugată 4-metilmorfolină (365 mg, 3,61 mmoli). Amestecul rezultat a fost răcit la 0°C și a fost tratat cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 549 mg, 1,44 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost barbotat cu azot timp de 1 minut, acesta a fost agitat la 25°C timp de 12 ore. Analiza LCMS în acest moment a indicat prezența **C47**: LCMS m/z 431,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Amestecul de reacție a fost împărțit între acetat de etil (20 ml) și apă (20 ml), și stratul apos a fost extras cu acetat de etil (20 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (4 x 20 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% acetat de etil în eter de petrol) a condus la obținerea de **C47** sub forma unei gume

galbene. Analiza ^1H RMN a confirmat că acesta a cuprins un amestec de diastereomeri. Randament: 320 mg, 0,743 mmoli, 62%. ^1H RMN (400 MHz, cloroform- d) δ 6,12 - 5,94 (m, 1H), [4,51 (dd, J = 11,7, 6,3 Hz) și 4,32 - 4,18 (m), 2H total], [3,73 (s) și 3,71 (s), 3H total], [3,63 - 3,49 (m) și 3,48 - 3,39 (m), 2H total], 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) și 0,91 (d, J = 6,8 Hz), 3H total], 0,87 (s, 9H).

Etapă 5. Sinteza acidului (2S,4R)-4-terț-butil-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxilic și a acidului (2R,4S)-4-terț-butil-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxilic (C48).

O soluție de **C47** (314 mg, 0,729 mmoli) într-un amestec de metanol (2 mL) și tetrahidrofuran (2 mL) a fost tratată cu o soluție de hidroxid de litiu monohidrat (91,8 mg, 2,19 mmoli) în apă (1,4 mL), și amestecul de reacție a fost agitat la 25 °C timp de 3 ore. După îndepărtarea solventului *in vid*, reziduul a fost diluat cu apă (10 mL) și a fost acidificat la un pH de aproximativ 1 prin adăugare de acid clorhidric 1 M. Amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (2 x 20 ml), și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (15 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*, obținându-se **C48** sub forma unei sticle galbene. Analiza ^1H RMN a confirmat că acesta a cuprins un amestec de diastereomeri. Randament: 304 mg, cantitativ. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ [9,82 (d, J = 8,7 Hz) și 9,69 (br d, J = 8,8 Hz), 1H total], [4,28 (dd, J = 11,5, 6,4 Hz), 4,24 - 4,14 (m), și 4,05 - 3,96 (m), 2H total], [3,80 - 3,69 (m) și 3,6 - 3,2 (m, presupus; în mare măsură ascuns de către vârful de apă), 2H total], 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) și 0,93 (d, J = 6,5 Hz), 3H total], [0,89 (d, J = 6,9 Hz) și 0,86 - 0,80 (m), total 12H].

Etapă 6. Sinteza (2S,4R)-N-{(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-4-terț-butil-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidei și a (2R,4S)-N-{(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-4-terț-butil-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidei (C49).

La un amestec de **C16** (120 mg, 0,449 mmoli) și **C48** (144 mg, 0,346 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 ml) la 25 °C a fost adăugată 4-metilmorfolină (100 mg, 0,989 mmoli), după care amestecul a fost răcit la 0 °C și a fost tratat cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 151 mg, 0,397 mmoli). Amestecul de reacție a fost barbotat cu azot timp de 1 minut și apoi a fost agitat la 25 °C timp de 12 ore. Analiza LCMS a indicat prezența **C49**: LCMS m/z 570,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Amestecul de reacție a fost apoi împărțit între acetat de etil (20 ml) și apă (20 ml), și stratul apos a fost saturat cu clorură

de sodiu solidă și a fost extras cu acetat de etil (5 x 20 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 15% metanol în diclormetan), obținându-se **C49** sub forma unui solid alb. Acest material conținea un amestec de diastereomeri, prin analiză ^1H RMN. Randament: 190 mg, 0,334 mmoli, 96%. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfurile caracteristice, integrările sunt approximate: δ [9,88 (d, $J = 8,6$ Hz) și 9,82 - 9,68 (m), 1H total], [8,12 (d, $J = 8,8$ Hz) și 8,09 - 7,98 (m), 1H total], [7,63 (s) și 7,57 (s), 1H total], [7,30 (br s) și 7,18 (br s), 1H total], [7,06 (br s) și 7,03 (br s), 1H total], [4,36 (dd, $J = 12,0$, 6,1 Hz) și 4,32 - 4,08 (m), 2H total], 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).

Etapă 7. Sinteza (2S,4R)-4-terț-butil-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidei și a (2R,4S)-4-terț-butil-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidei [75 (DIAST-1) și 76 (DIAST-2)].

Un amestec de **C49** (190,0 mg, 0,334 mmoli) și *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 238 mg, 1,00 mmoli) în diclormetan (10 ml) a fost agitat la 25 °C timp de 2 zile, după care amestecul de reacție a fost diluat cu apă (20 ml) și a fost extras cu diclormetan (2 x 20 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (10 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 8% metanol în diclormetan) a condus la obținerea unui solid alb, care, prin analiza LCMS, a conținut un amestec de produse de aproximativ 3:1: LCMS m/z 552,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ și LCMS m/z 552,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Acești diastereomeri au fost separați prin cromatografie de fluid supercritic [Coloană: Chiral Technologies Chiralpak IG, 30 x 250 mm, 10 μm ; Faza mobilă: 3:1 dioxid de carbon / (etanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 70 ml/minut]. Primul diastereomer de eluare, izolat sub forma unui solid alb, a fost denumit **75**, iar al doilea diastereomer de eluare, de asemenea, un solid alb, a fost denumit **76** [(2S,4R)-4-terț-butil-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă și (2R,4S)-4-terț-butil-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{N-[(trifluormetil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă].

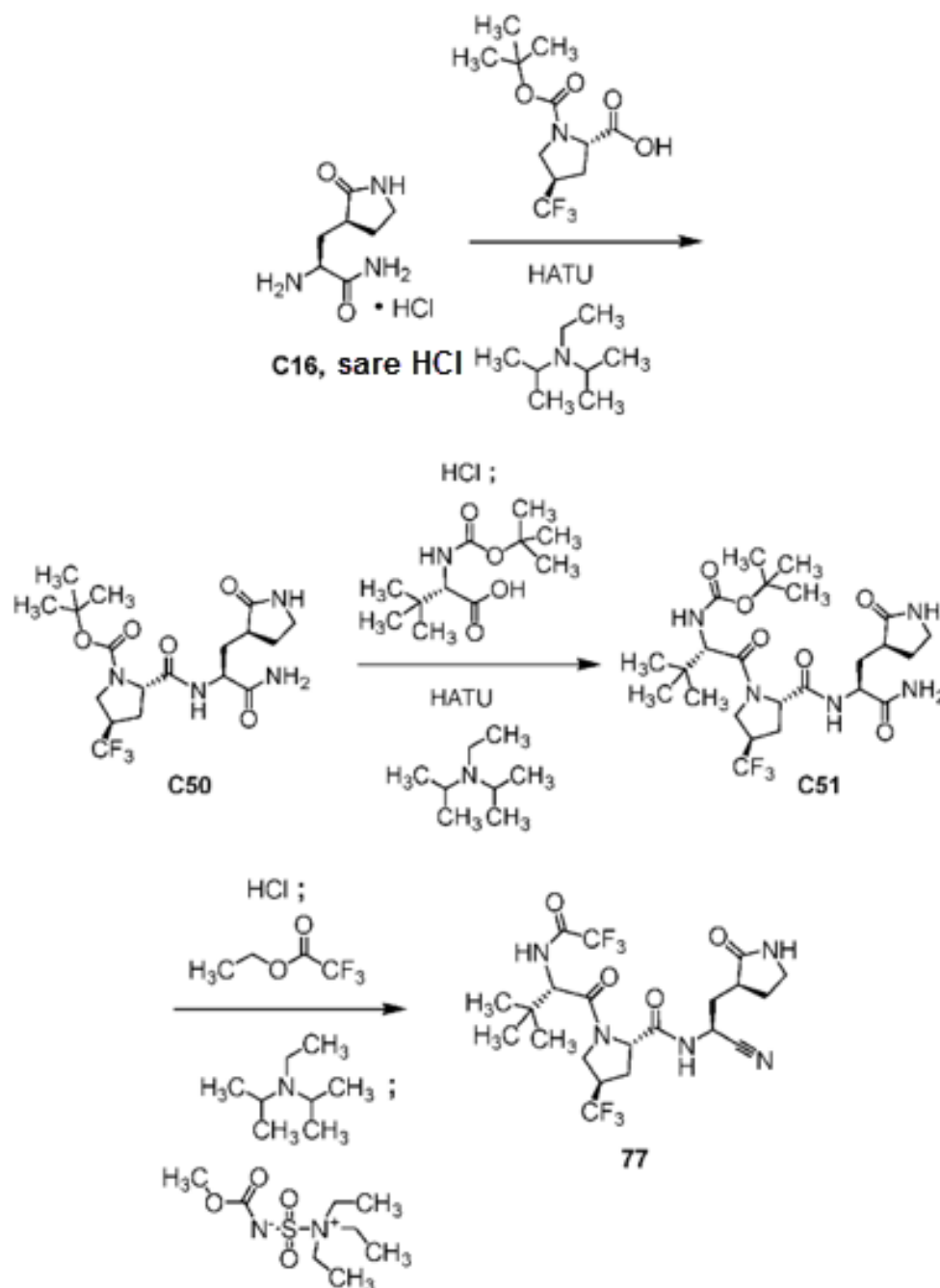
75 - Randament: 26,2 mg, 47,5 μmoli , 14%. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,87 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 8,87 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 4,99 - 4,91 (m, 1H), 4,24 (dd, $J = 12,3$, 6,0 Hz, 1H), 4,18 (dd, $J = 8,3$, 8,3 Hz, 1H), 3,88 - 3,78 (m, 1H), 3,19 - 3,00 (m, 2H), 2,46 - 2,35 (m, 1H), 2,17 - 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). Timp de retenție: 1,30 minute (Condiții analitice. Coloană: Chiral Technologies Chiralpak IG-3, 4,6 × 50 mm, 3 μm; Faza mobilă A: dioxid de carbon; Faza mobilă B: etanol care conține 0,05% dietilamină; Gradient: 5% până la 40% B pe parcursul a 2 minute, apoi 40% B pe parcursul a 1,2 minute; Debit: 4 ml/minut; Contrapresiune: 1500 psi).

76 - Randament: 8,8 mg, 16 μmoli, 5%. LCMS m/z 552,3 $[M+H]^+$. La analiza 1H RMN, această probă de **76** conținea impurități. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfurile caracteristice, integrările sunt approximate: 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). Timp de retenție: 1,61 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **75**).

Exemplul 77 (doar pentru referință)

3-Metil-N-(trifluoracetil)-L-valil-(4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă (77)



Etapa 1. Sinteza (4R)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-(trifluormetil)-L-prolil-3-[(3S)-2-oxopiperidin-3-il]-L-alaninamidei (C50).

La un amestec de (4R)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-4-(trifluormetil)-L-prolină (429 mg, 1,51 mmoli) și **C16, sare HCl** (346 mg, 1,67 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (7,8 ml) la -30 °C, a fost adăugată *N,N*-diizopropiletilamină (0,791 mL, 4,54 mmoli), urmată de hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroni (HATU; 633 mg, 1,66 mmoli). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 0 °C timp de 1 oră, după care a fost

diluat cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu (30 ml) și a fost extras cu un amestec de 2-butanol și diclormetan (9:1, 3 x 7 ml). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% metanol în diclormetan), obținându-se **C50** sub forma unei spume alb murdar. La analiza ^1H RMN, acest material a existat sub forma unui amestec de rotameri și a conținut impurități provenite din reactivii utilizați; o parte din această probă a fost trecută la următoarea etapă. Randament: 613 mg, 1,40 mmoli, 93%. LCMS m/z 459,3 $[\text{M}+\text{Na}^+]$. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), numai vârfurile caracteristice ale produsului: δ 8,33 - 8,18 (m, 1H), [7,65 (br s) și 7,59 (br s), 1H total], [7,39 (br s) și 7,27 (br s), 1H total], 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) și 1,32 (s), 9H total].

Etapă 2. Sinteza *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-4-(trifluormetil)-L-prolil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C51).

Un amestec de **C50** (242 mg, 0,554 mmoli) și o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 2 mL, 8 mmoli) au fost agitate la temperatura camerei timp de 5 minute, după care amestecul de reacție a fost concentrat *in vid* pentru eliminarea solventului și a acidului clorhidric rezidual. Materialul deprotejat rezultat a fost combinat cu *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valină (128 mg, 0,553 mmoli) și hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU: 232 mg, 0,610 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (2 mL) și apoi a fost răcit la -30°C . A fost adăugată *N,N*-diizopropiletilamină (0,290 mL, 1,66 mmoli), și amestecul de reacție a fost încălzit la 0°C timp de 1 oră. După adăugarea unei soluții apoase de bicarbonat de sodiu, amestecul rezultat a fost extras de trei ori cu acetat de etil; straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% metanol în diclormetan), obținându-se **C51** sub forma unui solid. Randament: 230 mg, 0,418 mmoli, 75%. LCMS m/z 550,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

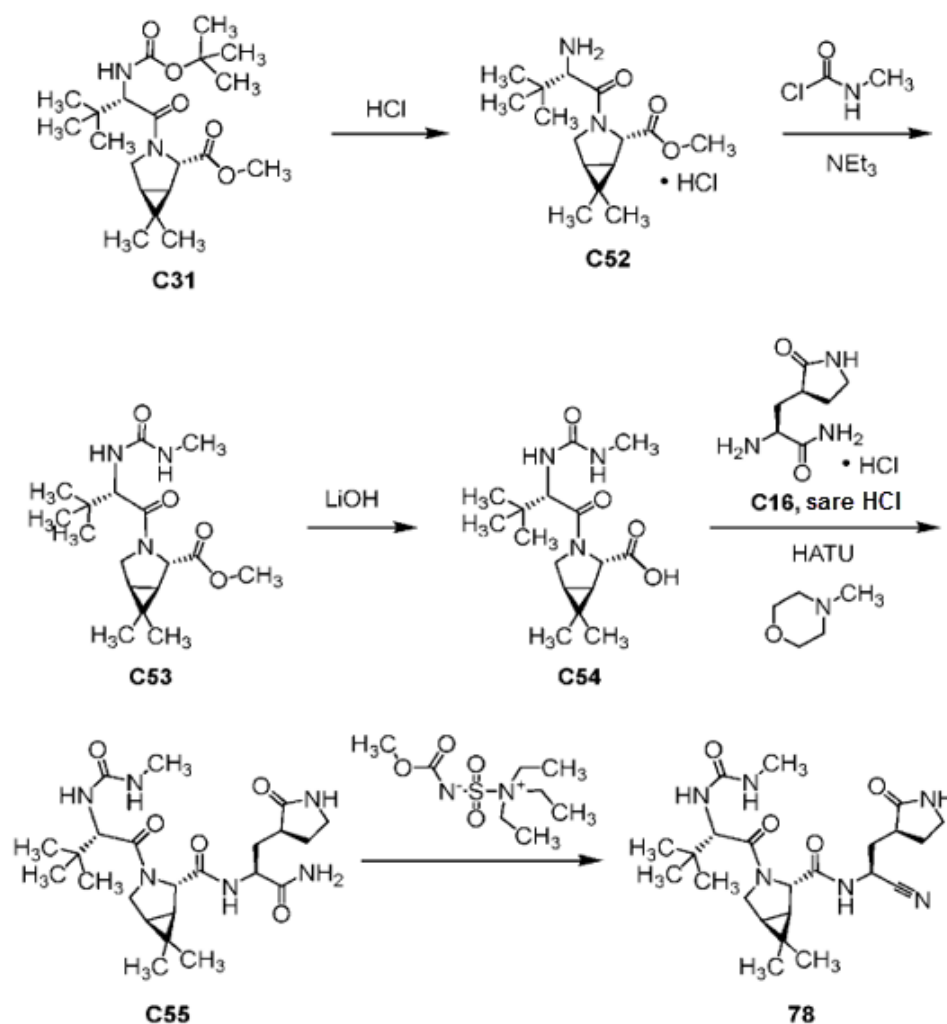
Etapă 3. Sinteza 3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidei (77).

Un amestec de **C51** (230 mg, 0,418 mmoli) și o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 2 mL, 8 mmoli) au fost agitate la temperatura camerei timp de 5 minute, după care amestecul de reacție a fost concentrat *in vid* pentru eliminarea solventului și a acidului clorhidric rezidual. Materialul deprotejat rezultat a fost combinat cu trifluoracetat de etil (595 mg, 4,19 mmoli) și *N,N*-diizopropiletilamină (0,219 mL, 1,26 mmoli) în metanol (1,0 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 30 de minute, a fost adăugat din nou trifluoracetat de etil (60 mg, 0,422 mmoli), și agitarea a fost continuată timp

de 30 de minute. A fost adăugată apoi soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și amestecul rezultat a fost extras de trei ori cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost dizolvate în diclormetan (3 ml). La acesta a fost adăugat *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de etil, sare internă (reactiv Burgess; 299 mg, 1,25 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 2 ore, după care a fost tratat suplimentar cu *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 100 mg, 0,420 mmoli) și a fost lăsat să se agite încă 30 de minute. A fost adăugată apoi soluție apoasă diluată de carbonat de sodiu, și amestecul a fost extras de două ori cu acetat de etil; straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Purificarea prin cromatografie de fluid supercritic (Coloană: Princeton Dinitrofenil, 10 × 250 mm, 5 μm; Faza mobilă: 9:1 dioxid de carbon/metanol; Contrapresiune: 120 bar; Viteza de curgere: 80 ml/minut) a condus la obținerea de material care a fost apoi suspendat în heptan (2,0 ml) la 50 °C timp de 2 ore, a fost răcit la temperatura camerei și a fost colectat prin filtrare, pentru a se obține 3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-*L*-prolinamidă (**77**) sub forma unui solid. Randament: 64 mg, 0,121 mmoli, 29%. LCMS *m/z* 528,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 11,2, 7,5 Hz, 1H), 3,92 (dd, componentă a sistemului 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,38 - 2,28 (m, 1H), 2,21 - 2,04 (m, 3H), 1,78 - 1,65 (m, 2H), 0,99 (s, 9H).

Exemplul 78 (doar pentru referință)

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(metilcarbamoil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (78)



Etapă 1. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-(3-metil-L-valil)-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil, sare clorhidrat (C52).

La o soluție de **C31** (1,00 g, 2,61 mmoli) în diclormetan (20 mL) la 0 °C a fost adăugată, prin picurare, o soluție de acid clorhidric în acetat de etil (4 M; 20 mL, 80 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 25°C peste noapte, acesta a fost concentrat *in vacuo* pentru a se obține **C52** sub forma unei gume albe. Randament: 700 mg, 2,20 mmoli, 84%. LCMS *m/z* 283,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,22 (br s, 3H), 4,25 (s, 1H), 3,87 - 3,77 (m, 2H), 3,72 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,8 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 1,59 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 7,7, 5,3 Hz, 1H), 1,49 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,03 (s, 9H), 1,02 (s, 3H), 0,96 (s, 3H).

Etapă 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(metilcarbamoil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C53).

La o soluție de **C52** (320 mg, 1,00 mmoli) în diclormetan (6 mL) la 0 °C au fost adăugate încet trietilamină (0,769 mL, 5,52 mmoli) și clorură de metilcarbamil (188 mg, 2,01 mmoli). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 20 °C și a fost agitat timp de 18 ore, după care a fost tratat prin picurare cu soluție apoasă saturată de carbonat de sodiu (5 ml) și a fost extras cu diclormetan (2 x 5 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 20 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a condus la obținerea **C53** sub forma unei gume galben deschis. Randament: 190 mg, 0,560 mmoli, 56%. LCMS *m/z* 339,9 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,79 (dd, componentă a sistemului 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,4 Hz, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,83 (s, 3H).

Etapă 3. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(metilcarbamoil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C54**).**

La o soluție de **C53** (190 mg, 0,560 mmoli) într-un amestec de tetrahidrofuran (2 mL), apă (4 mL) și metanol (1 mL) la 0 °C a fost adăugat hidroxid de litiu monohidrat (82,0 mg, 1,95 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 20°C timp de 2 ore, acesta a fost diluat cu acetat de etil (10 ml); stratul apos a fost apoi răcit la 0°C până la 5°C și a fost acidificat la pH 2 până la 3 prin adăugare de acid clorhidric 1 M. Amestecul apos a fost extras cu acetat de etil (3 x 15 mL), și aceste straturi combinate de acetat de etil au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține **C54** sub forma unui solid alb. Randament: 120 mg, 0,369 mmoli, 66%. LCMS *m/z* 348,3 [M+Na]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,77 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,3, 5,4 Hz, 1H), 1,49 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 7,6, 5,1 Hz, 1H), 1,38 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,5 Hz, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,92 (s, 9H), 0,82 (s, 3H).

Etapă 4. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(metilcarbamoil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C55**).**

La o soluție de **C54** (120 mg, 0,369 mmoli) și **C16, sare HCl** (75%, 107 mg, 0,387 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3,0 ml) la 0 °C până la 5 °C au fost adăugate hexafluor-

fosfat de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluroni (HATU; 154 mg, 0,405 mmoli) și 4-metilmorfină (0,144 mL, 1,31 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească de la 0°C până la 20°C timp de 1,5 ore, a fost lăsat să se agite la 20°C timp de 18 ore, după care a fost diluat cu apă și a fost tratat cu sulfat de sodiu solid până la saturare. Amestecul rezultat a fost extras cu un amestec de 2-propanol și cloroform (1:4, 3 x 20 mL), și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în diclormetan) a condus la obținerea de **C55** (240 mg) sub forma unei sticle incoloră. O parte din acest material a fost utilizată în etapa următoare. LCMS m/z 479,2 [M+H]⁺. La analiza ¹H RMN, acest material a fost contaminat cu un produs secundar provenit din reactivul HATU. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), numai vârfurile caracteristice ale produsului: 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

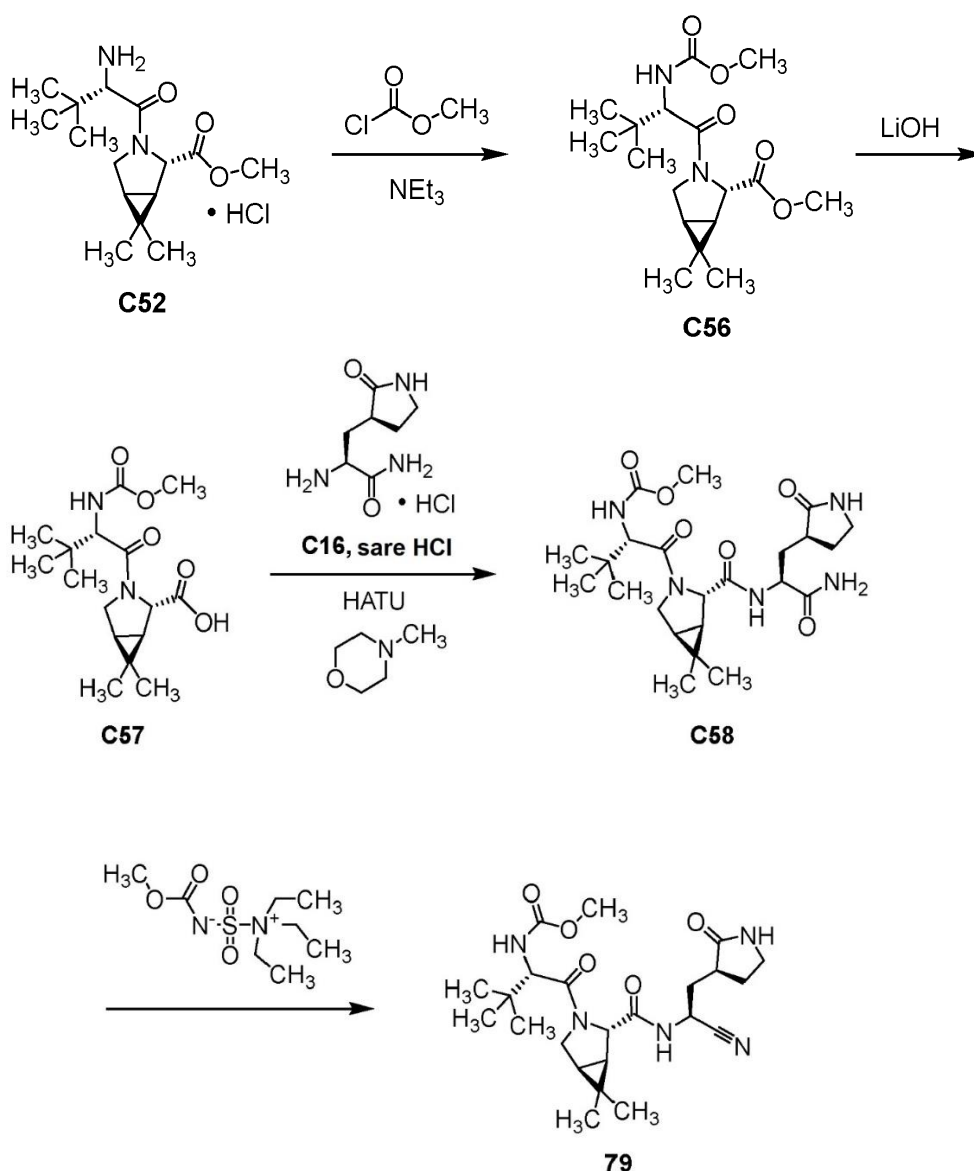
Etapă 5. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(metilcarbamoil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (78).

