I870909

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I870909 B**

(45)公告日： 中華民國 114 (2025) 年 01 月 21 日

(21)申請案號：112124204 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 06 月 29 日

(51)Int. Cl.： *A61K31/40 (2006.01)* *A61K31/16 (2006.01)*
C07D207/16 (2006.01) *A61P31/12 (2006.01)*

(30)優先權：2022/06/30 美國 63/367,365

(71)申請人：美商輝瑞大藥廠 (美國) PFIZER INC. (US)
美國

(72)發明人：艾爾萊斯　克里斯多夫　菲利浦 ALLAIS, CHRISTOPHE PHILIPPE (FR)；後補後補 DO, NGA MY (US)；庫爾卡尼　薩米爾　艾修克 KULKARNI, SAMIR ASHOK (US)；派雷斯　大衛　威廉 PLACE, DAVID WILLIAM (US)；雷甘　約翰　安東尼 RAGAN, JOHN ANTHONY (US)；林肯　艾瑪　雷格 RINCON, EMMA LEIGH (US)；維克利　洛德尼　馬修 WEEKLY, RODNEY MATTHEW (US)

(74)代理人：陳長文；蔣大中；朱淑尹

(56)參考文獻：

TW 202334123A CN 114409727A

WO 2021/250648A1

審查人員：蔡榮哲

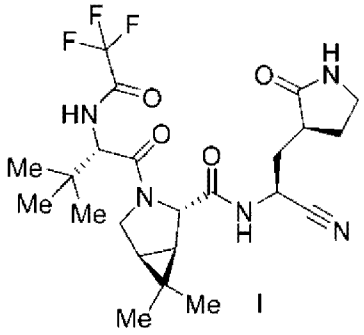
申請專利範圍項數：32 項 圖式數：15 共 90 頁

(54)名稱

用於製備奈瑪特韋(NIRMATRELVIR)之方法及中間體

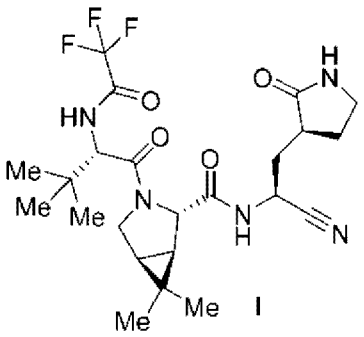
(57)摘要

本發明係關於用於製備奈瑪特韋(nirmatrelvir)(式 I 化合物)



之中間物及高效方法，以及用於製備奈瑪特韋之中間物。

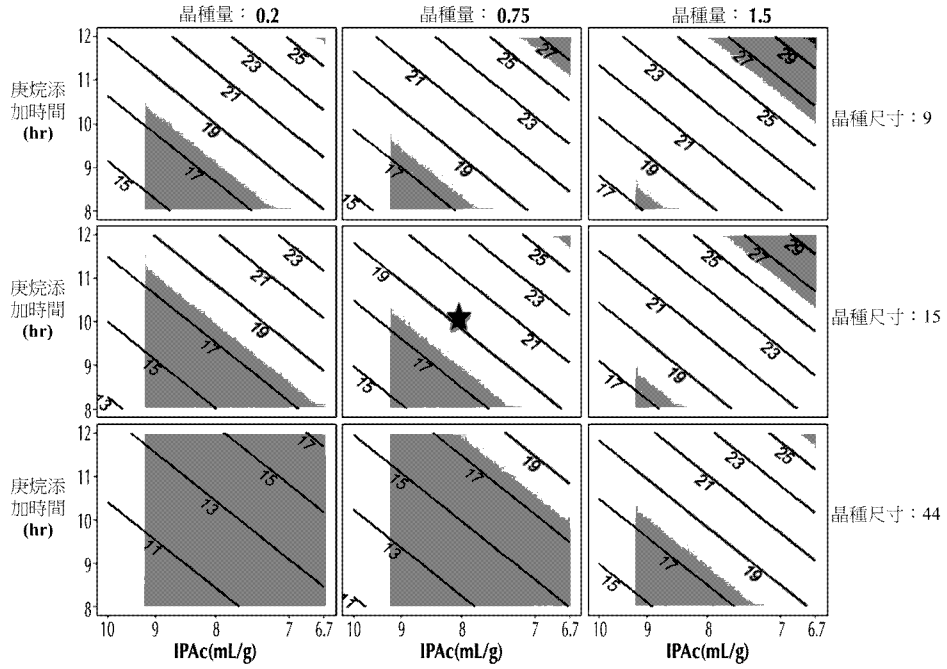
The present invention is directed to intermediates and an efficient process for preparing nirmatrelvir (compound of Formula I)



I

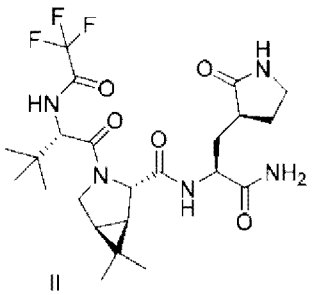
and intermediates useful in the preparation of nirmatrelvir.

指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：



II

公告本

I870909

【發明摘要】

【中文發明名稱】

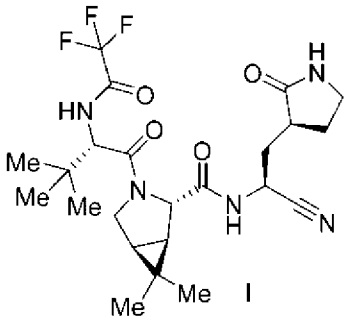
用於製備奈瑪特韋(NIRMATRELVIR)之方法及中間體

【英文發明名稱】

PROCESS AND INTERMEDIATES USEFUL FOR PREPARING NIRMATRELVIR

【中文】

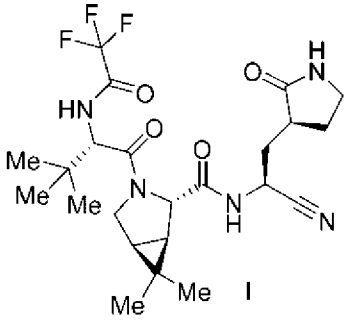
本發明係關於用於製備奈瑪特韋(nirmatrelvir)(式I化合物)



之中間物及高效方法，以及用於製備奈瑪特韋之中間物。

【英文】

The present invention is directed to intermediates and an efficient process for preparing nirmatrelvir (compound of Formula I)



and intermediates useful in the preparation of nirmatrelvir.

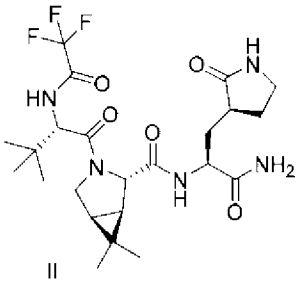
【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



II

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於製備奈瑪特韋(NIRMATRELVIR)之方法及中間體

【英文發明名稱】

PROCESS AND INTERMEDIATES USEFUL FOR PREPARING NIRMATRELVIR

【技術領域】

【0001】 本發明係關於用於製備奈瑪特韋之中間物及高效方法以及用於製備奈瑪特韋之中間物。

【先前技術】

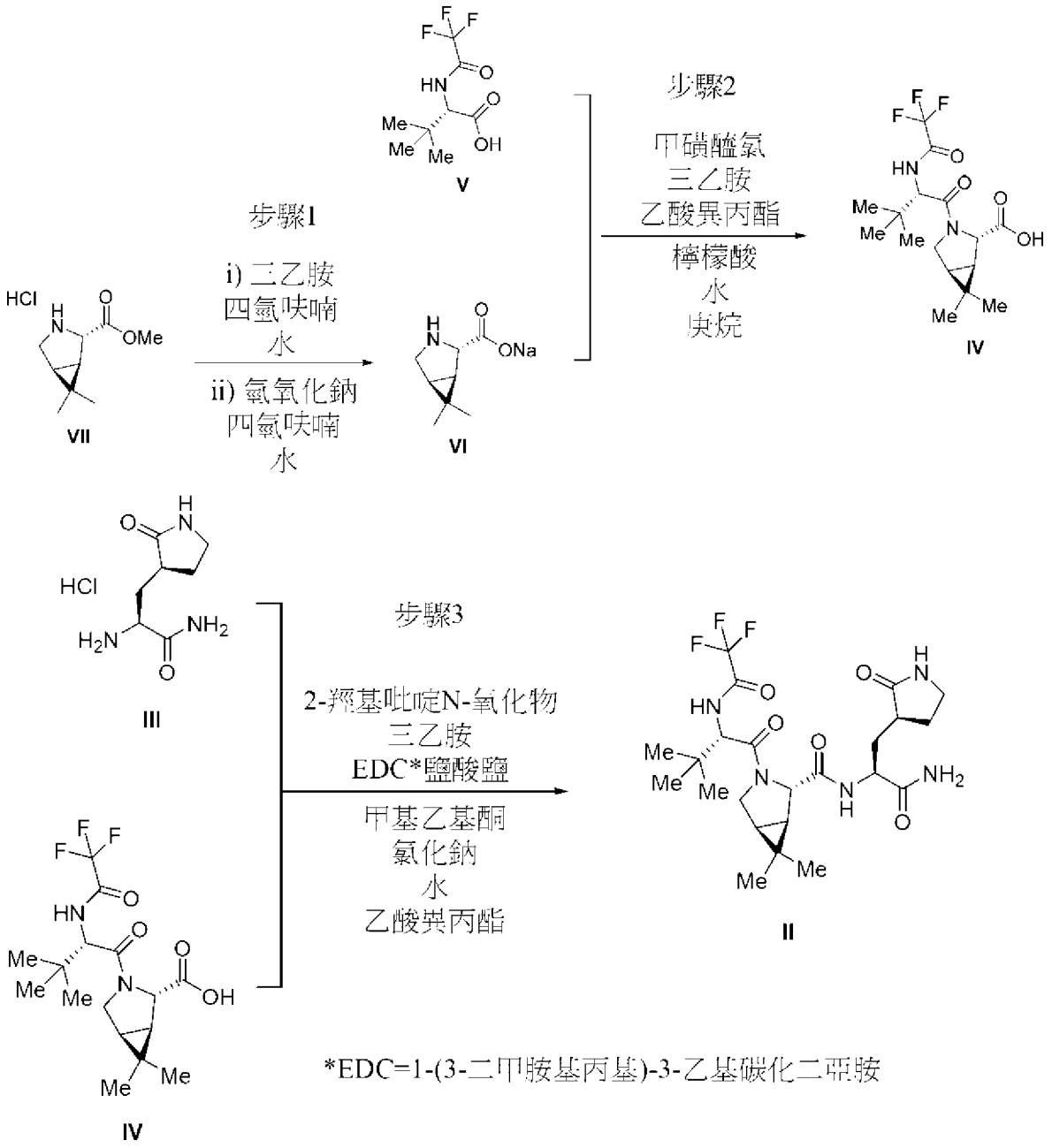
【0002】 奈瑪特韋係對冠狀病毒3CL蛋白酶具有強抑制活性之抗病毒化合物且為已經授權用於治療COVID-19之產品Paxlovid®中之活性成分。奈瑪特韋及其製備方法已揭示於PCT國際專利申請案WO 2021/250648及美國專利申請公開案2022/0062232 A1及美國專利第11,351,149號中。

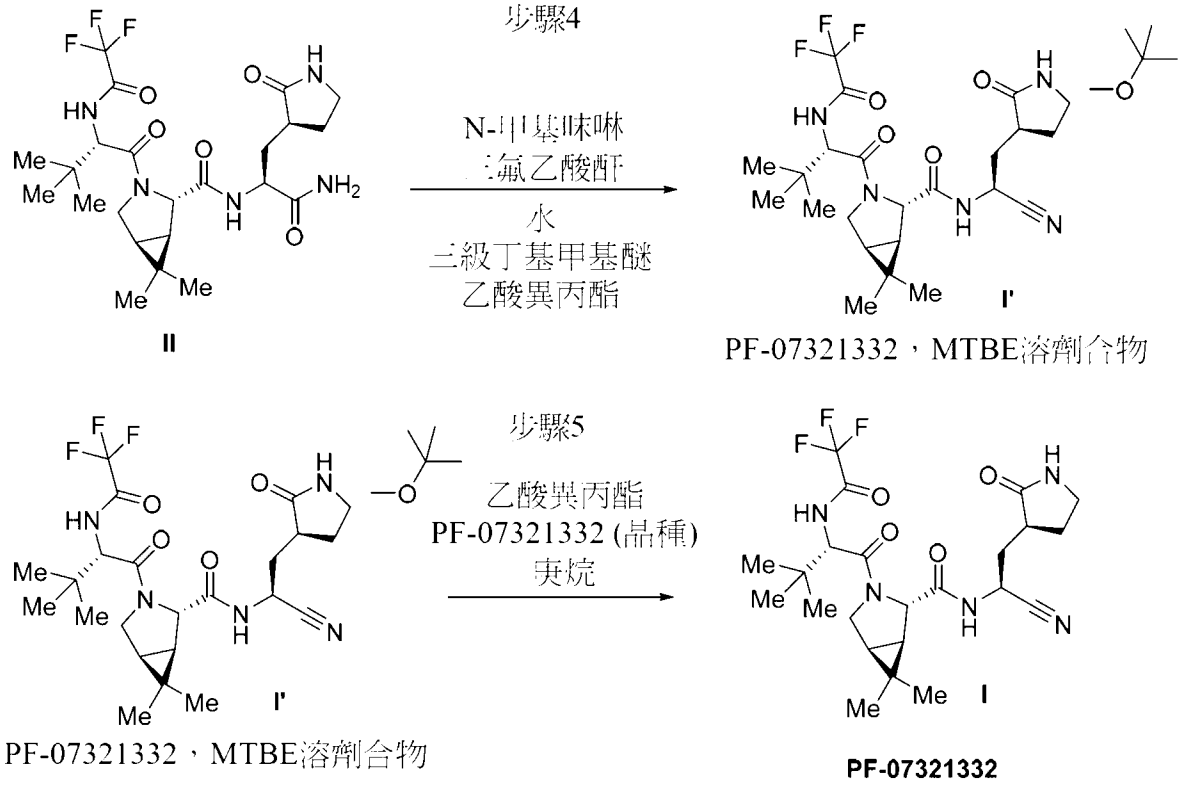
【發明內容】

【0003】 本發明提供用於製備奈瑪特韋之中間物及製備中間物之合成方法，其描述於反應流程1中且與先前揭示之方法相比包含若干方法改進。反應流程1中之步驟1之產物為(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，其相較於先前方法為一種新的鹽形式(鈉置換鋰)，且步驟2及步驟3反應條件經改進。提供該方法中所用之若干起始材料及中間物的額外固態形式表徵資料。提供一種製備及分離(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基

-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮(MEK)溶劑合物之方法以及該化合物之表徵資料。

反應流程1





【圖式簡單說明】

【0004】

圖1：含API (PF-07321332，MTBE溶劑合物)之乙酸異丙酯之初始濃度(mL/g)、庚烷添加時間(小時)、晶種負載量(PF-07321332 wt%，形式1/PF-07321332 MTBE溶劑合物之wt)與基於PF-07321332，形式1之粒徑分佈(PSD)的最終D[v, 0.5] (微米)計數之晶種尺寸(微米)之間的關係。

圖2：在實驗室規模(100 mL)實驗中具有0.75 wt%晶種負載量(藍色圓圈)及0.5 wt%晶種負載量(橙色圓圈)的PF-07321332，形式1在結晶之後的晶種尺寸與最終粒徑分佈之間的相關性。

圖3：針對PF-07321332，形式1獲得之粒徑分佈(PSD)，其展示一個位置處超過50批次之D[v, 0.5] (微米)。

圖4：針對PF-07321332，形式1獲得之粒徑分佈(PSD)，其展示一個位置處超過50批次之D[v, 0.5] (微米)。

圖5：(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V之PXRD圖。

圖6：(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽；化合物VII之PXRD圖。

圖7：(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI，初始形式之PXRD圖。

圖8：(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，形式B之PXRD圖。

圖9：(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，材料A之PXRD圖。

圖10：(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，形式1之PXRD圖。

圖11：(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，新形式之PXRD圖。

圖12：(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式1之PXRD圖。

圖13：(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式2之PXRD圖。

圖14：(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮溶劑合物之PXRD圖。

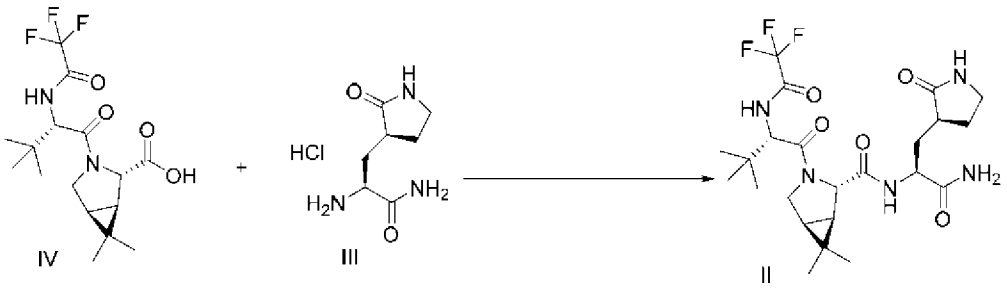
圖15：PF-07321332乙酸異丙酯溶劑合物之PXRD圖。

【實施方式】

【0005】 以下實施例EMB-1至EMB-32為本發明之代表性實施例，其應以非限制性方式解釋。

【0006】 EMB-1為化合物(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮溶劑合物。

【0007】 EMB-2為製備(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之方法



使式IV化合物與式III化合物反應之方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV及甲基乙基酮組合，隨後添加2-羥基吡啶N-氧化物及三乙胺，得到第一混合物，S3-M1；

(b) 將(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III、1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽及甲基乙基酮組合，得到第二混合物S3-M2；

(c) 將來自步驟(a)之第一混合物S3-M1與來自步驟(b)之第二混合物S3-M2組合，得到第三混合物S3-M3；及

(d) 攪拌來自步驟(c)之第三混合物S3-M3，得到化合物(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II。

【0008】 EMB-3即為EMB-2之方法，其中在步驟(a)中，第一混合物S3-M1包含1.0當量之(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV、2L甲基乙基酮/kg化合物IV、0.9當量之2-羥基吡啶N-氧化物及2.50當量之三乙胺。

【0009】 EMB-4即為EMB-2或EMB-3之方法，其中在步驟(a)中，第一混合物S3-M1在約25℃下製備且在約25℃下攪拌約30分鐘且接著升溫至約50℃。

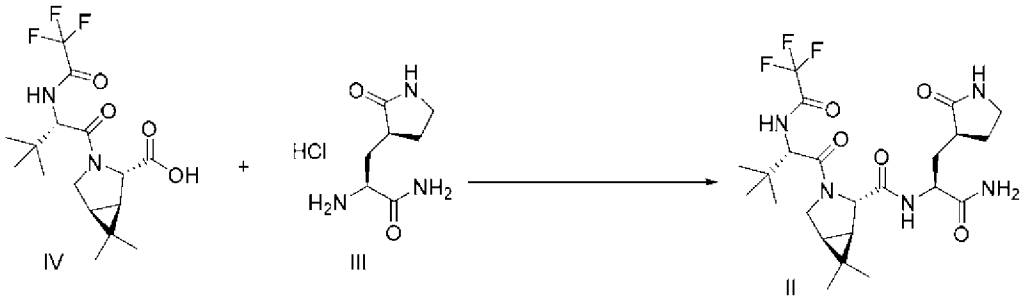
【0010】 EMB-5即為EMB-2至EMB-4中之任一方法，其中在步驟(b)中，第二混合物S3-M2包含1.05當量(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III、1.30當量1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽及3L甲基乙基酮/kg化合物IV。

【0011】 EMB-6即為EMB-2至EMB-5中之任一方法，其中在步驟(b)中，第二混合物S3-M2在約25℃下製備且在約25℃下攪拌30分鐘且接著升溫至約50℃。

【0012】 EMB-7即為EMB-2至EMB-6中之任一方法，其中在步驟(c)中，來自步驟(a)之第一混合物S3-M1為約50℃，且與來自步驟(b)之約50℃之第二混合物S3-M2組合，得到第三混合物S3-M3，同時維持該第三混合物S3-M3之溫度為約50℃。

【0013】 EMB-8即為EMB-2至EMB-7中之任一方法，其中在步驟(d)中，來自步驟(c)之第三混合物S3-M2在約50℃下攪拌至少6小時。

【0014】 EMB-9為用於製備(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之方法，



使式IV化合物與式III化合物反應之方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV (1.0當量)及甲基乙基酮(2 L/kg化合物IV)在約25℃下組合，隨後添加2-羥基吡啶N-氧化物(0.90當量)及三乙胺(2.50當量)，得到第一混合物S3-M1，將該混合物攪拌約30分鐘且接著升溫至約50℃；

(b) 將(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III (1.05當量)、1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽(1.30當量)及甲基乙基酮(3 L/kg化合物IV)組合，得到第二混合物S3-M2，將該混合物攪拌約30分鐘且接著升溫至約50℃；

(c) 將來自步驟(a)之第一混合物S3-M1與來自步驟(b)之第二混合物S3-M2組合，同時維持溫度為約50℃，得到第三混合物S3-M3；及

(d) 將來自步驟(c)之第三混合物S3-M3在約50℃下攪拌至少6小

時，得到化合物(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II。

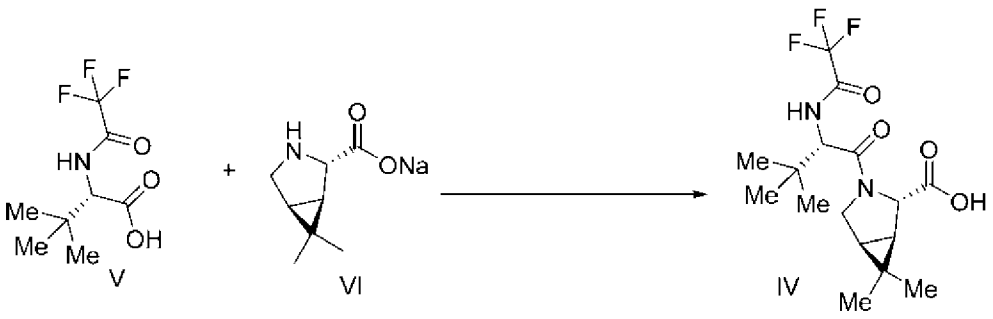
【0015】 EMB-10即為EMB-9之方法，其中所形成之醯基脲雜質IMP-S3-3，(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺及IMP-S3-4，(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之量不超過10%。

【0016】 EMB-11即為EMB-9之方法，其中所形成之醯基脲雜質IMP-S3-3，(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺及IMP-S3-4，(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之量不超過5%。

【0017】 EMB-12即為EMB-9至EMB-11中之任一方法，其中所形成之重排雜質IMP-S3-3，(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺之量不超過2%。

【0018】 EMB-13即為EMB-9至EMB-11中之任一方法，其中所形成之重排雜質IMP-S3-4，(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之量不超過2%。

【0019】 EMB-14為用於製備(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV之方法



使式V化合物與式VI化合物反應之方法包含步驟(a)至(c)：

(a)　將(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸(化合物V)、甲磺醯氯及乙酸異丙酯組合，得到第一混合物S2-M1；

(b)　將三乙胺添加至第一混合物S2-M1中，得到第二混合物S2-M2；

(c)　將(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI添加至第二混合物S2-M2中，得到第三混合物S2-M3；及

(d)　攪拌第三混合物S2-M3，得到(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV。

【0020】 EMB-15即為EMB-14之方法，其中在步驟(a)中，第一混合物S2-M1包含1.2當量(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V、1.1當量甲磺醯氯及20 mL乙酸異丙酯/g化合物V。

【0021】 EMB-16即為EMB-14或EMB-15之方法，其中在步驟(b)中，將2.5當量三乙胺在約20℃下以使得溫度不超過25℃之速率添加至第一混合物S2-M1中，得到第二混合物S2-M2。

【0022】 EMB-17即為EMB-14至EMB-16中之任一方法，其中在步驟(c)中，將1.0當量(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI添加至第二混合物S2-M2中，得到第三混合物S2-M3，將該

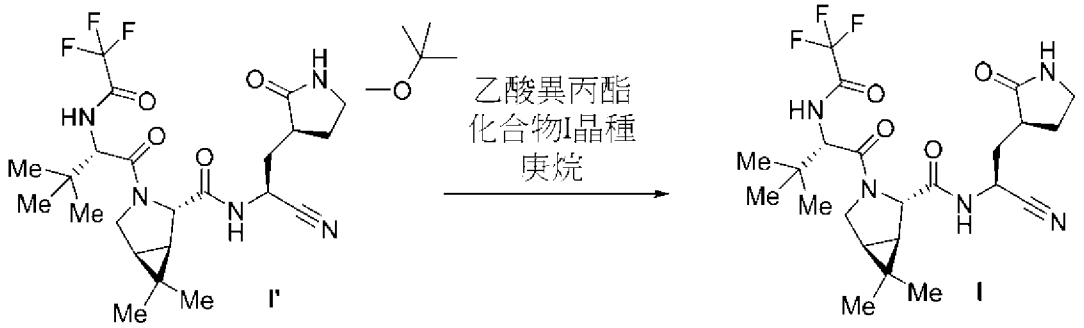
第三混合物攪拌約4小時。

【0023】 EMB-18即為EMB-17之方法，其中將2.5當量檸檬酸水溶液添加至第三混合物S2-M3中，且在約40℃下攪拌所得混合物至少10分鐘。

【0024】 EMB-19即為EMB-18之方法，其中使所得混合物之有機層及含水層沈降，且將乙酸異丙酯有機層自含水層分離，用水洗滌且濃縮至其初始體積之大約40%，得到有機層S2-M4。

【0025】 EMB-20即為EMB-19之方法，其中將有機層S2-M4加熱至60℃，且向其中添加一份體積庚烷，接著將所得混合物冷卻至10℃，攪拌3小時，且所得固體藉由過濾收集，用1:1乙酸異丙酯/庚烷洗滌且乾燥，得到(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，IV。

【0026】 EMB-21為製備(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1，化合物I之方法



該方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基三級丁基醚，化合物I'溶解於乙酸異丙酯中，

其中化合物I'於乙酸異丙酯中之濃度為約7 mL至約9 mL乙酸異丙酯/1公克化合物I'；

(b) 將0.5重量%至0.75重量%之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1接種至溶液中；

(c) 經6至15小時之時段將庚烷添加至來自步驟(b)之混合物中，其中所添加之庚烷之量為約10 mL至約14 mL庚烷/g化合物I'；及

(d) 分離所得(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1。

【0027】 EMB-22即為EMB-22之方法，其中用於步驟(a)中之乙酸異丙酯之量為約8 mL乙酸異丙酯/g化合物I'。

【0028】 EMB-23即為EMB-21或EMB-22之方法，其中用於在步驟(b)中接種溶液之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1之量為約0.75 w%。

【0029】 EMB-24即為EMB-21至EMB-23中之任一方法，其中步驟(c)中所添加之庚烷之量為約12 mL/g化合物I'。

【0030】 EMB-25即為EMB-21至EMB-24中之任一方法，其中經約10小時之時段添加庚烷。

【0031】 EMB-26即為EMB-21至EMB-25中之任一方法，其中(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲

醯胺，形式1係藉由過濾分離。

【0032】 EMB-27即為EMB-21至EMB-26中之任一方法，其中步驟(d)中所分離之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1具有約12微米至約18微米之D[v, 0.5]計數的粒徑分佈。

【0033】 EMB-28即為EMB-21至EMB-27中之任一方法，其中步驟(d)中所分離之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1具有約14微米至約16微米之D[v, 0.5]計數的粒徑分佈。

【0034】 EMB-29即為EMB-21至EMB-28中之任一方法，其中步驟(d)中所分離之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1具有約15微米之D[v, 0.5]計數的粒徑分佈。

【0035】 EMB-30為化合物(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，乙酸異丙酯溶劑合物。

【0036】 EMB-31即為EMB-30之化合物，其中該化合物為結晶。

【0037】 EMB-32即為EMB-31之化合物，其藉由如圖15所描繪之PXRD圖表徵。

【0038】

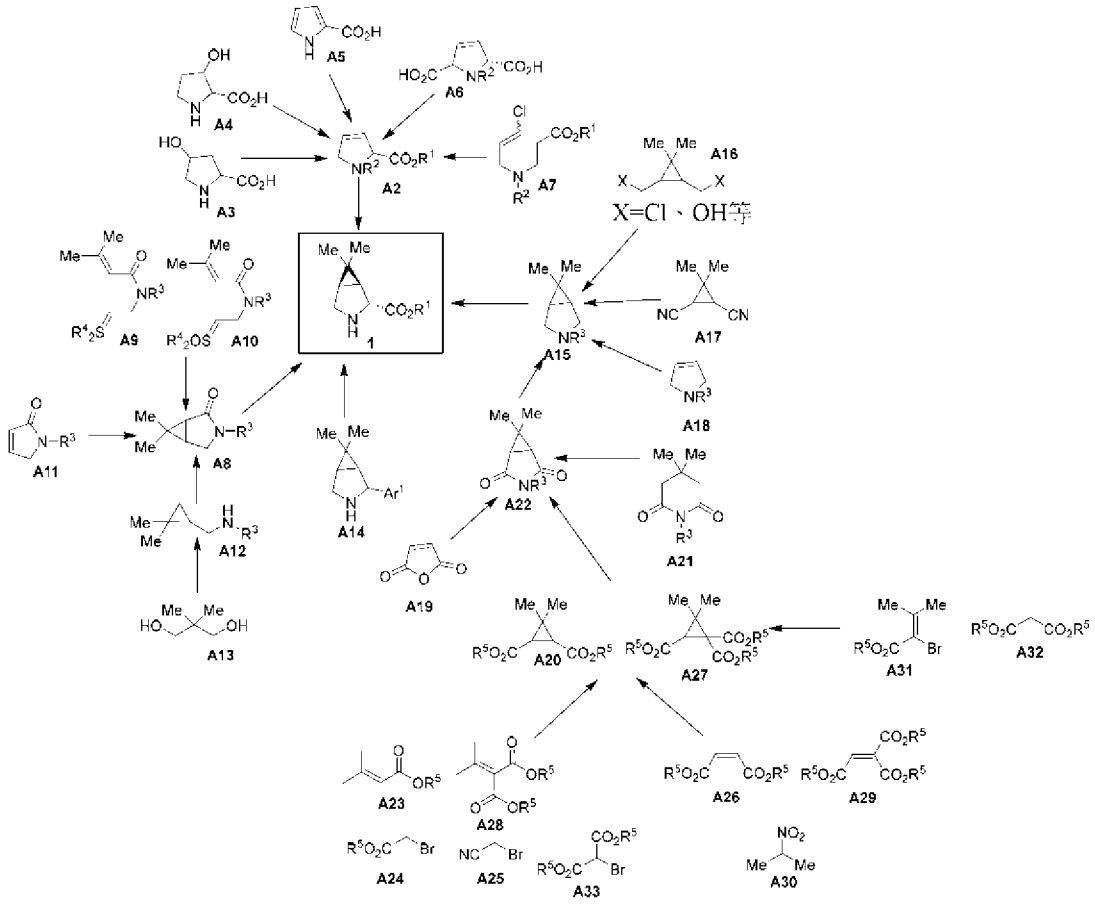
製備起始材料及中間物

用於製備式1之中間化合物的合成途徑提供於反應流程A及B中且用於製備式2化合物之合成途徑提供於反應流程C、D及E中。

【0039】 式1化合物可藉由如下文所描述及反應流程A及B中所描繪之以下方法製備。對於式1化合物，應理解，當R^1為甲基且化合物呈其鹽酸鹽形式時，化合物為(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽，在反應流程1中其亦稱為化合物VII。

【0040】

反應流程A



在反應流程A中，變數R^1、R^4及R^5表示烷基，包括但不限於甲基、乙基及異丙基。變數Ar^1表示芳基，包括但不限於2-甲氧基苯基。R^2及R^3表示熟習此項技術者熟知之胺保護基。(參見例如Wuts, P. G. M; Greene, T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 第4版; John

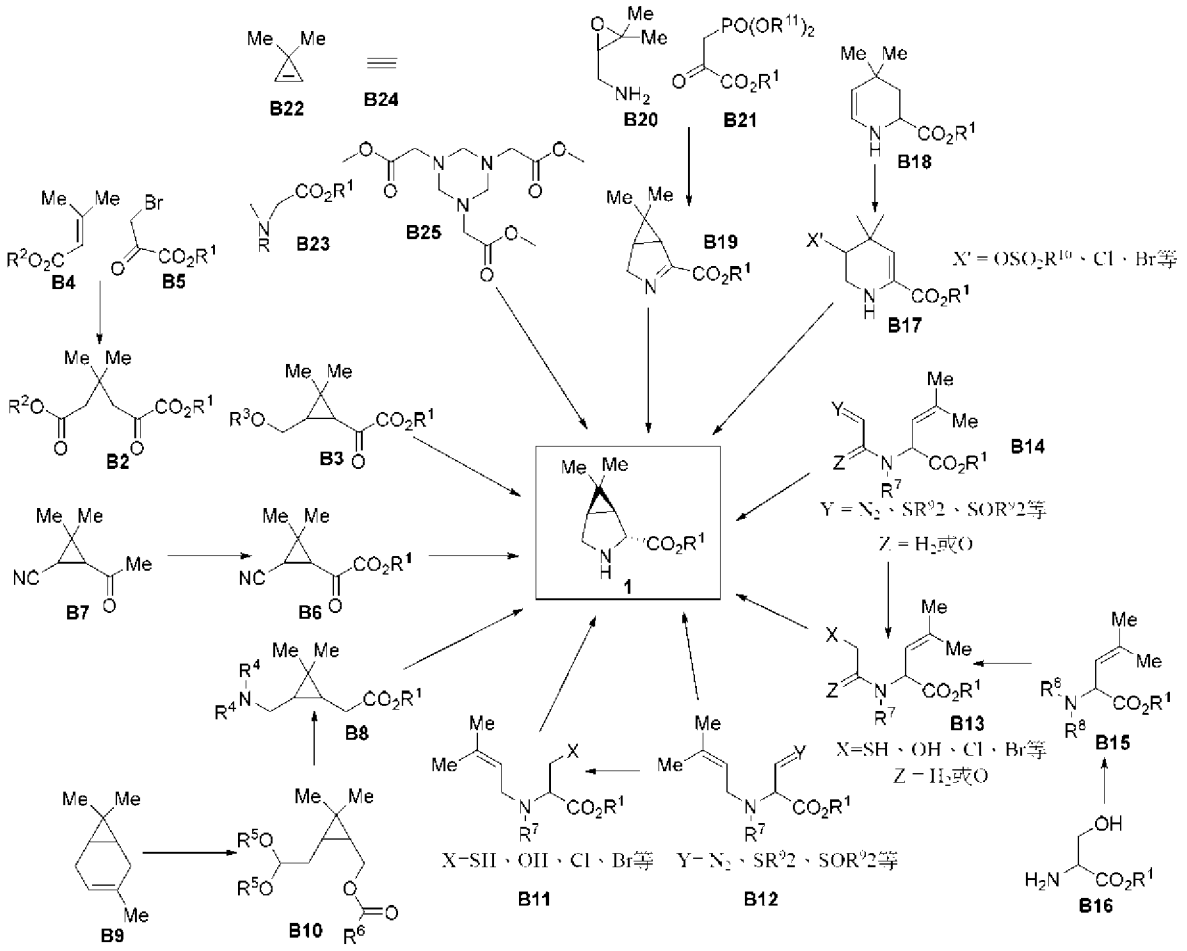
Wiley & Sons公司, 2006)。

【0041】 式1化合物可由A2環丙烷化隨後脫除保護基來製備。可藉由與試劑(包括但不限於甲苯磺醯氯、甲磺醯氯、三氟甲磺酸酐及碘化鈉)反應將A3或A4化合物之羥基轉化為活化基團，隨後用鹼消除，得到化合物A2，來從A3或A4製備化合物A2。R^1基團可在此步驟之前(亦即藉由用R^1置換A3或A4中之羧酸基團之氫)或之後使用熟習此項技術者熟知之方法來安裝。A2亦可藉由吡咯A5之還原或A6之脫羧基化來製備。A2亦可藉由A7在包括但不限於金屬催化之α乙烯基化之條件下的分子間環化來製備。

【0042】 式1化合物亦可由A8經由轉化(包括但不限於醯胺還原為亞胺，隨後氰化及酯化)進行官能化來製備。此等轉化可能需要化學或酶催化劑。A8可經由A9或A10之分子內環丙烷化、藉由A11之環丙烷化或藉由A12 (A12可由A13製備)之金屬催化之羰基化C-H官能化來形成。式1化合物可由A14氧化成羧酸隨後酯化來製備。轉化可能需要金屬催化劑。式1化合物可經由A15藉由轉化(包括但不限於用有機金屬試劑金屬化，隨後羧化及硼基化，隨後羧化)進行官能化來製備。A15可由包括但不限於以下之反應來製備：A16與胺源偶合、A17之還原及環化、A18之環丙烷化或A22之還原。A22可藉由A19之環丙烷化及胺解、A20之胺解及環化、A27之胺解、環化及脫羧基化或A21之氧化縮環來合成。A20或A27可由A23或A28與A24、A25或A33在二烷基硫化物存在下反應或由A26或A29與環丙烷化試劑(包括但不限於A30)發生環丙烷化來形成。A27亦可藉由A31與A32在鹼存在下進行反應來製備。

【0043】

反應流程B



【0044】 在反應流程B中，變數R^1、R^2、R^3、R^5、R^6、R^9及R^{10}表示烷基或芳基，包括但不限於甲基、乙基、異丙基及甲苯基。變數R^4、R^7及R^8表示熟習此項技術者熟知之胺保護基。

【0045】 式1化合物可藉由B2及B3與氨源在化學或酶催化劑及還原劑存在下進行環化來製備。必要時，所得產物可經受另一還原反應。B2可藉由B4與B5之偶合來製備。

【0046】 式1化合物可由B6在還原條件下在化學或酶催化劑存在下進行環化來製備。B6可由B7在熟習此項技術者熟知之條件下來製備。B8可以在鹼存在下用氯化試劑處理以形成式1化合物。B8亦可由B9經由B10藉由轉化(包括但不限於臭氧分解)來製備。

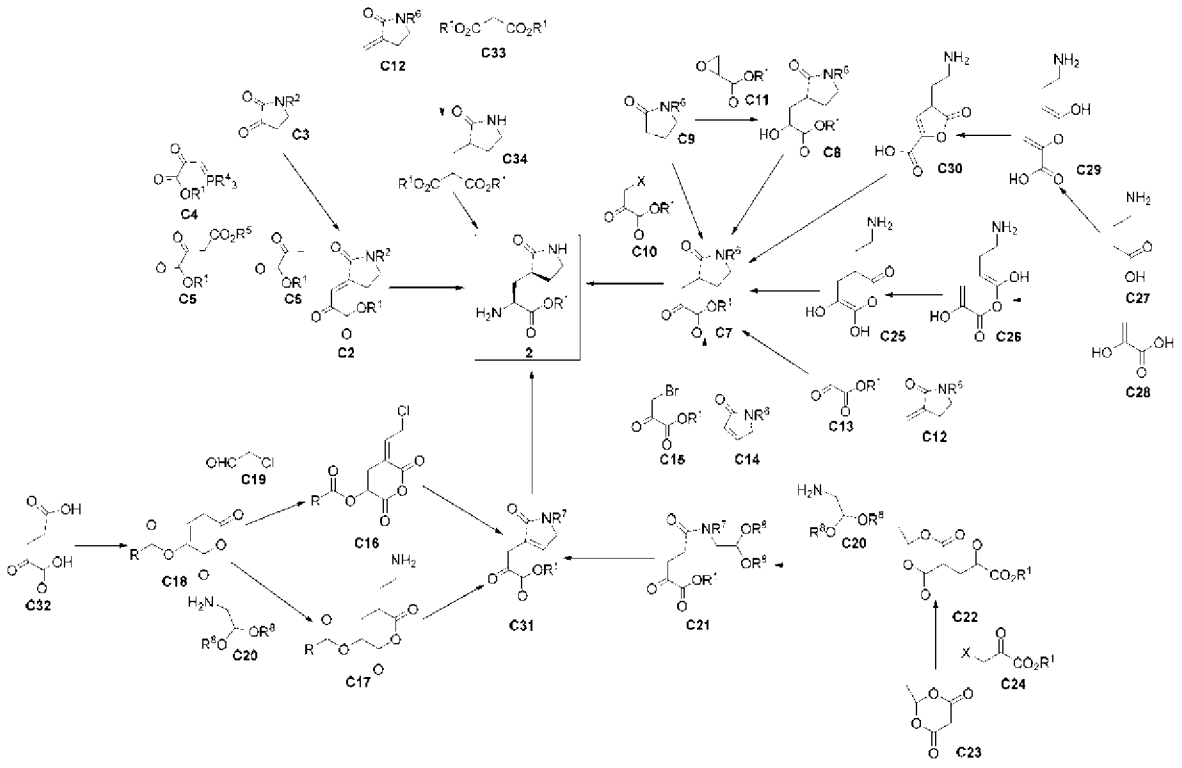
【0047】 式1化合物可由B11、B12、B13或B14之分子內環丙烷化

製備。此環丙烷化反應可能需要化學及/或酶催化劑且所得產物可能需要還原以形成式1化合物。B12可由B11製備且B14可由B13製備。B16可進行氧化及烯化以形成B15，接著可在熟習此項技術者熟知之條件下轉化成B13。式1化合物亦可在還原條件下由B17形成分子內碳-碳鍵來製備，且B17可由B18之官能化(亦即，用雙鍵重排引入基團OSO_2R^{10}、Cl、Br等)來形成。B20與B21可在鹼存在下反應形成B19，其接著可在化學物質及/或酶催化劑存在下還原成式1化合物。B22或B24可與衍生自B23或B25之甲亞胺葉立德(azomethine ylides)反應形成式1或A2之化合物，且接著A2可經環丙烷化形成式1化合物。

【0048】 式2化合物可藉由流程C、D及E中所描述之以下方法合成。

【0049】

反應流程C



【0050】 在流程C中，變數R^1、R^4、R^5及R^8表示烷基或芳基，包括

但不限於甲基、乙基、異丙基及甲苯基。變數R^2、R^6及R^7表示熟習此項技術者熟知之胺保護基。

【0051】 式2化合物可藉由化合物C2之轉化、藉由酮部分之還原胺化及C2之烯酮部分之還原來製備。此轉化可能需要化學或酶催化劑。化合物C2可由包括但不限於以下之反應來製備：化合物C3與化合物C4之維蒂希反應(Wittig reaction)或化合物C3與化合物C5或C6之醇醛反應，隨後必要時在熟習此項技術者熟知之條件下進行脫羧基化。化合物C12可與C33在鹼存在下反應形成C34。C34可在化學或酶催化劑存在下經歷酯之立體選擇性水解(去對稱，接著其中R^1中之一者為氫)。所得酸部分可與氮源反應得到醯胺，接著可在Curtius、Lossen或Hofmann重排條件下反應得到化合物2。