La o soluție de **C55** (din etapa anterioară; 190 mg, ≤0,292 mmoli) în acetonitril (12 mL) a fost adăugat *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 303 mg, 1,26 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 22 de ore, după care a fost combinat cu o reacție similară efectuată folosind **C55** (din etapa anterioară; 50 mg, ≤77 μmoli). Soluția rezultată a fost concentrată *in vid*, a fost diluată cu apă (10 ml) și a fost extrasă cu acetat de etil (3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*; purificarea prin HPLC în fază inversă (Coloană: Boston Prime C18, 30 × 150 mm, 5 μm; Faza mobilă A: 0,225% acid formic în apă; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 23% până la 46% B; Debit: 25 ml/minut) a condus la obținerea de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(metilcarbamoil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (78) sub forma unui solid alb. Randament combinat: 25 mg, 54 μmoli, 15% în 2 etape. LCMS m/z 461,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,85 (s,

3H). ^1H RMN (400 MHz, cloroform- d), vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,2$ Hz, 1H), 3,93 (br dd, componentă a sistemului 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).

Exemplul 79 (doar pentru referință)

{{(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamate de metil (79)}



Etapă 1. Sinteza (1R,2S,5S)-3-[N-(metoxycarbonil)-3-metil-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C56).

La o soluție de **C52** (370 mg, 1,16 mmoli) în diclormetan (6 mL) la 0 °C au fost adăugate încet trietilamină (0,647 mL, 4,64 mmoli) și cloroformiat de metil (335 mg, 3,55 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 16 ore, acesta a fost diluat prin picurare cu soluție apoasă saturată de carbonat de sodiu (5 ml) și a fost extras cu diclormetan (2 x 20 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 20 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*; cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% acetat de etil în eter de petrol) a condus la obținerea de **C56** sub forma unei gume albe. Randament: 115 mg, 0,338 mmoli, 29%. LCMS m/z 341,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (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).

Etapă 2. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[*N*-(metoxycarbonil)-3-metil-*L*-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C57).

La o soluție de **C56** (115 mg, 0,338 mmoli) într-un amestec de metanol (2,0 mL), tetrahidrofuran (2,0 mL) și apă (2 mL) a fost adăugat hidroxid de litiu monohidrat (28,4 mg, 0,677 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (22 °C până la 25 °C) timp de 16 ore, apoi a fost concentrat *in vid*. Reziduul apos a fost împărțit între apă (5 ml) și acetat de etil (20 ml), după care stratul organic a fost aruncat și stratul apos a fost ajustat la un pH de 1 până la 2 prin adăugare de acid clorhidric concentrat. Amestecul rezultat a fost extras de trei ori cu acetat de etil; straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține **C57** sub forma unei gume incolore. Randament: 100 mg, 0,306 mmoli, 91%. LCMS m/z 327,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,87 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,3, 5,4 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 1,68 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,50 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 7,6, 5,3 Hz, 1H), 1,06 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,91 (s, 3H).

Etapă 3. Sinteza {(2*S*)-1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamatului de metil (C58).

La o soluție de **C57** (100 mg, 0,306 mmoli) și **C16, sare HCl** (75%, 84,8 mg, 0,306 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 mL) la 0 °C, a fost adăugat hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronium (HATU; 140 mg, 0,368 mmoli), urmat de adăugarea prin picurare a unei soluții de 4-metilmorfolină (93 mg, 0,919 mmoli) în *N,N*-

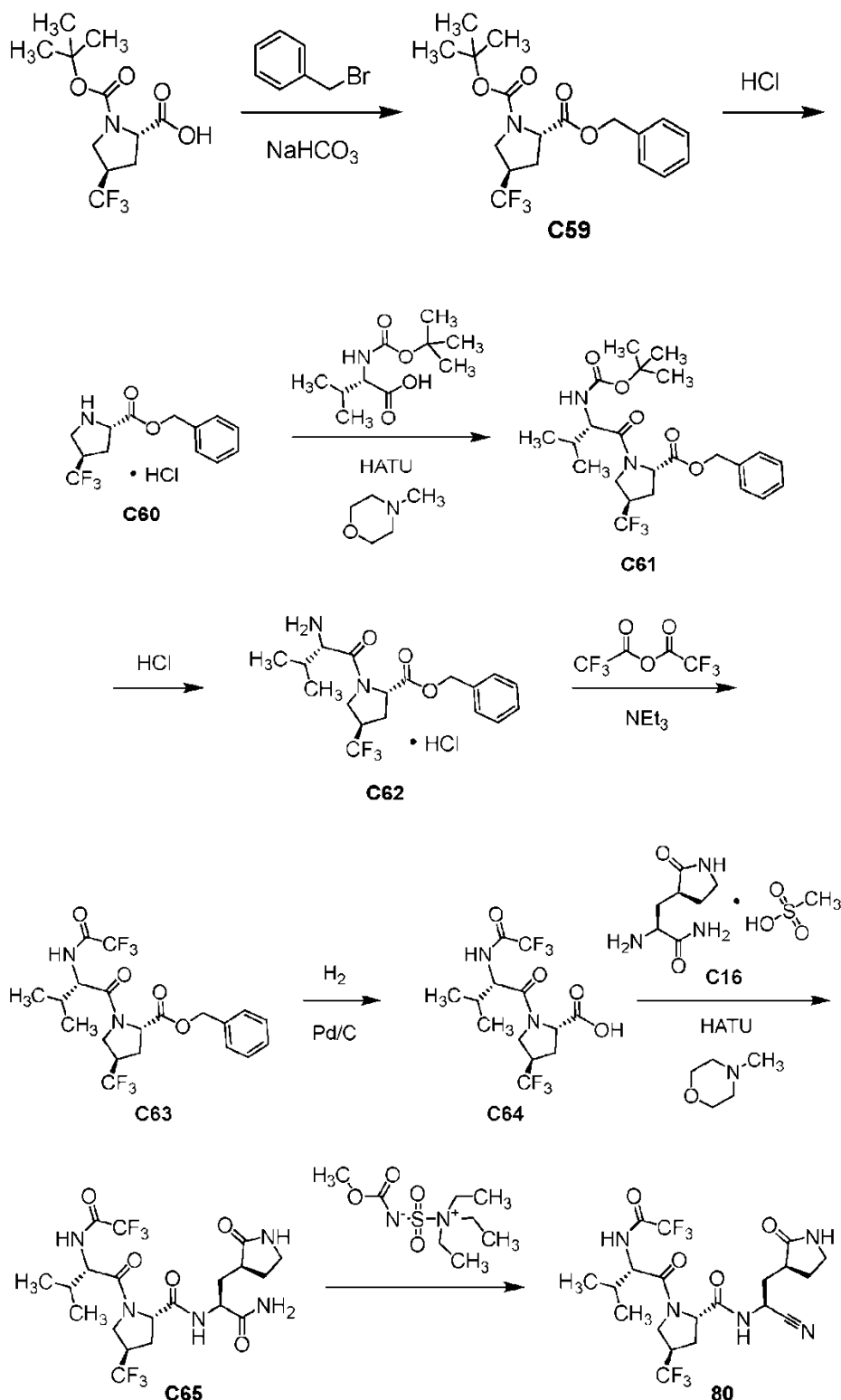
dimetilformamidă (1 ml). Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la temperatura camerei (25°C) și a fost agitat timp de 16 ore, după care a fost adăugată apă (10 mL). După ce sulfatul de sodiu solid a fost adăugat până la saturație, amestecul rezultat a fost extras cu un amestec de cloroform și 2-propanol (4:1, 3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost purificate utilizând cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% metanol în diclormetan), obținându-se **C58** sub forma unui solid alb. Randament: 93 mg, 0,19 mmoli, 62%. LCMS m/z 480,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,3$, 5,5 Hz, 1H), 3,93 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,88 (s, 3H).

Etapă 4. Sinteza {(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamatului de metil (79).

La o suspensie de **C58** (93 mg, 0,19 mmoli) în diclormetan (5 mL) a fost adăugat *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamatul de metil, sare internă (reactiv Burgess; 139 mg, 0,583 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la 25°C timp de 2 ore. Apoi a fost diluat cu apă (10 ml) și a fost extras cu diclormetan (3 x 10 ml); straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 10 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% acetat de etil în eter de petrol, urmată de un gradient de 0% până la 20% metanol în diclormetan) a condus la obținerea de {(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamatul de metil (**79**) sub forma unui solid alb. Randament: 7,0 mg, 15 μ moli, 8%. LCMS m/z 462,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,1$, 4,5 Hz, 1H), 3,88 (d, jumătate din cvartetul 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 1,06 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,90 (s, 3H).

Exemplul 80 (doar pentru referință)

***N*-(Trifluoracetil)-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă (80)**



Etapă 1. Sinteza 2-benzil (2*S*,4*R*)-4-(trifluormetil)pirolidin-1,2-dicarboxilatului de 1-*terț*-butil (C59).

Un amestec de (4*R*)-1-(*terț*-butoxicarbonil)-4-(trifluormetil)-L-prolină (400 mg, 1,41 mmoli), bromură de benzil (0,335 mL, 2,82 mmoli) și bicarbonat de sodiu (593 mg, 7,06 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (8 ml) a fost agitat timp de 15 ore la 25°C. După ce amestecul de reacție a fost diluat cu apă (30 ml) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 30 ml), straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu și cu soluție apoasă de clorură de litiu 5%, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% acetat de etil în eter de petrol) a condus la obținerea de **C59** sub forma unui ulei incolor. La analiza ¹H RMN, acest material a existat sub forma unui amestec de rotameri. Randament: 355 mg, 0,951 mmoli, 67%. ¹H RMN (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) și 4,40 (br dd, *J* = 8,5, 2 Hz), 1H total], 3,87 - 3,70 (m, 1H), [3,58 (dd, *J* = 11,2, 7,4 Hz) și 3,49 (dd, *J* = 11,0, 7,9 Hz), 1H total], 3,13 - 2,95 (m, 1H), 2,47 - 2,27 (m, 1H), 2,25 - 2,11 (m, 1H), [1,46 (s) și 1,33 (s), 9H total].

Etapă 2. Sinteza (4*R*)-4-(trifluormetil)-L-prolinatului de benzil, sare clorhidrat (C60).

La o soluție de **C59** (200 mg, 0,536 mmoli) în acetat de etil (3 mL) la 0 °C a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în acetat de etil (4 M; 6 mL, 24 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (28 °C) timp de 3 ore, acesta a fost concentrat *in vid* pentru a se obține **C60** sub forma unui solid alb; acest material a fost trecut direct la etapa următoare. LCMS *m/z* 274,0 [L+H]⁺.

Etapă 3. Sinteza *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-L-valil-(4*R*)-4-(trifluormetil)-L-prolinatului de benzil (C61).

Hexafluorofosfat de *O*-(7-Azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronium (HATU; 277 mg, 0,728 mmoli) și 4-metilmorfolină (184 mg, 1,82 mmoli) au fost adăugate la un amestec **C60** (din etapa anterioară; ≤0,536 mmoli) și *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-L-valină (158 mg, 0,727 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 mL) la 0°C. Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 1 oră, după care a fost turnat în apă cu gheață (15 ml) și a fost extras cu acetat de etil (2 x 15 ml). Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu acid clorhidric 1 M, soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Purificare prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 40% acetat de etil în eter de petrol) a condus la obținerea de **C61** sub forma unei gume incolore. Randament: 230 mg, 0,487 mmoli, 91% în 2 etape. LCMS *m/z* 495,0 [M+Na⁺]. ¹H RMN (400 MHz, cloroform-*d*), vârfuri caracteristice: δ 7,40 - 7,30 (m, 5H), 5,17 (Cvartet AB, *J*_{AB} = 12,3 Hz, Δ*v*_{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,

componentă a sistemului ABXY, $J = 13,5, 9, 9$ Hz, 1H), 2,20 (ddd, componentă a sistemului 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).

Etapă 4. Sinteza L-valil-(4R)-4-(trifluormetil)-L-prolinatului de benzil, sare clorhidrat (C62).

La o soluție de **C61** (230 mg, 0,487 mmoli) în acetat de etil (2 mL) la 0 °C a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în acetat de etil (4 M; 4 mL, 16 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (28 °C) timp de 1 oră, după care analiza LCMS a indicat transformarea în **C62**: LCMS m/z 373,1 $[M+H]^+$. Concentrarea amestecului de reacție *in vid* a condus la obținerea de **C62** sub forma unui solid alb, care a fost trecut direct la etapa următoare.

Etapă 5. Sinteza N-(trifluoracetil)-L-valil-(4R)-4-(trifluormetil)-L-prolinatului de benzil (C63).

O soluție de anhidridă trifluoracetică (154 mg, 0,733 mmoli) în diclormetan (0,5 mL) a fost adăugată la o suspensie de **C62** (din etapa anterioară; $\leq 0,487$ mmoli) în diclormetan (3 mL) la 0 °C. După 3 minute, a fost adăugată prin picurare o soluție de trietilamină (148 mg, 1,46 mmoli) în diclormetan (0,5 mL) și agitarea a fost continuată la 25°C timp de 3 ore. După diluarea cu diclormetan (5 mL), amestecul de reacție a fost spălat cu soluție apoasă saturată de carbonat de sodiu (10 mL) și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (15 mL), a fost uscat, filtrat și concentrat *in vid*; cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% acetat de etil în eter de petrol) a condus la obținerea de **C63** sub forma unui ulei incolor. Randament: 129 mg, 0,275 mmoli, 56% în 2 etape. LCMS m/z 491,2 $[M+Na^+]$.

Etapă 6. Sinteza N-(trifluoracetil)-L-valil-(4R)-4-(trifluormetil)-L-prolinei (C64).

La o soluție de **C63** (129 mg, 0,275 mmoli) în metanol (3 mL) la 28 °C a fost adăugat paladiu pe cărbune (10%, 29,3 mg, 27,5 μ mol), după care amestecul a fost hidrogenat la 15 psi timp de 16 ore. Filtrarea a furnizat o turtă de filtrare, care a fost spălată cu metanol (10 ml); filtratele combinate au fost concentrate *in vid* pentru a se obține **C64** sub forma unui solid galben-deschis. Randament: 80 mg, 0,21 mmoli, 76%. LCMS m/z 401,0 $[M+Na^+]$.

Etapă 7. Sinteza N-(trifluoracetil)-L-valil-(4R)-4-(trifluormetil)-L-prolil-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C65).

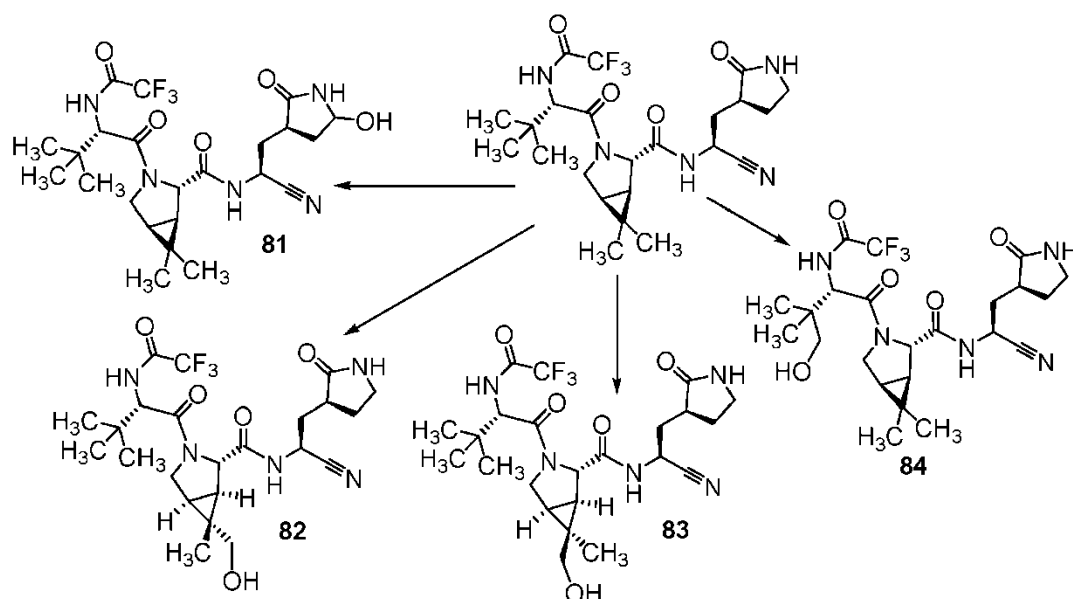
Hexafluorofosfat de O-(7-Azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronium (HATU; 88,5 mg, 0,233 mmoli) și 4-metilmorfolină (64,2 mg, 0,635 mmoli) au fost adăugate la o soluție de **C64** (80 mg, 0,21 mmoli) și **C16** (76,8 mg, 0,287 mmoli) în N,N-dimetilformamidă (3 mL) la 0 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 2 ore, a fost tratat cu apă

(10 ml) și soluție apoasă de acid citric (1 M; 10 ml, 10 mmoli), apoi a fost extras cu acetat de etil (3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (15 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (15 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Purificarea prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a condus la obținerea de **C65** sub forma unui solid alb. Randament: 72 mg, 0,14 mmoli, 67%. LCMS m/z 532,2 $[M+H]^+$.

Etapă 8. Sinteza *N*-(trifluoracetil)-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidei (80).

N-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 96,9 mg, 0,407 mmoli) a fost adăugată la un amestec de **C65** (72 mg, 0,14 mmoli) în diclormetan (5 mL), și amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei peste noapte. După diluare cu apă (15 mL), amestecul a fost extras cu diclormetan (3 x 15 mL), și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 20 mL), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a condus la obținerea de *N*-(trifluoracetil)-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă (**80**) sub forma unui solid alb. Randament: 30,9 mg, 60,2 μmoli, 43%. LCMS m/z 536,1 $[M+Na]^+$. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfuri caracteristice: 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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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).

Exemplele 81-84 (doar pentru referință)



Exemplul 81: (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3R)-5-hidroxi-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Exemplul 82: (1R,2S,5S,6R)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Exemplul 83: (1R,2S,5S,6S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Exemplul 84: (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-3-[3-(hidroximetil)-N-(trifluoracetil)-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Compușii din Exemplele 81-84 au fost obținuți prin căi de biotransformare, atât *in vitro*, cât și *in vivo*, de la (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (compusul din Exemplul 13), după cum urmează. În studii *in vitro*, (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă a fost incubată cu microzomi hepatici de șoarece, șobolan, hamster, iepure, maimuță sau umani (vezi Tabelul M1 de mai jos) sau cu hepatocite de șobolan, maimuță sau umane (vezi Tabelul M2 de mai jos). În mod alternativ, în studii *in vivo*, (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă a fost administrată la șobolan și maimuță. Au fost obținute probe de plasmă, urină și bilă de șobolan, și plasmă de maimuță. Metaboliții rezultați au fost apoi analizați utilizând HPLC/MS, și compușii metaboliți oxidativi rezultați din Exemplele 81-84 au fost detectați și obținuți. În plus față de compușii din exemplele 81-

84, în studiile *in vivo* a fost observat un metabolit suplimentar, acid (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoroacetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic.

Tabelul M1: Compuși obținuți din microzomi hepatici

Exemplu	Șoarece	Șobolan	Hamster	Iepure	Maimuță	Uman
81	+++	+++	+++	+++	+++	+++
82	+	+	+	++	t	+
83	+	+	+	+	t	+
84	+	t	-	t	t	+

Tabelul M2: Compușii din exemplele 81-84 obținuți din hepatocite

Exemplu	Șoarece	Șobolan	Hamster
81	+++	+++	+++
82	+	t	t
83	t	t	t
84	+	t	-

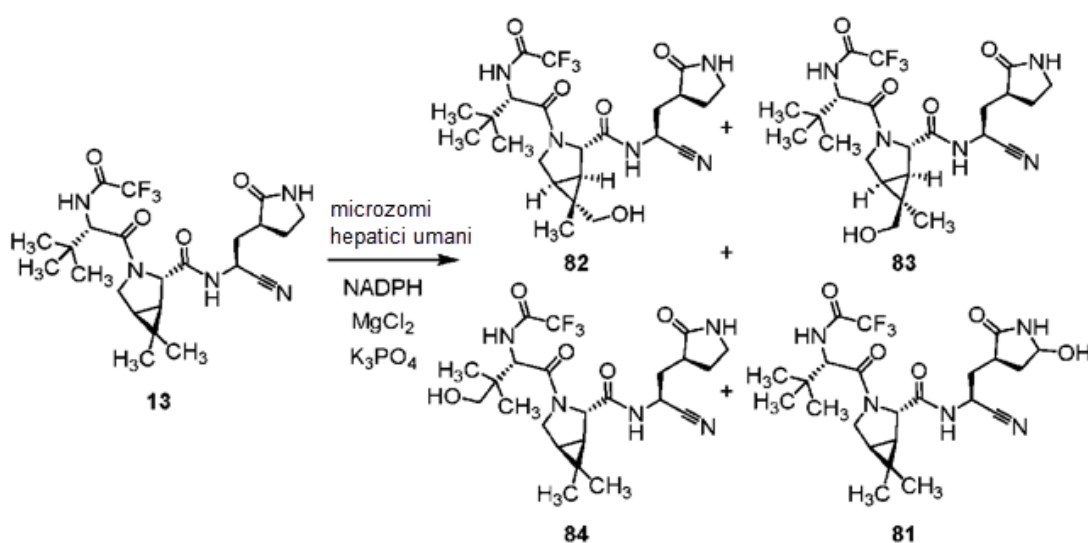
Tabelul M3: Compușii din exemplele 81-84 obținuți *in vivo* în Șobolan sau Maimuță

Exemplu	Plasmă de șobolan	Urină de șobolan	Bilă de șobolan	Plasmă de maimuță
81	+	t	t	++
82	t	t	t	t
83	t	-	-	t
84	+	-	-	+

În tabelele M1, M2 și M3 se folosesc următoarele abrevieri: - = nedetectat; + = detectat prin spectrometrie de masă și vârf minor UV; ++ = detectat prin spectrometrie de masă și vârf UV moderat; +++ = detectat prin spectrometrie de masă și vârf major UV; t = urmă, detectată numai prin spectrometrie de masă.

Exemplele 82, 83, 84 și 81 (doar pentru referință)

(1*R*,2*S*,5*S*,6*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**82**), (1*R*,2*S*,5*S*,6*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**83**), (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-3-[3-(hidroximetil)-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**84**), și (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*R*)-5-hidroxi-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**81**)



Exemplul 13 (25 μ M) a fost combinat cu microzomi hepatici umani (2 mg/mL) în tampon fosfat de potasiu (100 mM, pH 7,4; 40 mL) care conține clorură de magneziu (3,3 mM) și NADPH (1,3 mM). Incubarea a fost efectuată timp de 55 de minute într-o baie de apă agitată menținută la 37 °C. Reacția a fost completă prin adăugarea unui volum egal de acetonitril, după care amestecul a fost centrifugat într-o centrifugă la 1800 x g timp de 5 minute, și supernatantul a fost supus centrifugării în vid timp de aproximativ 1,5 ore. La reziduu au fost adăugate acid formic (0,5 mL), acetonitril (0,5 mL) și apă până la un volum final de 50 mL, iar amestecul rezultat a fost centrifugat într-o centrifugă la 40000 x g timp de 30 de minute. Supernatantul a fost aplicat pe o coloană HPLC (Polaris C18, 4,6 x 250 mm; 5 μ m) la 1 ml/min folosind o pompă Jasco HPLC. După aplicare, coloana a fost mutată într-un sistem Waters Acquity HPLC-UV cuplat cu un spectrometru de masă Thermo LTQ și un colector de fracțiuni CTC Analytics și a fost supusă separării HPLC în fază inversă (fază mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 2% timp de 5 minute, apoi a fost crescut la 15% B urmat de 15% până la 60% B pe parcursul a 80 de minute, apoi 60% până la 95% B pe parcursul a 5 minute; Debit: 0,8 ml /min). Frațiunile au

fost colectate la fiecare 20 de secunde, obținându-se (1*R*,2*S*,5*S*,6*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**82**), (1*R*,2*S*,5*S*,6*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**83**), (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-(hidroximetil)-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**84**), și (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*R*)-5-hidroxi-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**81**).

Numărul exemplului	Timp de retenție, purificare HPLC (minute)
82	37,2
83	39,3
84	46,6
81	50,5

82 - Randament: 60 μg , 0,12 μmoli , 12%. MS de înaltă rezoluție m/z 516,2424 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_5$, 516,2434. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), vârfuri caracteristice: 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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,2, 5,4$ Hz, 1H), 3,68 (d, jumătate din cvartetul 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 - Randament: 30 μg , 0,058 μmoli , 6%. MS de înaltă rezoluție m/z 516,2425 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_5$, 516,2434. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), vârfuri caracteristice: 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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,2, 5,8$ Hz, 1H), 3,74 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,6$ Hz, 1H), 3,3 - 3,20 (m, 1H, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 3,17 - 3,11 (m, 1H), 3,07 - 3,00 (m, 1H), 1,75 - 1,63 (m, 2H), 1,38 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,3$ Hz, 1H), 1,06 (s, 3H), 0,98 (s, 9H).