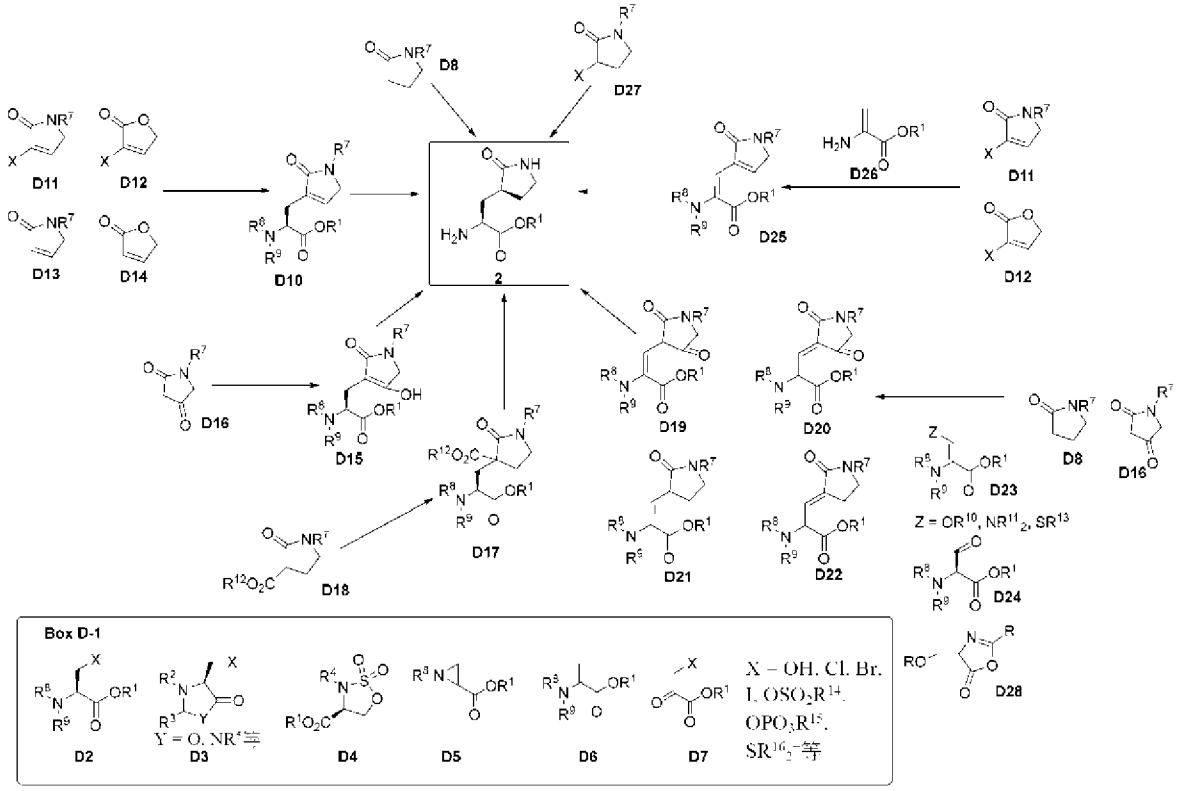
【0052】 式2化合物亦可藉由化合物C7之還原胺化來製備，且此轉化可能需要化學或酶催化劑。化合物C7可由以下製備：化合物C9與化合物C10之烷化或化合物C9與化合物C11之烷化，接著所得產物C8進行氧化。此轉化可能需要化學或酶催化劑。化合物C7亦可由化合物C12與化合物C13在噻唑鎓鹽存在下反應或化合物C14與化合物C15在諸如三級胺及膦之催化劑存在下反應來製備。化合物C7亦可由以下來製備：C27與C28進行偶合形成C26或C29，隨後經由C25或C30重排。

【0053】 式2化合物亦可藉由化合物C31之轉化、藉由酮部分之還原胺化及C31之烯酮部分之還原來製備。此轉化可能需要化學或酶催化劑。化合物C31可在氨存在下由C16來製備或在酸或鹼存在下由C17來製備。化合物C16及C17可由化合物C18分別與C19或C20在熟習此項技術者熟知之條件下反應來製備。化合物C18可由化合物C32在包括但不限於乙酸酐

之試劑存在下來製備。化合物C31亦可在涉及酸或鹼之條件下由化合物C21來製備。化合物C21可由以下來製備：C23與C24進行烷基化，隨後與C20反應及脫羧基化。

【0054】

反應流程D



【0055】在反應流程D中，變數R^1、R^3、R^{10}、R^{13}、R^{14}、R^{15}及R^{16}表示烷基或芳基，包括但不限於甲基、乙基、異丙基及甲苯基。變數R^2、R^4、R^5、R^7、R^8、R^9及R^{11}表示熟習此項技術者熟知之胺保護基。

【0056】式2化合物可藉由化合物D8與包括但不限於化合物D2、D3、D4、D5、D6及D7之搭配物進行反應來製備。轉化可能需要包括但不限於化學或酶催化劑及酸或鹼之組分。熟習此項技術者應瞭解，由此等轉化得到之產物可能需要進一步轉化。舉例而言，由D8與D7之烷基化得到之產物可能需要在化學催化劑或酶存在下進行還原胺化。

【0057】 式2化合物可藉由以下來製備：在酶或化學催化劑存在下還原化合物D10，隨後在必要時脫除保護基。化合物D10可藉由以下來製備：化合物D11或D12與D2、D3或D7在作為化學計量試劑之金屬催化劑及鋅或其他金屬存在下反應，隨後進行其他轉化，諸如胺解、還原胺化及/或脫除保護基。化合物D10亦可藉由以下來製備：D13或D14與D2、D3或D7在金屬或有機催化劑存在下反應，隨後進行其他轉化，諸如胺解、還原胺化及/或脫除保護基。

【0058】 式2化合物可藉由化合物D15之還原來製備。此轉化可能需要化學或酶催化劑。D15可藉由以下來製備：D16與D2、D3、D4、D5、D6或D7在化學催化劑、酶及/或鹼存在下反應，隨後進行其他轉化，諸如還原胺化，及/或脫除保護基。式2化合物可藉由化合物D17在催化劑存在或不存在下脫羧基化來製備。接著，化合物D17可藉由D18與D2、D3、D4、D5、D6或D7在化學催化劑、酶及/或鹼存在下反應，隨後進行其他轉化，諸如還原胺化，及/或脫除保護基來製備。

【0059】 式2化合物可藉由化合物D19、D20、D21或D22之還原來製備。此轉化可能需要化學或酶催化劑。D19及D20可藉由D16與D23或D24在酸或鹼存在下反應來製備。D21及D22可藉由D8與D23或D24在酸或鹼存在下反應來製備。或者，D8或D16可在鹼存在下與D28反應，隨後與R^1OH發生醇解，產生D19、D20、D21或D22。

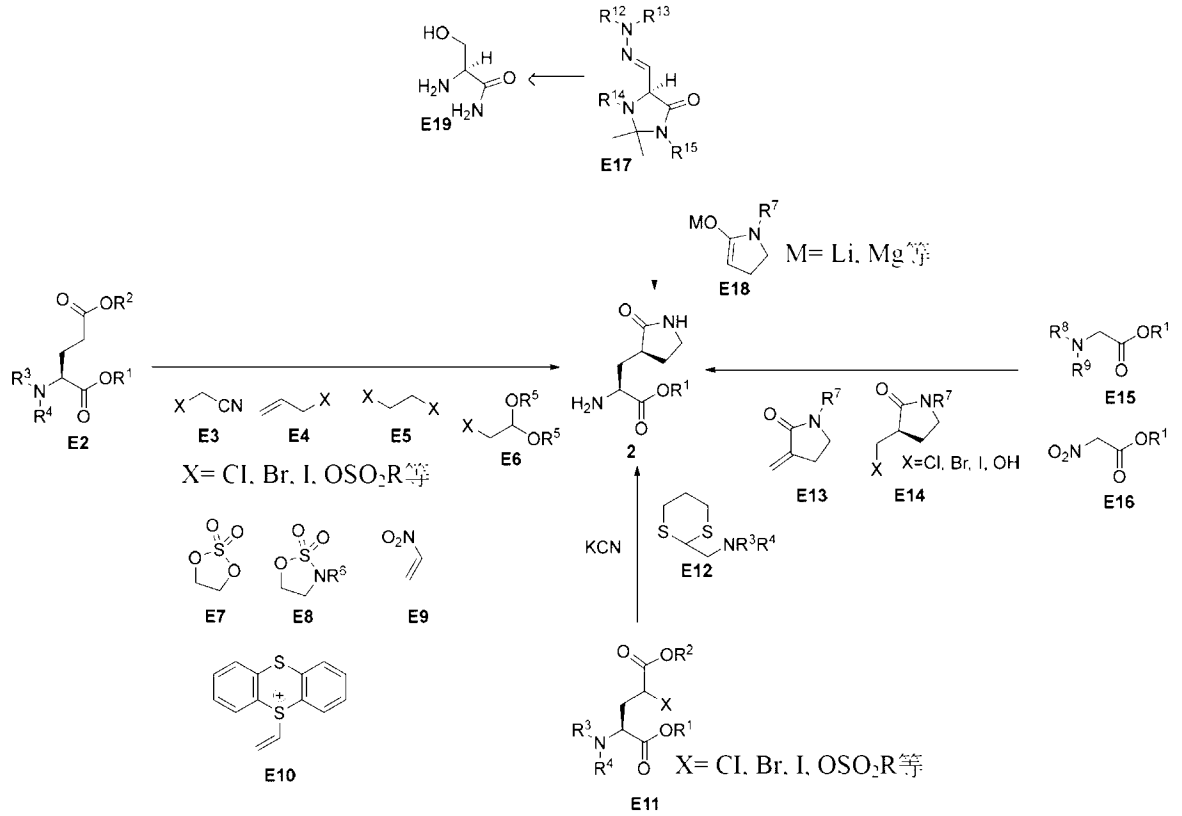
【0060】 式2化合物可藉由化合物D25之還原來製備。此轉化可能需要化學或酶催化劑。化合物D25可藉由以下來製備：D11與D26在金屬催化劑存在下反應或D12與D26在金屬催化劑存在下反應，隨後進行胺解。

【0061】 式2化合物可藉由以下來製備：化合物D27與化合物D2、

D3、D4、D5、D6或D7在包括但不限於鋅及錳之還原劑及金屬催化劑存在下反應，隨後進行其他轉化，包括但不限於脫除保護基及還原胺化。

【0062】

反應流程E



【0063】 在流程E中，R^1、R^2、R^5及R^{16}基團為烷基或芳基，包括但不限於甲基、乙基、異丙基及甲苯基。R^3、R^4、R^6、R^7、R^8、R^9、R^{12}、R^{13}、R^{14}、R^{15}及R^{17}基團為熟習此項技術者熟知之保護基。[1]

【0064】 *N*-保護之麩胺酸酯E2可與鹼反應，且所得陰離子可與包括但不限於E3、E4、E5、E6、E7、E8、E9及E10之試劑反應。接著，所得產物可藉由使用熟習此項技術者熟知之方法轉化為2。

【0065】 *N*-保護之麩胺酸酯E20可與鹼反應，且所得產物可與包括但不限於E3、E4、E5、E6、E7、E8、E9及E10之試劑反應。烷基化可為或可不為立體選擇性的。所得產物可在化學或酶催化劑(諸如轉胺酶)存在

下進行還原胺化。接著，所得產物可藉由使用熟習此項技術者熟知之方法轉化為2。

【0066】 E2可經由醯胺化轉化為E23。接著，E23可與鹼反應得到化合物2。

【0067】 化合物2可藉由E24之重排及脫除保護基(在必要時)來製備。E24可藉由以下來製備：將氰化物添加至E25，隨後進行烯烴及腈還原或E26之還原及脫除保護基。E25或E26可在熟習此項技術者熟知之條件下由E27來製備。

【0068】 E28或E29可在熟習此項技術者熟知之條件下轉化為化合物2。舉例而言，E28可在化學或酶催化劑，諸如但不限於烯醇還原酶存在下經受烯烴還原條件，隨後可在化學或酶催化劑存在下進行酯之皂化、不對稱脫羧基化及腈之還原，得到E30。或者，E29可在化學及酶催化劑存在下經歷烯烴及氰基之還原，得到E30。接著對E30進行分子內環化，在必要時脫除保護基之後可產生化合物2。

【0069】 化合物2可藉由包括但不限於用*N*-鹵基丁二醯亞胺鹵化及酶催化鹵化之方法轉化為化合物E11。接著，化合物E11可與包括但不限於E12及KCN之試劑反應。接著，所得產物可藉由使用熟習此項技術者熟知之方法轉化為2。

【0070】 化合物E15或E16可與諸如E13或E14之試劑在鹼及/或對掌性催化劑存在下反應形成1。

【0071】 化合物E22可經受熟習此項技術者所熟知之斯特雷克反應(Strecker reaction)條件來製備E21，隨後可在熟習此項技術者熟知之條件下轉化成1。E21之合成可以立體選擇性方式進行；除此以外，自E21至1

之轉化可經由酶催化解析或動態動力學不對稱轉化進行。

【0072】 化合物2可藉由以下來製備：E17及E18進行反應，隨後在必要時脫除保護基。E17可經由熟習此項技術者熟知之方法由E19製備。

【0073】

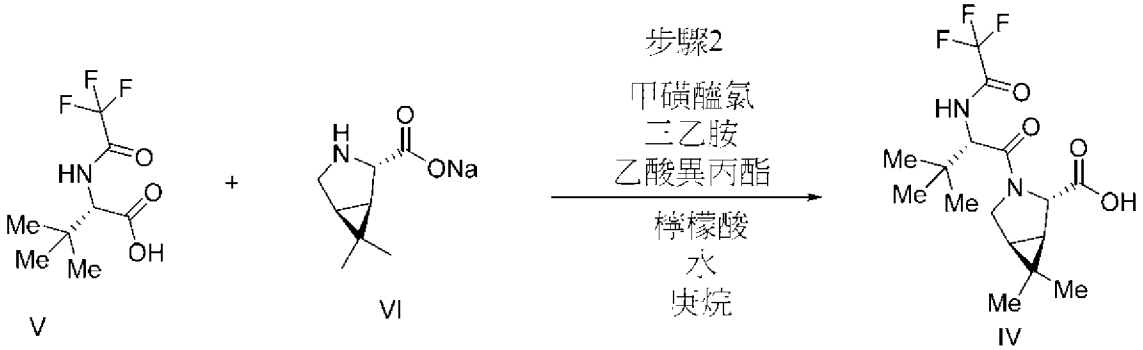
製備奈瑪特韋之方法

在反應流程1之步驟2中，發現在某些反應條件下會形成雜質，諸如(S)-N,N-二乙基-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯胺(表示為二乙基醯胺雜質，IMP-S2-1)、(1R,2S,5S)-3-((R)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸(表示為差向異構體雜質，IMP-S2-2)及N-((S)-1-((1R,2S,5S)-2-((1R,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-3-羰基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己-3-基)-3,3-二甲基-1-側氧基丁-2-基)-2,2,2-三氟乙醯胺(表示為雙醯胺雜質，IMP-S2-3)(參見以下反應流程)。有利的是，本發明使此等非所需雜質之形成降至最少。(S)-N,N-二乙基-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯胺，IMP-S2-1之形成機制尚不明確，但與反應中使用之三乙胺(TEA)中存在的二乙胺無關。當在三乙胺存在下將甲磺醯氯添加至(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V之混合物中時，或在反應中使用大量過量三乙胺(3.0當量對比2.5當量之TEA)時，觀測到二乙基醯胺雜質之形成。在此兩種情況下，在添加三乙胺之前，藉由將甲磺醯氯添加至含式V化合物之乙酸異丙酯中，可將二乙基醯胺雜質及雙醯胺雜質之量降至最低。亦發現使用甲磺醯氯及TEA係有利的，因為當在醯胺化反應中使用彼等試劑時發生極少差向異構化。因此，本發明具有顯著的優點，因為所主張之步驟2之方法藉由控制向反應混合物中添加甲烷磺醯氯之順序，將非所需二乙基

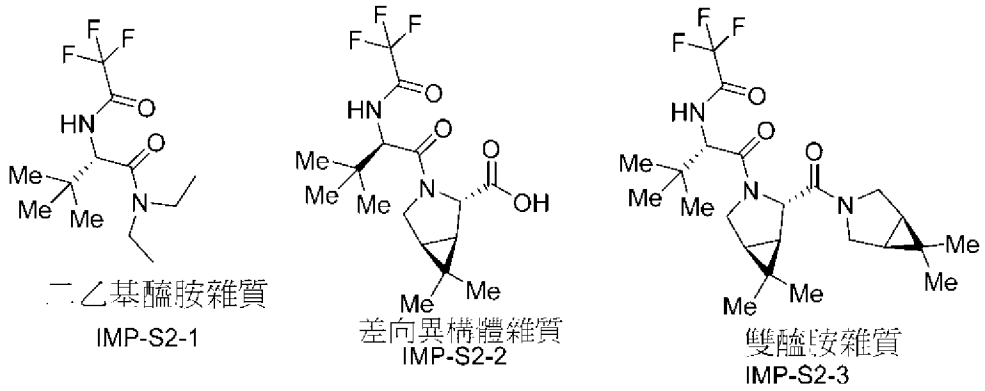
醯胺及雙醯胺雜質IMP-S2-1及IMP-S2-3之形成降至最低，且亦藉由控制三乙胺鹼之用量，將所形成之差向異構化產物IMP-S2-2之量降至最低。

【0074】

具有可能的雜質的反應流程1之步驟2



步驟2反應中可能形成的雜質：

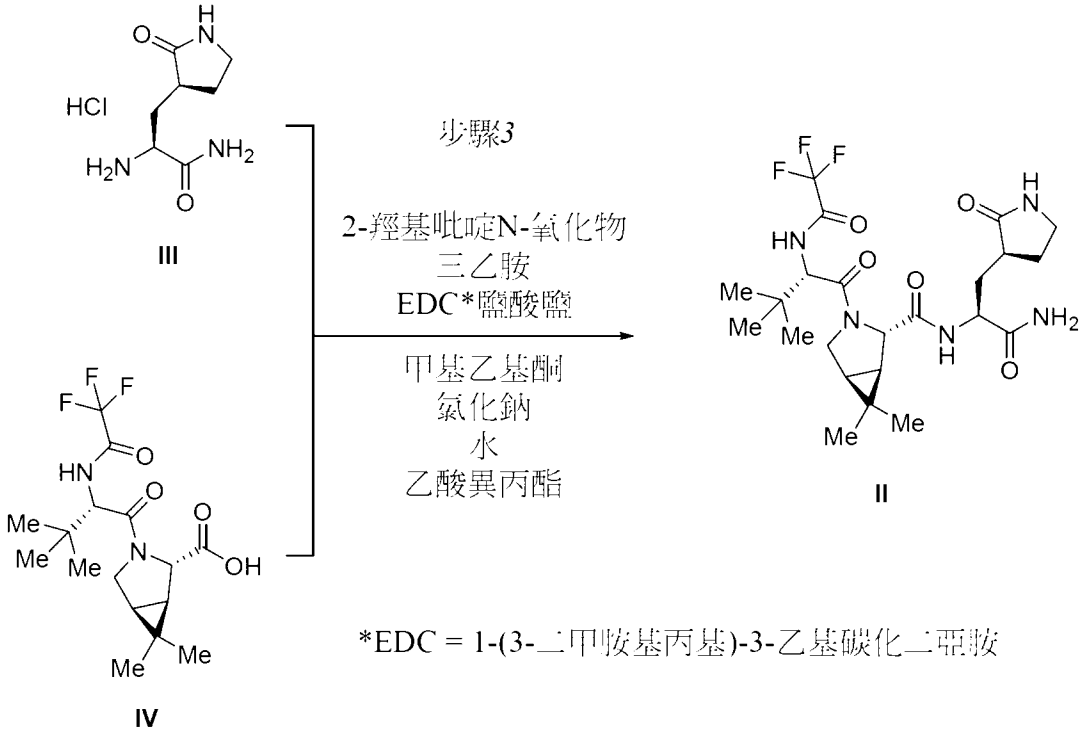


【0075】 在反應流程1方法之步驟3中，發現在某些反應條件下，可形成醯基脲雜質以及重排相關雜質。步驟3中可能形成的醯基脲雜質之結構在下文以IMP-S3-1及IMP-S3-2描繪。IMP-S3-1為(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-N-(3-(二甲胺基)丙基)-N-(乙基胺甲醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺及IMP-S3-2為(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-N-((3-(二甲胺基)丙基)胺甲醯基)-N-乙基-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺。在某些反應條件下，發現(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙烯醯胺可進行重排反應來形成重排雜質IMP-S3-3，其可進一步在步驟3

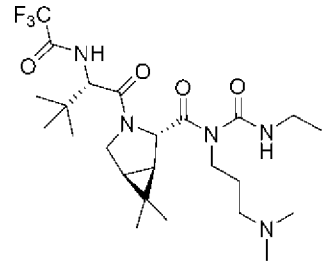
醯胺化反應條件下反應來形成稱為IMP-S3-4之其他雜質。IMP-S3-3為(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺及IMP-S3-4為(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺。需要將所形成之IMP-S3-4之量降至最低以避免進一步攜帶此雜質及進行步驟4反應條件下之後續反應，其中IMP-S3-4之內醯胺環上的醯胺基部分可轉化為腈部分，形成雜質IMP-S4-1，即(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-氰基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺。

【0076】

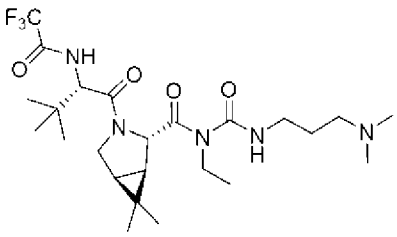
步驟3與反應流程1之步驟3及步驟4中所形成之可能的雜質反應



步驟3中形成之醯基脲雜質

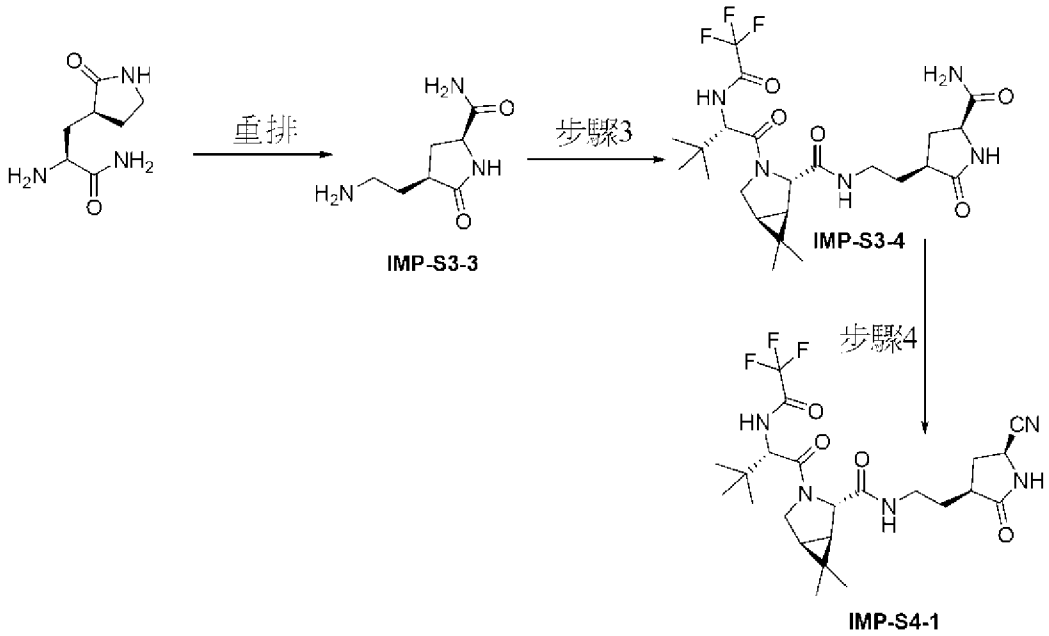


IMP-S3-1



IMP-S3-2

步驟3之重排副產物及步驟3及步驟4中形成之產物



IMP-S3-3

IMP-S3-4

IMP-S4-1

在步驟3中，發現使用未重結晶之(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III或重結晶之(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III對醯基脲雜質IMP-S3-1及IMP-S3-2之量有影響，如以下表:步驟3反應條件之第4行所示。當在50℃之雙反應器裝置中使用非重結晶之(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III時，形成不超過5%之醯基脲雜質IMP-S3-1及IMP-S3-2，形成不超過2%之重排雜質IMP-S3-3，反應動力學良好(反應約2小時後，剩餘之起始化合物IV小於3%)。當在50℃之雙反應器裝置中使用重結晶之(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III

時，形成不超過10%之醯基脲雜質IMP-S3-1及IMP-S3-2，形成不超過2%之重排雜質IMP-S3-3，反應動力學良好(反應約6小時後，剩餘之起始化合物IV小於3%)。雙反應器製程在50℃下進行時，反應動力學良好，同時可能形成之醯基脲及重排雜質之含量亦維持在相對較低水平。初始製程條件(下表第2列)之反應動力學低於期望(16小時或60-100小時反應時間，取決於所採用的化合物III之類型)，而在50℃下進行的單反應器製程則會導致形成大量的重排雜質(參見表之第3列，形成不少於50%或不少於40%之重排雜質)。

表：步驟3反應條件

程序	反應器數目	用於步驟3之化合物III之類型	形成之醯基脲雜質IMP-S3-1及IMP-S3-2之百分比	反應動力學(達到不超過3%化合物IV之時間)	形成之重排雜質IMP-S3-3之百分比
起始製程 HOPO：0.75當量； TEA：1.5當量； 溫度：25℃	1個反應器	非重結晶	不超過2%	16小時	不超過1%
		重結晶	約20%	60-100小時	不超過2%
最佳化製程 HOPO：0.90當量； TEA：2.5當量； 溫度：50℃	1個反應器	非重結晶	不超過5%	約2小時	不超過50%
		重結晶	不超過10%	約6小時	不超過40%
最佳化製程 HOPO：0.90當量； TEA：2.5當量； 溫度：50℃	2個反應器	非重結晶	不超過5%	約2小時	不超過2%
		重結晶	不超過10%	約6小時	不超過2%

【0077】

步驟5：具有最佳粒徑控制之奈瑪特韋API結晶製程

PF-07321332無水形式1，化合物I之結晶使用PF-071332 MTBE溶劑合物，化合物I'於乙酸異丙酯溶劑中之溶液開始，隨後用無水形式1固體接種且添加庚烷作為反溶劑。此步驟對控制粒徑及多晶形式係重要的。因此，PF-07321332之結晶及分離為控制API物理特性以實現最佳藥品效能

之重要製程。

【0078】 API (PF-07321332 MTBE溶劑合物，化合物I')於乙酸異丙酯中之初始濃度、庚烷添加時間、晶種尺寸及晶種量對最終粒徑分佈具有可偵測的影響。使用Design Expert進行統計分析。使用主效應圖及等值線圖以圖形方式概括分析結果，以便直觀地顯示統計意義上的因素影響，且評估其實際重要性。圖1顯示API於乙酸異丙酯中之初始濃度(mL/g)、庚烷添加時間(小時)、晶種負載量(化合物I wt%，形式1/化合物I'，MTBE溶劑合物之wt)及晶種尺寸(微米)與粒徑分佈(PSD)之最終D[v, 0.5]計數(微米)之間的關係。

【0079】 結晶製程自小規模至大規模均能以穩定一致的方式進行。此外，目標粒徑經由直接結晶實現而無需進行結晶後研磨操作。該製程顯示依賴於晶種材料之尺寸的尺寸依賴性生長。為使對晶種尺寸之依賴性降至最低，調節晶種負載量及庚烷添加之持續時間。在所有規模中，晶種負載量在0.2重量%至1.5重量%之間最佳化，其中目標值為0.75重量%。在6小時至15小時範圍內，將庚烷添加之持續時間調節至10小時。此等變化有助於達成與進入的晶種粒徑無關之所需最終粒徑。該製程依賴於一級及二級凝核而非尺寸依賴性晶體生長。自不同規模獲得之資料顯示產生一致的粒徑，存在極少變化。其中晶種負載量為約0.75 wt%且歷時約10小時添加庚烷之製程提供穩定的奈瑪特韋生產，其中粒徑分佈得到良好控制。圖2顯示在實驗室規模(100 mL)實驗中具有0.75 wt%晶種負載量(藍色圓圈)及0.5 wt%晶種負載量(橙色圓圈)的API在結晶之後的晶種尺寸與最終粒徑分佈之間的相關性。圖3及圖4中所展示之批次歷史資料來自兩個不同的位置，顯示該製程能以穩定且一致的方式提供粒徑分佈，在各情況下均顯示

超過50個批次的D[v, 0.5]之PSD。發現個別批次之粒徑分佈一般具有在約12微米至約18微米範圍內之D[v, 0.5]、約14微米至約16微米範圍內之D[v, 0.5]，其中大部分具有約15微米之D[v, 0.5]。

【0080】

實驗程序

下文說明本發明之多種化合物之合成。本發明範疇內的其他化合物可使用此等實例中所說明的方法(單獨或與此項技術中通常已知的技術組合)製備。此等製備及實例中之所有起始材料均市售或可藉由此項技術中已知之方法或如本文所描述之方法製備。

【0081】 除非另外規定，否則所有反應均在氮氣或氬氣氛圍下使用連續攪拌進行。若適當，在動態真空下使用熱風槍乾燥反應設備，且使用無水溶劑(來自Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin之Sure-Seal™產品或來自EMD Chemicals, Gibbstown, NJ之DriSolv™ 產品)。在一些情況下，使市售溶劑穿過用4Å分子篩填充之管柱，直至獲得以下水之QC標準：a)對於二氯甲烷、甲苯、*N,N*-二甲基甲醯胺及四氫呋喃<100 ppm；b)對於甲醇、乙醇、1,4-二噁烷及二異丙胺<180 ppm。對於極敏感之反應，進一步用金屬鈉、氫化鈣或分子篩處理溶劑且在使用之前蒸餾。其他商業溶劑及試劑不經進一步純化即使用。關於其他實例或方法中之合成參考程序，反應條件(反應時間及溫度)可變化。通常在繼續進行進一步反應或之前在真空下乾燥產物。

【0082】 使用薄層層析(TLC)、液相層析-質譜(LCMS)、高效液相層析(HPLC)及/或氣相層析-質譜(GCMS)分析來監測反應進程。可在具有螢光指示劑(254 nm激發波長)之預塗佈矽膠盤上進行TLC，且在UV光及/

或I_2、$KMnO_4$、$CoCl_2$、磷鉬酸及/或鉬酸鈰銨染色劑下觀測。可在具有Leap Technologies自動取樣器、Gemini C18管柱、乙腈/水梯度及三氟乙酸、甲酸或氫氧化銨改質劑之Agilent 1100系列儀器上獲得LCMS資料。使用Waters ZQ質譜儀以100至1200 Da之正離子及負離子模式掃描來分析管柱溶離物。亦可使用其他類似儀器。一般在Agilent 1100系列儀器上使用指定管柱、乙腈/水梯度及三氟乙酸或氫氧化銨改質劑來獲得HPLC資料。使用具有HP 6890噴射器、HP-1管柱(12 m×0.2 mm×0.33 μm)及氦氣運載氣體之Hewlett Packard 6890烘箱獲取GCMS資料。在HP 5973質量選擇性偵測器上，使用電子電離掃描50 Da至550 Da來分析樣品。使用Isco CombiFlash Companion、AnaLogix IntelliFlash 280、Biotage SP1或Biotage Isolera One儀器及預裝填Isco RediSep或Biotage Snap二氧化矽濾筒，藉由中效液相層析(MPLC)進行純化。通常使用Berger或Thar儀器；諸如ChiralPAK-AD、ChiralPAK-AS、ChiralPAK-IC、Chiralcel-OD或Chiralcel-OJ管柱之管柱；及具有甲醇、乙醇、2-丙醇或乙腈之CO_2混合物(單獨或使用三氟乙酸或丙烷-2-胺改質)，藉由對掌性超臨界流體層析(SFC)進行對掌性純化。可使用UV偵測來觸發溶離份收集。對於其他實例或方法中之合成參考程序，純化可變化：一般而言，選擇用於溶離劑/梯度之溶劑及溶劑比率以提供適當R_f或滯留時間。

【0083】自LCMS分析報導質譜資料。經由大氣壓化學電離(APCI)、電噴霧電離(ESI)、電子衝擊電離(EI)或電子散射電離(ES)源來進行質譜分析(MS)。質子核磁光譜法(^{1}H NMR)化學位移以百萬分率之四甲基矽烷之低場逐份給出，且記錄於300、400、500或600 MHz Varian、Bruker或Jeol光譜儀上。化學位移參考氘化溶劑殘餘峰以百萬分率(ppm，

δ)表示(氯仿，7.26 ppm；CD_2HOD，3.31 ppm；乙腈-d_2，1.94 ppm；二甲亞碸-d_5，2.50 ppm；DHO，4.79 ppm)。峰形狀描述如下：s，單峰；d，二重峰；dd，雙二重峰；ddd，三-二重峰；dt，雙三重峰；t，三重峰；q，四重峰；qd，四-二重峰；quin，五重峰；m，多重峰；br s，寬單峰；app，表觀。一般在如上文所描述之Berger分析儀器上獲取分析型SFC資料。在PerkinElmer型343偏光計上使用1 dm單元獲取旋光資料。藉由Quantitative Technologies Inc.執行顯微分析，且其在所計算值之0.4%內。

【0084】 除非另外說明，否則在室溫(約23攝氏度)下執行化學反應。除非另外指出，否則所有反應物均市售獲得且不經進一步純化即使用，或使用文獻中已知的方法製備。

【0085】 術語「濃縮」、「蒸發」及「在真空中濃縮」係指在低於60℃之浴溫度下或在如所規定之溫度下，在減壓下在旋轉蒸發器上移除溶劑。縮寫「min」及「h」分別代表「分鐘」及「小時」。術語「TLC」係指薄層層析，「室溫或環境溫度」意謂18℃與25℃之間的溫度，「GCMS」係指氣相層析-質譜，「LCMS」係指液相層析-質譜，「UPLC」係指超高效液相層析，「HPLC」係指高效液相層析，且「SFC」係指超臨界流體層析。使用之其他縮寫包括：「℃」為攝氏度；「CO_2」為二氧化碳；「eq.」或「equiv.」為當量；「DMSO-d_6」為六氘代二甲亞碸；「g」為公克；「HCl」為氯化氫；「HOPO」為2-羥基吡啶-N-氧化物；「HRMS」為高解析度質譜；「Hz」為赫茲；「iPrOAc」為乙酸異丙酯；「K」為開爾文(Kelvin)；「kg」為公斤；「L」為公升；「M」為莫耳或莫耳濃度；「mbar」為毫巴；「MEK」為甲基乙基酮；

「MeOH」為甲醇；「MHz」為百萬赫；「mg」為毫克；「μg」為微克；「min」為分鐘；「mL」為毫升；「μL」為微升；「mm」為毫米；「mmol」為毫莫耳；「μmol」為微莫耳；「MTBE」為甲基三級丁基醚；「NaCl」為氯化鈉；「$NaHCO_3$」為碳酸氫鈉；「Na_2SO_4」為硫酸鈉；「PXRD」為粉末x射線繞射；及「THF」為四氫呋喃。

【0086】 可在特定溫度下或以其他指定方式，在加壓氫氣下於帕爾震盪器(Parr shaker)中，或在全氫氣下於Thales-nano H-Cube流動氫化設備中以1至2 mL/min的流動速率進行氫化。

【0087】 使用程序中所指出之方法量測HPLC、UPLC、LCMS、GCMS及SFC滯留時間。

【0088】 可使用偏光計量測鏡像異構體之旋光度。根據其所觀察之旋轉資料(或其特定旋轉資料)，順時針旋轉之鏡像異構體命名為(+)-鏡像異構體且逆時針旋轉之鏡像異構體命名為(-)-鏡像異構體。外消旋化合物藉由缺少繪製或描述之立體化學，或藉由存在鄰近於結構之(+/-)來指示；在此後一情況下，所指示立體化學僅表示構成外消旋混合物之兩種鏡像異構體中之一者。

【0089】 下文所述之化合物及中間物使用ACD/ChemSketch 2019.1.1，檔案版本C05H41，建置110712 (Advanced Chemistry Development公司，Toronto, Ontario, Canada)所提供之命名慣例或使用ChemDraw 18.0 (PerkinElmer® Informatics；perkinelmer.com)中之結構命名功能進行命名。由ACD/ChemSketch 2019.1.1或Chem Draw 18.0提供之命名慣例為熟習此項技術者所熟知，且咸信由ACD/ChemSketch 2019.1.1提供之命名慣例通常符合國際純粹與應用化學聯合會

(International Union for Pure and Applied Chemistry；IUPAC)關於有機化學命名法(Nomenclature of Organic Chemistry)及CAS索引規則之建議。

【0090】

固態形式表徵之通用方法

使用以下粉末X射線繞射方法獲得某些起始材料、中間物及產物之固體形式資料。

【0091】

粉末X射線繞射：

使用配備有Cu輻射源之Bruker AXS D4 Endeavor繞射儀來進行粉末X射線繞射分析。發散狹縫設定為0.6 mm，同時次級光學器件使用可變狹縫。藉由PSD-Lynx Eye偵測器偵測繞射輻射。將X射線管電壓及安培分別設定為40 kV及40 mA。使用0.020度步長及0.3秒步時，在3.0度至40.0度2-θ之Cu波長處，在θ-2θ測角計中收集資料。藉由將其放入矽低含量背景樣品固持器中且在收集期間旋轉來製備樣品。

【0092】 使用配備有Cu輻射源之Bruker AXS D8 Advanc繞射儀來進行粉末X射線繞射分析。繞射輻射由具有機動隙縫之LYNXEYE_EX偵測器偵測。初級及次級偵測器皆裝配有2.5索勒狹縫。X射線管電壓及安培分別設定為40kV及40 mA。資料在θ-θ測角計中以3.0至40.0度2θ之Cu K-α(平均)波長在鎖定耦接掃描中收集，其中增量為0.02度，每個步驟使用0.5秒之掃描速度。藉由放入矽低背景樣品固持器中來製備樣品。

【0093】 使用Bruker DIFFRAC Plus軟體收集資料，且藉由EVA diffract plus軟體執行分析。在峰值搜尋之前不處理PXRD資料檔案。使用

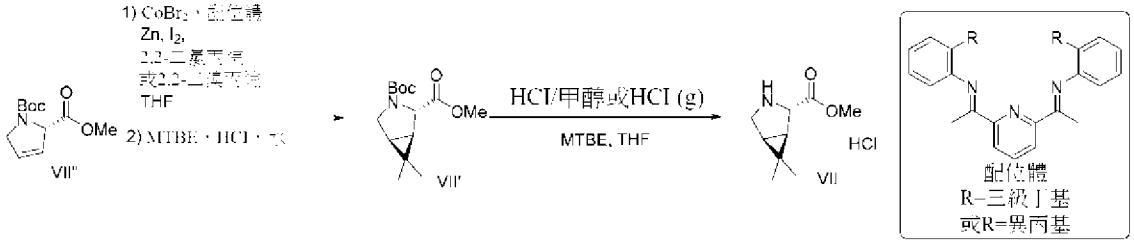
EVA軟體中之峰搜尋演算法，使用臨限值為1之所選峰來進行初步峰值分配。為確保有效性，人工地進行調節；視覺上檢查自動賦值之輸出且將峰位置調節至峰最大值。一般選擇相對強度≥3%之峰。典型地，不選擇未解析出峰或與雜訊一致之峰。與USP中所陳述之自PXRD之峰位置相關的典型誤差高達+/-0.2° 2-θ (USP-941)。除非另外說明，否則PXRD峰值表中報導之各峰值之差異為+/-0.2° 2-θ。

【0094】

製備起始材料

製備(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽；化合物VII

反應流程SM-1



【0095】 標題化合物係根據以下程序如以上反應流程SM-1中所描繪來製備。

【0096】 將$CoBr_2$ (0.05至0.15當量)、(1E,1'E)-1,1'-(吡啶-2,6-二基)雙(N-(2-(三級丁基)苯基)乙-1-亞胺)或(1E,1'E)-1,1'-(吡啶-2,6-二基)雙(N-(2-異丙基苯基)乙-1-亞胺) (0.05-0.15當量，亦即配位體)及四氫呋喃(10份體積)裝入反應器中。裝入Zn (2.25至2.5當量)。裝入含I_2 (0.25當量)之四氫呋喃(1至2份體積)。獲得紫色溶液。裝入純油狀之(S)-2,5-二氫-1H-吡咯-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(1當量，化合物VII'')。緩慢添加含2,2-二氯丙烷或2,2-二溴丙烷(1.5至2.0當量)之四氫呋喃(1至3份體積)且攪拌直

至反應完成(形成化合物VII')。經由矽藻土過濾反應混合物。在此操作期間使用甲基三級丁基醚(MTBE)、HCl及水。有機相用HCl、水洗滌且用硫酸鎂或硫酸鈉乾燥。將溶液濃縮至1至2份體積。用含HCl (3當量)之甲醇或用四氫呋喃及HCl氣體(3當量)處理所得溶液。反應完成時，將(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽自MTBE及THF以固體形式分離。典型產率為50%至80%。舉例而言，3.00 g (S)-2,5-二氫-1H-吡咯-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯轉化為1.98 g (1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽(80%產率)。產物表徵資料與先前報導之資料：Oruganti, S.等人. *Tetrahedron*, **2017**, *73*, 4285一致。

【0097】 產物(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽；化合物VII之PXRD提供於圖6中。

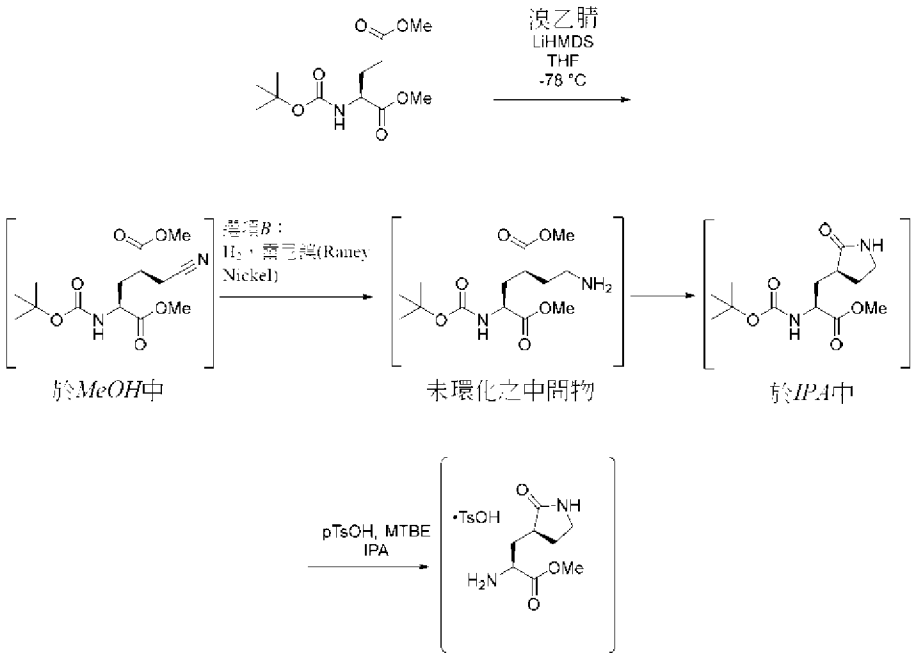
【0098】

製備(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯對甲苯磺酸鹽

標題化合物係如反應流程SM-2中所描繪且如下文所描述來製備。

【0099】

反應流程SM-2



向反應器中裝入二甲基(三級丁氧基羰基)-L-麩胺酸(50.2 g，1.00當量)及四氫呋喃(753 mL，15 mL/g)。將溶液在乾冰/丙酮浴中冷卻至-78℃。預先冷卻雙(三甲基矽烷基)胺基鋰(1 M)於THF (371 mL，2.1當量)中之溶液且經由套管添加。預先冷卻溴乙腈(13.5 mL，1.07當量)於THF (70 mL，1.4 mL/g) 中之溶液且裝入反應器中。在添加完成之後，將混合物攪拌至少45 min，將溫度維持在-70℃以下。向反應混合物中裝入甲醇(20 mL，0.4 mL/g)於四氫呋喃(25 mL，0.5 mL/g)中之溶液。經由加料漏斗向反應混合物中裝入含乙酸(40.5 mL，4當量)之四氫呋喃(100 mL，2 mL/g)。使混合物經30分鐘升溫至-20℃。向混合物中裝入含氯化鈉(12質量%)之水溶液(251 mL，5 mL/g)。分離各層。將有機層濃縮至2至3 mL/g。向殘餘物中裝入甲苯(1000 L，20 mL/g)。將混合物濃縮至約20 mL/g，接著進行恆定體積蒸餾，維持在20 mL/g。向溶液中裝入矽藻土(10 g，0.2 g/g)且攪拌漿料2 h。在矽藻土(10 g，0.2 g/g)床上過濾漿料。用甲苯(1 mL/g)洗滌濾餅。將濾液濃縮至約2至3 mL/g。裝入甲醇(250 mL，5 mL/g)。進行恆定體積蒸餾，用甲醇(650 mL，13 mL/g)置換。所

得(2S,4R)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-4-(氰基甲基)戊二酸二甲酯以淺琥珀色溶液(44.5 g於溶液中，80%原位產率)形式繼續使用。

【0100】向反應器裝入雷氏鎳2400 (6.05 g，100 wt%)。裝入(2S,4R)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-4-(氰基甲基)戊二酸二甲酯於甲醇中之溶液(6 g輸入量，40.83 g溶液)，隨後裝入額外甲醇(120mL，20 mL/g量)及氨水(MeOH中7N，2.7mL，1.0當量)用N_2吹掃反應器三次，隨後用H_2吹掃三次。將反應器加壓至5巴且加熱至24℃且攪拌24 h。吹掃反應器且取樣以確認反應完成(亦即未環化之中間物(2S,4S)-2-(2-胺基乙基)-4-((三級丁氧基羰基)胺基)戊二酸二甲酯轉化為經環化之中間物(S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯)。過濾反應物，且用甲醇(5 mL/g，30 mL)洗滌催化劑兩次。為準備下一步驟，在真空中將濾液濃縮至約2至3 mL/g。裝入異丙醇(20 mL/g，125 mL)且濃縮以移除殘餘MeOH及水以實現7 mL/g總體積(6 mL/g IPA)。向溶液中裝入對甲苯磺酸(pTsOH)單水合物(1.5當量)。用異丙醇(20 mL/g)稀釋混合物且再濃縮溶液以移除水。向反應器中裝入MTBE (4 mL/g)。將漿料升溫至50℃且保持隔夜。經2 h將混合物冷卻至10℃。將混合物保持2 h，接著過濾。用異丙醇洗滌濾餅且在45℃至50℃下在真空烘箱中乾燥產物。分離出5.86 g呈白色結晶固體狀之(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯對甲苯磺酸鹽(經2個步驟產率86%)。