84 - Randament: 40 μg , 0,078 μmoli , 8%. MS de înaltă rezoluție m/z 516,2423 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_5$, 516,2434. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), vârfuri caracteristice: 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, $J = 10,6$

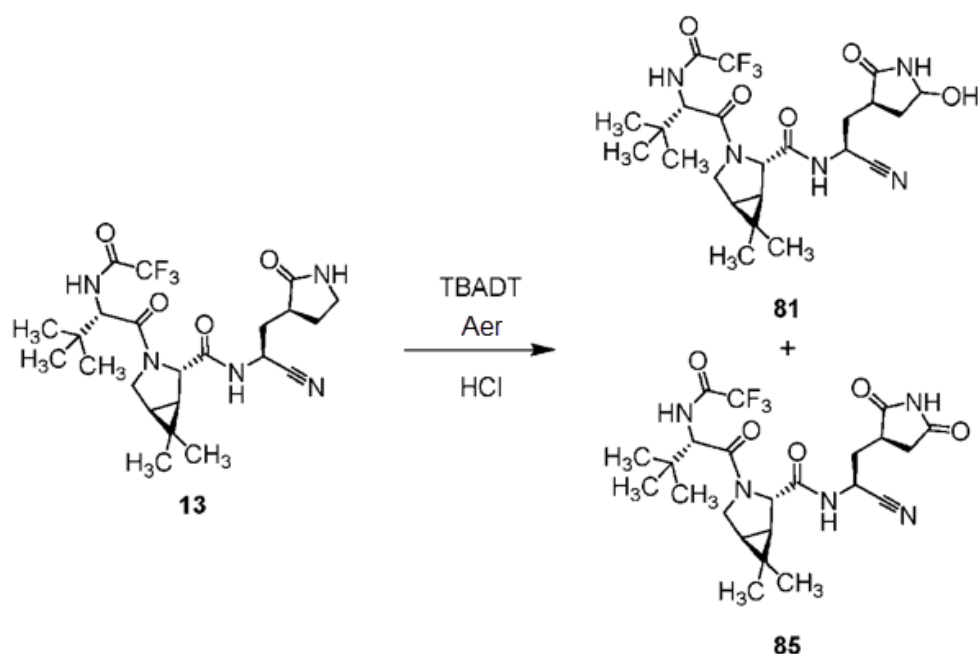
Hz, 1H), 3,51 (d, $J = 10,1$ Hz, 1H), 3,18 - 3,10 (m, 1H), 3,10 - 3,03 (m, 1H), 1,73 - 1,67 (m, 2H), 1,60 - 1,54 (m, 1H), 1,31 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 1,01 (s, 3H), 0,88 (br s, 6H).

81 - Randament: 130 μg , 0,252 μmoli , 25%. A fost determinat că acest material există sub forma unui amestec de intertransformare de stereoizomeri în jurul fragmentului carbinolamină al pirolidonei (vezi exemplele 81 și 82). MS de înaltă rezoluție m/z 516,2428 $[\text{M}+\text{H}]^+$; calculat pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_5$, 516,2434. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ [9,40 (d, $J = 8,4$ Hz) și 9,38 (d, $J = 8,2$ Hz), 1H total], [8,99 (d, $J = 8,5$ Hz) și 8,92 (d, $J = 7,6$ Hz), 1H total], [8,37 (s) și 8,25 (s), 1H total], [5,83 (br s) și 5,70 (br s), 1H total], 5,04 - 4,92 (m, 2H), 4,44 - 4,38 (m, 1H), [4,19 (s) și 4,15 (s), 1H total], 3,91 (dd, $J = 10,2, 5,5$ Hz, 1H), [3,69 (d, $J = 10$ Hz) și 3,68 (d, $J = 10,2$ Hz), 1H total], [2,65 - 2,57 (m), 2,43 - 2,30 (m) și 2,21 - 2,13 (m), 2H total], [2,08 (ddd, $J = 13,7, 8,4, 6,2$ Hz), 2,00 - 1,90 (m), și 1,87 - 1,79 (m), 2H total], [1,78 - 1,70 (m) și 1,51 - 1,44 (m), 1H total], 1,60 - 1,53 (m, 1H), [1,32 (d, $J = 7,6$ Hz) și 1,29 (d, $J = 7,6$ Hz), 1H total], 1,03 (s, 3H), [0,99 (s) și 0,98 (s), 9H total], [0,85 (s) și 0,84 (s), 3H total].

Exemplele 81 și 85 (doar pentru referință)

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-((3R)-5-hidroxi-2-oxopirolidin-3-il)etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (81) și

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-((3R)-2,5-dioxopirolidin-3-il)etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (85)



Un amestec de Exemplul 13 (1,0 mg, 2,0 μmoli) și decatungstat de tetra-n-butilamoniu (TBADT; 0,33 mg, 0,10 μmoli) a fost tratat cu acetonitril (0,15 ml) și acid clorhidric (1,0 M;

0,05 μ mol, 0,05 μ mol). Un ac de seringă (18 gauge) a fost introdus prin capacul din teflon al flaconului, și amestecul de reacție, la care a avut acces aer, a fost plasat într-un EvoluChem™ PhotoRedOx Box echipat cu ventilator și iradiat cu lumină neagră (PAR20-18W LG 365 nm, 100-240 VAC) la 25 °C timp de 16 ore. La amestecul de reacție a fost adăugată soluție apoasă de fosfat de potasiu (1 M, pH 7,5; 0,5 mL), apoi apă (până la un volum de aproximativ 6 mL), urmată de adăugarea de acid formic apos (1%, 2 mL) și suficient acetonitril pentru a menține o soluție. Soluția rezultată a fost împărțită în jumătate și a fost aplicată pe două cartușe de extracție în fază solidă Biotage Isolute C18 de 5 g. Cartușele au fost spălate cu soluție apoasă de acetat de amoniu (10 mM; 3 mL) și cu acetonitril 20% în soluție apoasă de acetat de amoniu 10 mM (3 mL), apoi au fost eluate cu acetonitril (3 mL). Solvenții au fost îndepărtați folosind un evaporator Genevac, și cele două reziduuri au fost reconstituite într-un amestec de acetonitril și acid formic apos 1% și au fost combinate până la un total de 2 ml de soluție. Acest material a fost supus HPLC în fază inversă (Coloană: Phenomenex Luna C18, 10 × 250 mm, 10 μ m; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 2% până la 15% B pe parcursul a 5 minute, apoi 15% până la 60% B pe parcursul a 80 de minute, apoi 60% până la 95% B pe parcursul a 5 minute; Debit: 2 ml/min). Frațiunile au fost colectate la fiecare 20 de secunde; primul compus care a eluat a fost (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*R*)-5-hidroxi-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**81**), iar al doilea compus care a eluat a fost (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*R*)-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**85**).

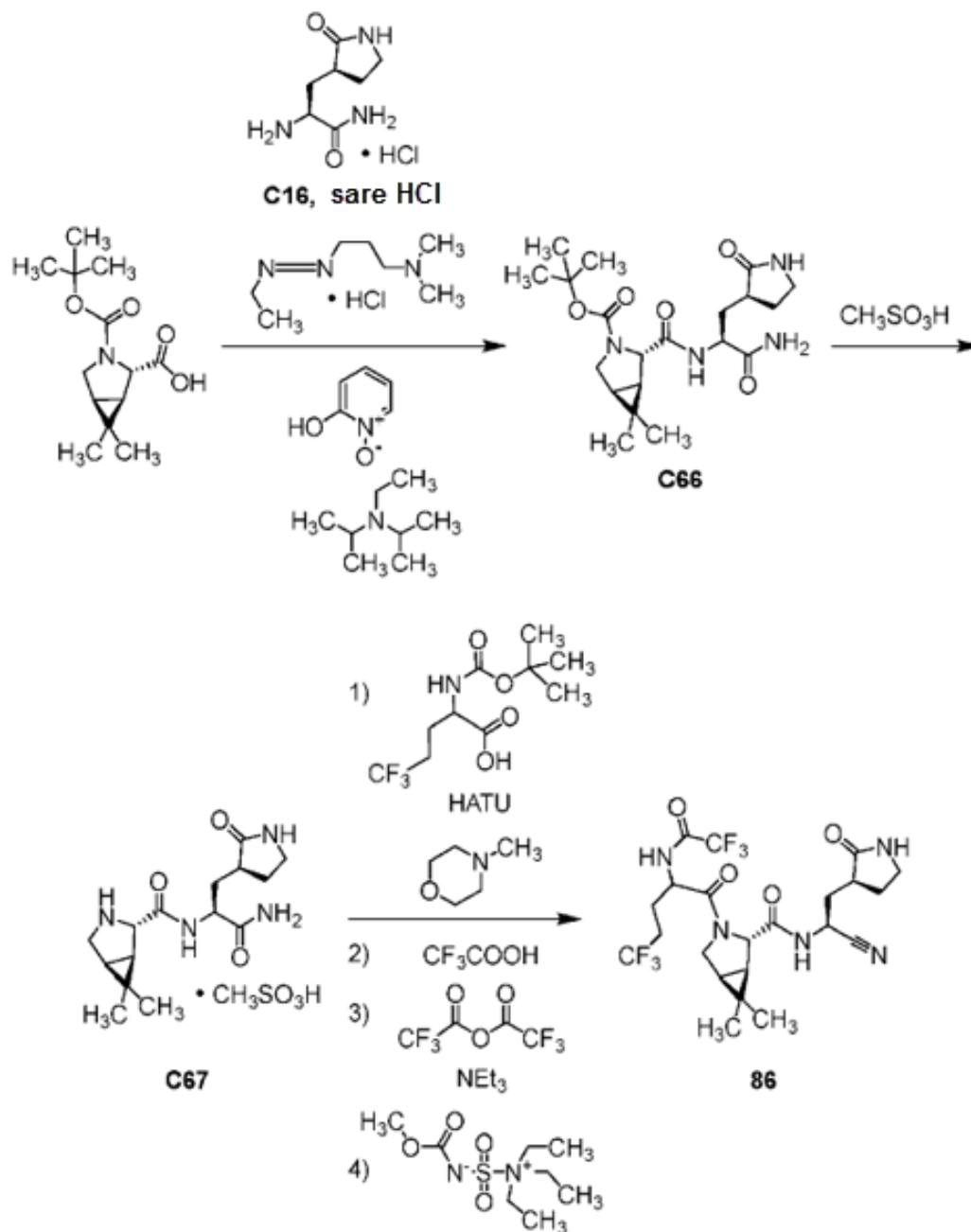
Randament pentru **81**: 0,122 mg, 0,237 μ mol, 12%. A fost determinat că acest material există sub forma unui amestec de intertransformare de stereoisomeri în jurul fragmentului carbinolamină al pirolidonei, și a fost eluat ca un vârf dublu pe HPLC. MS de înaltă rezoluție m/z 516,2413 $[M+H]^+$; calculat pentru $C_{23}H_{33}F_3N_5O_5$, 516,2434. 1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ 9,44 - 9,34 (m, 1H), [8,99 (d, J = 8,5 Hz) și 8,92 (d, J = 7,6 Hz), 1H total], [8,37 (s) și 8,25 (s), 1H total], [5,83 (br s) și 5,70 (br s), 1H total], 5,05 - 4,91 (m, 2H), 4,44 - 4,37 (m, 1H), [4,19 (s) și 4,15 (s), 1H total], 3,91 (dd, J = 10,3, 5,5 Hz, 1H), [3,69 (d, J = 10,1 Hz) și 3,68 (d, J = 10,3 Hz), 1H total], [2,65 - 2,57 (m), 2,43 - 2,30 (m), și 2,17 (ddd, J = 14,9, 10,7, 4,7 Hz), 2H total], [2,08 (ddd, J = 14,1, 8,5, 6,2 Hz), 2,01 - 1,90 (m), și 1,83 (ddd, J = 13,7, 10,1, 5,7 Hz), 2H total], [1,78 - 1,70 (m) și 1,51 - 1,44 (m), 1H total], 1,60 - 1,53 (m, 1H), [1,32 (d, J = 7,6 Hz) și 1,29 (d, J = 7,6 Hz), 1H total], 1,03 (s, 3H), [0,99 (s) și 0,98 (s), 9H total], [0,85 (s) și 0,84 (s), 3H total]. Timp de retenție: 7,7 minute (Condiții analitice.

Coloană: Phenomenex Kinetex XB-C18, 2,1 × 100 mm, 2,6 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,1% acid formic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 5 % B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 5% până la 70% B pe parcursul a 10,5 minute, apoi 70% până la 95% B pe parcursul a 2 minute; Debit: 0,4 ml/minut).

Randament pentru **85**: 0,104 mg, 0,203 μmoli, 10%. MS de înaltă rezoluție m/z 514,2259 $[M+H]^+$; calculat pentru $C_{23}H_{31}F_3N_5O_5$, 514,2277. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,4$ Hz, 1H), 3,00 - 2,93 (m, 1H), 2,60 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 18,0, 5,9$ Hz, 1H), 2,46 (dd, componentă a sistemului 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,95 (s, 9H), 0,86 (s, 3H). Timp de retenție: 8,3 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru **81**).

Exemplul 86 (doar pentru referință)

(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[5,5,5-trifluor-2-(2,2,2-trifluoracetamido)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (86)



Etapa 1. Sinteza (1R,2S,5S)-2-((2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il)carbamoil)- 6,6-dimetil-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-3-carboxilatului de *terț*-butil (C66).

La o suspensie de acid (1R,2S,5S)-3-(*terț*-butoxicarbonil)-6,6-dimetil-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (5,25 g, 20,6 mmoli), **C16, sare HCl** (4,70 g, 22,6 mmoli) și 2-hidroxipiridină 1-oxid (571 mg, 5,14 mmoli) în butan-2-onă (108 mL) la 0 °C, a fost adăugată *N,N*-diizopropiletilamină (7,97 g, 61,7 mmoli) urmată de clorhidrat de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimidă (4,73 g, 24,7 mmoli). După ce amestecul de reacție

a fost agitat la 0 °C timp de 20 de minute, a fost lăsat să se încălzească treptat la temperatura camerei și apoi a fost agitat la temperatura camerei peste noapte, după care analiza LCMS a indicat prezența **C66**: LCMS m/z 407,1 [M-H]⁻. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de etil (100 ml) și a fost spălat succesiv cu următoarele: un amestec de apă (50 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (20 ml), soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (70 ml), de două ori cu un amestec de acid clorhidric (1 M; 50 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (20 mL) și, în final, cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (70 mL). Fiecare strat apos a fost extras cu acetat de etil (100 ml), și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și au fost filtrate. Sulfatul de sodiu colectat a fost spălat cu acetat de etil (2 x 50 mL), și filtratele combinate au fost concentrate *in vid*, au fost diluate cu heptan (50 ml) și au fost concentrate la presiune redusă pentru a se obține **C66** sub forma unei sticle incoloră (6,69 g). La analiza ¹H RMN, au fost prezenți unii solvenți; puritatea a fost estimată la aproximativ 85% în greutate. Analiza ¹H RMN a indicat, de asemenea, că acest material există sub forma unui amestec de rotameri. Randament, ajustat pentru prezența solvenților: 5,7 g, 14 mmoli, 68%. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), vârfuri caracteristice: δ 8,23 - 8,13 (m, 1H), [7,63 (br s) și 7,59 (br s), 1H total], [7,36 (br s) și 7,23 (br s), 1H total], 7,08 - 7,00 (m, 1H), 4,31 - 4,19 (m, 1H), [4,03 (s) și 3,99 (s), 1H total], [3,58 (dd, *J* = 10,8, 4,6 Hz) și 3,49 (dd, *J* = 10,8, 3,9 Hz), 1H total], [3,27 (d, *J* = 10,9 Hz) și 3,26 (d, *J* = 10,7 Hz), 1H total], 3,22 - 3,00 (m, 2H), 2,38 - 2,09 (m, 2H), 1,79 - 1,43 (m, 2H), [1,36 (s) și 1,29 (s), 9H total], 1,00 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Etapă 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, sare metansulfonat (C67**).**

Acid metansulfonic (0,920 mL, 14,2 mmoli) a fost adăugat la o soluție de **C66** (aproximativ 85% în greutate, din etapa anterioară; 6,68 g, 14 mmoli) în 1,1,1,3,3,3-hexafluorpropan-2-ol (30 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 ore, după care a fost concentrat *in vid*. Reziduul a fost preluat succesiv în următoarele sisteme de solvenți, urmată de concentrare din nou: acetonitril/acetat de etil (1:1, 2 x 10 mL) și acetat de etil/heptan (1:1, 2 x 10 mL), pentru a se obține **C67** sub forma unei sticle (7,18 g). O parte din acest material a fost trecută la etapa următoare. LCMS m/z 309,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (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).

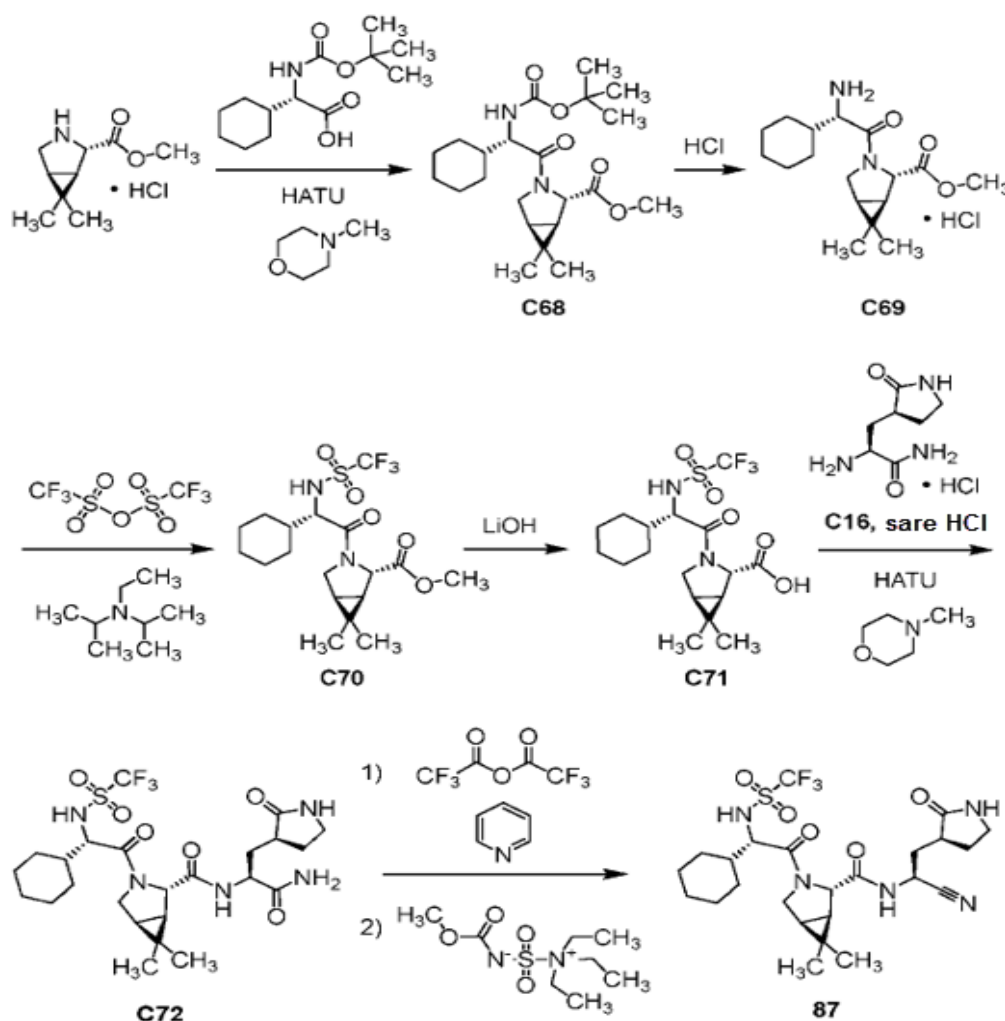
Etapa 3. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[5,5,5-trifluor-2-(2,2,2-trifluoracetamido)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (86).

La o soluție de acid 2-[(*terț*-butoxicarbonil)amino]-5,5,5-trifluorpentanoic (59,0 mg, 0,218 mmoli) într-un amestec de acetonitril (0,60 mL) și *N,N*-dimetilformamidă (0,40 mL) a fost adăugat hexafluorfosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 82,7 mg, 0,218 mmoli) urmat de 4-metilmorfolină (54,4 μ L, 0,495 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat timp de 20 de minute, **C67** (din etapa anterioară; 100 mg, $\leq$ 0,19 mmoli) a fost adăugat sub forma unui solid. Amestecul de reacție a fost lăsat să se agite timp de 1,5 ore, după care a fost împărțit între acetat de etil și soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate folosind un curent de azot. Reziduul a fost dizolvat în diclormetan (0,70 mL), a fost tratat cu acid trifluoracetic (0,175 mL) și a fost agitat la temperatura camerei. După 2 ore, a fost adăugat din nou acid trifluoracetic (0,10 mL); agitarea a fost continuată timp de încă 3 ore, după care amestecul de reacție a fost concentrat într-un curent de azot și apoi *in vid*. Acest material a fost dizolvat în diclormetan (0,75 mL), a fost răcit într-o baie de gheață și a fost tratat cu trietilamină (54,8 μ L, 0,393 mmoli); a fost adăugată prin picurare anhidridă trifluoracetică (41,2 μ L, 0,292 mmoli), și amestecul de reacție a fost lăsat să se agite la 0°C timp de 3 ore. Materialele volatile au fost îndepărtate folosind un evaporator Genevac, iar reziduul a fost dizolvat în diclormetan (0,90 mL), a fost tratat cu *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 132 mg, 0,554 mmoli) și a fost agitat la temperatura camerei timp de 2,5 ore. Amestecul de reacție a fost apoi concentrat într-un curent de azot, a fost diluat cu acetat de etil și a fost spălat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate într-un curent de azot. Purificarea prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 $\times$ 100 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: 0,05% acid trifluoracetic în apă; Faza mobilă B: 0,05% acid trifluoracetic în acetonitril; Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 8,54 minute, urmat de 95% B pe parcursul a 1,46 minute; Debit: 25 mL/minut) a condus la obținerea de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[5,5,5-trifluor-2-(2,2,2-trifluoracetamido)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**86**). Randament: 14 mg, 26 μ moli, 14% în 2 etape. LCMS *m/z* 540,6 [M+H]⁺. Timp de retenție: 2,60 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis dC18, 4,6 $\times$ 50 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid

trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5,0% până la 95% B, liniar pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 87

(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil]-3-[(2S)-2-ciclohexil-2-[[trifluormetil)sulfonil]amino]acetyl]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (87)



Eta 1. Sinteza (1R,2S,5S)-3-[(2S)-2-[(*terț*-butoxicarbonil)amino]-2-ciclohexilacetyl]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C68).

La o soluție de (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de metil, sare clorhidrat (300 mg, 1,46 mmoli) și acid (2S)-[(*terț*-butoxicarbonil)amino](ciclohexil) acetic (394 mg, 1,53 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (5 ml) a fost adăugat hexafluorofosfat de *O*-

(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 610 mg, 1,60 mmoli), urmat de adăugare prin picurare de 4-metilmorfolină (443 mg, 4,38 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 10 minute, apoi la temperatura camerei (20 °C) timp de 2 ore, după care a fost turnat în apă cu gheață (30 ml) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 40 ml). Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu apă (40 mL), acid clorhidric (1 M; 40 mL), soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (40 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, apoi au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține **C68** sub forma unei spume albe. Randament: 580 mg, 1,42 mmoli, 97%. LCMS *m/z* 409,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (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).

Etapă 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-amino-2-ciclohexilacetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil, sare clorhidrat. (C69).

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 15 mL) a fost adăugată prin picurare la o soluție de **C68** (580 mg, 1,42 mmoli) în 1,4-dioxan (3 mL) la 5 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (20 °C) timp de 1,5 ore, a fost concentrat *in vid*. Reziduul a fost co-evaporat cu diclormetan pentru a se obține **C69** sub forma unei spume galben-deschis (490 mg), din care o mare parte a fost utilizată în experimentul următor. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,22 (br s, 3H), 4,26 (s, 1H), 3,99 - 3,90 (m, 1H), 3,76 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,7, 5,1 Hz, 1H), 3,71 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,27 - 1,02 (m, 5H), 1,03 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).

Etapă 3. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-ciclohexil-2-[(trifluormetil)sulfonil]amino]acetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de metil (C70).

La o soluție de **C69** (din etapa anterioară; 480 mg, ≤1,39 mmoli) în diclormetan (10 ml) a fost adăugată *N,N*-diizopropiletilamină (630 mg, 4,87 mmoli), urmată de adăugare prin picurare de anhidridă trifluormetansulfonică (0,328 mL, 1,95 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la -10 °C timp de 1 oră, apoi la temperatura camerei (20 °C) timp de 1 oră, după care a fost diluat cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (50 mL) și a fost extras cu diclormetan (3 x 30 mL). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Eluent: acetat de etil/eter de petrol 1:4), obținându-se **C70** sub forma unui ulei galben-deschis. Randament: 124 mg, 0,282 mmoli, 20% în 2 etape. LCMS *m/z* 441,1 [L+H]⁺.

Etapa 4. Sinteza acidului (1R,2S,5S)-3-[(2S)-2-ciclohexil-2-[[trifluormetil]sulfonil]amino]acetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (C71).

La o soluție de **C70** (120 mg, 0,272 mmoli) într-un amestec de apă (2 mL), metanol (2 mL) și tetrahidrofuran (2 mL) a fost adăugat hidroxid de litiu monohidrat (28,6 mg, 0,682 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (20 °C) timp de 18 ore, la temperatura camerei, LCMS a indicat că reacția a fost completă: LCMS m/z 427,2 [M+H]⁺. Amestecul de reacție a fost concentrat *in vid* pentru a elimina solvenții organici. Reziduul a fost diluat cu apă (5 ml) și apoi a fost acidificat la un pH de 2 până la 3 prin adăugare de acid clorhidric 1 M; amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (2 x 30 mL). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*, pentru a se obține **C71** sub forma unui solid galben-deschis. Randament: 92,0 mg, 0,216 mmoli, 79%.

Etapa 5. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]-3-[(2S)-2-ciclohexil-2-[[trifluormetil]sulfonil]amino]acetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C72).

La o soluție de **C71** (92,0 mg, 0,216 mmoli) și **C16, sare HCl** (72%, 68,8 mg, 0,238 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 mL) la 0 °C a fost adăugat hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 98,4 mg, 0,259 mmoli), urmat de 4-metilmorfolină (76,4 mg, 0,755 mmoli). Amestecul de reacție a fost apoi agitat la 20 °C timp de 2 ore, după care a fost turnat în apă cu gheață (10 ml) și a fost extras cu un amestec de cloroform și 2-propanol (4:1, 4 x 20 ml). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan), obținându-se **C72** sub forma unei sticle incoloră. Randament: 100 mg, 0,173 mmoli, 80%. LCMS m/z 580,2 [M+H]⁺.

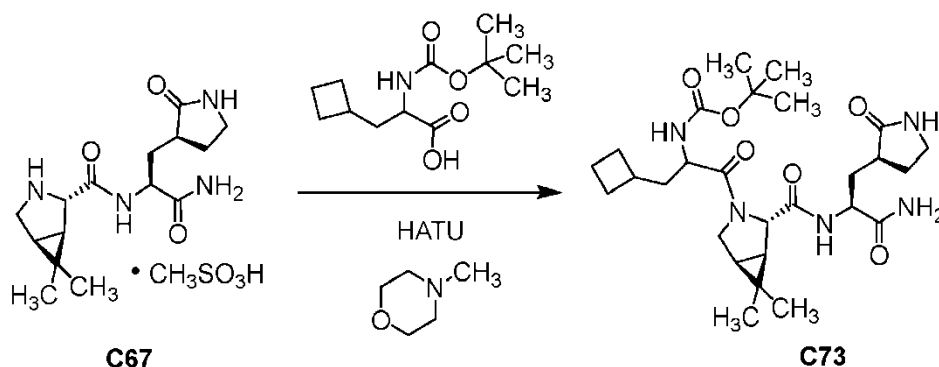
Etapa 6. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-[(2S)-2-ciclohexil-2-[[trifluormetil]sulfonil]amino]acetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (87).

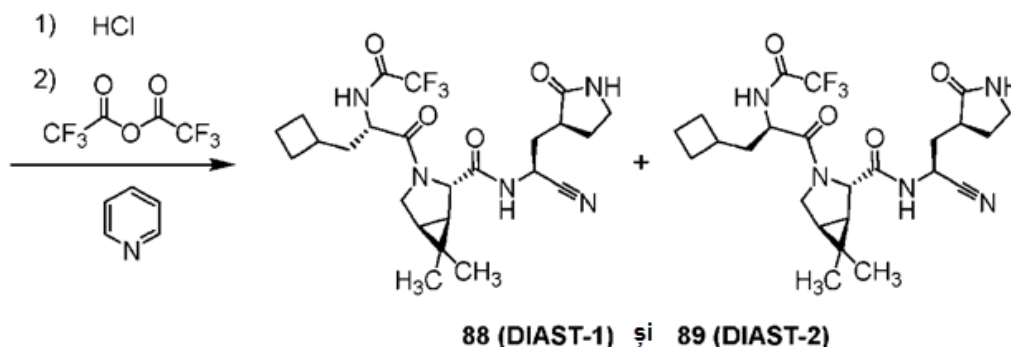
O soluție de anhidridă trifluoracetică (47,1 mg, 0,224 mmoli) în diclormetan (1 mL) a fost adăugată prin picurare la o soluție de **C72** (100 mg, 0,173 mmoli) și piridină (41,7 μL, 0,516 mmoli) în diclormetan (3 mL) la 0 °C. După ce amestecul a fost agitat timp de 20 de ore la temperatura camerei (10 °C până la 20 °C), a fost concentrat *in vid* și a fost dizolvat din nou în diclormetan (3 mL). A fost adăugat *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 103 mg, 0,432 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (20 °C) timp de 20 ore. Apoi a fost diluat cu soluție apoasă saturată de clorură de

sodiu (10 ml) și a fost extras cu diclormetan (3 x 20 ml); straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost supuse cromatografiei de fluid supercritic [Coloană: Chiral Technologies Chiralcel OD, 30 × 250 mm, 10 μm; Faza mobilă: 4:1 dioxid de carbon / (etanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 60 ml/minut]. Frațiuni care conțin **87** au fost concentrate *in vid* la temperatură sub 40 °C pentru a elimina cosolventul alcoolic. Reziduul a fost diluat cu acetat de etil (50 mL) și diclormetan (5 mL) și a fost spălat succesiv cu acid clorhidric (1 M; 20 mL), soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (20 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu. Stratul organic rezultat a fost uscat pe sulfat de sodiu, a fost filtrat și concentrat *in vid* înainte de a fi amestecat cu apă (20 ml) și acetonitril (5 ml); acest amestec a fost liofilizat pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-[(2*S*)-2-ciclohexil-2-[[trifluormetil)sulfonil]amino]acetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**87**) sub forma unui solid alb. Randament: 27,6 mg, 49,1 μmoli, 28%. LCMS *m/z* 562,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Exemplele 88 și 89 (doar pentru referință)

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-[3-ciclobutil-*N*-(trifluoracetil)-L-alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă și
(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-[3-ciclobutil-*N*-(trifluoracetil)-D-alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**88** și **89**)





Etapa 1. Sinteza {1-[(1R,2S,5S)-2-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]propan-2-il]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3-ciclobutil-1-oxopropan-2-il}carbamatului de *terț*-butil (C73).

O soluție de **C67** (150 mg, 0,371 mmoli) și *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-ciclobutillalanină (99,2 mg, 0,408 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 ml) la 0 °C a fost tratată cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 169 mg, 0,444 mmoli). A fost adăugată apoi 4-metilmorfolină (131 mg, 1,30 mmoli) prin picurare, după care amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 25°C și a fost agitat peste noapte. A fost adăugată apă cu gheață (10 mL), și amestecul rezultat a fost extras cu un amestec de cloroform și 2-propanol (4:1, 4 x 20 mL); straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a fost efectuată de două ori, obținându-se **C73** sub forma unui solid alb, care a cuprins un amestec de doi diastereomeri. Randament: 106 mg, 0,199 mmoli, 54%. LCMS *m/z* 534,2 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, cloroform-*d*) δ [8,59 (d, *J* = 5,5 Hz) și 7,85 (d, *J* = 7,7 Hz), 1H total], 7,20 - 7,06 (m, 1H), [5,78 (br s) și 5,67 (br s), 1H total], [5,51 (br s) și 5,40 (br s), 1H total], 5,22 - 5,12 (m, 1H), [4,49 - 4,39 (m) și 4,38 - 4,23 (m), 3H total], 4,17 - 4,06 (m, 1H), [3,83 (d, *J* = 10,4 Hz) și 3,50 (d, *J* = 10,5 Hz), 1H total], 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) și 1,39 (s), 9H total], [1,07 (s) și 1,03 (s), 3H total], [0,98 (s) și 0,92 (s), 3H total].

Etapa 2. Sinteza (1R,2S,5S)-*N*-{[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil]-3-[3-ciclobutil-*N*-(trifluoracetil)-L-alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidi și a (1R,2S,5S)-*N*-{[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil]-3-[3-ciclobutil-*N*-(trifluoracetil)-D-alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidi [88 (DIAST-1) și 89 (DIAST-2)].

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 5 mL, 20 mmoli) a fost adăugată prin picurare la o soluție de **C73** (106 mg, 0,199 mmoli) în diclormetan (5 mL) la 0 °C. Amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 15 minute și apoi la 25 °C timp de 2 ore, după care a fost concentrat *in vid* pentru a se obține materialul deprotejat sub forma unui solid alb: LCMS *m/z* 434,2 [M+H]⁺. Acesta a fost dizolvat în diclormetan (3 mL), a fost răcit într-o baie de gheață și a fost tratat cu piridină (79,9 mg, 1,01 mmoli) și o soluție de anhidridă trifluoracetică (170 mg, 0,809 mmoli) în diclormetan (1,5 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la 20°C timp de 20 de ore; a fost adăugată apoi piridină (40,0 mg, 0,506 mmoli) și agitarea a fost continuată timp de încă 12 ore la 25°C. După diluarea cu diclormetan (15 mL), amestecul de reacție a fost spălat succesiv cu acid clorhidric (1 M; 10 mL), soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (3 x 10 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (10 mL), a fost uscat, filtrat și concentrat *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în diclormetan) a fost urmată de cromatografie de fluid supercritic [Coloană: Chiral Technologies Chiralpak IC, 30 x 250 mm, 10 μm; Faza mobilă: 3:1 dioxid de carbon / (metanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 70 mL/minut], obținându-se diastereomerii separați (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-ciclobutil-*N*-(trifluoracetil)-L-alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă și (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-ciclobutil-*N*-(trifluoracetil)-D-alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă. Acel material care conține configurația D-alanil și care conține configurația L-alanil nu a fost determinat; primul diastereomer care eluează a fost denumit **88**, iar al doilea diastereomer care eluează a fost denumit **89**. Ambele au fost obținute sub forma unor solide albe.

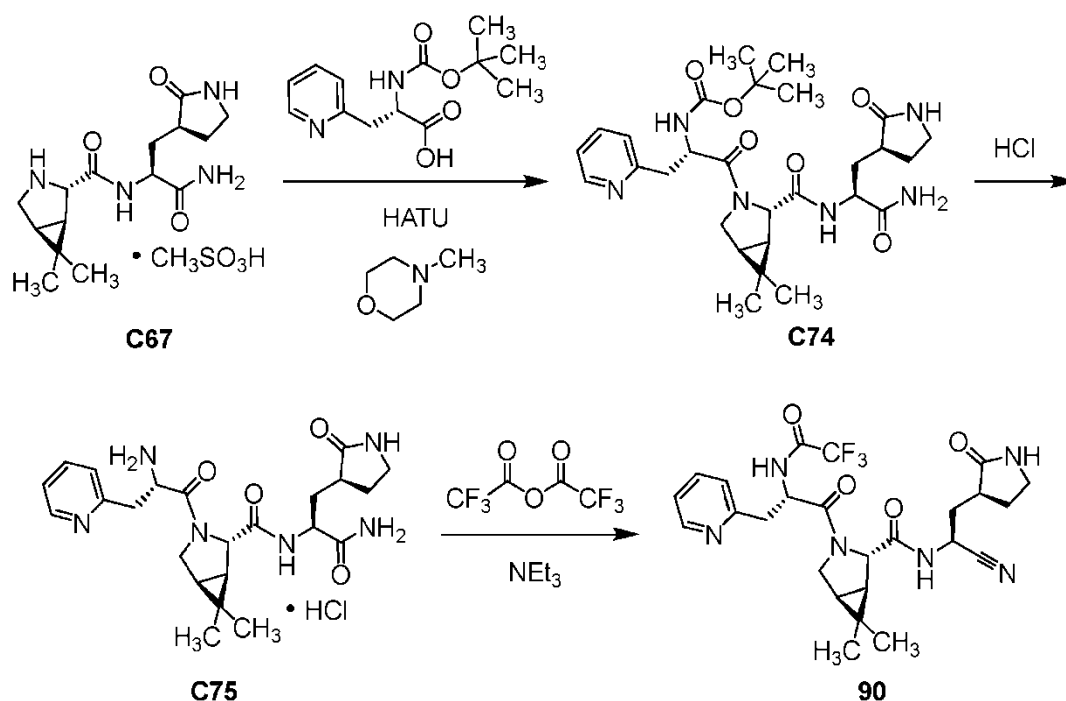
88 - Randament: 9,3 mg, 18,2 μmoli, 9% în 2 etape. LCMS *m/z* 512,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,75 (br d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 8,96 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 5,00 - 4,90 (m, 1H), 4,32 - 4,23 (m, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,82 (dd, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,2, 5,4 Hz, 1H), 3,69 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,88 (s, 3H). Timp de retenție: 2,78 minute (Condiții analitice. Coloana: Chiral Technologies Chiralpak IC-3, 4,6 × 150 mm, 3 μm; Faza mobilă A: dioxid de carbon; Faza mobilă B: metanol care conține 0,05% dietilamină (v/v); Gradient: 5% până la 40% B pe parcursul a 5 minute, apoi 40% B pe parcursul a 2,5 minute; Contrapresiune: 1500 psi; Debit: 2,5 mL/minut).

89 - Randament: 23 mg, 45,0 mmoli, 23% în 2 etape. Analiza ¹H RMN a indicat că acest material există sub forma unui amestec de rotameri. LCMS *m/z* 512,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (400

MHz, DMSO- d_6) δ [9,92 br (s) și 9,65 (br s), 1H total], [9,22 (d, $J = 7,7$ Hz) și 8,85 (d, $J = 8,4$ Hz), 1H total], [7,76 (s) și 7,67 (s), 1H total], [5,11 - 5,00 (m) și 4,98 - 4,87 (m), 1H total], [4,51 (s) și 4,07 (s), 1H total], [4,47 - 4,36 (m) și 4,09 - 4,00 (m), 1H total], [3,90 (dd, $J = 10,2$, 5,3 Hz) și 3,60 - 3,45 (m), 2H total], 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) și 1,32 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz), 2H total], [1,04 (s) și 1,02 (s), 3H total], [0,93 (s) și 0,82 (s), 3H total]. Timp de retenție: 4,14 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru 88).

Exemplul 90 (doar pentru referință)

(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-(piridin-2-il)-N-(trifluoracetil)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (90)



Etapa 1. Sinteza [(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]carbamoyl)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-1-oxo-3-(piridin-2-il)propan-2-il]carbamatului de *terț*-butil (C74).

La o soluție de **C67** (250 mg, 0,618 mmoli) și *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-piridin-2-il-L-alanină (198 mg, 0,744 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (2 ml) la 0 °C a fost adăugat hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 282 mg, 0,742 mmoli), urmat de adăugarea prin picurare a unei soluții de 4-metilmorfolină (188 mg, 1,86 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (1 ml). Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la 20°C și a fost agitat timp de 2 ore, după care a fost diluat cu apă (10 ml) și a fost extras cu acetat de etil (10 ml). A fost adăugat sulfat de sodiu solid la stratul apos până când a fost obținută

saturarea, după care stratul apos a fost extras cu un amestec de diclormetan și metanol (10:1, 3 x 20 mL). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan), obținându-se **C74** sub forma unei gume galbene. Randament: 250 mg, 0,449 mmoli, 73%. LCMS m/z 557,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, metanol- d_4), vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,34 (s, 9H), 1,08 (s, 3H), 1,00 (s, 3H).

Etapă 2. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]-6,6-dimetil-3-[3-(piridin-2-il)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, sare clorhidrat (C75).

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 6 mL) a fost adăugată la o soluție de **C74** (250 mg, 0,449 mmoli) în diclormetan (2 mL) la 0 °C, și amestecul de reacție a fost agitat timp de 5 ore la 20°C. Analiza LCMS a indicat transformarea în **C75**: LCMS m/z 457,1 $[M+H]^+$. Îndepărtarea solvenților *in vid* a condus la obținerea **C75** sub forma unui solid galben (250 mg); o parte din acest material a fost utilizată direct în etapa următoare. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,96 (s, 3H).

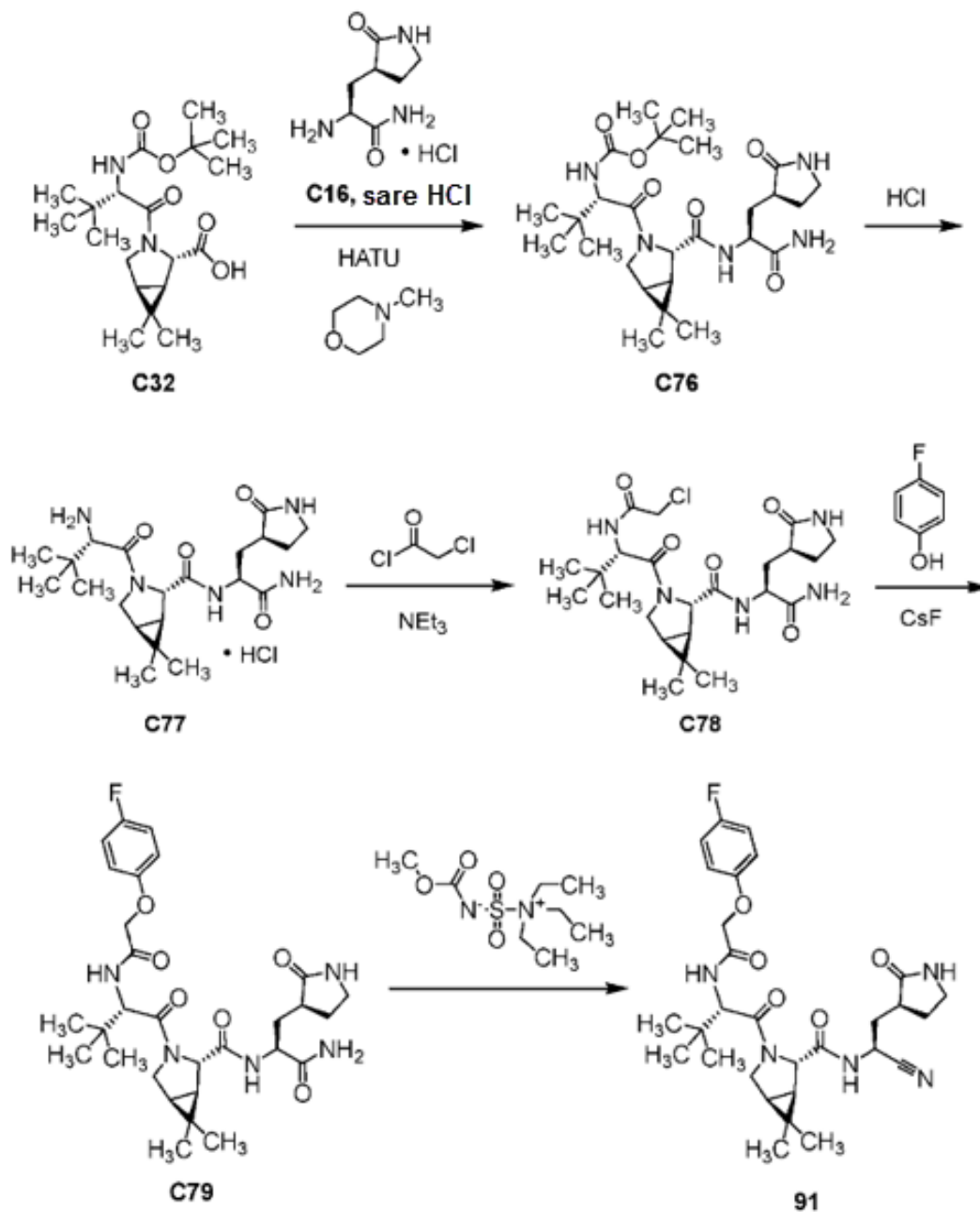
Etapă 3. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-(piridin-2-il)-N-(trifluoracetil)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (90).

La o soluție de **C75** (din etapa anterioară; 175 mg, $\leq 0,314$ mmoli) în diclormetan (6 mL) la 0 °C a fost adăugată piridină (197 mg, 2,49 mmoli), urmată de o soluție de anhidridă trifluoracetică (186 mg, 0,886 mmoli) în diclormetan (2 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 2 ore, acesta a fost diluat cu apă și a fost extras cu un amestec de diclormetan și metanol (10:1, 3 x 15 ml). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost supuse cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan), urmată de cromatografie de fluid supercritic [Coloană: Chiral

Technologies Chiralpak AS, 30 × 250 mm, 10 μm; Faza mobilă: 3:1 dioxid de carbon / (etanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 70 ml/minut], pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-(piridin-2-il)-*N*-(trifluoracetil)-*L*-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**90**) sub forma unui solid alb. Randament: 25 mg, 46,8 μmoli, 15% în 2 etape. LCMS *m/z* 535,1 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,3, 5,4 Hz, 1H), 3,70 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Exemplul 91 (doar pentru referință)

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-{*N*-[(4-fluorfenoxi)acetil]-3-metil-*L*-valil}-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (91)



Etapa 1. Sinteza {(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamatului de *terț*-butil (C76).

O soluție de **C32** (15,4 g, 41,8 mmoli) și **C16, sare HCl** (75%, 11,6 g, 41,9 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (380 ml) a fost răcită la -5 °C până la 0 °C. La aceasta au fost adăugate hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 18,3 g, 48,1 mmoli) și 4-metilmorfolină (12,7 g, 126 mmoli) la -5 °C până la 0 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 1,5 ore, acesta a fost turnat în apă cu gheață (400 ml) și amestecul rezultat a fost extras cu acetat de etil (3 x 200 ml). Straturile

organice combinate au fost spălate succesiv cu soluție apoasă de acid citric (1 M; 120 mL), soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (120 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (3 x 60 mL), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vacuo*, și au fost combinate cu produsul brut dintr-o reacție similară efectuată folosind **C32** (1,08 g, 2,93 mmoli). Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a condus la obținerea **C76** sub forma unui solid alb (9,80 g). Straturile apoase combinate au fost extrase cu un amestec de cloroform și 2-propanol (4:1, 3 x 100 mL); concentrarea acestor extracte combinate a fost urmată de cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) pentru a se obține **C76** suplimentar sub forma unui solid alb (2,3 g). Randament combinat: 12,1 g, 23,2 mmoli, 52%. LCMS m/z 522,5 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,2, 4,0$ Hz, 1H), 3,99 (d, jumătate din cvartetul 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, presupus; în mare măsură ascuns de către vârful de apă și de semnalul terț-butil), 1,39 (s, 9H), 1,02 (s, 3H), 1,01 (s, 9H), 0,88 (s, 3H).

Etapă 2. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]propan-2-il]-6,6-dimetil-3-(3-metil-L-valil)-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, sare clorhidrat (C77).

La o soluție de **C76** (12,1 g, 23,2 mmoli) în diclormetan (50 mL) la 0 °C a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 250 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 20°C timp de 2 ore, acesta a fost filtrat. Turta de filtrare a fost agitată cu metil terț-butil eter (250 ml) timp de 18 ore; filtrarea a condus la obținerea **C77** sub forma unui solid galben-deschis/alb (10,89 g). LCMS m/z 422,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 1,02 (s, 9H), 0,97 (s, 3H).

Etapă 3. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]propan-2-il]-3-[N-(cloracetil)-3-metil-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C78).

Trietilamină (2,21 g, 21,8 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C77** (din etapa anterioară; 2,50 g, $\leq 5,33$ mmoli) în diclormetan (100 mL) la 0 °C. O soluție de clorură de cloracetil (1,23 g, 10,9 mmoli) în diclormetan (9 ml) a fost adăugată prin picurare la amestecul de reacție, și agitarea a fost continuată la 0°C timp de 1 oră. A fost adăugată apoi apă (50 mL), și amestecul rezultat a fost extras cu un amestec de cloroform și 2-propanol (4:1, 3 x 50 mL); straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (50 ml), au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Purificarea prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a condus la obținerea de **C78** sub forma unui solid alb. Randament: 1,21 g, 2,43 mmoli, 46% în 2 etape. LCMS m/z 498,1 (a fost observat model de izotop de clor) $[M+H]^+$. 1H RMN (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 (Cvartet AB, $J_{AB} = 12,4$ Hz, $\Delta\nu_{AB} = 14,3$ Hz, 2H), 3,86 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 10,2, 5,4$ Hz, 1H), 3,72 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,84 (s, 3H).