【0101】^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6, 298K): δ 8.54 (s, 2H), 7.98 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.49 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.12 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.32 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.19 (m, 2H), 2.56 (m, 1H), 2.55 (m, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.26 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.89 (m,

1H), 1.66 (m, 1H)。^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6, 298K): δ 178.2, 169.7, 145.5, 137.6, 128.0, 125.4, 52.8, 51.2, 39.8, 38.3, 31.6, 27.6, 20.7。HRMS: $C_8H_{15}N_2O_3^+$之(ESI$^+$)計算值: 187.1077, 實驗值: 187.1077

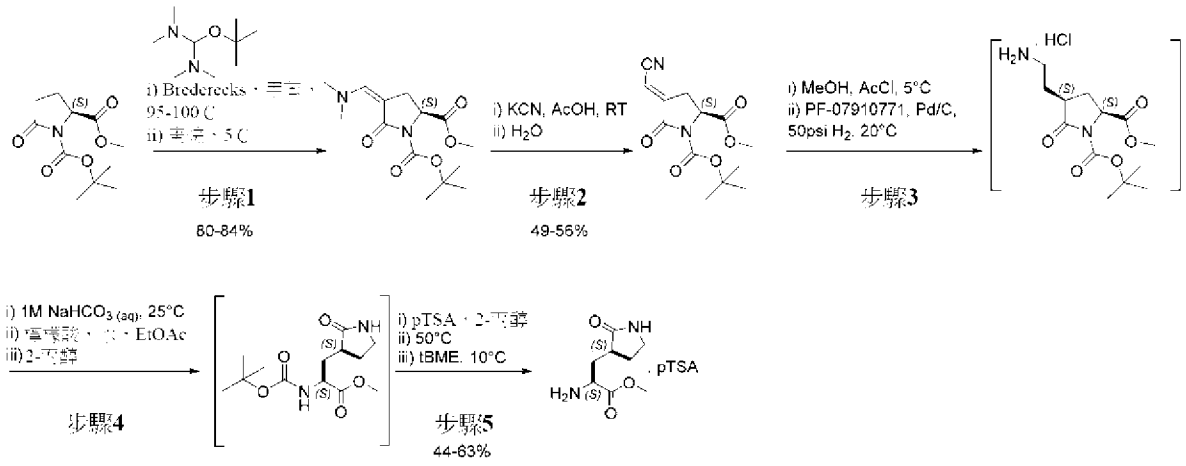
【0102】

替代性製備(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯對甲苯磺酸鹽

標題化合物係如反應流程SM-3中所描繪且如下文所描述來製備。

【0103】

反應流程SM-3



步驟1：製備(S,Z)-4-((二甲胺基)亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯

在20℃下在攪拌下將(S)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(10.00 g)添加至甲苯(60 mL)中，得到澄清無色溶液。向此溶液中一次添加全量三級丁氧基雙(二甲胺基)甲烷(Brederecks試劑) (8.60 g，10.2 mL，1.2當量)且在溫度95至100℃下攪拌所得反應混合物16小時。藉由UPLC檢查反應完成(剩餘2.7%起始材料)，且接著將溫度調節至80℃。添加40 mL正庚烷，得到黃色溶液，且將混合物冷卻至60℃，此時可添加產物晶種(若存在)。歷經2小時將混合物冷卻至5℃，且在5℃下將所得漿料攪拌2小時。過濾混合物，且接著用甲苯(10 mL)洗滌所得濾餅。在真空下

在40℃下將所得固體乾燥隔夜，得到呈白色至灰白色固體狀之(S,Z)-4-((二甲胺基)亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(10.3 g，84%產率)。^{1}H NMR (400 MHz, 二甲亞碸-*d6*) δ 6.97 (t, 1H), 4.50 (dd, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 2.99 (s, 6H), 2.81 (m, 1H), 1.39 (s, 9H)。藉由^{1}H NMR測得純度>97%

【0104】

步驟2：製備(S,E)-4-(氰基亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯

在惰性氛圍下，向配備有毒氣洗滌器之單頸250 mL圓底燒瓶中添加(S,Z)-4-((二甲胺基)亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(5.00 g，1.00當量)及乙酸(30.0 mL)。在20℃下攪拌混合物以形成溶液，且向其中添加氰化鉀(1.20 g，1.10當量)。在20℃下攪拌反應混合物24小時，得到暗黃色溶液。經25 min向暗黃色溶液中緩慢添加水(210 mL，7份體積)使產物沈澱。接著攪拌混合物5分鐘，隨後在燒結漏斗上過濾。用水(3×30 mL)洗滌所得白色固體且在燒結漏斗上用氣流抽真空乾燥。獲得呈白色固體狀之所得(S,E)-4-(氰基亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(2.47 g，51%產率)。^{1}H NMR (396 MHz, 氯仿-*d*) δ 6.34 (t, J = 3.0 Hz, 1H), 4.74 (dd, J = 9.7, 3.0 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.29 (qd, J = 9.9, 3.5 Hz, 1H), 3.01 (dt, J = 19.6, 2.7 Hz, 1H), 1.52 (s, 9H)。藉由^{1}H NMR測得純度>95%。此材料未經進一步純化即用於下一步驟中。

【0105】

步驟3：製備(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級

丁酯)2-甲酯鹽酸鹽(呈甲醇溶液)

在5℃下在反應器中攪拌甲醇(200 ml，20 ml/g)，且向其中添加乙醯氯(2.79 mL，1.1當量)，乙醯氯係逐滴添加以控制所引起之放熱，產生無水HCl (及1.1當量乙酸甲酯副產物)。接著將溶液升溫至20℃。將(S,E)-4-(氰基亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(10.0 g，1.0當量，限制試劑)以固體形式一次添加全量至HCl之甲醇溶液中，得到澄清無色溶液。向此溶液中裝入5% Pd/C型A503023-5 (2.0 g)。反應器用氮氣吹掃三次，接著用氫氣吹掃三次，且接著用氫氣加壓至50 psi，且以600 rpm攪拌混合物16小時。吹掃反應器且取樣以確認反應完成。反應未完全(殘餘腈中間物>3%)，因此再氫化16小時以使腈中間物含量自20%減少至3%。經Arbocel過濾反應混合物以移除催化劑且用甲醇(2×10 mL，2×1 mL/g)洗滌過濾器。所得含有(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯鹽酸鹽之甲醇濾液按原樣用於下一步驟中。

【0106】

替代性步驟3：製備(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯鹽酸鹽(作為甲醇/異丙醇中之溶液)

在5℃下攪拌甲醇(200 ml)且逐滴添加乙醯氯(2.79 mL，1.1當量)以控制所引起之放熱，產生無水HCl (及1.1當量乙酸甲酯副產物)。在20℃下在單獨的氫化容器中攪拌2-丙醇(50 mL)且向其中添加(S,E)-4-(氰基亞甲基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯(10.0 g, 1.0當量，限制試劑)，得到漿料。將呈固體狀之5% Pd/C型A503023-5 (2.0 g)裝入漿料中。反應器用氮氣吹掃三次，接著用氫氣吹掃三次，接著用氫氣加壓至

50 psi且以600 rpm攪拌2小時。用氮氣吹掃反應器，且接著添加甲醇HCl溶液。反應器用氮氣吹掃三次，接著用氫氣吹掃三次，接著用氫氣加壓至50 psi且以600 rpm攪拌3天。吹掃反應器且取樣以確認反應完成(殘餘腈中間物>3%)，接著經Arbocel過濾以移除催化劑且用甲醇(2×10 mL)洗滌過濾器。所得含有(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯鹽酸鹽之甲醇/2-丙醇濾液按原樣用於下一步驟中。

【0107】

步驟4：製備(S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯(作為異丙醇中之溶液)

在25℃下攪拌來自前述步驟3之(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-1,2-二甲酸1-(三級丁酯)2-甲酯鹽酸鹽之甲醇溶液，且將1M $NaHCO_3$水溶液(89.2 mL，2.5當量)緩慢添加至甲醇溶液中以控制所得CO_2廢氣之速率。在25℃下攪拌所得精細懸浮液18小時或直至藉由液相層析確認反應完成(剩餘不超過0.5面積%之殘餘起始材料)。接著藉由逐份添加含檸檬酸(4.11 g，0.60當量)之水溶液(30 mL)淬滅反應物且藉由pH試紙確認pH在5至7之間。接著在真空(90至100毫巴)中將混合物濃縮至大約100至120 mL之體積。向其中添加乙酸乙酯(100 mL)，在25℃下攪拌混合物10分鐘，且接著分離有機層及含水層。將乙酸乙酯(100 mL)添加至含水層中且在25℃下攪拌10分鐘，且接著分離各層。合併有機層且在真空(200毫巴)中濃縮至大約30 mL之最終體積。向其中添加2-丙醇(200 mL)且在真空(100毫巴)中將溶液濃縮至約70 mL之最終體積。藉由卡爾費歇爾分析(Karl Fischer analysis)檢查(S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯之異丙醇溶液以確認含水量小於1重量%，且接著

按原樣用於下一步驟中。

【0108】

步驟5：製備(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯對甲苯磺酸鹽

在20℃下攪拌來自步驟4之(S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯之異丙醇溶液。在單獨的容器中添加異丙醇(200 mL)及對甲苯磺酸單水合物(10.33 g，1.5當量)。在真空(90至100毫巴)中將p-TSA溶液濃縮至約70 mL之最終體積以移除水。接著將經濃縮之p-TSA溶液添加至(S)-2-((三級丁氧基羰基)胺基)-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯溶液中，隨後用2-丙醇(20 mL)進行直線沖洗。在夾套溫度40℃下在真空(90至100毫巴)下將溶液蒸餾至大約70 mL (7 mL/g)之最終體積以移除更多水。對溶液進行取樣以用於卡爾-費歇爾分析(不超過1 wt%之水)。若水>1重量%，則視需要添加額外2-丙醇且重複步驟5中之真空蒸餾直至達成目標含水量為止。在大氣壓下將反應混合物加熱至50℃且攪拌12至18小時，直至反應完成為止(藉由液相層析未觀測到起始材料)。所需產物在此保持期間結晶。反應完成後，一次添加全量三級丁基甲基醚(50 mL)。所得漿料經2小時自50℃冷卻至10℃。在10℃下攪拌漿料1小時且接著在真空下過濾。用三級丁基甲基醚(40 mL)沖洗結晶容器且以濾餅洗滌液形式轉移至過濾器中。在真空下將產物濾餅乾燥以脫液，且接著在真空下在40℃下乾燥產物。分離出呈白色結晶固體狀之所需(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙酸甲酯對甲苯磺酸鹽。

【0109】自使用MeOH/AcCl氫化之上述方法的步驟3-5的產率為44%(步驟1-5之總產率為20%)，產物具有98.7%之非對掌性純度、0.58%之RRT 0.194、0.28%之RRT 1.783；1%之非鏡像異構體、0.68%之非鏡

像異構體2、大約1%之鏡像異構體及98.7 wt% (藉由Q-NMR偵測)。自使用異丙醇2階段氫化之方法的上述步驟3-5的產率為63%(步驟1-5之總產率為30%)，產物具有98.7%之非對掌性純度、0.65%之RRT 0.194、0.24%之RRT 1.784；1%之非鏡像異構體、0.40%之非鏡像異構體2、大約1%之鏡像異構體及99.2 wt% (藉由Q-NMR偵測)。

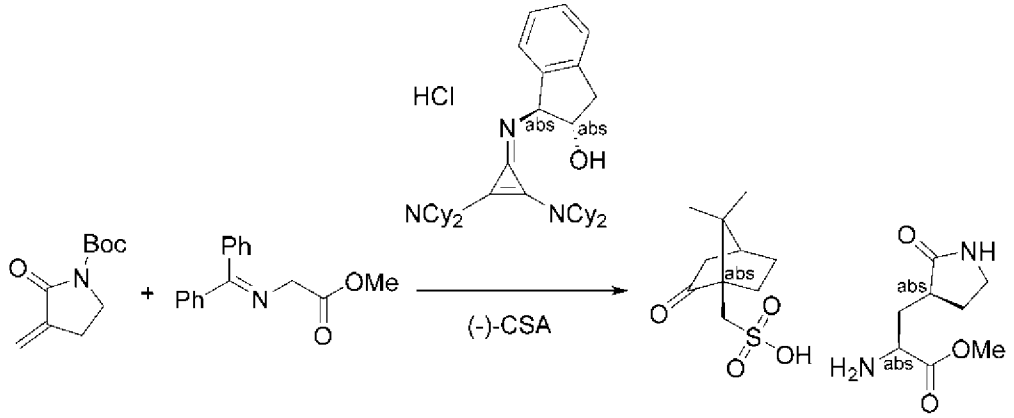
【0110】

製備[(1*R*)-7,7-二甲基-2-側氧基-降冰片烷-1-基]甲烷磺酸(2*S*)-2-胺基-3-[(3*S*)-2-側氧基吡咯啶-3-基]丙酸甲酯

標題化合物係如反應流程SM-4中所描繪且如下文所描述來製備。

【0111】

反應流程SM-4



在20℃下將2M NaOH水溶液(4.8 mL，4.8 mmol)添加至(1*S*,2*S*)-1-[(2,3-二甲基環丙-2-烯-1-亞基)胺基]茚烷-2-醇鹽酸鹽(557 mg，0.96 mmol)於MTBE (6 mL)中之混合物中，且攪拌10 min。收集有機層，且用MTBE (4 mL)沖洗含水層。經Na_2SO_4過濾合併之有機溶離份且將濾液直接添加至2-(二苯亞甲基胺基)乙酸甲酯(97.0%，5.00 g，19.1 mmol)及3-亞甲基-2-側氧基-吡咯啶-1-甲酸三級丁酯(4.15 g，21.1 mmol)於MTBE (10 mL)中之混合物中。在35℃下攪拌混合物3.5 h，接著在35℃下一次添

加全量(-)-CSA (9.10 g，38.4 mmol)。將混合物加熱至65℃持續18 h，且接著用丙酮(70 mL)稀釋。使混合物回流20 min且用MTBE (130 mL)稀釋。使混合物回流4 h，接著冷卻至20℃且過濾。用MTBE與丙酮之2:1混合物(3×30 mL)洗滌固體。收集固體且在高真空下乾燥，得到呈固體狀之標題化合物[(1*R*)-7,7-二甲基-2-側氧基-降冰片烷-1-基]甲磺酸(2*S*)-2-胺基-3-[(3*S*)-2-側氧基吡咯啶-3-基]丙酸甲酯；(5.79 g，69%，>25:1 dr)。MS (ESI) $[M+H-CSA]^+$ 187.1。^{1}H NMR (500 MHz, 甲醇-d_4) δ 4.24 (dd, *J* = 9.7, 3.6 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.42 - 3.35 (m, 2H), 3.33 - 3.26 (m, 1H), 2.85 - 2.77 (m, 1H), 2.76 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 2.70 - 2.61 (m, 1H), 2.47 - 2.37 (m, 1H), 2.38 - 2.29 (m, 1H), 2.23 (ddd, *J* = 15.1, 4.8, 3.7 Hz, 1H), 2.08 - 1.98 (m, 3H), 1.93 - 1.81 (m, 2H), 1.61 (ddd, *J* = 13.7, 9.3, 4.3 Hz, 1H), 1.41 (ddd, *J* = 11.9, 9.5, 4.2 Hz, 1H), 1.13 (s, 3H), 0.86 (s, 3H)。*注意*：四個可交換質子不可見。^{13}C NMR (126 MHz, 甲醇-d_4) δ 218.28, 181.61, 170.69, 59.57, 53.81, 53.79, 48.17, 44.05, 43.61, 42.04, 41.65, 32.96, 29.50, 27.79, 25.73, 20.43, 20.12。

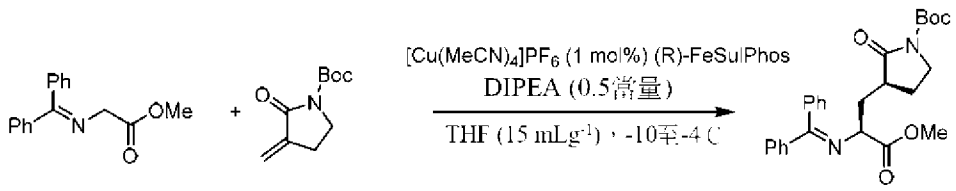
【0112】

製備(S)-3-((S)-2-((二苯亞甲基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧基丙基)-2-側氧基吡咯啶-1-甲酸三級丁酯

標題化合物係如反應流程SM-5中所描繪及下文所描述來製備。

【0113】

反應流程SM-5



應注意，用於此程序中之所有溶劑均以無水級別購得，且藉由用氮氣鼓泡約30分鐘來脫氣。在N_2填充之手套工作箱中進行反應。將$[Cu(MeCN)_4]PF_6$於THF中之溶液(0.020 M，25 μL，0.5 μmol，1 mol%)施配至具有攪拌盤之1 mL小瓶中，隨後施配(R)-FeSulPhos於THF中之溶液(0.020 M，25 μL，0.5 μmol，1 mol%)。在25℃下攪拌此混合物23小時，在此之後蒸發THF。添加二異丙胺於THF中之溶液(1.0 M，25 μL，25 μmol，0.5當量)，且接著將小瓶冷卻至-10℃同時以500 rpm攪拌。接著添加2-((二苯亞甲基)胺基)乙酸甲酯(12.5mg，49 μmol，1.0當量)及3-亞甲基-2-側氧基吡咯啶-1-甲酸三級丁酯(10.7mg，54 μmol，1.1當量)於異丙醇(170 μL)中之溶液，且將小瓶密封且在-10℃與-4℃之間以500 rpm攪拌24小時。接著移除反應混合物之25 μL等分試樣且用1 mL MeCN稀釋。接著，經對掌性SFC分析此樣品，此顯示所需化合物(S)-3-((S)-2-((二苯亞甲基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧基丙基)-2-側氧基吡咯啶-1-甲酸三級丁酯以74%分析產率形成(室溫6.17 min，m/z +ve = 451)。將參考時間與獨立合成之(S)-3-((S)-2-((二苯亞甲基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧基丙基)-2-側氧基吡咯啶-1-甲酸三級丁酯樣品進行比較，以確認產品之身分。

【0114】 SFC方法：(Chiracel OX-H 250 mm×4.6 mm×5 μm (P/N: 63325)，移動相A：CO_2，移動相B：異丙醇+0.2% 7N 氨/甲醇，3 mL min^{-1}，40℃，210 nm下之UV偵測。0-1 min 5% B，1-9 min 5-60% B，9-9.5 min 60% B，9.5-10 min 60-5% B。

【0115】 使用上文所描述之程序，所得(S)-3-((S)-2-((二苯亞甲基)胺基)-3-甲氧基-3-側氧基丙基)-2-側氧基吡咯啶-1-甲酸三級丁酯可轉化為[([(1R)-7,7-二甲基-2-側氧基-降冰片烷-1-基]甲磺酸(2S)-2-胺基-3-[(3S)-

2-側氧基吡咯啶-3-基]丙酸甲酯

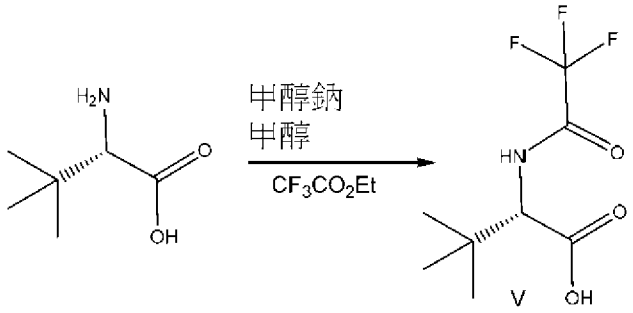
【0116】

製備(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V

標題化合物係如反應流程SM-6中所描繪且如下文所描述來製備。

【0117】

反應流程SM-6



製備(S)-2-胺基-3,3-二甲基丁酸之甲醇溶液，且添加甲醇鈉。添加三氟乙酸乙酯且攪拌混合物直至反應完成。反應物用乙酸乙酯稀釋且用鹽水洗滌。將庚烷添加至含有(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸之有機層中，且在50℃下將溶液濃縮至10 mL/g。此重複三次以儘可能移除乙酸乙酯。在第2次蒸餾之後，可以引入(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸之晶種。在最終蒸餾之後，將混合物冷卻至20℃且進行粒化，接著過濾且用庚烷洗滌。在40℃下乾燥固體。獲得晶體資料且將其提供於下表中，且此材料之PXRD圖案提供為圖5。

表-(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V之晶體資料及結構改進：

識別碼	E178
經驗式	C8 H12 F3 N O3
分子量	227.19
溫度	173(2) K
波長	1.54178 Å
晶系	四方晶系

空間群	$P4_12_12$	
單位晶胞尺寸	a = 9.9168(6) Å	α= 90°.
	b = 9.9168(6) Å	β= 90°.
	c = 22.721(2) Å	γ= 90°.
體積	2234.5(4) $Å^3$	
Z	8	
密度(經計算)	1.351 Mg/m^3	
吸收係數	1.184 mm^{-1}	
F(000)	944	
晶體尺寸	0.200×0.170×0.080 mm^3	
用於資料收集之θ範圍	4.866至70.114°	
指標範圍	-11<=h<=10，-12<=k<=12，-27<=l<=27	
收集之反射	48160	
獨立反射	2122 [R(int) = 0.0392]	
θ=67.679°之完整性	99.8%	
吸收校正	憑經驗	
改進方法	F^2上之全矩陣最小平方法	
資料/限定/參數	2122 / 9 / 158	
F^2上之擬合優度	1.010	
最終R指標[I>2σ(I]	R1 = 0.0408，wR2 = 0.1012	
R指標(所有資料)	R1 = 0.0429，wR2 = 0.1039	
絕對結構參數	0.03(4)	
消光係數	n/a	
最大繞射峰及孔	0.280及-0.215 $e.Å^{-3}$	