Etapă 4. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]-3-{N-[(4-fluorfenoxi)acetil]-3-metil-L-valil}-6,6-dimetil-3-azabaciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C79**).**

4-Fluorfenol (49,5 mg, 0,442 mmoli) a fost adăugat la un amestec de fluorură de cesiu (67,1 mg, 0,442 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (3 ml), și amestecul a fost agitat la 65 °C timp de 1 oră, după care a fost adăugat **C78** (110,0 mg, 0,221 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la 65°C timp de 8 ore. Apoi a fost combinat cu o reacție similară efectuată folosind **C78** (30 mg, 60 μ moli), a fost turnat în apă (10 ml) și a fost extras cu acetat de etil (3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu apă (20 mL), acid clorhidric (1 M; 10 mL), soluție apoasă saturată de carbonat de sodiu (10 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) a condus la obținerea de **C79** sub forma unei sticle albe. Randament combinat: 100 mg, 0,174 mmoli, 62%. LCMS m/z 574,2 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului 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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,3, 5,3$ Hz, 1H), 3,93 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,3$ Hz, 1H),

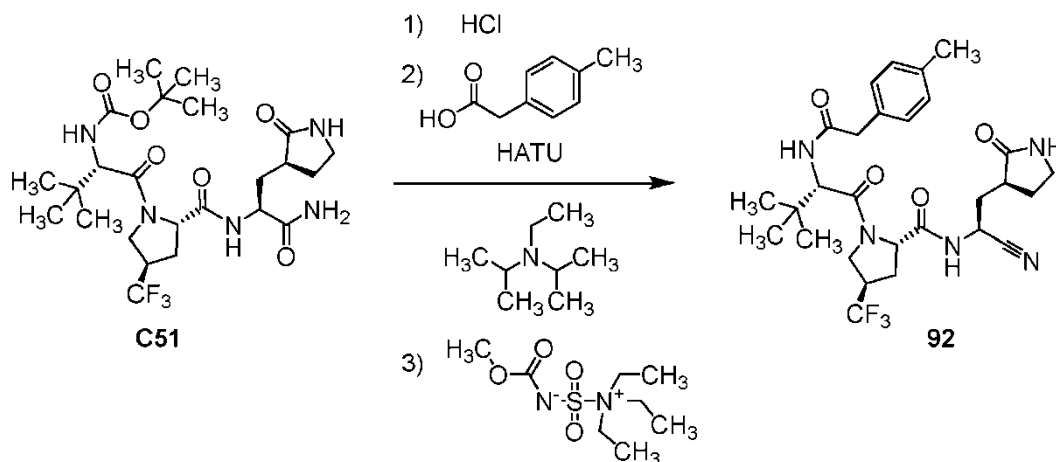
3,41 - 3,32 (m, 2H), 2,55 - 2,34 (m, 2H), 2,14 - 2,05 (m, 1H), 2,03 - 1,80 (m, 3H), 1,03 (s, 3H), 1,00 (s, 9H), 0,86 (s, 3H).

Etapa 5. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-{N-[(4-fluorfenoxi)acetil]-3-metil-L-valil}-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (91).

O soluție de N-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 125 mg, 0,524 mmoli) în diclormetan (2 ml) a fost adăugată prin picurare la o soluție de **C79** (100 mg, 0,174 mmoli) în diclormetan (4 mL) la 10 °C (temperatura camerei). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 10 °C timp de 16 ore, acesta a fost diluat cu apă (10 ml) și a fost extras cu diclormetan (3 x 10 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 10 ml) și au fost concentrate *in vid*; cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan), urmată de cromatografie de fluid supercritic [Coloană: Chiral Technologies Chiralcel OD, 30 × 250 mm, 10 μm; Faza mobilă: 4:1 dioxid de carbon / (etanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 60 ml/minut], a condus la obținerea de (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-{N-[(4-fluorfenoxi)acetil]-3-metil-L-valil}-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**91**) sub forma unui solid alb. Randament: 55 mg, 99,0 μmoli, 57%. LCMS *m/z* 556,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, componentă a sistemului ABX, *J* = 10,4, 5,5 Hz, 1H), 3,73 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,19 - 3,09 (m, 1H), 3,09 - 2,99 (m, 1H), 2,47 - 2,36 (m, 1H, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,75 (s, 3H).

Exemplul 92 (doar pentru referință)

3-Metil-N-[(4-metilfenil)acetil]-L-valil-(4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă (92)

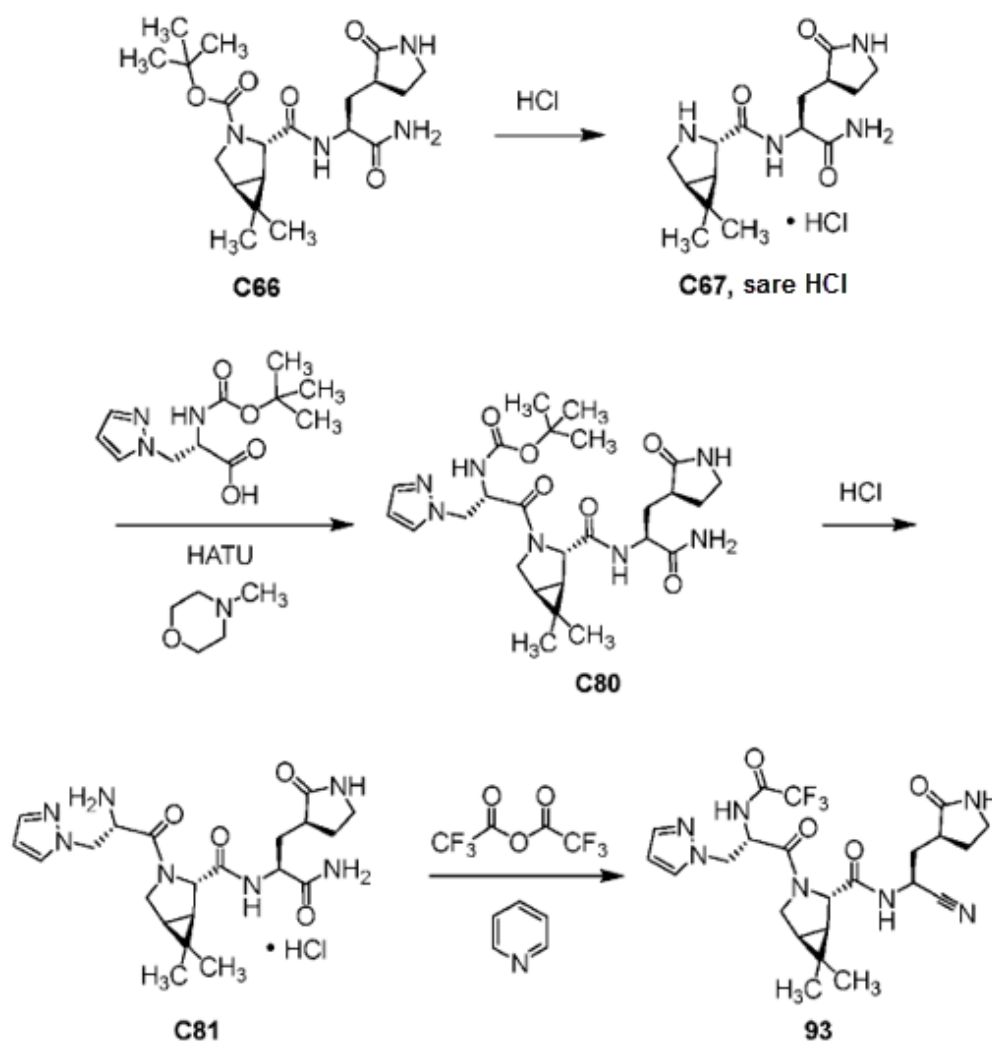


Un amestec de **C51** (68,0 mg, 0,12 mmoli) și o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 1 mL, 4 mmoli) a fost agitată la temperatura camerei timp de 5 minute, după care amestecul de reacție a fost concentrat *in vid* pentru a elimina solventul, apoi a fost evacuat în continuare folosind vid înalt pentru a elimina acid clorhidric rezidual. La reziduu a fost adăugat acid (4-metilfenil)acetic (18,6 mg, 0,124 mmoli); amestecul rezultat a fost dizolvat în *N,N*-dimetilformamidă (1,0 mL) și a fost răcit la -30 °C. După adăugare de *N,N*-diizopropiletilamină (64,7 μL, 0,371 mmoli), urmată de hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 61,2 mg, 0,161 mmoli), amestecul de reacție a fost încălzit la temperatura camerei timp de 1 oră și ulterior fost tratat cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu. Amestecul a fost extras de 5 ori cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost concentrate la presiune redusă. Reziduu a fost apoi dizolvat în diclormetan (1 mL), a fost tratat cu *N*-(triethylamoniosulfonil)carbamate de metil, sare internă (reactiv Burgess; 88,5 mg, 0,371 mmoli), și a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, după care amestecul de reacție a fost tratat cu soluție apoasă diluată de carbonat de sodiu și a fost extras de două ori cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost purificate prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters XBridge C18, 19 x 100 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă; Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 20% până la 60% B pe parcursul a 8,5 minute, apoi 60% până la 95% B pe parcursul a 0,5 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 25 mL/minut) pentru a se obține 3-metil-*N*-[(4-metilfenil)acetil]-*L*-valil-(4*R*)-*N*-{[(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-(trifluormetil)-*L*-prolinamidă (**92**). Randament: 20,7 mg, 36,7 μmoli, 31%. LCMS *m/z* 564,8 [M+H]⁺. Timp de retenție: 2,71 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid

trifluoracetic (v/v); Gradient: 5,0% până la 95% B, liniar pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 93 (doar pentru referință)

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-(1*H*-pirazol-1-il)-*N*-(trifluoracetil)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (93)



Etapă 1. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, sare clorhidrat (C67, sare HCl**).**

La o soluție de **C66** (9,97 g, 24,4 mmoli) în diclormetan (50 mL) a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 90 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (25 °C) timp de 2 ore, după care analiza LCMS a indicat transformarea în **C67**: LCMS m/z 309,0 $[M+H]^+$. Concentrarea *in vid* a condus la obținerea de **C67, sare HCl** sub forma unui solid alb. Randament: 8,10 g, 23,5 mmoli, 96%. ^1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 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).

Etapa 2. Sinteza [(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]carbamoi]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-1-oxo-3-(1H-pirazol-1-il)propan-2-il]carbamatului de *terț*-butil (C80).

O soluție de **C67**, sare HCl (300 mg, 0,870 mmoli) și *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-(1*H*-pirazol-1-il)-L-alanină (222 mg, 0,870 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (10 ml) la 0 °C a fost tratată cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 430 mg, 1,13 mmoli) și 4-metilmorfolină (264 mg, 2,61 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 2 ore, acesta a fost diluat cu apă (50 ml) și a fost extras cu acetat de etil (20 ml). Stratul apos a fost apoi saturat prin adăugare de sulfat de sodiu solid și a fost extras cu un amestec de diclormetan și metanol (10:1, 4 x 30 ml). Straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost supuse cromatografiei pe silicagel de două ori (Gradient #1: 0% până la 10% metanol în diclormetan; Gradient #2: 0% până la 25% metanol în diclormetan), obținându-se **C80** sub forma unui solid galben-cantar. Randament: 340 mg, 0,623 mmoli, 72%. LCMS m/z 546,1 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul AB, J = 10,5 Hz, 1H), 3,65 (dd, componentă a sistemului 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, jumătate din cvartetul AB, J = 7,6 Hz, 1H), 1,30 (s, 9H), 1,01 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Etapa 3. Sinteza (1R,2S,5S)-*N*-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]-6,6-dimetil-3-[3-(1H-pirazol-1-il)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, sare clorhidrat (C81).

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 15 mL) a fost adăugată la o soluție de **C80** (340 mg, 0,623 mmoli) în diclormetan (4 mL) la 0 °C. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 20 °C timp de 1 oră, a fost filtrat, și turta de filtrare a fost spălată cu diclormetan (3 x 10 ml). Filtratele combinate au fost concentrate *in vid* pentru a se obține **C81** sub forma unui solid alb. Randament: 244 mg, 0,506 mmoli, 81%. LCMS m/z 446,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfuri caracteristice: δ 8,57 - 8,48 (m, 3H), 8,42 (br d, J = 8,6 Hz,

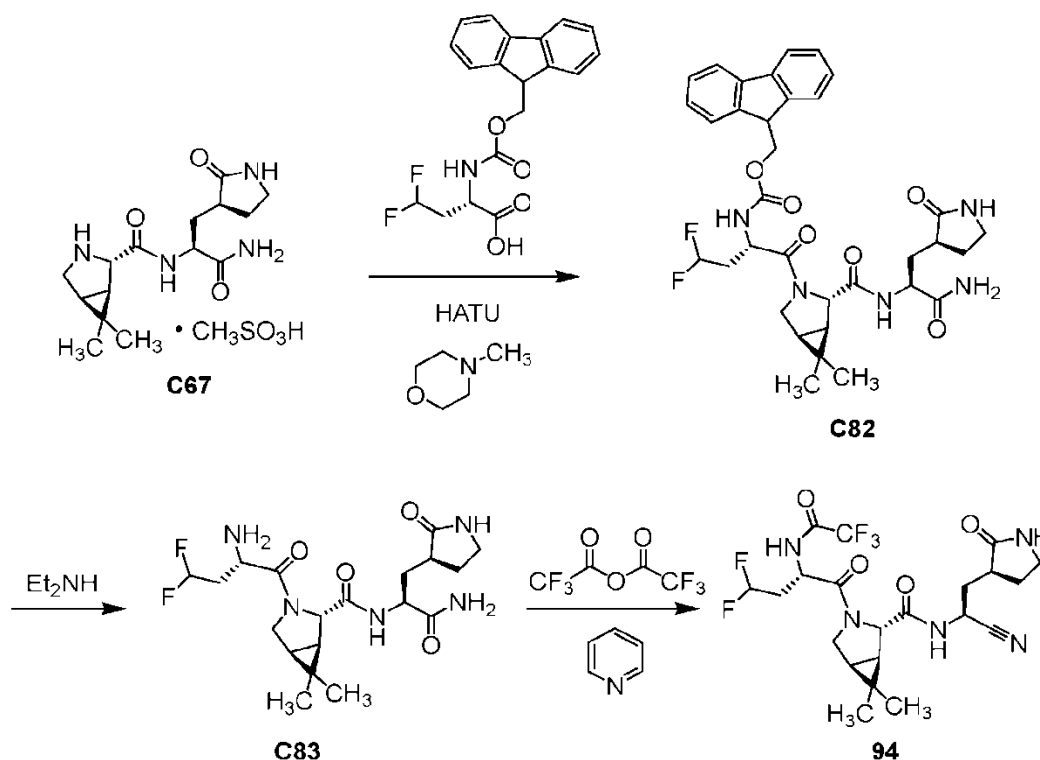
1H), 7,81 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 7,65 (br s, 1H), 7,58 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 7,35 (br s, 1H), 7,09 (br s, 1H), 6,27 (dd, $J = 2, 2$ Hz, 1H), 4,59 (dd, componentă a sistemului ABX, $J = 14,4, 4,7$ Hz, 1H), 4,54 - 4,41 (m, 2H), 4,36 - 4,25 (m, 1H), 4,30 (s, 1H), 3,66 - 3,60 (m, 1H), 3,42 - 3,33 (m, 1H), 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, componentă a sistemului ABX, $J = 7,7, 5,3$ Hz, 1H), 1,41 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,01 (s, 3H), 0,92 (s, 3H).

Etapa 4. Sinteza (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-(1H-pirazol-1-il)-N-(trifluoracetil)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (93).

O soluție de **C81** (120 mg, 0,249 mmoli) în diclormetan (6,0 mL) la 0 °C a fost tratată cu piridină (170 mg, 2,15 mmoli), urmată de adăugarea unei soluții de anhidridă trifluoracetică (158 mg, 0,752 mmoli) în diclormetan (2,0 mL). Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la 20°C și a fost lăsat să se agite timp de 3 ore, după care a fost diluat cu apă (20 ml) și a fost extras cu diclormetan (3 x 20 ml). Straturile organice combinate au fost spălate cu acid clorhidric (1 M; 20 mL) și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (2 x 20 mL), au fost uscate, filtrate și concentrate *in vacuo*. Cromatografia pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan), urmată de cromatografie de fluid supercritic [Coloană: Chiral Technologies Chiralpak AD, 30 × 250 mm, 10 μm; Faza mobilă: 4:1 dioxid de carbon / (etanol care conține 0,1% hidroxid de amoniu); Debit: 60 ml/minut], a condus la obținerea de (1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-(1 H-pirazol-1-il)-N-(trifluoracetil)-L-alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**93**) sub forma unui solid alb. Randament: 15,0 mg, 28,6 μmoli, 11%. LCMS m/z 524,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,4, 5,4$ Hz, 1H), 3,60 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,85 (s, 3H).

Exemplul 94 (doar pentru referință)

(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-[(2S)-4,4-difluor-2-(2,2,2-trifluoracetamido)butanoil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (94)



Etapa 1. Sinteza {(2S)-1-[(1R,2S,5S)-2-[(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il]carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-4,4-difluor-1-oxobutan-2-il]carbamatului de 9H-fluoren-9-ilmetil (C82).

La o soluție de **C67** (230 mg, 0,569 mmoli) și acid (2S)-2-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}-4,4-difluorbutanoic (247 mg, 0,684 mmoli) în N,N-dimetilformamidă (5 ml) la 0 °C a fost adăugat hexafluorofosfat de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluroniu (HATU; 281 mg, 0,739 mmoli) într-o singură porție; a fost adăugată apoi 4-metilmorfolină (173 mg, 1,71 mmoli) prin picurare. După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 10 minute, a fost încălzit la temperatura camerei (20 °C), și agitarea a fost continuată timp de 2 ore, după care amestecul de reacție a fost turnat în apă cu gheață (15 ml) și a fost extras cu acetat de etil (2 x 15 ml). Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu acid clorhidric 1 M, soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 10% metanol în diclormetan) pentru a se obține **C82** sub forma unui solid alb. Randament: 245 mg, 0,376 mmoli, 66%. LCMS *m/z* 652,5 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,51 - 1,44 (m, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Etapă 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-3-[(2*S*)-2-amino-4,4-difluorbutanoil]-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (C83).

La o suspensie de **C82** (195 mg, 0,299 mmoli) în diclormetan (3 mL) la 0 °C a fost adăugată o soluție de dietilamină (32,8 mg, 0,448 mmoli) în diclormetan (0,5 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la 30 °C timp de 16 ore, după care a fost combinat cu o reacție similară efectuată folosind **C82** (50 mg, 77 μmoli) și a fost concentrat *in vid*. Purificarea prin cromatografie pe silicagel [Gradient: 0% până la 10% (amestec 10:1 de metanol și hidroxid de amoniu) în diclormetan] a condus la obținerea **C83** sub forma unei gume incolore. Randament combinat: 149 mg, 0,347 mmoli, 92%. LCMS m/z 452,3 [$M+Na^+$]. 1H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).

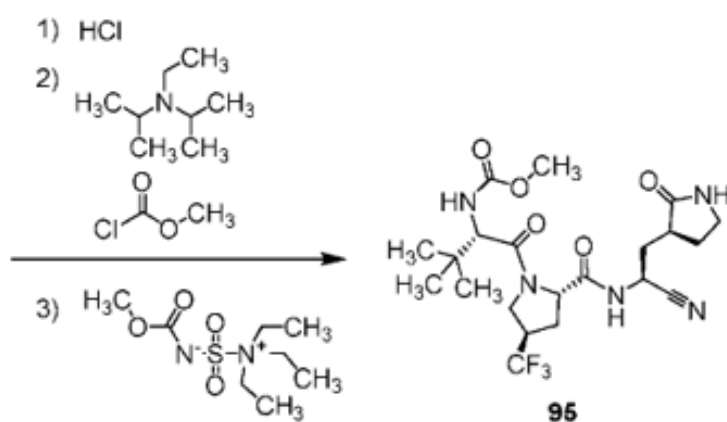
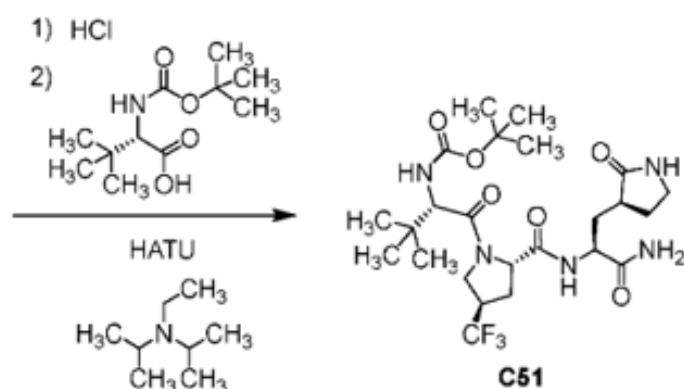
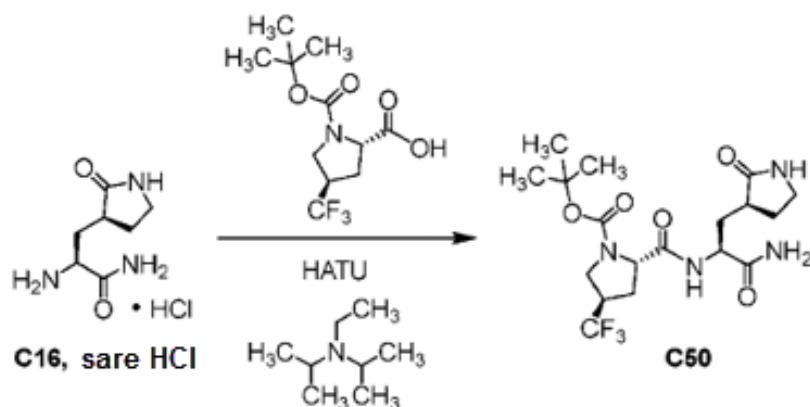
Etapă 3. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[(2*S*)-4,4-difluor-2-(2,2,2-trifluoracetamido)butanoil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (94).

La o soluție de **C83** (99 mg, 0,23 mmoli) în diclormetan (4 mL) la 0 °C au fost adăugate piridină (146 mg, 1,85 mmoli) și o soluție de anhidridă trifluoracetică (194 mg, 0,924 mmoli) în diclormetan (2 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei (15°C) timp de 20 ore, a fost tratat cu piridină suplimentară (30 mg, 0,38 mmoli) și a fost agitat la temperatura camerei (15°C) timp de încă 16 ore. Apoi a fost împărțit între diclormetan (15 mL) și acid clorhidric (1 M; 15 mL), și stratul organic a fost spălat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (15 mL) și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (10 mL), a fost uscat, a fost filtrat și concentrat *in vid*. Reziduul a fost combinat cu produsul dintr-o reacție similară efectuată folosind **C83** (50 mg, 0,12 mmoli) și a fost purificat utilizând HPLC în fază inversă (Coloană: Waters XBridge BEH C18, 25 × 150 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% hidroxid de amoniu (v/v); Faza mobilă B: acetonitril; Gradient: 23% până la 63% B). (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[(2*S*)-4,4-difluor-2-(2,2,2-trifluoracetamido)butanoil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-

carboxamidă (**94**) a fost izolată sub forma unui solid alb. Randament combinat: 28,8 mg, 56,8 μ moli, 16%. LCMS m/z 508,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,2, 5,4$ Hz, 1H), 3,67 (d, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (s, 3H).

Exemplul 95

***N*-(Metoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă (95)**



Etapa 1. Sinteza (4*R*)-1-(*terț*-butoxicarbonil)-4-(trifluormetil)-L-prolil-3-[(3*S*)-2-oxopirrolidin-3-il]-L-alaninamidă (C50).

N,N-Diizopropiletilamină (14,8 mL, 85,0 mmoli) la -30 °C a fost adăugată la un amestec de (4*R*)-1-(*terț*-butoxicarbonil)-4-(trifluormetil)-L-prolină (8,00 g, 28,2 mmoli), **C16, sare HCl** (6,45 g, 31,1 mmoli) și hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroni (HATU; 11,8 g, 31,0 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (100 ml). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la 0 °C timp de 1 oră, după care analiza LCMS a indicat prezența **C50**: LCMS *m/z* 437,3 [M+H]⁺. A fost adăugată soluție apoasă de

bicarbonat de sodiu (300 mL), și amestecul rezultat a fost extras cu un amestec de 2-propanol și diclormetan (1:4, 5 x 100 mL); straturile organice combinate au fost concentrate *in vid* și au fost purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 100% metanol în diclormetan), obținându-se **C50** sub forma unui ulei. Analiza ^1H RMN a indicat că acest material există sub forma unui amestec de rotameri. Randament: 10,9 g, 25,0 mmoli, 89%. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfuri caracteristice: δ [8,28 (d, $J = 8,5$ Hz) și 8,22 (d, $J = 8,2$ Hz), 1H total], [7,64 (s) și 7,59 (s), 1H total], [7,38 (br s) și 7,27 (br s), 1H total], 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) și 1,32 (s), 9H total].

Etapă 2. Sinteza *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-4-(trifluormetil)-L-prolil-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]-L-alaninamidei (C51).

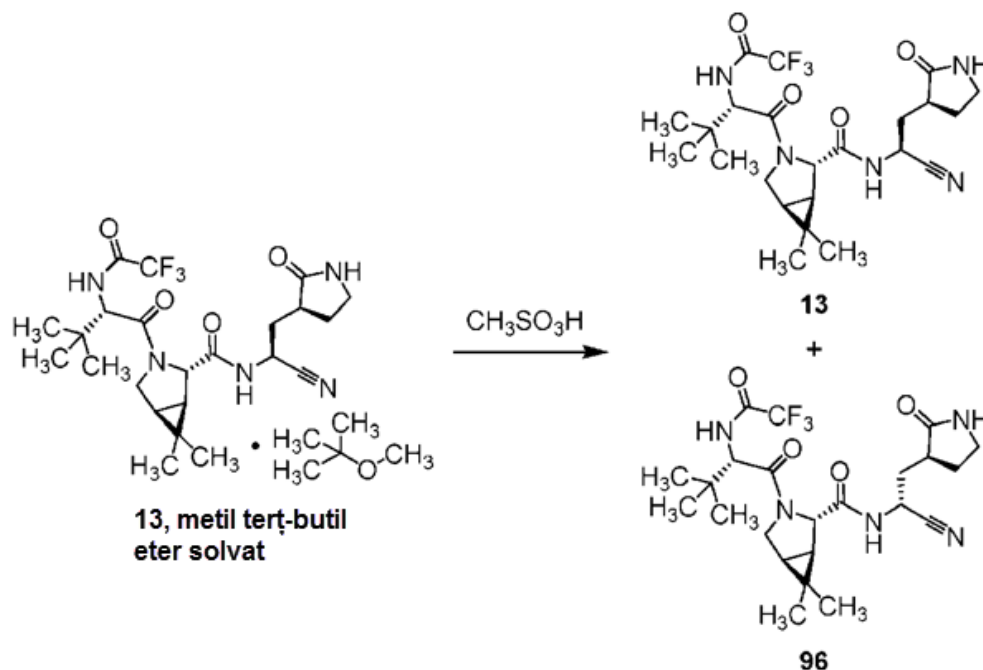
O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 80 mL) a fost adăugată la o soluție de **C50** (7,00 g, 16,0 mmoli) în diclormetan (15 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 5 minute, acesta a fost concentrat *in vid* pentru a elimina solventul și apoi a fost evacuat prin *vid* înalt pentru a elimina acidul clorhidric rezidual. Reziduul a fost amestecat cu *N*-(*terț*-butoxicarbonil)-3-metil-L-valină (4,08 g, 17,6 mmoli) și hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 6,71 g, 17,6 mmoli) în *N,N*-dimetilformamidă (25 mL), a fost răcit la $-30\text{ }^\circ\text{C}$ și a fost tratat cu *N,N*-diizopropiletilamină (8,38 mL, 48,1 mmoli). Amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească la $0\text{ }^\circ\text{C}$ timp de 1 oră, după care analiza LCMS a indicat prezența **C51**: LCMS m/z 550,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și a fost extras de trei ori cu un amestec 4:1 de diclormetan și 2-propanol. După ce straturile organice combinate au fost concentrate *in vid*, reziduul a fost purificat prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 30% metanol în diclormetan), obținându-se **C51** sub forma unui solid. Randament: 3,95 g, 7,19 mmoli, 45%, ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfuri caracteristice: 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).

Etapă 3. Sinteza *N*-(metoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidei (95).

Un amestec de **C51** (230 mg, 0,418 mmoli) și o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 2 mL, 8 mmoli) a fost agitată la temperatura camerei timp de 5 minute, după care amestecul de reacție a fost concentrat *in vid* pentru a elimina solventul, apoi a fost evacuat în continuare folosind vid înalt pentru a elimina acidul clorhidric rezidual. Reziduul a fost dizolvat în diclormetan (2 mL), a fost răcit la 0 °C și a fost tratat cu *N,N*-diizopropiletilamină (0,219 mL, 1,26 mmoli) urmată de cloroforiat de metil (59,3 mg, 0,628 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 10 minute, acesta a fost diluat cu soluție apoasă de bicarbonat de sodiu și a fost extras de trei ori cu un amestec 4:1 de diclormetan și 2-propanol; straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Reziduul a fost dizolvat în diclormetan (3 mL); după adăugare de *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 299 mg, 1,25 mmoli), amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră. Apoi a fost tratat cu soluție apoasă diluată de carbonat de sodiu și a fost extras de 3 ori cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și purificate prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 50% până la 100% acetat de etil în heptan). Materialul rezultat a fost suspendat în heptan (4 ml) la 50°C timp de 2 ore, a fost răcit la temperatura camerei și a fost agitat la temperatura camerei peste noapte; colectarea solidului a condus la obținerea de *N*-(metoxycarbonil)-3-metil-L-valil-(4*R*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluormetil)-L-prolinamidă (**95**) sub forma unui solid. Randament: 123 mg, 0,251 mmoli, 60%. LCMS *m/z* 490,4 [M+H]⁺. ¹H RMN (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, presupus; parțial ascuns de către vârful de apă), 3,18 - 2,98 (m, 2H), 2,5 - 2,39 (m, 1H, presupus; parțial ascuns de către vârful de solvent), 2,35 - 2,23 (m, 1H), 2,22 - 2,01 (m, 3H), 1,77 - 1,63 (m, 2H), 0,94 (s, 9H).

Exemplul 96

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*R*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (96) și (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (13), Forma solidă 5



La o soluție de **13**, metil *tert*-butil eter solvat (din Sinteza Alternativă din Exemplul 13, metil *tert*-butil eter solvat; 15,0 g, 25,5 mmoli) în acetonitril (80 mL) a fost adăugat acid metansulfonic (6,4 mL, 99 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 4 ore, după care a fost alcalinizat prin adăugarea unui amestec de soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (80 ml) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (10 ml). Amestecul rezultat a fost extras cu diclormetan (2 x 100 ml), și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Separarea celor doi epimeri a fost efectuată prin cromatografie de fluid supercritic (Coloană: Chiral Technologies Chiralcel OX-H, 30 x 250 mm, 5 μm; Faza mobilă: 9:1 dioxid de carbon / 2-propanol; Contra-presiune: 100 bar; Debit: 80 ml/minut). A fost recuperat materialul care a eluat primul, (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**13**). Prin analiza de difracție de raze X în pulbere, acest material a fost amorf; aceasta a fost denumit Formă solidă 5. Al doilea material care a eluat a fost obținut sub forma unei sticle, care a fost dizolvată în diclormetan, a fost tratată cu heptan și a fost concentrată *in vid* pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*R*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă (**96**) sub forma unui solid.

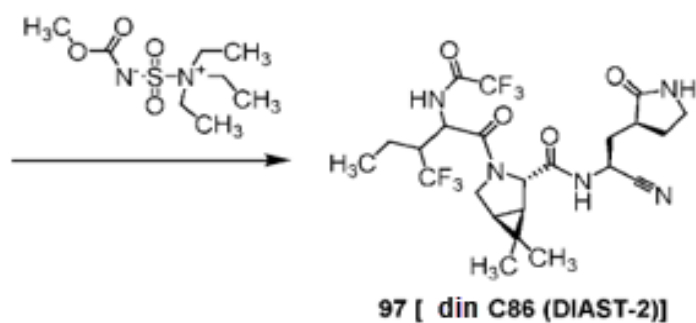
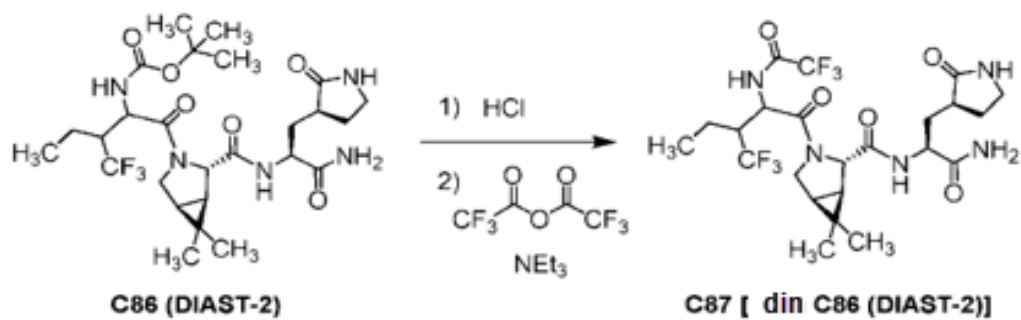
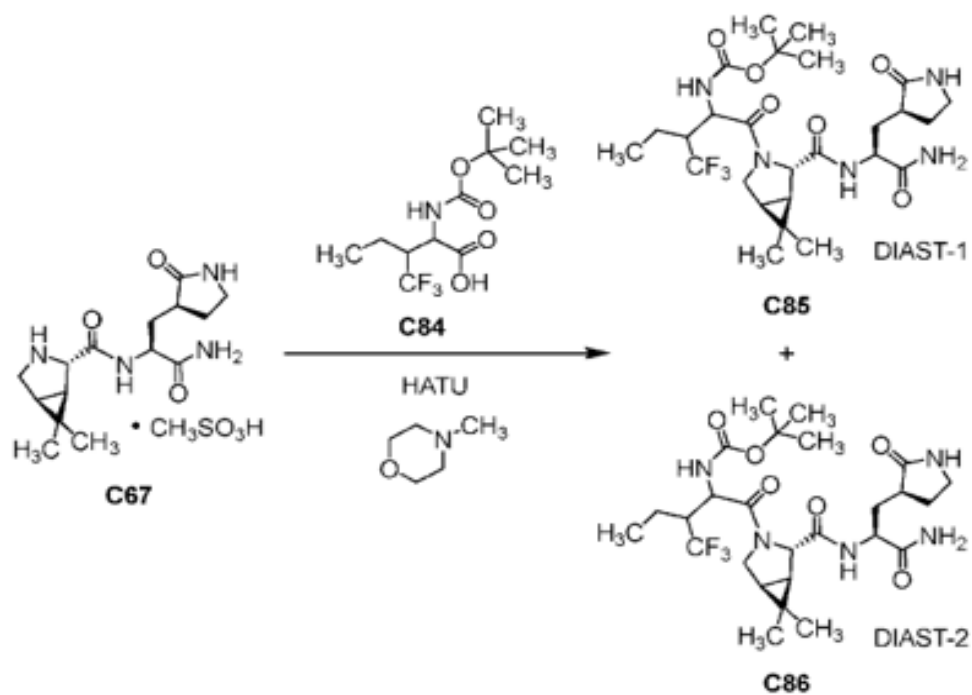
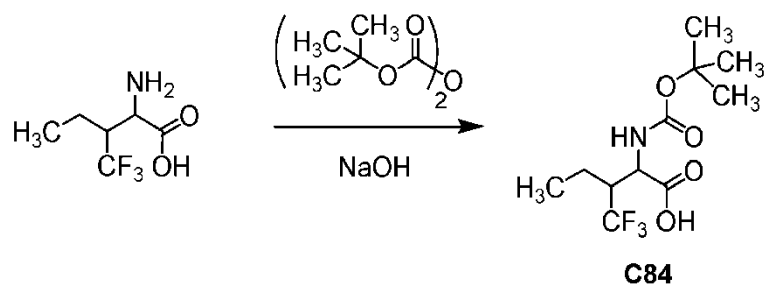
Material **13** recuperat- Randament: 6,00 g, 12,0 mmoli, 47%. LCMS *m/z* 500,3 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,46 - 9,33 (m, 1H), 9,01 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 5,03 - 4,91 (m, 1H), 4,46 - 4,37 (m, 1H), 4,16 (s, 1H), 3,97- 3,86 (m, 1H), 3,69 (d, jumătate din cvartetul AB, *J* = 10,4 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,98 (s, 9H), 0,85 (s, 3H). Timp de retenție: 3,93 minute (Condiții analitice. Coloana: Chiral Technologies Chiralcel OX-H, 4,6 x 250 mm, 5 μ m; Faza mobilă A: dioxid de carbon; Faza mobilă B: 2-propanol; Gradient: 5% B pentru 1,00 minut, urmat de 5% până la 60% B pe parcursul a 8,00 minute; Contra-presiune: 120 bar; Debit: 3,0 ml/minut). Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru acest material amorf este prezentat în Figura 9. Metoda de colectare a datelor de difracție de raze X în pulbere este descrisă în Sinteza alternativă din Exemplul 13, metil *terț*-butil eter solvat, Etapa 8.

96 - Randament: 2,58 g, 5,16 mmoli, 20%. LCMS m/z 500,3 $[M+H]^+$. 1H RMN (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, jumătate din cvartetul 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,00 (br s, 12H), 0,84 (s, 3H). Timp de retenție: 4,20 minute (Condiții analitice identice cu cele utilizate pentru materialul **13** recuperat de mai sus).

Exemplul 97 (doar pentru referință)

(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, din C86 (DIAST-2) (97)



Etapa 1. Sinteza acidului 2-[(*terț*-butoxicarbonil)amino]-3-(trifluormetil)pentanoic (C84).

Soluție apoasă de hidroxid de sodiu (1 M; 1,48 mL, 1,48 mmoli) a fost adăugată la o suspensie de acid 2-amino-3-(trifluormetil)pentanoic (Wang și colab., J. Amer. Chem. Soc. 2003, 125, 6900-6906; 137 mg, 0,740 mmoli) în 1,4-dioxan (3 mL), și amestecul rezultat a fost răcit la 0°C. Dicarbonat de di-*terț*-butil (0,204 mL, 0,888 mmoli) a fost adăugată încet, după care amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei peste noapte. După diluare cu acetat de etil, amestecul de reacție a fost răcit într-o baie de gheață și apoi a fost acidificat la pH 2 prin adăugarea unei soluții apoase 1 M de sulfat acid de potasiu. Stratul apos a fost extras de două ori cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid*, obținându-se **C84** sub forma unui solid. S-a presupus că acest material constă dintr-un amestec de 4 diastereomeri, posibil, care prezintă și rotameri. Randament: 197 mg, 0,690 mmoli, 93%. LCMS *m/z* 284,3 [M-H]⁻. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,16 (br s, 1H), [7,29 (d, major, *J* = 9,8 Hz) și 6,95 - 6,85 (m, minor), 1H total], [4,55 (dd, major, *J* = 9,8, 3,3 Hz), 4,46 (br d, minor, *J* = 9,1 Hz), și 4,40 (dd, minor, *J* = 9,4, 4,5 Hz), 1H total], 2,86 - 2,67 (m, 1H), 1,71 - 1,47 (m, 2H), 1,39 (br s, 9H), [0,98 (t, minor, *J* = 7,4 Hz) și 0,91 (t, major, *J* = 7,5 Hz), 3H total].

Etapa 2. Sinteza {1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-1-oxo-3-(trifluormetil)pentan-2-il}carbamatului de *terț*-butil, DIAST-1 (C85) și a {1-[(1*R*,2*S*,5*S*)-2-({(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-1-oxo-3-(trifluormetil)pentan-2-il}carbamatului de *terț*-butil, DIAST-2 (C86).

O soluție de **C84** (128 mg, 0,449 mmoli) într-un amestec de acetonitril (2,7 mL) și *N,N*-dimetilformamidă (1,5 mL) de 0 °C, a fost tratată cu hexafluorofosfat de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluroniu (HATU; 176 mg, 0,463 mmoli) și 4-metilmorfolină (0,116 mL, 1,06 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 30 de minute, **C67** (170 mg, 0,420 mmoli) a fost adăugat sub forma unui solid, și agitarea a fost continuată timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu acetat de etil și apă și a fost spălat cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu. Stratul apos a fost extras de două ori cu acetat de etil, și straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid*. Uleiul rezultat a fost azeotropat de două ori cu heptan și de două ori cu

metil terț-butil eter, apoi a fost supus cromatografiei pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în diclormetan). Primul diastereomer care eluează a fost denumit **C85**, iar al doilea diastereomer care eluează a fost denumit **C86**.

C85 (DIAST-1) - Randament: 77,3 mg, 0,134 mmoli, 32%. Prin analiză ^1H RMN, acest material cuprindea un amestec de izomeri sau rotameri. LCMS m/z 576,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfurile caracteristice, integrările sunt approximate: δ [8,35 (d, $J = 7,9$ Hz) and 8,16 (d, $J = 8,5$ Hz), 1H total], 7,62 - 7,54 (m, 1H), 7,41 - 7,18 (m, 2H), [7,02 (br s) and 6,98 (br s), 1H total], 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) and 1,36 (s), 9H total], 1,01 (br s, 3H), 0,94 - 0,82 (m, 6H).

C86 (DIAST-2) - Randament: 87,8 mg, 0,153 mmoli, 36%. Prin analiză ^1H RMN, acest material a fost în mare măsură un singur izomer. LCMS m/z 576,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6), vârfuri caracteristice: 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, componentă a sistemului ABX, $J = 10,1, 5,2$ Hz, 1H), 3,71 (d, jumătate din cvartetul 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).

Etapa 3. Sinteza (1R,2S,5S)-N-{(2S)-1-amino-1-oxo-3-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, din C86 (DIAST-2) (C87).

O soluție de **C86 (DIAST-2)** (87,8 mg, 0,153 mmoli) în diclormetan (1 mL) a fost tratată cu o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 0,381 mL, 1,52 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 40 de minute, a fost adăugat metanol (0,5 ml) pentru a îmbunătăți solubilitatea. După alte 40 de minute, a fost adăugată o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 0,10 mL, 0,4 mmoli); 30 de minute mai târziu, analiza LCMS a indicat îndepărtarea completă a grupării protectoare: LCMS m/z 476,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Amestecul de reacție a fost concentrat *in vacuo* și a fost azeotropat de două ori cu heptan; reziduul a fost triturat de două ori cu dietil eter, a fost suspendat în diclormetan (1,2 mL) și a fost răcit la 0°C. După adăugare de trietilamină (42,4 μL , 0,304 mmoli), urmată de anhidridă trifluoracetică (47,9 μL , 0,339 mmoli), amestecul de reacție a fost agitat la 0 °C timp de 30 de minute, după care a fost îndepărtat din baia de gheață și a fost împărțit între apă și acetat etilic. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil, și straturile organice combinate

au fost spălate cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu și cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate, concentrate *in vid*, și au fost azeotropate de două ori cu metil *terț*-butil eter. Din analiza ^1H RMN și LCMS, acest material a conținut un amestec de **C87** și esterul metilic corespunzător (LCMS m/z 587,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), vârfuri caracteristice pentru **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, jumătate din cvartetul AB, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,97 - 1,87 (m, 1H), 1,40 (d, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,6$ Hz, 1H), 1,03 (s, 3H), 0,84 (s, 3H). Purificarea prin cromatografie pe silicagel (Gradient: 0% până la 20% metanol în diclormetan), urmată de azeotroparea uleiului rezultat cu heptan, urmată de azeotroparea cu un amestec de dietil eter și heptan au condus la obținerea **C87** sub forma unui solid alb. Randament: 17,9 mg, 31,3 μmoli , 20%. LCMS m/z 572,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

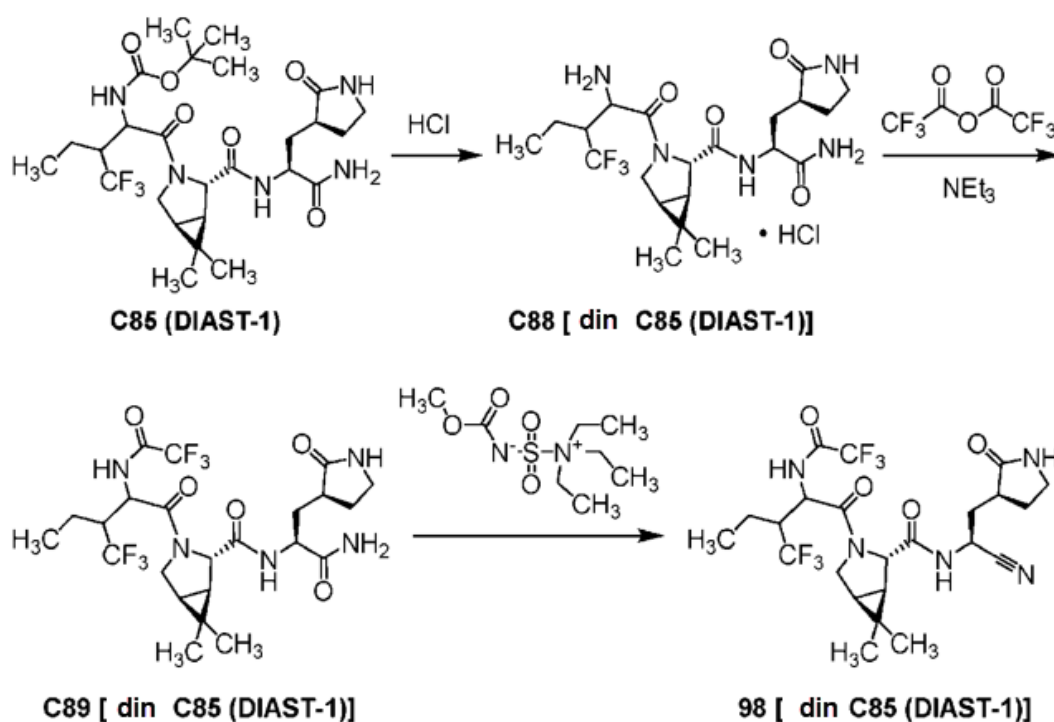
Etapă 4. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0] hexan-2-carboxamidei, din C86 (DIAST-2) (97).

N-(trietilamoniosulfonil)carbammat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 18,8 mg, 78,9 μmoli) a fost adăugat la o soluție de **C87** (18 mg, 31 μmoli) în acetat de etil (0,8 ml). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, a fost adăugată din nou o linguriță cu spatulă de *N*-(trietilamoniosulfonil)carbammat de metil, sare internă (reactiv Burgess). Agitarea a fost continuată timp de 2 ore, după care amestecul de reacție a fost filtrat, și turta de filtrare a fost clătită cu acetat de etil. Filtratele combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu și stratul apos a fost extras o dată cu acetat de etil; straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține produsul brut. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), componentă principală: 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,97 - 0,92 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H), 0,85 (s, 3H). Acest material a fost purificat prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 μm ; Faza mobilă A: 0,05% acid trifluoracetic în apă (v/v); Faza mobilă B: 0,05% acid trifluoracetic în acetonitril (v/v); Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 8,54 minute, urmat de 95% B pe parcursul a 1,46 minute; Debit: 25 ml/minut) pentru a se obține

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, din **C86 (DIAST-2) (97)**. Randament: 8,3 mg, 15 μmoli, 48%. LCMS m/z 554,6 $[M+H]^+$. Timp de retenție: 2,72 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 μm; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5,0% până la 95% B, liniar pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut).

Exemplul 98 (doar pentru referință)

(1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, din **C85 (DIAST-1) (98)**



Etapa 1. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-3-[2-amino-3-(trifluormetil)pentanoil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, sare clorhidrat, din **C85 (DIAST-1) (C88).**

O soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4 M; 0,336 mL, 1,34 mmoli) a fost adăugată la o soluție de **C85 (DIAST-1)** (77,3 mg, 0,134 mmoli) în diclormetan (1 mL). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 40 de minute, a fost adăugat metanol (0,5 ml) pentru a îmbunătăți solubilitatea. Agitarea a fost continuată timp de 2 ore, după care analiza LCMS a indicat că deprotejarea a fost completă: LCMS m/z 476,2 $[M+H]^+$.

Amestecul de reacție a fost concentrat *in vid*; reziduul a fost azeotropat de două ori cu heptan, apoi a fost triturat de două ori cu dietil eter pentru a se obține **C88** sub forma unui solid alb. Randament: 54,5 mg, 0,106 mmoli, 79%. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), vârfuri principale caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

Etapa 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]propan-2-il}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei, din C85 (DIAST-1) (C89).

O suspensie de **C88** (54,5 mg, 0,106 mmoli) în diclormetan (1 mL) la 0 °C a fost tratată cu trietilamină (26 μL, 0,19 mmoli), urmată de anhidridă trifluoracetică (19,5 μL, 29,1 mg, 0,138 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 1 oră și 10 minute, a fost adăugată anhidridă trifluoracetică (1 echivalent); 30 de minute mai târziu, a fost adăugată din nou anhidridă trifluoracetică (9,4 μL, 67 μmoli). Agitarea a fost continuată timp de 45 de minute, după care analiza LCMS a indicat transformarea completă în **C89**: LCMS *m/z* 572,4 [M+H]⁺. Amestecul de reacție a fost împărțit între apă și acetat de etil, și stratul apos a fost extras cu acetat de etil. Straturile organice combinate au fost spălate succesiv cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vid* pentru a se obține **C89**. Randament: 41,2 mg, 72,1 μmoli, 68%. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆), componentă principală, vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,02 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

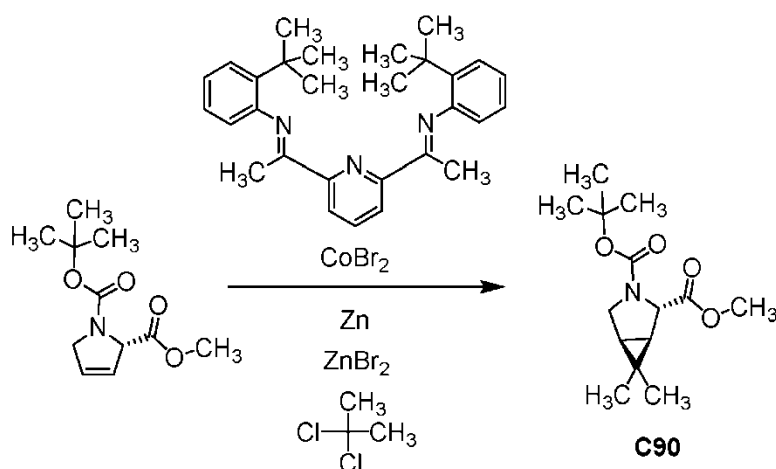
Etapa 3. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0] hexan-2-carboxamidei, din C85 (DIAST-1) (98).

N-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess; 42,7 mg, 0,179 mmoli) a fost adăugat la o soluție de **C89** (41,0 mg, 71,7 μmoli) în acetat de etil (0,8 ml). După ce amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră, a fost adăugată o linguriță cu spatulă de *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamat de metil, sare internă (reactiv Burgess). Agitarea a fost continuată timp de 2 ore, după care amestecul de reacție

a fost filtrat, și turta de filtrare a fost clătită cu acetat de etil. Filtratele combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu și stratul apos a fost extras cu acetat de etil; straturile organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate *in vacuo* pentru a se obține produsul brut. ^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), componentă principală, vârfuri caracteristice: 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, jumătate din cvartetul AB, $J = 7,7$ Hz, 1H), 1,04 (s, 3H), 0,91 - 0,86 (m, 6H).