【0118】 圖5提供(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

表-(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
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

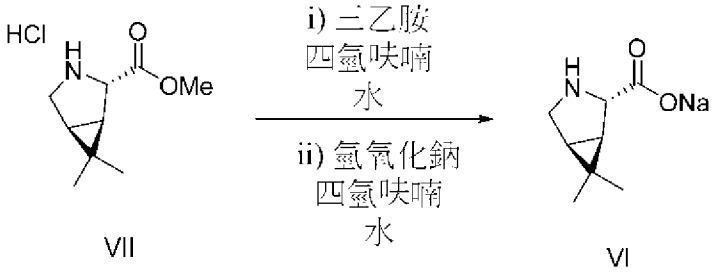
20.0	14	33.5	2	41.8	1
20.4	2	34.0	1	42.4	3
21.5	22	34.2	2	43.1	1
23.2	8	34.7	3	44.2	1
23.3	11	36.2	2	44.8	1
23.8	6	36.4	3	45.7	1
25.2	1	36.7	2	45.9	3
25.4	17	37.1	1	46.4	1
25.7	2	37.2	2	47.0	1
26.6	7	37.4	1	47.3	2
26.7	6	37.6	3	49.5	2

【0119】

實例

步驟1：製備(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉

步驟*1*



VII　　VI

將(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，鹽酸鹽(化合物VII，40g，195mmol，1.0當量)、四氫呋喃(80mL，2 mL/g之化合物VII)及水(40mL，1 mL/g之化合物VII)組合且在25℃下攪拌。裝入三乙胺(40.7mL，292mmol，1.5當量)且攪拌混合物30分鐘。經攪動之混合物之pH值不應小於8.5。停止攪拌且使各相分離。移除水相，得到(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯之有機溶液。在單獨的容器中，組合氫氧化鈉(8.16 g，204 mmol，1.05當量)、四氫呋喃(360 mL，9 mL/g之化合物VII)及水(40 mL，1 mL/g之化合物VII)且在攪拌下加熱至40℃。經不小於15分鐘將(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯之有機溶液添加至此混合物中，且在40℃下攪

拌所得混合物4小時。藉由UPLC分析樣品之反應完成(目標為剩餘不超過4%之(1*R*,2*S*,5*S*)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸甲酯，若反應不完全，則繼續攪拌)。完成後，將混合物冷卻至20℃且攪拌不少於2小時。藉由過濾收集固體，用96:4 THF/水(80 mL)沖洗，且在真空烘箱中在70℃下乾燥，得到(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI。

【0120】 ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD-d_4, 298K): δ 3.37 (d, 1H), 3.31 (dd, 1H), 2.76 (dd, 1H), 1.62 (dd, 1H), 1.36 (m, 1H), 1.06 (s, 3H), 1.03 (s, 3H)。

【0121】 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD-d_4, 298K): δ 181.6, 64.3, 47.2, 37.7, 31.6, 27.1, 20.9, 14.2。

【0122】 HRMS: $C_8H_{14}O_2N^+$之(ESI$^+$)計算值: 156.1019, 實驗值: 156.1020 (質量偏差+0.83 ppm)

【0123】 已分離出(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI之多種固體形式且由PXRD表徵。

【0124】 圖7提供(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸酯，初始形式之PXRD圖，其由下表中之峰表徵。

表-(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，初始形式之PXRD峰(2°θ)：

角度(2 θ)	相對強度	角度(2 θ)	相對強度
5.5	19	25.8	11
5.9	9	26.0	8
6.6	59	26.7	4
10.7	2	28.1	3
16.0	9	28.9	6
16.3	6	29.8	4
16.7	10	30.3	8
17.0	52	30.8	8

17.3	42	32.0	3
17.7	15	32.5	5
18.5	7	33.8	7
19.0	15	34.6	4
19.3	100	35.8	6
21.3	45	36.6	8
23.2	12	36.9	7
23.5	17	37.6	3
24.2	20		

【0125】 圖8提供(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，指定形式B之PXRD圖，其由下表中之峰表徵。

表-(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，形式B之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
5.2	100	24.1	8	31.8	2
10.5	2	24.5	1	32.3	3
15.7	1	26.0	4	33.1	6
16.4	80	26.3	1	33.4	1
17.1	38	26.4	1	33.7	1
17.3	46	27.1	3	34.4	2
17.5	40	28.2	1	34.6	13
18.2	20	28.6	1	34.9	7
18.5	35	28.9	2	35.2	1
19.4	23	29.3	11	35.6	9
19.7	7	29.5	1	35.8	4
20.7	3	30.1	4	36.5	2
21.1	8	30.4	4	37.2	1
22.3	6	30.8	1	37.5	2
22.5	3	31.1	1	39.0	1
23.1	1	31.6	2	39.5	1
				39.9	1

【0126】 圖9提供(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，指定材料A之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

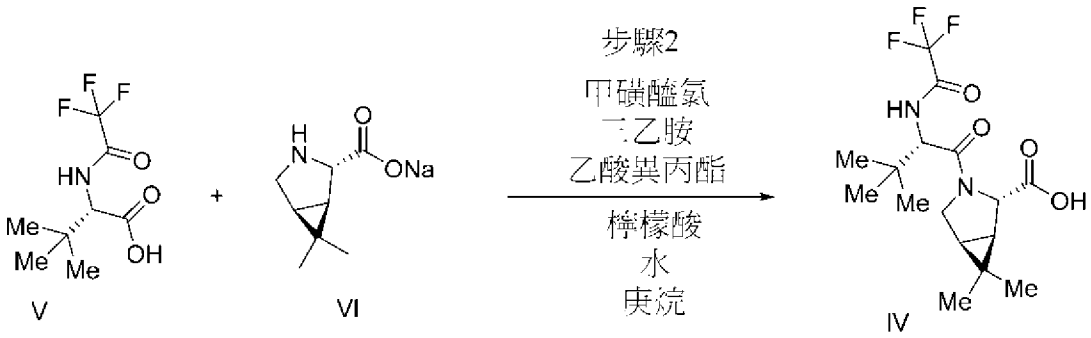
表-(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，材料A之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
5.6	9	26.5	9	37.4	3
6.3	42	27.1	1	37.7	1
9.5	5	27.6	1	38.3	1

11.9	1	28.5	2	39.0	0
15.7	14	28.9	2	39.7	1
16.8	100	29.5	1		
17.2	56	30.2	3		
17.4	10	30.5	7		
18.6	9	31.3	1		
19.2	21	32.1	2		
19.9	26	32.5	1		
22.3	8	33.7	1		
22.6	14	33.9	1		
22.9	9	34.9	2		
24.0	10	35.3	2		
25.6	2	37.1	1		

【0127】

步驟2：製備(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV



將(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V(38.9 g，169 mmol，1.2當量)、甲磺醯氯(17.8 g，155 mmol，1.1當量)及乙酸異丙酯(500 mL，20 mL/g之化合物V)組合且在20℃下攪拌。以使得反應溫度不超過25天之速率裝入三乙胺(49.0 mL，423 mmol，2.5當量)，且攪拌所得混合物1小時。裝入(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI (25.0 g，141 mmol，1.0當量)，且攪拌混合物4小時。獲得反應混合物之樣品，且分析反應完成(藉由UPLC分析不超過3% VI)。若反應不完全，則可添加額外三乙胺。藉由添加檸檬酸水溶液(74 g單水合檸檬酸，353 mmol，2.5當量，於150 mL水中)淬滅反應混合物，且將

混合物加熱至40℃。攪拌混合物至少10分鐘，接著使各層沈降。移除水相，且用2份水(各125 mL)洗滌有機相。將有機相冷卻至10至15℃且藉由真空蒸餾(-100毫巴，逐漸升溫至60℃之最大夾套溫度)濃縮至大約192 mL之體積。分析混合物之含水量(卡爾-費歇爾)；若大於3 wt%水，則用額外乙酸異丙酯重複真空蒸餾。將溶液加熱至60℃且添加庚烷(192 mL)。攪拌混合物且以約-12℃/小時之速率冷卻至10℃。在10℃下攪拌漿料3小時。藉由過濾收集固體且用1:1 iPrOAc/庚烷(100 mL)沖洗。在真空烘箱中在50℃下乾燥固體，得到(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV。

【0128】 ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6, 298K): δ 12.72 (s, 1H), 9.42 (d, 1H), 4.44 (d, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.85 (dd, 1H), 3.72 (d, 1H), 1.53 (dd, 1H), 1.41 (d, 1H), 1.01 (s, 3H), 1.00 (s, 9H), 0.82 (s, 3H)。

【0129】 ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6, 298K): d 172.3, 167.6, 156.9 ($^{2}J_{CF}$ = 37 Hz), 115.8 ($^{2}J_{CF}$ = 288 Hz), 59.2, 58.1, 47.2, 34.7, 29.7, 26.7, 26.2, 25.7, 18.8, 12.1。

【0130】 注意：在^{1}H及^{13}C NMR光譜中，由於*E*及*Z*醯胺鍵旋轉異構體存在於溶液中，觀測到2組共振。此處僅列出主要共振(Z旋轉異構體，92%)。

【0131】 HRMS: $C_{16}H_{24}F_3N_2O_4^+$之(ESI$^+$)計算值: 365.1610, 實驗值: 365.1684 (質量偏差+0.5 ppm)

【0132】

藉由接種結晶製程自異丙醇水溶液中製備結晶(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]

己烷-2-甲酸，形式1

步驟1：

在100 mL反應器中添加(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸(5.08 g，13.9 mmol)及異丙醇(21.25 mL，277.9 mmol)且以500 rpm攪拌30分鐘以溶解。

【0133】

步驟2：反向添加

在單獨的100 mL反應器中添加水(75 mL，4163.2 mmol)及異丙醇(3.75 mL，49.0 mmol) (95-05 v/v%)，接著添加(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸(150 mg，0.4116 mmol)作為晶種，且以5℃/min之速率將混合物加熱至50℃，且攪拌30分鐘。經6小時之時段添加含(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸溶液之異丙醇(來自以上步驟1)。在50℃下攪拌所得混合物1小時，接著以-0.1℃/min之速率將混合物冷卻至10℃，且攪拌隔夜。接著過濾所得漿料，且用異丙醇(5 mL，65.39 mmol)及水(15 mL，832.64 mmol)之混合物洗滌固體。在60℃下在真空下將所得固體乾燥隔夜，得到結晶(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，形式1。根據本文所描述之方法，固體由粉末X射線繞射(PXRD)表徵。

表-(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，形式1之晶體資料及結構改

進：

識別碼	E152	
結晶	Ethanol / Water / Ethyl Acetate	
經驗式	C16 H23 F3 N2 O4	
分子量	364.36	
溫度	296(2) K	
波長	1.54178 Å	
晶系	三方晶系	
空間群	R3	
單位晶胞尺寸	a = 14.1740(6) Å	α= 114.11°.
	b = 14.1740(6) Å	β= 114.11°.
	c = 14.1740(6) Å	γ= 114.11°.
體積	1715.9(4) $Å^3$	
Z	3	
密度(經計算)	1.058 Mg/m^3	
吸收係數	0.788 mm^{-1}	
F(000)	576	
晶體尺寸	0.220×0.100×0.100 mm^3	
用於資料收集之θ範圍	6.445至80.034°	
指標範圍	-17<=h<=16，-14<=k<=16，-14<=l<=17	
收集之反射	13310	
獨立反射	4011 [R(int) = 0.0369]	
θ=67.679°之完整性	98.9%	
吸收校正	憑經驗	
改進方法	F^2上之全矩陣最小平方法	
資料/限定/參數	4011 / 6 / 244	
F^2上之擬合優度	1.056	
最終R指標[I>2σ(I]	R1 = 0.0582，wR2 = 0.1675	
R指標(所有資料)	R1 = 0.0611，wR2 = 0.1710	
消光係數	n/a	
最大繞射峰及孔	0.292及-0.174 $e.Å^{-3}$	

【0134】 圖10提供(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，形式1之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

表-(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-

6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，形式1之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
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		

【0135】 圖11描繪(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，新形式之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

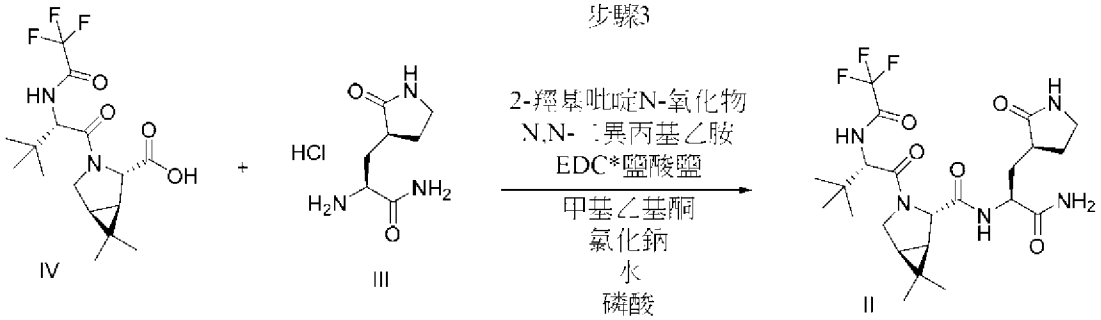
表-(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，新形式之PXRD峰(度，2-θ)：

角度(2-θ)	**相對強度**	**角度(2-θ)**	**相對強度**	**角度(2-θ)**	**相對強度**
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		

【0136】

步驟3：製備(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之比較製程



*EDC=1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺

將(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV (1.0 kg，2.74 mol，1.0當量)及甲基乙基酮(5.0 L，5 L/kg之化合物IV)組合且在25℃下攪拌。添加2-羥基吡啶N-氧化物(0.228 kg，2.05 mol，0.75當量)及三乙胺(0.416 kg，4.11 mol，1.50當量)，且攪拌所得漿料30分鐘。裝入(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III (0.597 kg，2.87 mol，1.05當量)及1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC，0.682 kg，3.56 mol，1.30當量)，且維持攪拌16小時。對反應物進行取樣以確認完成(目標為剩餘不超過1.0%之化合物IV)。若反應不完全，則再攪拌混合物一段時間。藉由添加NaCl水溶液(3.0 L之14 wt%鹽水溶液)淬滅反應物且維持攪拌30分鐘。停止攪拌且使各層沈降。移除下部水相，且遵循相同方案用第二份NaCl水溶液(3.0 L之14 wt%鹽水溶液)洗

滌有機相。接著藉由在0.3巴下真空蒸餾來濃縮有機相，同時添加額外乙酸異丙酯(13 L)以維持約6 L/kg之恆定體積，在7 L/kg處結束蒸餾。分析樣品之含水量(卡爾-費歇爾)，其目標為不超過0.2 wt%水。所得(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之有機溶液不進一步純化即用於步驟4。

【0137】

製備及分離(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮(MEK)溶劑合物，II MEK溶劑合物

標題MEK溶劑合物之樣品藉由以下程序分離。步驟3反應如上文所描述以150 g規模進行且攪拌3天。將所得漿料與NaCl水溶液(325 mL之14 wt%溶液)組合，升溫至48℃且攪拌，得到兩個澄清相。移除水相，且用第二份NaCl水溶液(400 mL之14 wt%溶液)洗滌有機相。在45℃下在部分真空下濃縮有機相且添加額外MEK。重複此過程直至含水量減少至6%且體積為約4 mL/g起始材料。將混合物逐漸冷卻至15℃且保持3小時。所得固體藉由過濾收集，用MEK沖洗，且在真空烘箱中乾燥，得到132 g之(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮溶劑合物。

【0138】 ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6, 298K): δ 9.40 (d, J = 8.6

Hz, 1H), 8.76 (d, *J* = 9.2 Hz, 次要), 8.48 (d, *J* = 7.2 Hz, 次要), 8.28 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.65 (s, 次要), 7.55 (s, 1H), 7.45 - 7.39 (m, 次要), 7.35 - 7.26 (m, 1H), 7.06 - 6.99 (m, 1H), 6.92 (s, 次要), 4.49 (s, 次要), 4.43 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.33 - 4.28 (m, 1H), 4.28 (s, 1H), 4.21 (d, *J* = 9.2 Hz, 次要), 4.09 (ddd, *J* = 11.1, 7.2, 3.8 Hz, 次要), 3.89 (dd, *J* = 10.3, 5.5 Hz, 1H), 3.67 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.58 (dd, *J* = 12.4, 5.6 Hz, 次要), 3.54 (dd, 次要), 3.40 (d, *J* = 12.5 Hz, 次要), 3.16 - 3.10 (m, 1H), 3.03 (td, *J* = 9.4, 7.1 Hz, 1H), 2.46 - 2.36 (m, 3H), 2.18 - 2.10 (m, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (m, 次要), 1.94 (ddd, *J* = 13.5, 12.0, 3.6 Hz, 1H), 1.73 (dt, *J* = 12.4, 9.1 Hz, 次要), 1.69 - 1.59 (m, 1H), 1.54 - 1.46 (m, 2H), 1.38 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 1.19 (t, *J* = 7.3 Hz, 次要), 1.02 (s, 3H), 0.98 (s, 9H), 0.91 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.84 (s, 3H)。

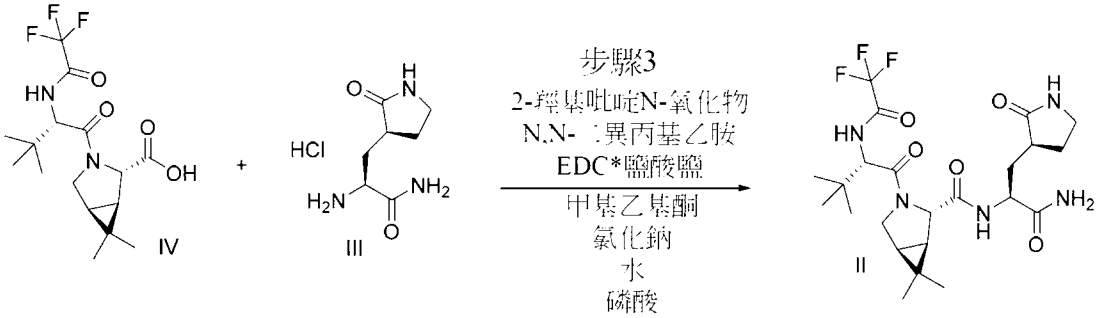
【0139】 ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO-d_6, 298K): δ 208.83, 178.92 (次要), 178.62, 173.74 (次要), 173.51, 170.63, 170.52 (次要), 167.94 (次要), 167.21, 156.87 (q, *J* = 36.9 Hz), 155.52 (d, *J* = 36.7 Hz-次要), 118.96 - 112.77 (m), 60.61 (次要), 60.25, 58.11, 57.67 (次要), 51.78 (次要), 50.32, 47.70, 47.50 (次要), 45.51 (次要), 42.09 (次要), 40.06, 39.29, 37.88 (次要), 37.32, 36.48 (次要), 36.16, 35.85, 34.67, 34.55, 34.09, 33.58 (次要), 30.57, 29.35, 27.65 (次要), 27.39, 27.10, 26.40, 26.28, 25.87, 24.86 (次要), 19.05 (次要), 18.58, 13.24 (次要), 12.38, 8.51 (次要), 7.66。

【0140】 注意：在^{1}H及^{13}C NMR光譜中，由於*E*及*Z*醯胺鍵旋轉異構體存在於溶液中，觀測到2組共振。在相關情況下，將較不充足旋轉器信號指定為「次要」。

【0141】 HRMS: $C_{23}H_{35}F_3N_5O_5^+$之(ESI$^+$)計算值: 518.2585, 實驗值: 518.2582 (質量偏差-0.46 ppm)

【0142】

替代步驟3：製備(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺的最佳化製程



*EDC=1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基碳化二亞胺

在反應器A中，將(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV (1.0 kg，2.74 mol，1.0當量)及甲基乙基酮(2.0 L, 2 L/kg之化合物IV)組合且在25℃下攪拌。添加2-羥基吡啶N-氧化物(0.274 kg，2.47 mol，0.90當量)及三乙胺(0.694 kg，6.86 mol，2.50當量)，攪拌所得漿料30分鐘，接著升溫至50℃。在反應器B中，將(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III (0.597 kg，2.87 mol，1.05當量)及1-(3-二甲胺基丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC，0.682 kg，3.56 mol，1.30當量)與甲基乙基酮(3.0 L，3 L/kg之化合物IV)組合，且攪拌所得漿料30 min，接著升溫至50℃。接著將來自反應器A之現溶液轉移至反應器B中，同時保持反應器B中之溫度在50℃且持續攪拌至少6小時。對反應進行取樣以確認完成(目標不超過3%化合物IV未反應)。若反應不完全，則再攪拌混合物一段時間。藉由添加NaCl水溶液(3.0 L 14重量%鹽水溶液，

3.0 L/kg之化合物IV)在50℃下淬滅反應物且保持攪拌30分鐘。停止攪拌且使各層沈降。移除下部水相，且遵循相同方案用第二份NaCl水溶液(3.0 L之14 wt%鹽水溶液)洗滌有機相。冷卻有機相，接著藉由在0.3巴下真空蒸餾來濃縮，同時添加額外乙酸異丙酯(18 L，18 L/kg之化合物IV)以維持約6 L/kg之恆定體積，在8 L/kg處停止蒸餾。分析樣品之含水量(卡爾-費歇爾)，其目標為不超過0.2 wt%水。所得(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之有機溶液不進一步純化即用於步驟4。

【0143】 先前反應中所用之(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III可以某些固體形式存在。

【0144】 圖12提供(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式1之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

表-(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式1之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
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

【0145】 圖13提供(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式2之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

表-(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式2之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
9.74	9	24.19	100	33.24	9
11.70	2	25.31	2	33.70	9
12.76	30	25.67	9	34.01	4
13.15	4	26.48	5	34.73	9
15.55	4	27.03	4	35.30	11
16.67	11	27.71	8	35.93	9
17.44	1	28.17	17	36.30	6
18.61	3	28.40	13	36.79	3
19.19	20	29.26	15	37.12	3
19.33	23	30.49	6	37.76	3
21.15	49	30.84	3	38.17	6
22.08	22	31.38	2	38.87	2
22.72	32	31.81	20	39.20	2
23.63	39	32.61	3		

【0146】 圖14提供(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮(MEK)溶劑合物之PXRD圖，其由下表中之PXRD峰表徵。

表-(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮溶劑合物之PXRD峰：

角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度	角度(度，2°θ)	相對強度
9.7	100	24.2	5	35.0	2
10.4	29	24.5	29	35.2	1
10.6	80	25.6	1	35.5	1
11.8	6	25.9	2	35.7	1
12.0	1	26.2	19	36.2	1
13.1	10	26.4	5	36.4	1