Purificarea acestui material prin HPLC în fază inversă (Coloană: Waters Sunfire C18, 19 x 100 mm, 5 μm ; Faza mobilă A: 0,05% acid trifluoracetic în apă; Faza mobilă B: 0,05% acid trifluoracetic în acetonitril; Gradient: 5% până la 95% B pe parcursul a 8,54 minute, urmat de 95% B pe parcursul a 1,46 minute; Debit: 25 ml/minut) a condus la obținerea de (1*R*,2*S*,5*S*)-*N*-{(1*S*)-1-ciano-2-[(3*S*)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoracetamido)-3-(trifluormetil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, din **C85 (DIAS-1) (98)**. Randament: 4,3 mg, 7,8 μmol i, 11%. LCMS m/z 554,6 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Timp de retenție: 2,80 minute (Condiții analitice. Coloană: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 μm ; Faza mobilă A: apă care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Faza mobilă B: acetonitril care conține 0,05% acid trifluoracetic (v/v); Gradient: 5,0% până la 95% B, liniar pe parcursul a 4,0 minute, apoi 95% B pe parcursul a 1,0 minut; Debit: 2 ml/minut).

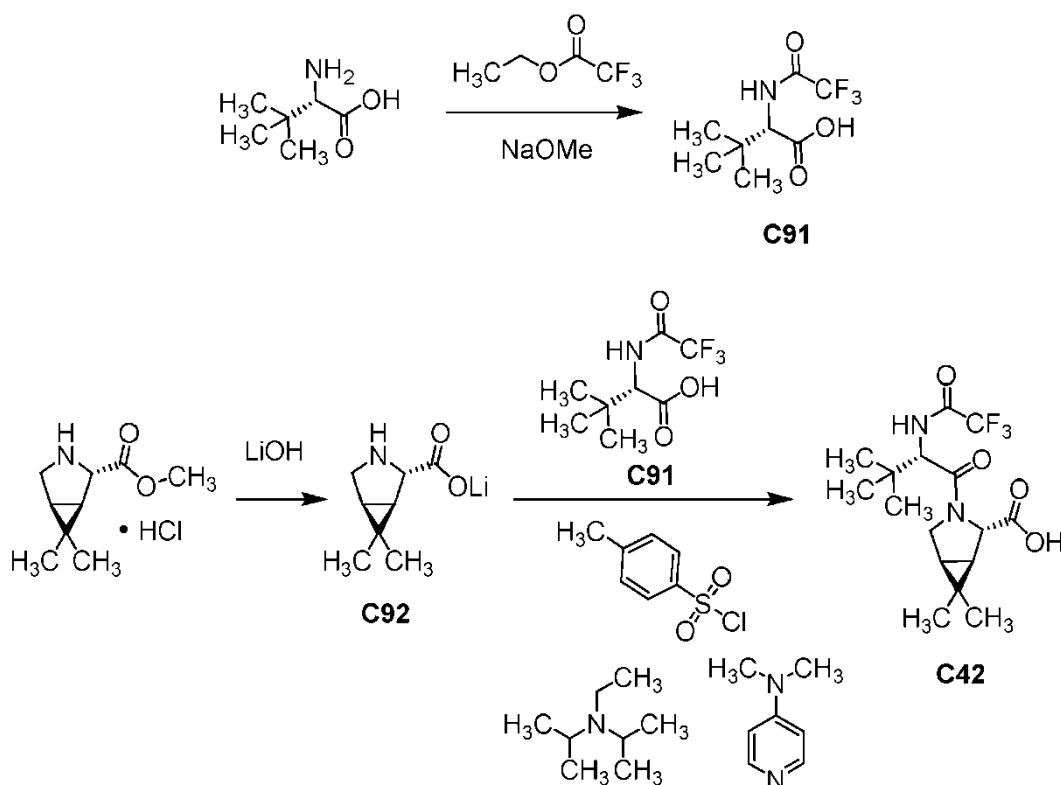
Prepararea (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2,3-dicarboxilatului de 3-terț-butil 2-metil (C90)



Această preparare a fost efectuată folosind procedura generală raportată de C. Uyeda și J. Werth, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018, 57, 13902-13906. Un balon cu 3 gâturi echipat cu bară de agitare magnetică, condensator de reflux, termometru și orificiu de admisie de azot a fost încărcat cu bromură de cobalt(II) (0,15 echivalenți; 0,146 g, 0,667 mmoli), (1*E*,1'*E*)-1,1'-piridin-2,6-diilbis[*N*-(2-*terț*-butilfenil)etanamină] (2-*t*-BuPDI; 0,15 echivalenți; 0,284 g, 0,667 mmoli) și tetrahidrofuran (11 ml). Suspensia groasă, verde, a fost agitată peste noapte la temperatura camerei și au fost adăugate zinc (2,4 echivalenți; 0,70 g, 11 mmoli) și bromură de zinc (1,1 echivalenți; 1,1 g, 4,9 mmoli). După agitare timp de 15 minute, amestecul de reacție a devenit violet și au fost adăugate o soluție de (2*S*)-2,5-dihidro-1*H*-pirol-1,2-dicarboxilat de 1-*terț*-butil 2-metil (1,0 echivalenți; 1,0 g, 4,4 mmoli) în tetrahidrofuran (7,5 ml) și 2,2-dicloropropan (2,0 echivalenți; 1,0 g, 8,8 mmoli). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura camerei timp de 5 zile, după care a fost filtrat printr-un strat de pământ de diatomee și a fost clătit cu tetrahidrofuran (10,8 mL). Filtratul a fost combinat cu soluție apoasă saturată de clorură de amoniu (3,5 ml) și acetat de etil (9,5 ml); straturile au fost apoi separate, și faza apoasă a fost extrasă cu acetat de etil (8,4 mL). Extractele organice combinate au fost spălate cu soluție apoasă saturată de bicarbonat de sodiu (10,5 ml), au fost uscate pe sulfat de magneziu, au fost filtrate și concentrate până la uscare, obținându-se (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2,3-dicarboxilat de 3-*terț*-butil 2-metil (**C90**) sub forma unui ulei galben. Randament: 0,90 g, 3,3 mmoli, 75%. Din analiza ¹H RMN, acest material a existat sub formă de doi rotameri de carbamat (raport ~3:2). ¹H RMN (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]⁺.

Preparare alternativă a C42

Acid (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (**C42**)



Etapa 1. Sinteza 3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valinei (**C91**).

O soluție de metoxid de sodiu în metanol (25% în greutate; 28,5 mL, 124 mmoli) a fost adăugată la o soluție de 3-metil-L-valină (99%, 15 g, 113 mmoli) în metanol (30 mL). A fost adăugat apoi trifluoracetat de etil (130 mmoli), și amestecul de reacție a fost agitat la 40 °C până când reacția a fost completă (aproximativ 2,5 ore), după care a fost răcit la 20 °C. După adăugarea de acid clorhidric (1 M; 136 ml, 136 mmoli), amestecul a fost diluat cu acetat de etil (150 ml) și straturile au fost separate. Stratul organic a fost spălat de două ori cu soluție apoasă saturată de clorură de sodiu, a fost uscat pe sulfat de magneziu și a fost filtrat. A fost adăugat heptan la filtrat, după care soluția a fost concentrată la 50°C până la un volum de 5 ml/g. Această procedură a fost efectuată de două ori; după a doua distilare au fost adăugate cristale de sămânță de **C91** (50 mg; vezi mai jos). Solidul rezultat a fost colectat prin filtrare, a fost spălat cu heptan și a fost uscat la 40°C pentru a se obține **C91** sub forma unui solid alb murdar. Randament: 22,2 g, 97,7 mmoli, 86%.

Cristalele de sămânță utilizate mai sus au fost obținute dintr-o reacție similară efectuată folosind 3-metil-L-valină; după ce stratul organic care conține **C91** a fost uscat pe sulfat de magneziu și filtrat, concentrarea *in vid* a condus la obținerea unui solid. O parte din acest solid a fost folosită ca material de însămânțare.

Datele fizico-chimice au fost obținute pe probe de **C91** obținute din reacții efectuate în același mod. HRMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ Calculat pentru C₈H₁₃F₃NO₃, 228,0842; Găsit, 228,0842. Ion primar observat sub formă de C₈H₁₁F₃NNa₂O₃[M+Na⁺]: Calculat, 272,0481; Găsit, 272,0482. ¹H RMN (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). ¹³C RMN (150,8 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170,9, 156,6 (q, ²*J*_{CF} = 36,9 Hz), 115,8 (q, ¹*J*_{CF} = 287,7 Hz), 61,0, 33,6, 26,5. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru **C91** este dat în Figura 11; vârfurile caracteristice sunt enumerate în tabelul R.

Tabelul R. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **C91**

Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă
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

Cristalul pentru cristalografia de raze X a fost obținut prin recristalizare din acetat de etil și hexan folosind cristale de însămânțare din același lot ca mai sus. O diagramă ORTEP a datelor de monocristal pentru **C91** este prezentată în Figura 12.

Determinarea structurală cu raze X a monocristalului C91

Analiza cu raze X a monocristalului

Colectarea datelor a fost efectuată pe un difractometru Bruker D8 Quest la -100 °C. Colectarea datelor a constat în scanări omega și phi.

Structura a fost determinată prin fazare intrinsecă folosind suita de software SHELX în grupul de spațiu chiral de clasă tetragonală $P4_12_12$. Structura a fost ulterior rafinată prin metoda celor mai mici pătrate cu matrice completă. Toți atomii care nu sunt hidrogen au fost găsiți și rafinați folosind parametrii de deplasare anizotropică.

Atomii de hidrogen localizați pe azot și oxigen au fost găsiți din harta diferențelor Fourier și au fost rafinați cu distanțele restrânse. Hidrogenul de pe O2(H2Z) și O3(H3Z) a fost împărțit ca încărcătură și a fost rafinat fiecare ca ocupare de 10,5. Atomii de hidrogen rămași au fost plasați în poziții calculate și au fost lăsați să călătorească pe atomii lor purtători. Rafinarea finală a inclus parametrii de deplasare izotropică pentru toți atomii de hidrogen.

Dezordinea de ocupare a populației ca un raport de ~67/33 la segmentul -CF₃ a fost identificată și modelată în consecință.

Analiza structurii absolute folosind metode de probabilitate (Hooft, 2008) a fost efectuată folosind PLATON (Spek). Rezultatele indică faptul că structura absolută a fost corect atribuită. Metoda calculează că probabilitatea ca structura să fie corect atribuită este de 100%. Parametrul Hooft este raportat ca 0,02 cu un esd (deviația standard estimată) de (4), și parametrul lui Parson este raportat ca 0,02 cu un esd de (4).

Indicele R final a fost de 4,1%. O ultimă diferență Fourier a dezvăluit că nu există nicio densitate de electroni lipsă sau greșită.

Informațiile pertinente privind cristalele, colectarea datelor și rafinarea sunt prezentate pe scurt în Tabelul S. Coordonatele atomice, lungimile legăturilor, unghiurile de legătură și parametrii de deplasare sunt enumerate în Tabelele T - V.

Lista de software și referințe utilizate poate fi găsită în Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 1.

Tabelul S. Date de cristal și rafinarea structurii pentru **C91**.

Formulă empirică	C ₈ H ₁₂ F ₃ NO ₃	
Greutatea formulei	227,19	
Temperatură	173(2) K	
Lungime de undă	1,54178 Å	
Sistem de cristal	tetragonală	
Grupare spațială	<i>P</i> 4 ₁ 2 ₁ 2	
Dimensiunile unității celulare	<i>a</i> = 9,9168(6) Å	$\alpha = 90^\circ$
	<i>b</i> = 9,9168(6) Å	$\beta = 90^\circ$
	<i>c</i> = 22,721 (2) Å	$\gamma = 90^\circ$
Volum	2234,5(4) Å ³	
Z	8	
Densitate (calculată)	1,351 Mg/m ³	
Coeficient de absorbție	1,184 mm ⁻¹	
<i>F</i> (000)	944	
Dimensiunea cristalului	0,200 x 0,170 x 0,080 mm ³	
Intervalul Teta pentru colectarea datelor	4,866 până la 70,114°	
Intervalele de indexare	-11 ≤ <i>h</i> ≤ 10, -12 ≤ <i>k</i> ≤ 12, -27 ≤ <i>l</i> ≤ 27	
Reflecții adunate	48160	
Reflecții independente	2122 [<i>R</i> _{int} = 0,0392]	
Completitudine la teta = 67,679°	99,8%	
Corecția absorbției	Empiric	
Metoda de rafinare	Cele mai mici pătrate cu matrice completă sunt activate pe <i>F</i> ²	
Date / restricții / parametri	2122/9/158	

Corectitudinea de potrivire pe F^2	1,010	
Indici R finali [$>2\sigma(I)$]		$R1 = 0,0408$, $wR2 = 0,1012$
Indici R (toate datele)		$R1 = 0,0429$, $wR2 = 0,1039$
Parametru de structură absolută		0,03(4)
Coeficientul de stingere		n/a
Cea mai mare diferență dintre vârf și gol		0,280 și -0,215 e.Å ⁻³

Tabelul T. Coordonatele atomice ($\times 10^4$) și parametri de deplasare izotropică echivalenți ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **C91**. U(echiv) este definit ca o treime din urma tensorului U^{ij} ortogonalizat.

	X	y	z	U(echiv)
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)

Tabelul U. Lungimile legăturii [$\text{\AA}$] și unghiuri [$^\circ$] pentru **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

Transformări de simetrie utilizate pentru a genera atomi echivalenți.

Tabelul V. Parametrii deplasării anizotropice ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **C91**. Exponentul factorului de deplasare anizotropică ia forma: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	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)

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
C(8)	77(2)	54(2)	50(2)	-4(1)	-22(2)	-11(2)

Etapă 2. Sinteza (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de litiu (**C92**).

Hidroxid de litiu monohidrat (29,0 g, 678 mmoli) a fost adăugat la un amestec de (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de metil, sare clorhidrat (68,5 g, 333 mmoli) în tetrahidrofuran (950 mL) și apă (48 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la 25 °C până când hidroliza a fost completă, după care solidul a fost colectat prin filtrare, a fost spălat cu o soluție de apă 5% în tetrahidrofuran (400 mL) și a fost uscat în vid la 70 °C pentru a se obține **C92** sub forma unui solid alb până la alb murdar. Randament: 47,6 g, 295 mmoli, 89%. Datele fizico-chimice au fost obținute pe probe de **C92** obținute din reacții efectuate în același mod.

HRMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ Calculat pentru C₈H₁₄NO₂, 156,1019; Găsit, 156,1019. ¹H RMN (600 MHz, D₂O) 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). ¹³C RMN (150,8 MHz, D₂O) δ 182,7, 62,3, 45,6, 35,5, 30,0, 25,8, 19,3, 12,7. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru **C92** este dat în Figura 13; vârfurile caracteristice sunt enumerate în tabelul W.

Tabelul W. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **C92**

Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă
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

Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă
19,5	14	29,5	4	39,8	1

Etapă 3. Sinteza acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (**C42**).

Un amestec de **C91** (1,29 g, 5,68 mmoli), 4-(dimetilamino)piridină (0,60 g, 4,8 mmoli) și *N,N*-diizopropiletilamină (1,70 mL, 9,75 mmoli) în tetrahidrofuran (10 mL), a fost tratat cu clorură de *p*-toluensulfonil (0,99 g, 5,2 mmoli). După ce amestecul de reacție a fost agitat timp de 2 ore la 20 °C, a fost încărcat **C92** (75,7 % de masă, 1,00 g, 4,70 mmoli) și agitarea a fost continuată peste noapte la 20°C. Suspensia rezultată a fost amestecată cu acetat de propan-2-il (10 ml) și a fost spălată succesiv cu soluție apoasă de acid citric (10%, 10 ml) și cu apă (10 ml). Stratul organic a fost apoi concentrat, după care a fost adăugat acetat de propan-2-il (5 mL), urmat de adăugarea prin picurare de heptan (15 mL) printr-o pâlnie de adăugare. Solidele au fost izolate prin filtrare și au fost uscate în vid pentru a se obține acid (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (**C42**) sub forma unui solid alb. Randament: 1,2 g. Acest compus prezintă două seturi de semnale RMN. Seturile majore și minore corespund cu izomerii amidei terțiare *Z* și, reapectiv, *E*, cu un raport molar de 20:1. Proba conține, de asemenea, acetat de izopropil cu un raport molar de 37% față de **C42**, arătând rezonanțe de ¹H la 4,86, 1,96 și 1,17 ppm și rezonanțe de ¹³C la 169,7, 66,9, 21,5 și 21,0 ppm. A fost făcută referire la semnalele ¹H și ¹³C folosind semnalul TMS, reglat la 0 ppm pentru ambele.

HRMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ Calculat pentru C₁₆H₂₄F₃N₂O₄, 365,1683; Găsit: 365,1684. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ **major**: 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); **minor**: 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). ¹³C RMN (150,8 MHz, DMSO-*d*₆) δ **major**: 172,3, 167,5, 156,8 (²*J*_{CF} = 37,0 Hz), 115,7 (¹*J*_{CF} = 287,7 Hz), 59,1, 58,0, 47,1, 34,6, 29,6, 26,7, 26,1, 25,6, 18,7, 12,0; **minor**: 172,3, 168,1, 155,9 (²*J*_{CF} = 36,8 Hz), 115,8 (¹*J*_{CF} = 288,1 Hz), 59,9, 57,3, 46,4, 36,2, 32,1, 26,2, 26,0, 24,4, 19,0, 12,7. Modelul de difracție de raze X în pulbere pentru **C42** este dat în Figura 14; vârfurile caracteristice sunt enumerate în tabelul X.

Cristalizarea, atât pentru lucrări de difracție de raze X în pulbere, cât și pentru determinarea cu raze X a structurii monocristalului a fost efectuată după cum urmează. O soluție de **C42** (2,96 g) în etanol (9 mL) a fost încălzită la 40 °C cu agitare (3500 rpm), după care a fost adăugată apă (10,5 mL) timp de 10 minute. A fost adăugată apoi apă suplimentară (16,5 mL) timp de 4 ore, și amestecul a fost răcit la 10°C și a fost lăsat să se agite peste noapte. După filtrare, turta de filtrare a fost spălată cu apă (6 ml) și a fost uscată la 50 °C pentru a se obține **C42** cristalin (2,6 g).

Tabelul X. Vârfurile de difracție de raze X în pulbere selectate pentru **C42**

Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă	Unghi (°2-teta)	Intensitate relativă
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		

O diagramă ORTEP a datelor de monocristal pentru **C42** este prezentată în Figura 15.

Determinarea structurală cu raze X a monocristalului C42

Analiza cu raze X a monocristalului

Colectarea datelor a fost efectuată pe un difractometru Bruker D8 Venture la temperatura camerei. Colectarea datelor a constat în scanări omega și phi. A fost aplicată o strategie specială de date de 0,3 grade lățime la fiecare cadru pentru a separa domeniile, eliminând astfel orice probleme de TWIN și pseudosimetrie.

Structura a fost determinată prin fazare intrinsecă utilizând suita de software SHELX în grupul clasei romboedrice *R3*. Structura a fost ulterior rafinată prin metoda celor mai mici pătrate cu matrice completă. Toți atomii care nu sunt hidrogen au fost găsiți și rafinați folosind parametri de deplasare anizotropică.

Atomii de hidrogen localizați pe azot și oxigen au fost găsiți din harta diferențelor Fourier și au fost rafinați cu distanțe restrânse. Atomii de hidrogen rămași au fost plasați în poziții calculate și au fost lăsați să călătorească pe atomii lor purtători. Rafinarea finală a inclus parametri de deplasare izotropică pentru toți atomii de hidrogen.

Analiza structurii absolute folosind metode de probabilitate (Hooft, 2008) a fost efectuată folosind PLATON (Spek). Rezultatele indică faptul că structura absolută a fost corect atribuită. Metoda calculează că probabilitatea ca structura să fie corect atribuită este de 100%. Parametrul Hooft este raportat ca -0,08 cu un esd (deviația standard estimată) de (7), și parametrul lui Parson este raportat ca -0,09 cu un esd de (6).

Dezordinea din situsul populației ca raport de 78:22 la segmentul C1_F1_F2 a fost identificată și a fost tratată în consecință.

Indicele R final a fost de 5,8%. O ultimă diferență Fourier a dezvăluit că nu există nicio densitate de electroni lipsă sau greșită.

Informațiile pertinente privind cristalele, colectarea datelor și rafinarea sunt prezentate pe scurt în Tabelul Y. Coordonatele atomice, lungimile legăturilor, unghiurile de legătură și parametri de deplasare sunt enumerate în Tabelele Z - BB.

Lista de software și referințe utilizate poate fi găsită în Determinarea structurală cu raze X a monocristalului din Exemplul 13, Forma solidă 1.

Tabelul Y. Datele de cristal și rafinarea structurii pentru **C42**.

Formulă empirică	C ₁₆ H ₂₃ F ₃ N ₂ O ₄	
Greutatea formulei	364,36	
Temperatură	296(2) K	
Lungime de undă	1,54178 Å	
Sistem de cristal	Trigonal	
Grupare spațială	R3	
Dimensiunile unității celulare	a = 14,1740(6) Å	$\alpha = 114,11^\circ$
	b = 14,1740(6) Å	$\beta = 114,11^\circ$
	c = 14,1740(6) Å	$\gamma = 114,11^\circ$
Volum	1715,9(4) Å ³	
Z	3	

Densitate (calculată)	1,058 Mg/m ³	
Coeficient de absorbție	0,788 mm ⁻¹	
$F(000)$	576	
Dimensiunea cristalului	0,220 x 0,100 x 0,100 mm ³	
Intervalul Teta pentru colectarea datelor	6,445 până la 80,034°	
Intervale de indexare	-17<= h <=16, -14<= k <=16, -14<= l <=17	
Reflecții adunate	13310	
Reflecții independente	4011 [R_{int} = 0,0369]	
Completitudine la teta = 67,679°	98,9%	
Corecția absorbției	Empiric	
Metoda de rafinare	Cele mai mici pătrate cu matrice completă sunt activate pe F^2	
Date / restricții / parametri	4011 / 6 / 244	
Corectitudinea de potrivire pe F^2	1,056	
Indici R finali [$I > 2\sigma(I)$]	$R1$ = 0,0582, $wR2$ = 0,1675	
Indici R (toate datele)	$R1$ = 0,0611, $wR2$ = 0,1710	
Parametru de structură absolută	-0,09(6)	
Coeficient de stingere	N / A	
Cea mai mare diferență dintre vârf și gol	0,292 și -0,174 e.Å ⁻³	

Tabelul Z. Coordonatele atomice ($\times 10^4$) și parametrii de deplasare izotropică echivalenți ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **C42**. U(echiv) este definit ca o treime din urma tensorului U^{ij} ortogonalizat.

	X	y	z	U(echivalent)
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)

	X	y	z	U(echivalent)
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)

Tabelul AA. Lungimile de legătură [Å] și unghiurile [°] pentru **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

Transformări de simetrie utilizate pentru a genera atomi echivalenți.

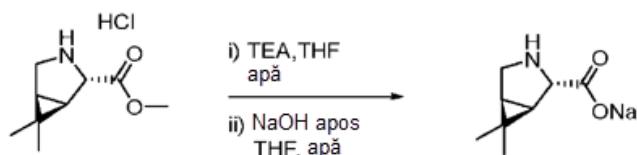
Tabelul BB. Parametrii de deplasare anizotropică ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) pentru **C42**. Exponentul factorului de deplasare anizotropică ia forma: $-2\pi^2[h^2 a^{*2}U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$.

	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)

	U ¹¹	U ²²	U ³³	U ²³	U ¹³	U ¹²
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)

În plus față de prepararea acidului (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-*L*-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilic (**C42**) conform metodelor descrise mai sus, compusul poate fi preparat, de asemenea, așa cum este reprezentat în schemele de reacție arătate direct mai jos. În etapa 1, clorhidrat de (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de metil este tratat mai întâi cu trietilamină într-un amestec de tetrahidrofuran și apă pentru a neutraliza sarea clorhidrat, urmată de hidroliza esterului metilic folosind hidroxid de sodiu într-un amestec de tetrahidrofuran și apă pentru a se obține (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de sodiu.

Prepararea (1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatului de sodiu



Într-un vas adecvat au fost adăugate tetrahidrofuran (30 mL), apă (7,5 mL), trietilamină (7,62 mL, 54,7 mmoli) și (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0] clorhidrat de hexan-2-carboxilat de metil (7,59 g, 36,9 mmoli). Amestecul este agitat la 25°C timp de cel puțin 30 de minute. Agitarea a fost oprită și straturile au fost separate. Într-un vas separat au fost adăugate hidroxid de sodiu apos 28% g/g (4,19 ml, 38,3 mmoli) și tetrahidrofuran (71 ml) cu agitare la 40°C. Au fost adăugate 25% din stratul organic care conține o soluție de (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0] hexan-2-carboxilat de metil în tetrahidrofuran de la separare, și soluția este însământată cu (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de sodiu (0,1182 g, 0,7336 mmol - preparat anterior printr-o procedură analoagă). Amestecul a fost menținut la 40°C timp de cel puțin 15 minute, și restul de 75% din stratul organic a fost adăugat încet. Amestecul a fost menținut cu agitare la 40 °C timp de 16 ore, apoi a fost răcit lent la 20 °C și a fost menținut timp de cel puțin 4 ore. Solidul (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de sodiu rezultat a fost izolat prin filtrare, a fost spălat cu o soluție constând din tetrahidrofuran (43 mL) și apă (2,25 ml). Materialul solid a fost uscat la 70 °C în vid pentru a se obține 6,13 g (93,8%) de (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de sodiu sub forma unui solid cristalin. PXRD a fost determinat conform metodelor descrise mai sus.