13.4	63	26.8	15	36.7	2
14.0	67	27.6	1	37.1	2
15.0	17	27.8	1	37.3	2
15.1	21	28.4	3	38.2	2
15.5	23	28.7	6	38.5	1
16.5	7	28.9	6	38.8	1
17.6	12	29.2	5	39.3	5
17.7	6	29.7	3	39.5	2
18.1	73	30.2	2	39.8	1
18.4	5	30.3	4	40.1	1
19.0	29	30.5	2	40.6	3
19.5	20	30.7	2	41.4	3

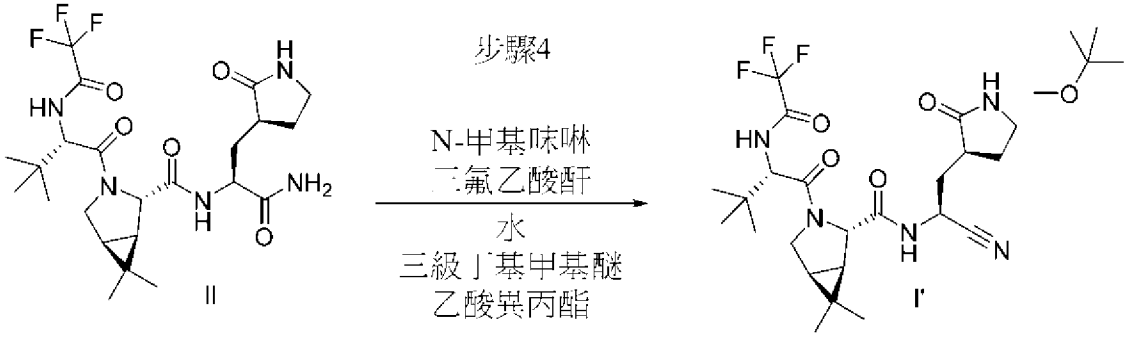
表-(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮溶劑合物之晶體資料及結構改進：

識別碼	E222	
經驗式	C27 H42 F3 N5 O6	
分子量	589.65	
溫度	273.15 K	
波長	1.54178 Å	
晶系	斜方晶系	
空間群	$P2_12_12_1$	
單位晶胞尺寸	a = 9.4471(3) Å	α= 90°.
	b = 9.6463(3) Å	β= 90°.
	c = 35.4946(12) Å	γ= 90°.
體積	3234.61(18) $Å^3$	
Z	4	
密度(經計算)	1.211 Mg/m^3	
吸收係數	0.821 mm^{-1}	
F(000)	1256	
晶體尺寸	0.202×0.174×0.124 mm^3	
用於資料收集之θ範圍	4.750至79.276°	
指標範圍	-11<=h<=8，-12<=k<=11，-45<=l<=43	
收集之反射	20328	
獨立反射	6587 [R(int) = 0.0534]	
θ=67.679°之完整性	99.6%	
吸收校正	無	
最大及最小透射率	0.7543及0.5564	
改進方法	F^2上之全矩陣最小平方法	

資料/限定/參數	6587 / 5 / 397
F^2上之擬合優度	1.016
最終R指標[I>2σ(I]	R1 = 0.0718，wR2 = 0.2067
R指標(所有資料)	R1 = 0.0844，wR2 = 0.2218
絕對結構參數	0.14(16)
消光係數	n/a
最大繞射峰及孔	0.487及-0.220 e.Å^{-3}

【0147】

步驟4：製備(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基三級丁基醚溶劑合物I'



將上文步驟中4所製備之(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之乙酸異丙酯溶液(假定定量轉化，2.74mol，1.0當量)與N-甲基味啉(1.11 kg，10.4 mol，4.0當量)組合且在20℃下攪拌。經60分鐘裝入三氟乙酸酐(1.15 kg，5.20 mol，2.0當量)，將反應溫度維持在不超過25℃。攪拌所得混合物1小時。分析樣品以確認反應完成(剩餘不超過0.5%之化合物II)。若反應不完全，則再維持攪拌60分鐘，且必要時裝入額外三氟乙酸酐。藉由添加水(3.0 L，3.0 L/kg之來自先前步驟之化合物IV)淬滅反應物，維持攪拌30 min，接著停止且使各層沈降。移除水相，且用第二份3.0 L水洗滌有機相。接著藉由真空蒸餾(0.1巴)將有機相濃縮至3.5 L體積(3.5 L/kg之來

自先前步驟之化合物IV)。添加乙酸異丙酯(5.0 L，5.0 L/kg之來自先前步驟之化合物IV)，且藉由真空蒸餾將溶液濃縮至3.5 L體積(3.5 L/kg之來自先前步驟之化合物IV)。在50℃下攪拌此溶液，且經60分鐘添加甲基三級丁基醚(MTBE)。若此添加期間未出現產物結晶，則可添加PF-07321332 MTBE溶劑合物晶種(10 g，按來自先前步驟之化合物IV計之1.0重量%)。經3小時添加MTBE之額外部分(6.0 L，6.0 L/kg之來自先前步驟之化合物IV)。在50℃下攪拌此漿料1小時，以0.1 K/min之速率冷卻至20℃，且在20℃下攪拌2小時。固體藉由過濾收集，用2.0 L/kg之來自先前步驟之化合物IV 80:20 MTBE:iPrOAc溶液沖洗，且在不超過50℃下乾燥。

【0148】 根據以下程序獲得(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，乙酸異丙酯溶劑合物。

【0149】 向裝備有磁性驅動攪拌器之50 mL反應器中裝入PF-07328615(於甲基乙基酮中) (7.87 g，15.2 mmol)。一些固體已自PF-07328615溶液中結晶。向其中添加乙酸異丙酯(用於蒸餾)(72 mL，614.04 mmol)，同時進行恆定體積蒸餾，其中Tj-Tr設定為15℃，Tj最大設定為70℃，且真空設定成300毫巴(實際真空為295至305毫巴)。用乙酸異丙酯稀釋至7.5 mL/g (42 mL)。冷卻至20℃ (Tj)，將攪拌速率設定為350 rpm，接著經5分鐘添加1-甲基味啉(6.7 mL，61 mmol)，隨後經1小時經由注射泵添加三氟乙酸酐(4.28 mL，30.4 mmol)，且在添加結束之後攪拌一小時。用水(17 mL，943.66 mmol)淬滅反應混合物，轉移至分液漏斗中，且移除水層。將有機層送回至反應器且蒸餾至3.5 mL/g (20 mL)之濃度，其中Tj-Tr設定為15℃，Tj最大設定為70℃，且真空設定為100毫巴(實際真

空為100至105毫巴)。向其中添加乙酸異丙酯(28 mL，238.79 mmol)且再次將混合物蒸餾至3.5 mL/g之濃度。固體在體積達到約30 mL時結晶。過濾1 mL之溶液(產出71 mg之濕潤固體)且藉由PXRD分析(參見圖15)。

【0150】 圖15提供(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，乙酸異丙酯溶劑合物之PXRD圖，其藉由以下說明之PXRD峰表徵。

表-(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，乙酸異丙酯溶劑合物之PXRD峰

角度(°2θ)	相對強度(%)	角度(°2θ)	相對強度(%)	角度(°2θ)	相對強度(%)
6.1	34	19.2	64	27.4	6
11.2	21	19.3	79	28.0	6
11.3	13	19.7	30	28.2	6
11.6	17	20.0	39	28.6	5
12.2	14	20.6	54	29.0	8
12.6	13	20.9	11	29.6	6
13.5	7	21.4	6	29.8	5
13.8	6	21.9	8	30.4	8
14.3	17	22.4	9	30.7	7
14.4	8	22.4	7	31.9	5
14.7	5	22.8	28	32.7	9
15.6	100	22.9	26	33.2	3
16.2	3	23.2	3	33.6	4
16.4	14	23.7	8	34.1	7
16.7	8	24.3	7	35.6	3
16.7	9	24.5	19	36.4	3
16.9	17	24.7	16	36.6	4
17.2	41	25.2	12	36.9	4
17.6	5	25.4	7	37.3	5
17.9	6	25.7	7	38.0	3
18.3	13	26.3	6	38.7	3
18.8	26	26.3	7		

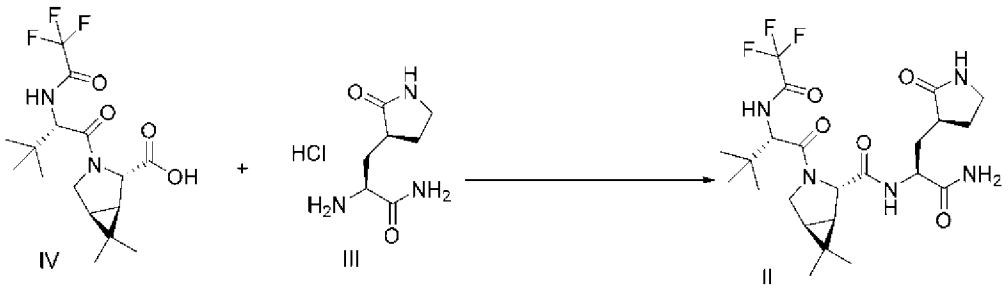
【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種化合物之甲基乙基酮溶劑合物，其中該化合物為(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺。

【請求項2】

一種製備(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之方法，



使式IV化合物與式III化合物反應之方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV及甲基乙基酮組合，隨後添加2-羥基吡啶N-氧化物及三乙胺，得到第一混合物S3-M1；

(b) 將(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III、1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽及甲基乙基酮組合，得到第二混合物S3-M2；

(c) 將來自步驟(a)之第一混合物S3-M1與來自步驟(b)之第二混合

物S3-M2組合，得到第三混合物S3-M3；及

(d) 攪拌來自步驟(c)之第三混合物S3-M3，得到該化合物(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II。

【請求項3】

如請求項2之方法，其中在步驟(a)中，該第一混合物S3-M1包含1.0當量(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV、2L甲基乙基酮/kg化合物IV、0.9當量2-羥基吡啶N-氧化物及2.50當量三乙胺。

【請求項4】

如請求項3之方法，其中在步驟(a)中，該第一混合物S3-M1在約25℃下製備且在約25℃下攪拌約30分鐘且接著升溫至約50℃。

【請求項5】

如請求項4之方法，其中在步驟(b)中，該第二混合物S3-M2包含1.05當量(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III、1.30當量1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽及3L甲基乙基酮/kg化合物IV。

【請求項6】

如請求項5之方法，其中在步驟(b)中，該第二混合物S3-M2在約25℃下製備且在約25℃下攪拌30分鐘且接著升溫至約50℃。

【請求項7】

如請求項6之方法，其中在步驟(c)中，來自步驟(a)之第一混合物S3-

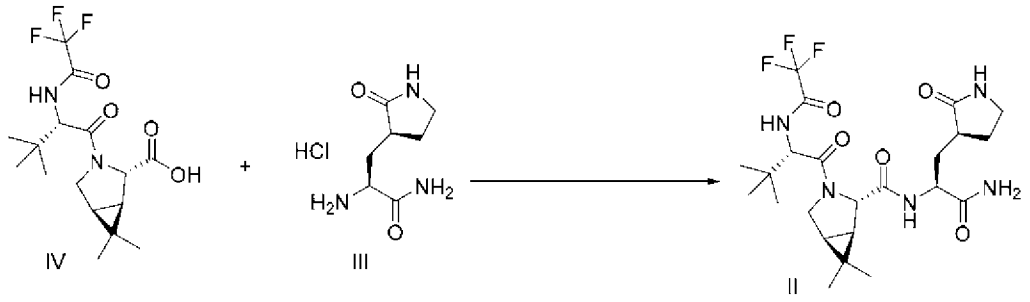
M1為約50℃，且與來自步驟(b)之約50℃之第二混合物S3-M2組合，得到第三混合物S3-M3，同時維持該第三混合物S3-M3之溫度為約50℃。

【請求項8】

如請求項7之方法，其中在步驟(d)中，來自步驟(c)之第三混合物S3-M2在約50℃下攪拌至少6小時。

【請求項9】

一種製備(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II之方法，



使式IV化合物與式III化合物反應之方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV (1.0當量)及甲基乙基酮(2 L/kg化合物IV)在約25℃下組合，隨後添加2-羥基吡啶N-氧化物(0.90當量)及三乙胺(2.50當量)，得到第一混合物S3-M1，將該混合物攪拌約30分鐘且接著升溫至約50℃；

(b) 將(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，化合物III (1.05當量)、1-(3-二甲基胺丙基)-3-乙基-碳化二亞胺鹽酸鹽(1.30當量)及甲基乙基酮(3 L/kg化合物IV)組合，得到第二混合物S3-M2，將該混合物攪拌約30分鐘且接著升溫至約50℃；

(c) 將來自步驟(a)之第一混合物S3-M1與來自步驟(b)之第二混合物S3-M2組合，同時維持溫度為約50℃，得到第三混合物S3-M3；及

(d) 將來自步驟(c)之第三混合物S3-M3在約50℃下攪拌至少6小時，得到該化合物(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，化合物II。

【請求項10】

如請求項9之方法，其中所形成之醯基脲雜質IMP-S3-3，(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺及IMP-S3-4，(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之量不超過10%。

【請求項11】

如請求項9之方法，其中所形成之醯基脲雜質IMP-S3-3，(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺及IMP-S3-4，(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之量不超過5%。

【請求項12】

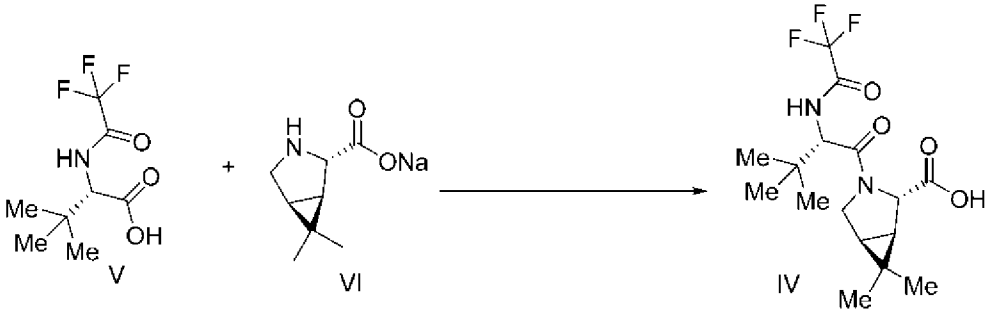
如請求項9之方法，其中所形成之重排雜質IMP-S3-3，(2S,4S)-4-(2-胺基乙基)-5-側氧基吡咯啶-2-甲醯胺之量不超過2%。

【請求項13】

如請求項9之方法，其中所形成之重排雜質IMP-S3-4，(1R,2S,5S)-N-(2-((3S,5S)-5-胺甲醯基-2-側氧基吡咯啶-3-基)乙基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺之量不超過2%。

【請求項14】

一種製備(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV之方法



使式V化合物與式VI化合物反應之方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸(化合物V)、甲磺醯氯及乙酸異丙酯組合，得到第一混合物S2-M1；

(b) 將三乙胺添加至第一混合物S2-M1中，得到第二混合物S2-M2；

(c) 將(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI添加至第二混合物S2-M2中，得到第三混合物S2-M3；及

(d) 攪拌該第三混合物S2-M3，得到(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸，化合物IV。

【請求項15】

如請求項14之方法，其中在步驟(a)中，第一混合物S2-M1包含1.2當量(S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁酸，化合物V、1.1當量甲磺醯氯及20 mL乙酸異丙酯/g化合物V。

【請求項16】

如請求項15之方法，其中在步驟(b)中，將2.5當量三乙胺在約20℃下以使得溫度不超過25℃之速率添加至第一混合物S2-M1中，得到第二混合物S2-M2。

【請求項17】

如請求項16之方法，其中在步驟(c)中，將1.0當量(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI添加至第二混合物S2-M2中，得到該第三混合物S2-M3，將該第三混合物攪拌約4小時。

【請求項18】

如請求項17之方法，其中將2.5當量檸檬酸水溶液添加至該第三混合物S2-M3中，且在約40℃下攪拌所得混合物至少10分鐘。

【請求項19】

如請求項18之方法，其中使該所得混合物之有機層及含水層沈降，且將乙酸異丙酯有機層自含水層分離，用水洗滌且濃縮至其初始體積之大約40%，得到有機層S2-M4。

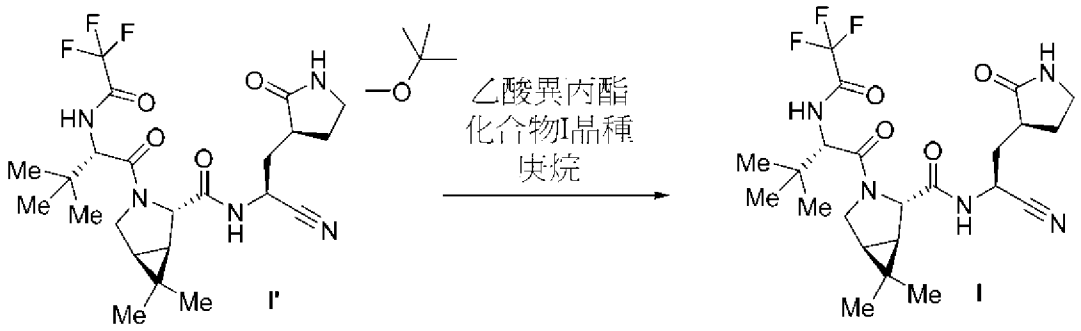
【請求項20】

如請求項19之方法，其中將該有機層S2-M4加熱至60℃，且向其中添加一份體積庚烷，接著將所得混合物冷卻至10℃，攪拌3小時，且所得固體藉由過濾收集，用1:1乙酸異丙酯/庚烷洗滌且乾燥，得到(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙

環[3.1.0]己烷-2-甲酸，IV。

【請求項21】

一種製備(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1，化合物I之方法



該方法包含步驟(a)至(d)：

(a) 將(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基三級丁基醚，化合物I'溶解於乙酸異丙酯中，其中化合物I'於乙酸異丙酯中之濃度為約7 mL至約9 mL乙酸異丙酯/1公克化合物I'；

(b) 將0.5重量%至0.75重量%之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1接種至溶液中；

(c) 經6至15小時之時段將庚烷添加至來自步驟(b)之混合物中，其中所添加之庚烷之量為約10 mL至約14 mL庚烷/g化合物I'；及

(d) 分離所得(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1。

【請求項22】

如請求項21之方法，其中用於步驟(a)中之乙酸異丙酯之量為約8 mL乙酸異丙酯/g化合物I'。

【請求項23】

如請求項22之方法，其中用於在步驟(b)中接種該溶液之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1之量為約0.75 w%。

【請求項24】

如請求項23之方法，其中步驟(c)中所添加之庚烷之量為約12 mL/g化合物I'。

【請求項25】

如請求項24之方法，其中經約10小時之時段添加庚烷。

【請求項26】

如請求項25之方法，其中(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1係藉由過濾分離。

【請求項27】

如請求項26之方法，其中步驟(d)中所分離之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1具有以D[v, 0.5]計約12微米至約18微米之粒徑分佈。

【請求項28】

如請求項27之方法，其中步驟(d)中所分離之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1具有以D[v, 0.5]計約14微米至約16微米之粒徑分佈。

【請求項29】

如請求項28之方法，其中步驟(d)中所分離之(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，形式1具有以D[v, 0.5]計約15微米之粒徑分佈。

【請求項30】

一種化合物之乙酸異丙酯溶劑合物，其中該化合物為(1R,2S,5S)-N-{(1S)-1-氰基-2-[(3S)-2-側氧基吡咯啶-3-基]乙基}-6,6-二甲基-3-[3-甲基-N-(三氟乙醯基)-L-纈胺醯基]-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺。