Vârfuri ale PXRD selectate pentru (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilat de sodiu cristalin.

Unghi, grade 2- $\Theta \pm 0,2$ °2- Θ	Intensitate relativă	Unghi, grade 2- $\Theta \pm 0,2$ °2- Θ	Intensitate relativă	Unghi, grade 2- $\Theta \pm 0,2$ °2- Θ	Intensitate relativă
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

Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2$ $^{\circ}2-\Theta$	Intensitate relativă	Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2$ $^{\circ}2-\Theta$	Intensitate relativă	Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2$ $^{\circ}2-\Theta$	Intensitate relativă
17,7	15	28,1	3	36,9	7
18,5	7	28,9	6	37,6	3

Vârfuri ale PXRD selectate pentru acid (S)-3,3-dimetil-2-(2,2,2-trifluoracetamido)butanoic (**C91**)

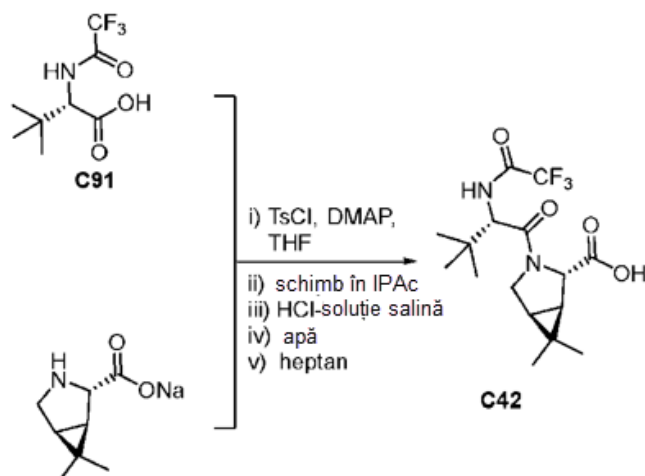
Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2$ $^{\circ}2-\Theta$	Intensitate relativă	Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2$ $^{\circ}2-\Theta$	Intensitate relativă	Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2$ $^{\circ}2-\Theta$	Intensitate relativă
9,7	27	28,1	4	37,7	1
11,8	6	28,7	2	38,2	2
12,6	3	28,9	5	38,7	2
13,2	20	29,7	4	39,3	3
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

Date de cristal și rafinarea structurii pentru acid (S)-3,3-dimetil-2-(2,2,2-trifluoracetamido) butanoic (**C91**).

Cod de identificare	E178	
Formulă empirică	C ₈ H ₁₂ F ₃ N ₃	
Greutatea formulei	227,19	
Temperatură	173(2) K	
Lungime de undă	1,54178 Å	
Sistem de cristal	Tetragonală	
Grupare spațială	P ₄ ₁ 2 ₁ 2	
Dimensiunile unității celulare	a = 9,9168(6) Å	a = 90°.
	b = 9,9168(6) Å	b = 90°.
	c = 22,721 (2) Å	g = 90°.
Volum	2234,5(4) Å ³	
Z	8	
Densitate (calculată)	1,351 Mg/m ³	
Coeficient de absorbție	1,184 mm ⁻¹	
F(000)	944	
Dimensiunea cristalului	0,200 x 0,170 x 0,080 mm ³	
Interval Teta pentru colectarea datelor	4,866 până la 70,114°.	
Intervale de indexare	-11 ≤ h ≤ 10, -12 ≤ k ≤ 12, -27 ≤ l ≤ 27	
Reflecții adunate	48160	
Reflecții independente	2122 [R(int) = 0,0392]	
Completitudine la teta = 67,679°	99,8 %	
Corecția absorbției		Empiric
Metoda de rafinare	Cele mai mici pătrate cu matrice completă pe F ²	
Date / restricții / parametri	2122 / 9 / 158	
Corectitudinea potrivirii pe F ²	1,010	
Indici R finali [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0,0408, wR ₂ = 0,1012	
Indici R (toate datele)	R ₁ = 0,0429, wR ₂ = 0,1039	
Parametru de structură absolută	0,03(4)	
Coeficientul de stingere	n/a	
Cea mai mare diferență dintre vârf și gol	0,280 și -0,215 e.Å ⁻³	

În etapa 2, (1R,2S,5S)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxilatul de sodiu rezultat este apoi cuplat cu acid (S)-3,3-dimetil-2-(2,2,2-trifluoracetamido)butanoic în prezența

clorurii de tosil și a dimetilaminopiridinei în tetrahidrofuran. Tetrahidrofuranul este îndepărtat și înlocuit cu acetat de izopropil urmate de tratare cu HCl în sare urmată de prelucrare cu apă și heptan pentru a se obține C42.



Forma cristalină de **C42** a fost caracterizată prin PXRD și a fost identificată o formă suplimentară obținută din uscare prelungită sau la temperatură mai mare.

Vârfurile de PXRD selectate pentru **C42** - Forma cristalină obținută cu timp prelungit de uscare sau la temperatură mai mare

Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2^\circ 2-\Theta$	Intensitate relativă	Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2^\circ 2-\Theta$	Intensitate relativă	Unghi, grade $2-\Theta \pm 0,2^\circ 2-\Theta$	Intensitate relativă
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		

Activitate antivirală din infecția cu SARS-CoV-2

Capacitatea compușilor de a preveni moartea celulară indusă a coronavirusului SARS-CoV-2 sau efectul citopatic poate fi evaluată prin viabilitatea celulară, folosind un format de analiză care utilizează luciferaza pentru a măsura ATP intracelular ca obiectiv. Pe scurt, celule VeroE6 care sunt îmbogățite pentru expresia hACE2 au fost inoculate cu SARS-CoV-2 (USA_WA1/2020) la o multiplicitate de infecție de 0,002 într-un laborator BSL-3. Celulele inoculate cu virus au fost apoi adăugate la plăci de compus gata pentru testare la o densitate de 4000 celule/godeu. După o incubare de 3 zile, un moment în care efectul citopatic indus de virus este de 95% în condițiile de control netratat, infectat, viabilitatea celulară a fost evaluată folosind Cell Titer-Glo (Promega), conform protocolului producătorului, care cuantifică nivelurile de ATP. Citotoxicitatea compușilor a fost evaluată în celule paralele neinfectate. Compușii de testare sunt testați fie singuri, fie în prezența inhibitorului de glicoproteină P (P-gp) CP-100356 la o concentrație de 2 μ M. Includerea CP-100356 este pentru a evalua dacă compușii de testare sunt efluxați din celulele VeroE6, care au niveluri crescute de exprimare a glicoproteinei P. Efectul procentual la fiecare concentrație de compus de testare a fost calculat pe baza valorilor pentru godeurile de control fără virus și godeurile de control care conțin virus de pe fiecare placă de testare. Concentrația necesară pentru un răspuns de 50% (EC_{50}) a fost determinată din aceste date folosind un model logistic cu 4 parametri. Curbele de EC_{50} au fost potrivite pentru o pantă Hill de 3 când >3 și doza maximă au condus la obținerea unui efect $\geq 50\%$. Dacă citotoxicitatea a fost detectată la un efect mai mare decât 30%, datele de concentrație corespunzătoare au fost eliminate din determinarea EC_{50} .

Pentru plăcile de citotoxicitate, un efect procentual la fiecare concentrație de compus de testare a fost calculat pe baza valorilor pentru godeurile de control numai pentru celule și godeurile de control care conțin hiamină de pe fiecare placă de testare. Valoarea CC_{50} a fost calculată folosind un model logistic cu 4 parametri. Un TI a fost apoi calculat prin împărțirea valorii CC_{50} la valoarea CE_{50} .

Testul și analiza FRET pentru proteaza 3C a coronavirusului SARS-CoV-2

Activitatea proteolitică a proteazei principale, 3CLpro, a SARS-CoV-2 a fost monitorizată folosind un test de transfer de energie prin rezonanță fluorescentă continuă (FRET). Testul

3CL SARS-CoV-2^{pro} măsoară activitatea proteazei 3CL SARS-CoV-2 de lungime completă pentru a scinda o peptidă substrat fluorogen sintetic cu următoarea secvență: Dabcil-KTSAVLQ-SGFRKME-Edans modelat pe o peptidă consens (V. Grum-Tokars și colab. Evaluarea activității proteazei de tip 3C a coronavirusului SARS: recomandări pentru teste standardizate pentru descoperirea medicamentelor. *Virus Research* 133 (2008) 63-73). Fluorescența peptidei Edans scindate (excitație 340 nm / emisie 490 nm) este măsurată folosind un protocol de intensitate a fluorescenței pe un cititor Flexstation (dispozitive moleculare). Semnalul fluorescent este redus în prezența PF-835231, un inhibitor puternic al 3CL^{pro} SARS-CoV-2. Tamponul de reacție de testare a conținut Tris-HCl 20 mM (pH 7,3), NaCl 100 mM, EDTA 1 mM și 25 μM substrat peptidic. Reacțiile enzimatice au fost inițiate prin adăugare de protează 3CL SARS-CoV-2 15 nM și au fost lăsate să continue timp de 60 de minute la 23 °C. Inhibarea sau activitatea procentuală a fost calculată pe baza godeurilor de control care nu conțin niciun compus (inhibare 0%/activitate 100%) și un compus de control (inhibare 100%/activitate 0%). Valorile IC₅₀ au fost generate folosind un model de potrivire cu patru parametri folosind software-ul ABASE (IDBS). Valorile K_i au fost potrivite cu ecuația Morrison cu parametrul de concentrație a enzimei fixat la 15 nM, parametrul K_m fixat la 14 μM și parametrul de concentrație a substratului fixat la 25 μM utilizând software-ul ABASE (IDBS).

Activitatea proteolitică a proteazei 3CL a coronavirusului SARS-CoV-2 este măsurată folosind un test de transfer de energie prin rezonanță fluorescentă continuă. Testul FRET pentru 3CL SARS-CoV-2^{pro} măsoară scindarea catalizată de protează a TAMRA-SITSAVLQSGFRKMK-(DABCIL)-OH la TAMRA - SITSAVLQ și SGFRKMK(DABCIL)-OH. Fluorescența peptidei TAMRA scindate (ex. 558 nm/em. 581 nm) a fost măsurată folosind un cititor de plăci cu fluorescență TECAN SAFIRE pe parcursul a 10 minute. Soluțiile de reacție tipice au conținut HEPES 20 mM (pH 7,0), EDTA 1 mM, 4,0 μM substrat FRET, 4% DMSO și 0,005% Tween-20. Testele au fost inițiate cu adăugarea a 25 nM de 3CL^{pro} SARS (secvența de nucleotide 9985-10902 a tulpinii Urbani a secvenței complete a genomului coronavirusului SARS (numărul de acces NCBI AY278741)). Inhibarea procentuală a fost determinată în duplicat la un nivel de inhibitor de 0,001 mM. Datele au fost analizate cu programul de analiză de regresie neliniară Kalidagraph folosind ecuația:

$$FU = \text{offset} + (\text{limit})(1 - e^{-(k_{\text{obs}})t})$$

în care offset este egal cu semnalul de fluorescență al substratului peptidic nescindat și limit este egal cu fluorescența substratului peptidic complet scindat. K_{obs} este constanta de viteză de ordinul întâi pentru această reacție, iar în absența oricărui inhibitor reprezintă

utilizarea substratului. Într-o reacție inițială a enzimei care conține un inhibitor ireversibil și în care limita calculată este mai mică decât 20% din limită maximă teoretică, kobs calculat reprezintă rata de inactivare a proteazei 3C a coronavirusului. Panta (kobs/l) a unei diagrame de kobs vs. [I] este o măsură a avidității inhibitorului pentru o enzimă. Pentru inhibitorii ireversibili foarte rapizi, kobs/l se calculează din observații la doar unu sau doi [I], mai degrabă decât ca o pantă.

Tabelul 2. Activitatea biologică și denumirea IUPAC pentru Exemplele 1 - 84.

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
1	0,013	4	0,246	7	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[<i>N</i> -(trifluoroacetil)- <i>L</i> -valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
2	1,08	3	7,52	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>N</i> ² -(pirolidin-1-ilacetil)- <i>L</i> -leucinamidă, sare trifluoroacetat
3	0,439	2	6,74	6	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -(2,6-diclorobenzoil)-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
4	0,026	3	1,36	15	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
5	>0,351	2	>3,33	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
6	0,023	2	0,279	4	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
					oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluorometil)- 1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
7	0,798	1	43,1	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-metilimidazo[2,1- <i>b</i>][1,3]tiazol-2-carboxamidă
8	0,917	3	5,75	2	<i>N</i> -{1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidă, DIAST-1
9	0,254	4	0,970	4	<i>N</i> -{1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[ciclohexil(metoxi)acetil]-4-metil-L-leucinamidă, DIAST-2
10	0,056	4	2,09	4	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
11	0,297	3	4,78	4	<i>N</i> ² -[(4-brom-1-etil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)carbonil]- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil-L-leucinamidă
12	0,539	3	6,33	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[(3,3-difluorociclobutil)acetil]-4-metil-L-leucinamidă
13	0,003	6	0,075	18	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
					<i>N</i> -(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
14	0,302	2	N.D, ¹		<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-5,5,5-trifluor-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
15	0,002	1	0,360	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-7-fluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
16	0,018	2	>2,53	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5-fluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
17	0,053	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-3-fluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
18	0,019	2	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5,7-difluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
19	0,208	2	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-3,5-difluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
20	0,005	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-7-fluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
21	N.D.	N.D.	>3,17	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5-fluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
22	0,066	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-fluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
23	0,021	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5,7-difluor-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
24	1,93	2	6,30	6	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>N</i> ² -{[2-(trifluorometil)-1,3-tiazol-4-il]carbonil}- <i>L</i> -leucinamidă
25	N.D.		37	2	<i>N</i> -{1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -(ciclohexilcarbonil)-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă, DIAST-1
26	N.D.		>100	1	<i>N</i> -{1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -(ciclohexilcarbonil)-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă, DIAST-2

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
27	4,50	2	44,9	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>N</i> ² -[(propan-2-iloxi)acetil]- <i>L</i> -leucinamidă
28	1,79	2	7,26	4	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[(ciclohexiloxi)acetil]-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
29	2,23	2	28,1	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>N</i> ² -(4,4,4-trifluor-3-metilbutanoil)- <i>L</i> -leucinamidă
30	>10,8	1	9,37	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[(2 <i>S</i>)-2-(dimetilamino)-2-phenilacetil]-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
31	0,606	3	40,7	2	<i>N</i> ² -[(<i>trans</i> -4-cianociclohexil)carbonil]- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă sau <i>N</i> ² -[(<i>trans</i> -4-cianociclohexil)carbonil]- <i>N</i> -{(1 <i>R</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
32	0,690	3	4,90	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[2-(ciclohexiloxi)propanoil]-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă sau <i>N</i> -{(1 <i>R</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[2-(ciclohexiloxi)propanoil]-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
33	0,068	2	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
					oxopentan-2-il]-4-hidroxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
34	0,074	2	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5-hidroxi-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
35	0,176	3	3,56	4	<i>N</i> ² -[(4-clor-1,3-dimetil-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)carbonil]- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
36	0,241	4	1,03	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -[(2 <i>R</i>)-2-(dimetilamino)-2-phenilacetil]-4-metil- <i>L</i> -leucinamidă
37	0,168	1	>3,33	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
38	0,023	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
39	0,111	1	>3,33	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3,7-bis(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
40	0,131	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3,5-bis (trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
41	0,104	1	>0,333	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3,6-bis (trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă ²
42	>0,356	1	>0,333	1	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -{(2 <i>R</i>)-2-(dimetilamino)-2-[3-(trifluorometil)fenil]acetil}-4-metil-L-leucinamidă
43	>0,356	1	>0,333	1	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>N</i> ² -{(2 <i>R</i>)-2-(dimetilamino)-2-[4-(trifluorometil)fenil]acetil}-4-metil-L-leucinamidă
44	0,302	2	5,88	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-6-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
45	0,227	2	6,42	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-6-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K_i (μM)	Calcul folosit K_i (μM)	Media geome- trică EC_{50} (μM)	Calcul folosit EC_{50} (μM)	Denumire IUPAC
46	0,283	1	>3,33	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3,7-bis(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
47	>0,359	1	>3,33	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3,6,7-tris(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
48	>0,359	1	>3,33	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-3,5,7-tris(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
49	0,083	3	2,68	2	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-(trifluorometoxi)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
50	0,147	3	3,95	1	<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-(trifluorometoxi)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
51	0,192	3	N.D.		<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-5-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
52	0,032	3	N.D.		7-clor- <i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
53	0,025	3	N.D.		<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-metil-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
54	0,049	3	N.D.		6-clor- <i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
55	0,104	3	N.D.		4-clor- <i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
56	0,151	3	N.D.		5-clor- <i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
57	0,052	3	N.D.		<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-7-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
58	0,091	3	N.D.		4,6-diclor- <i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
59	0,152	3	N.D.		<i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
60	0,261	3	N.D.		<i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-5-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
61	0,034	3	N.D.		7-clor- <i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
62	0,029	3	N.D.		<i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-7-metil-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
63	0,122	3	N.D.		6-clor- <i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
64	0,038	3	N.D.		4-clor- <i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
65	0,117	3	N.D.		5-clor- <i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
66	0,073	3	N.D.		<i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-7-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
67	0,041	3	N.D.		4,6-diclor- <i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
68	0,092	3	N.D.		<i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-(trifluorometil)-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
69	0,083	1	>2,67	2	<i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-3-metil-5-(trifluorometil)imidazo[2,1- <i>b</i>][1,3]tiazol-2-carboxamidă
70	6,95	2	4,09	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>N</i> ² -{[5-metil-2-(trifluorometil)-1,3-tiazol-4-il]carbonil}- <i>L</i> -leucinamidă
71	0,254	3	4,99	2	<i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-metil- <i>N</i> ² -{[4-metil-2-(trifluorometil)-1,3-tiazol-5-il]carbonil}- <i>L</i> -leucinamidă
72	0,173	3	1,35	2	<i>N</i> ² -[(4-brom-1-etil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)carbonil]- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>L</i> -leucinamidă
73	0,226	3	2,03	2	<i>N</i> ² -[(4-clor-1,3-dimetil-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)carbonil]- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}- <i>L</i> -leucinamidă
74	>0,356	1	>3,33	1	3-acetil- <i>N</i> [(2 <i>S</i>)-1-({(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-1 <i>H</i> -indol-2-carboxamidă
75	0,017	2	0,551	4	Diastereomer 1: (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-terț-butil- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{ <i>N</i> -[(trifluorometil)sulfonil]- <i>L</i> -

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
					valil}piperidin-2-carboxamidă sau (2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-terț-butil- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{ <i>N</i> -[(trifluorometil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă
76	>8,16	2	>100	1	Diastereomer 2: (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-terț-butil- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{ <i>N</i> -[(trifluorometil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă sau (2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-terț-butil- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-1-{ <i>N</i> -[(trifluorometil)sulfonil]-L-valil}piperidin-2-carboxamidă
77	0,004	2	0,085	4	3-metil- <i>N</i> -(trifluoroacetil)-L-valil-(4 <i>R</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluorometil)-L-prolinamidă
78	0,005	3	2,74	2	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil- <i>N</i> -(metilcarbamoil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
79	0,001	4	0,080	4	{(2 <i>S</i>)-1-[(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-2-[(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}carbamoil)-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-il]-3,3-dimetil-1-oxobutan-2-il}carbamate de metil
80	0,037	2	0,158	3	<i>N</i> -(trifluoroacetil)-L-valil-(4 <i>R</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-4-(trifluorometil)-L-prolinamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
81	0,003	2	0,690	3	(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3R)-5-hidroxi-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
82	0,139	1	N.D.	N.D.	(1R,2S,5S,6R)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
83	0,092	1	N.D.	N.D.	(1R,2S,5S,6S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6-(hidroximetil)-6-metil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
84	0,003	1	N.D.	N.D.	(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-(hidroximetil)-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-6,6-dimetil-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
85	0,004	1	0,334	2	(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3R)-2,5-dioxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
86	0,018	2	0,237	2	(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[5,5,5-trifluor-2-(2,2,2-trifluoroacetamido)pentanoil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
87	0,021	2	0,230	2	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[(2 <i>S</i>)-2-ciclohexil-2-[[trifluorometil)sulfonil]amino]acetil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
88	0,006	2	0,050	4	Diastereomerul care eluează primul: (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-ciclobutil- <i>N</i> -(trifluoroacetil)- <i>L</i> -alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-ciclobutil- <i>N</i> -(trifluoroacetil)- <i>D</i> -alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
89	0,007	3	0,040	4	Diastereomerul care eluează al doilea: (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-ciclobutil- <i>N</i> -(trifluoroacetil)- <i>L</i> -alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă sau (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-3-[3-ciclobutil- <i>N</i> -(trifluoroacetil)- <i>D</i> -alanil]-6,6-dimetil-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
90	0,015	2	0,571	2	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)- <i>N</i> -{(1 <i>S</i>)-1-ciano-2-[(3 <i>S</i>)-2-oxopirolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-(piridin-2-il)- <i>N</i> -(trifluoroacetil)- <i>L</i> -alanil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă

Numărul exem- plului	Media geome- trică K _i (μM)	Calcul folosit K _i (μM)	Media geome- trică EC ₅₀ (μM)	Calcul folosit EC ₅₀ (μM)	Denumire IUPAC
91	0,007	2	0,011	2	(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-{N-[(4-fluorophenoxi)acetil]-3-metil-L-valil}-6,6-dimetil-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
92	0,004	2	0,019	4	3-metil-N-[(4-metilfenil)acetil]-L-valil-(4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-(trifluorometil)-L-prolinamidă
93	0,014	2	0,882	2	(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-(1H-pirazol-1-il)-N-(trifluoroacetil)-L-alanil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
94	0,011	2	0,379	2	(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-3-[(2S)-4,4-difluor-2-(2,2,2-trifluoroacetamido)butanil]-6,6-dimetil-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
95	0,003	2	0,098	4	N-(metoxicarbonil)-3-metil-L-valil-(4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-4-(trifluorometil)-L-prolinamidă
96	0,844	1	9,190	2	(1R,2S,5S)-N-[(1R)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoroacetil)-L-valil]-3-azabicciclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă
97	0,011	5	0,082	16	(1R,2S,5S)-N-[(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirolidin-3-il]etil]-6,6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoroacetamido)-3-(trifluorometil)]

Numărul exem- plului	Media geome- trică K_i (μM)	Calcul folosit K_i (μM)	Media geome- trică EC_{50} (μM)	Calcul folosit EC_{50} (μM)	Denumire IUPAC
					pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, din C86 (DIAS-2)
98	0,188	1	1,738	2	(1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-((3S)-2-oxopirrolidin-3-il)etil)-6, 6-dimetil-3-[2-(2,2,2-trifluoroacetamido)-3-(trifluorometil)pentanoil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă, din C85 (DIAS-1)

1. Nedeterminat.

2. Regiochimia din Exemplul 41 nu a fost determinată riguros; alte structuri posibile pentru acest exemplu sunt *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)amino]-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-5,6-bis(trifluorometil)-1*H*-indol-2-carboxamidă și *N*-[(2S)-1-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)amino]-4,4-dimetil-1-oxopentan-2-il]-4-metoxi-6,7-bis(trifluorometil)-1*H*-indol-2-carboxamidă .

Parametrii farmacocinetici estimați ai (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidei (compusul din Exemplul 13) pe baza modelării farmacocinetice fiziologice (PBPK) la oameni, in vitro, a datelor care încorporează CL_{int} din microzomi hepatici umani și $\text{CL}_{\text{bilă}}$ din hepatocite umane în condiții de cultură tip sandwich, CL și V_{ss} de (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă estimate din plasma umană sunt 5,9 ml/min/kg și, respectiv, 0,97 L/kg, obținându-se un timp de înjumătățire efectiv, $t_{1/2}$, de 1,9 ore. O țintă C_{eff} de 0,16 μM (concentrație plasmatică nelegată) a fost definită pe baza datelor de inhibare antivirală obținute din *in vitro* studii ale (1R,2S,5S)-N-((1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil)-6,6-dimetil-3-[3-metil-*N*-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo [3.1.0]hexan-2-carboxamidei, fie cu celule VeroE6 în prezența unui inhibitor de P-gp (valoare EC_{90} de 0,156 μM), fie într-un test de celule epiteliale bronșice umane normale diferențiate (dNHBE)

(valoare EC_{90} de 0,149 μM). O doză de 380 mg de (1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-ciano-2-[(3S)-2-oxopirrolidin-3-il]etil}-6,6-dimetil-3-[3-metil-N-(trifluoracetil)-L-valil]-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-2-carboxamidă administrată oral de trei ori pe zi (TID) este proiectată să acopere concentrația eficientă nelegată de 0,16 μM la C_{min} .