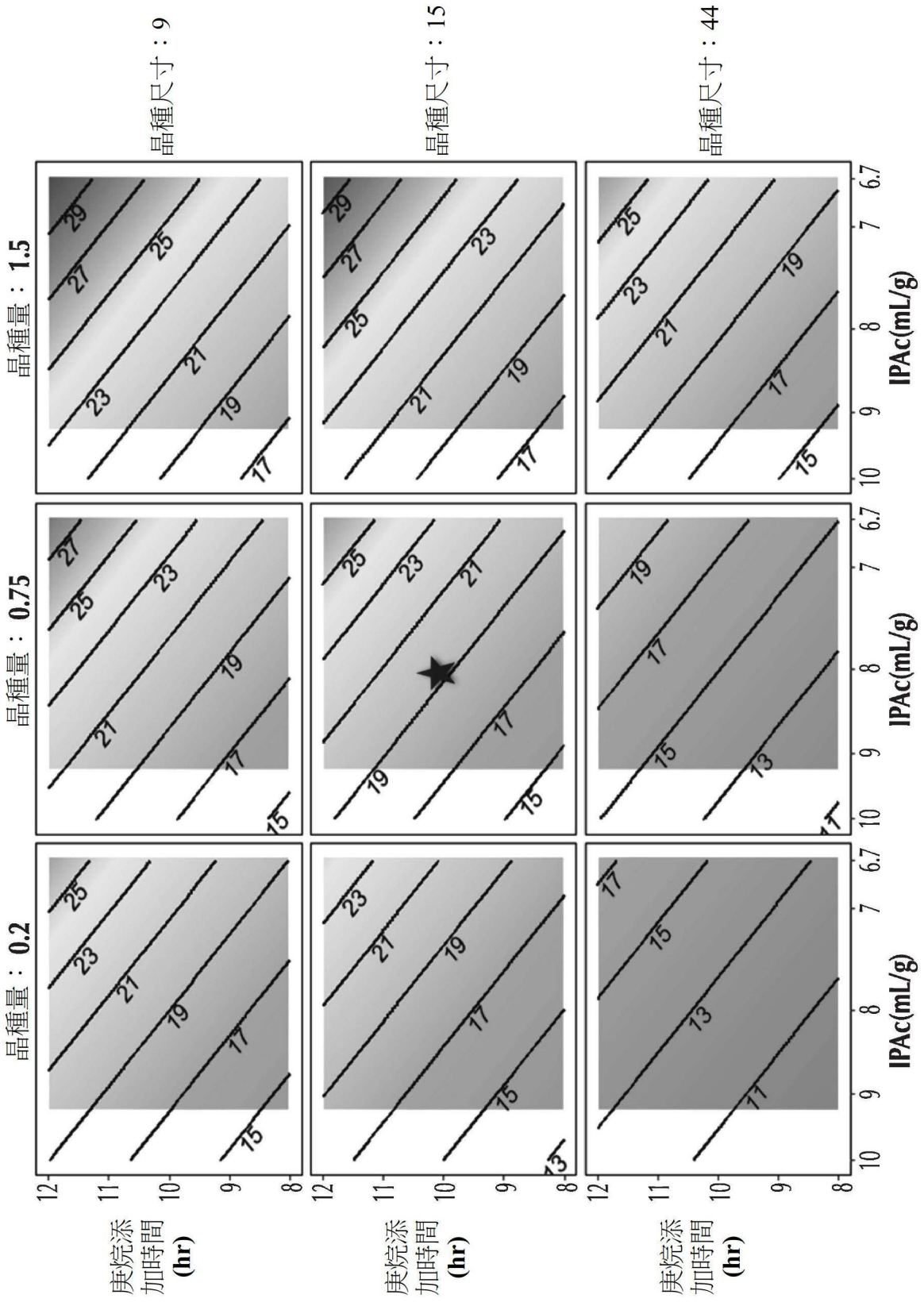
【請求項31】

如請求項30之化合物之乙酸異丙酯溶劑合物，其中該化合物為結晶。

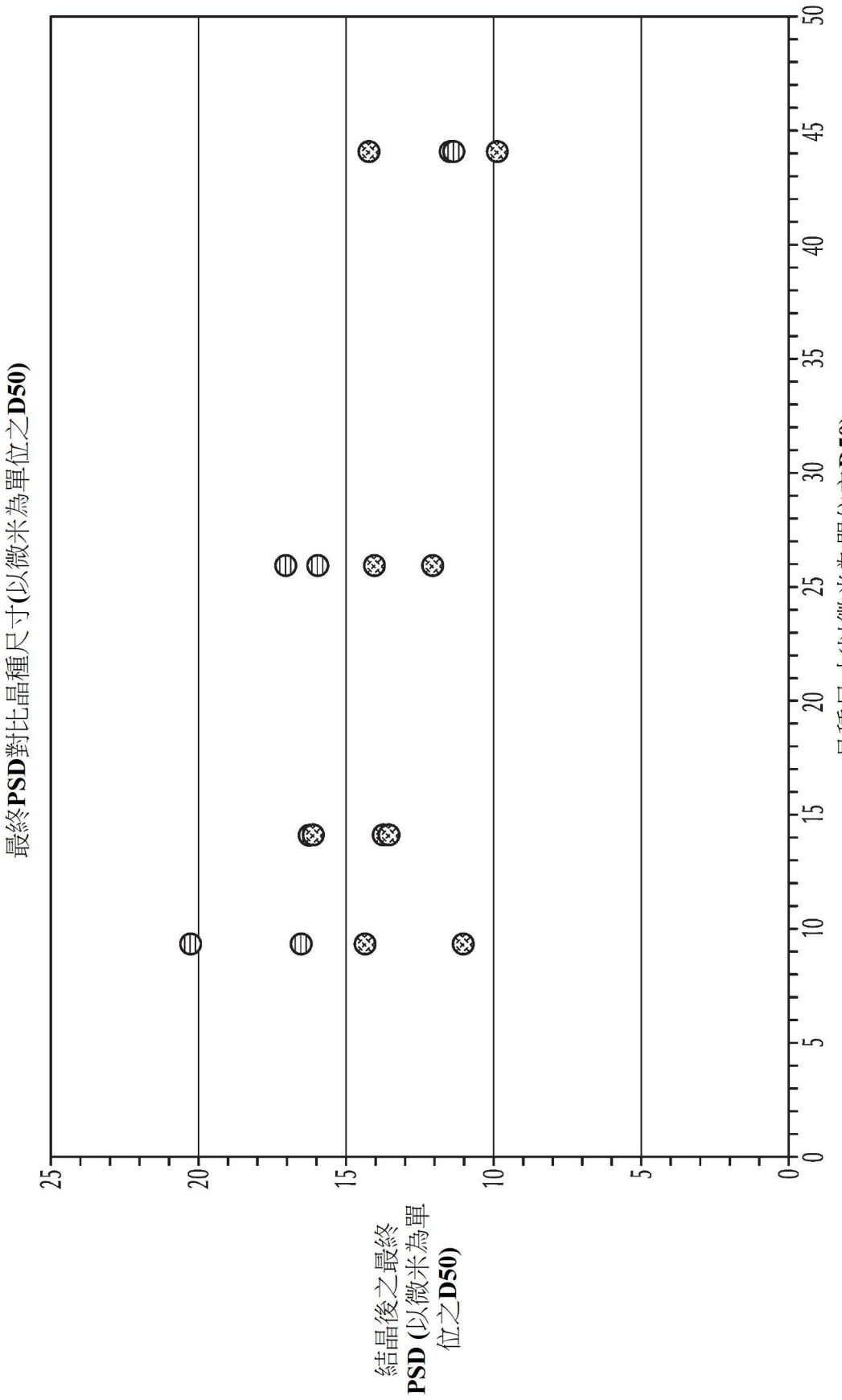
【請求項32】

如請求項31之化合物之乙酸異丙酯溶劑合物，其藉由如圖15所示之PXRD圖表徵。

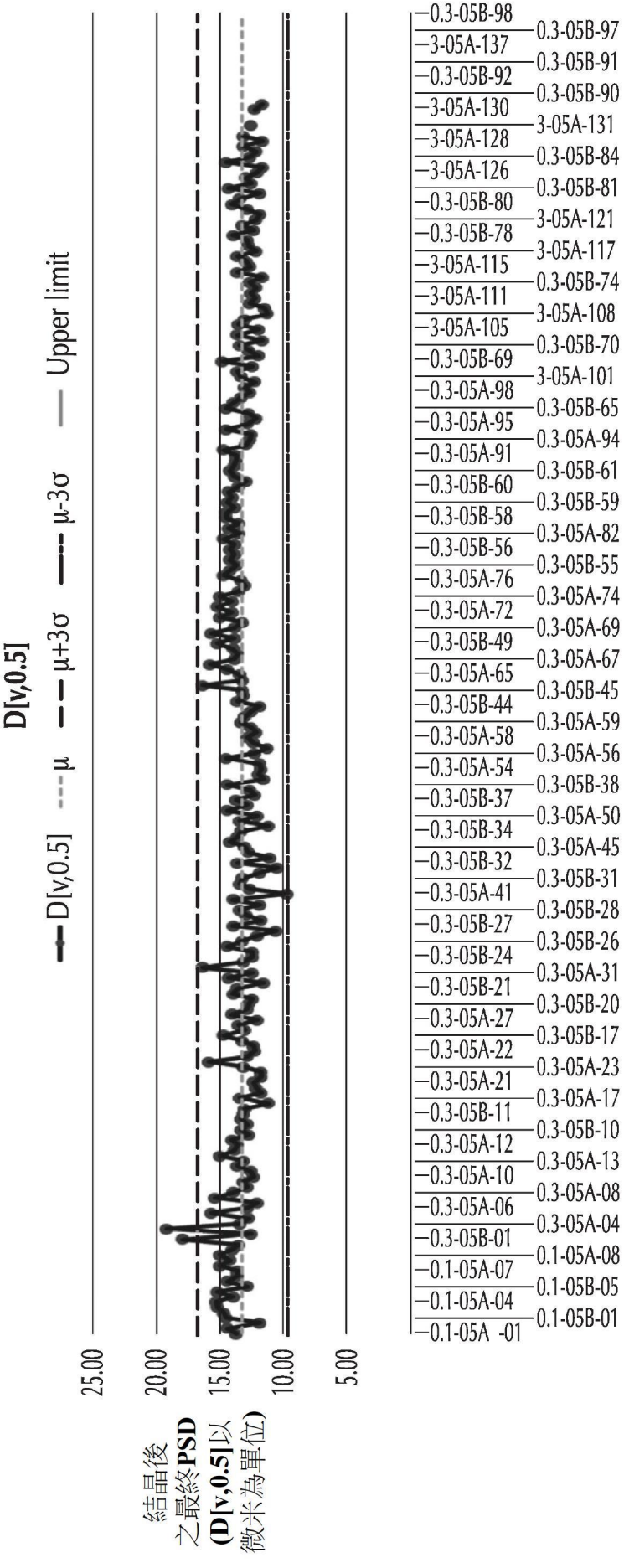
【發明圖式】



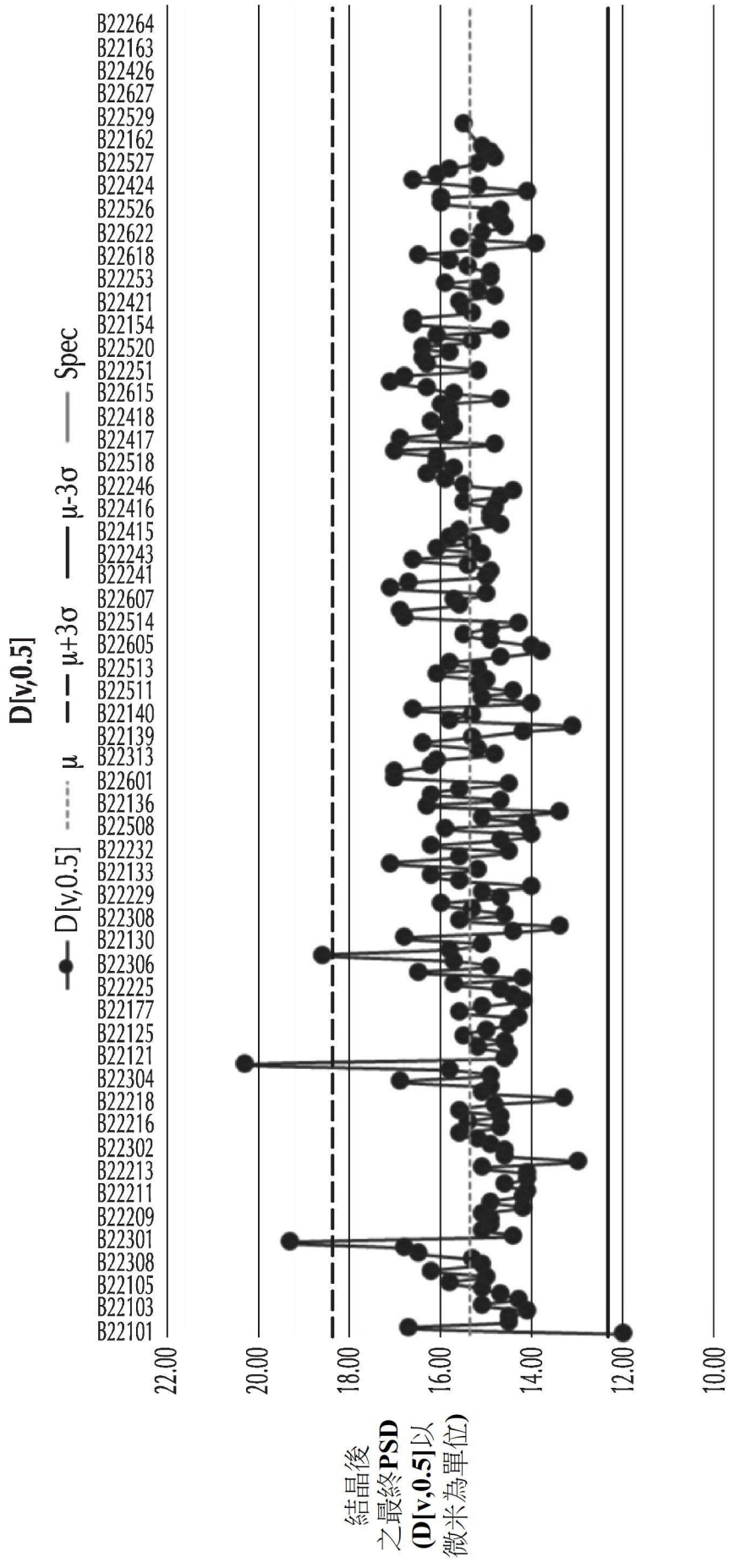
【圖1】


最終PSD對比晶種尺寸(以微米為單位之D50)
結晶後之最終
PSD (以微米為單
位之D50)
晶種尺寸(以微米為單位之D50)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50

【圖2】

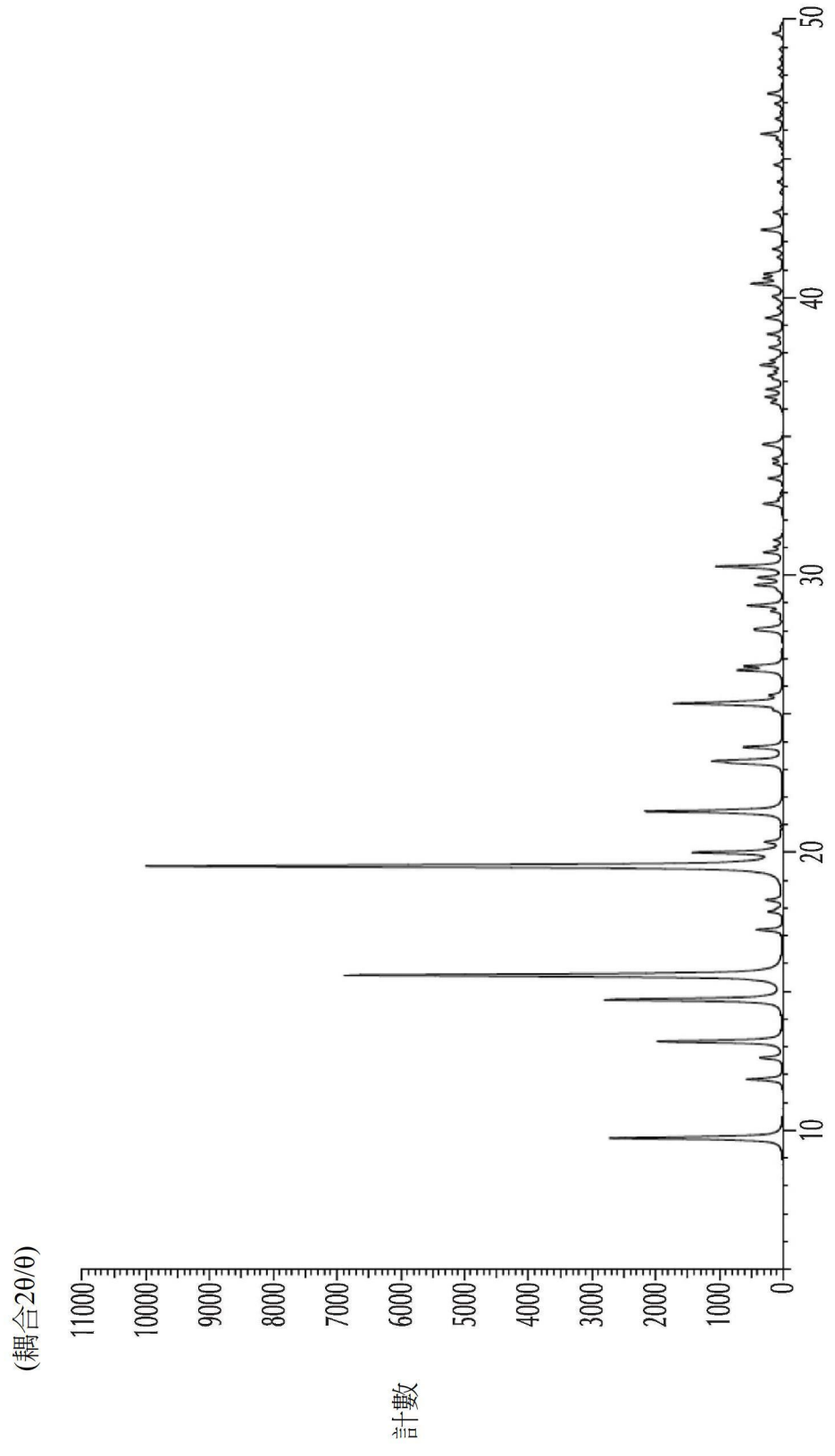

D[v,0.5]
D[v,0.5]
μ
μ+3σ
μ-3σ
Upper limit
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
結晶後之最終PSD (D[v,0.5]以微米為單位)
0.3-05B-98
0.3-05B-97
3-05A-137
0.3-05B-91
0.3-05B-92
0.3-05B-90
3-05A-130
3-05A-131
3-05A-128
0.3-05B-84
3-05A-126
0.3-05B-81
0.3-05B-80
3-05A-121
0.3-05B-78
3-05A-117
3-05A-115
0.3-05B-74
3-05A-111
3-05A-108
3-05A-105
0.3-05B-70
0.3-05B-69
3-05A-101
0.3-05A-98
0.3-05B-65
0.3-05A-95
0.3-05A-94
0.3-05A-91
0.3-05B-61
0.3-05B-60
0.3-05B-59
0.3-05B-58
0.3-05A-82
0.3-05B-56
0.3-05B-55
0.3-05A-76
0.3-05A-74
0.3-05A-72
0.3-05A-69
0.3-05B-49
0.3-05A-67
0.3-05A-65
0.3-05B-45
0.3-05B-44
0.3-05A-59
0.3-05A-58
0.3-05A-56
0.3-05A-54
0.3-05B-38
0.3-05B-37
0.3-05A-50
0.3-05B-34
0.3-05A-45
0.3-05B-32
0.3-05B-31
0.3-05A-41
0.3-05B-28
0.3-05B-27
0.3-05B-26
0.3-05B-24
0.3-05A-31
0.3-05B-21
0.3-05B-20
0.3-05A-27
0.3-05B-17
0.3-05A-22
0.3-05A-23
0.3-05A-21
0.3-05A-17
0.3-05B-11
0.3-05B-10
0.3-05A-12
0.3-05A-13
0.3-05A-10
0.3-05A-08
0.3-05A-06
0.3-05A-04
0.3-05B-01
0.1-05A-08
0.1-05A-07
0.1-05B-05
0.1-05A-04
0.1-05B-01
0.1-05A -01
批次數目

【圖3】


D[v,0.5]
D[v,0.5]
μ
μ+3σ
μ-3σ
Spec
結晶後之最終PSD (D[v,0.5]以微米為單位)
批次數目
22.00
20.00
18.00
16.00
14.00
12.00
10.00
B22264
B22163
B22426
B22627
B22529
B22162
B22527
B22424
B22526
B22622
B22618
B22253
B22421
B22154
B22520
B22251
B22615
B22418
B22417
B22518
B22246
B22416
B22415
B22243
B22241
B22607
B22514
B22605
B22513
B22511
B22140
B22139
B22313
B22601
B22136
B22508
B22232
B22133
B22229
B22308
B22130
B22306
B22225
B22177
B22125
B22121
B22304
B22218
B22216
B22302
B22213
B22211
B22209
B22301
B22308
B22105
B22103
B22101

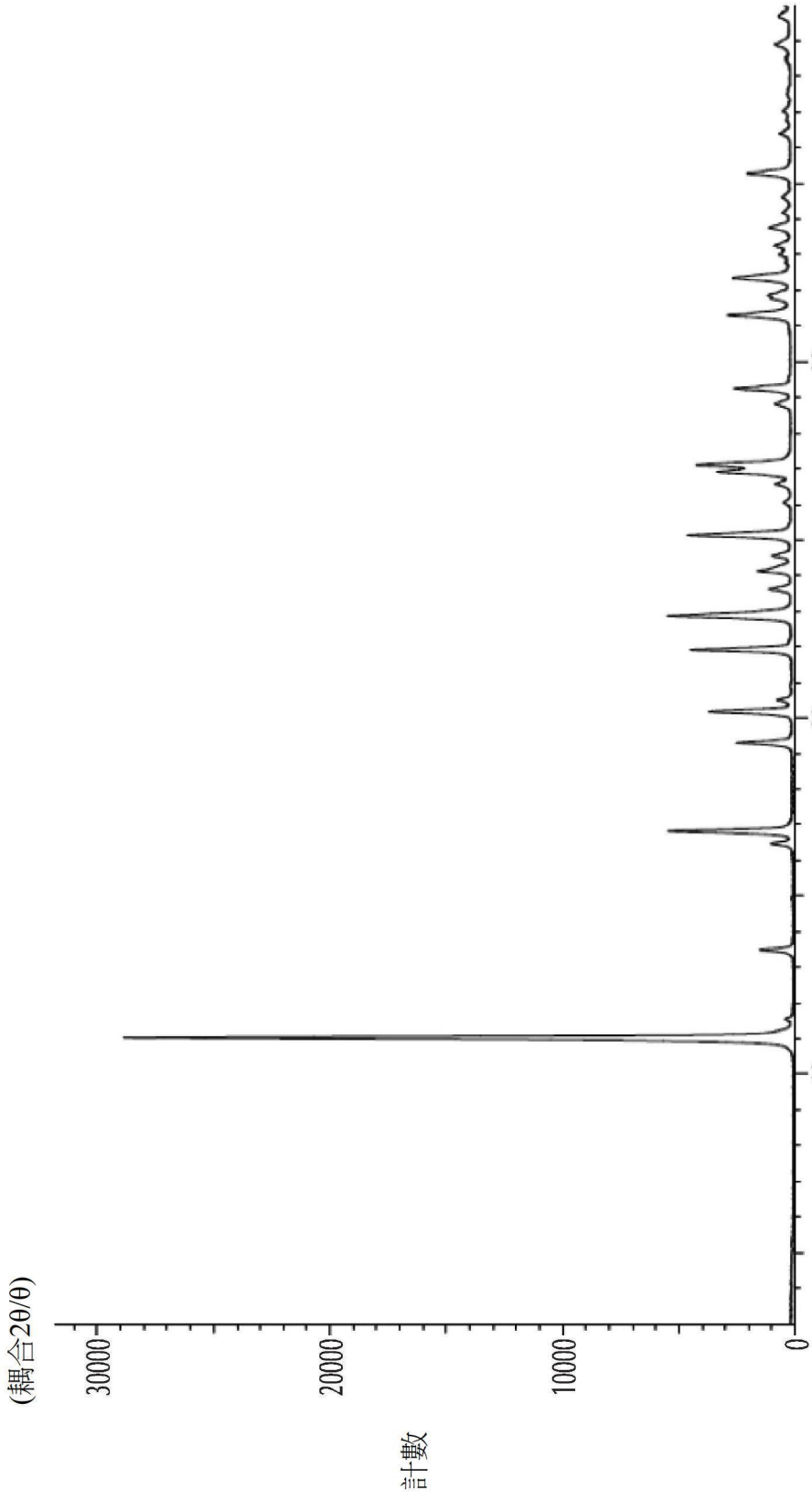
【圖4】

(S)-3,3-二甲基**-2-(2,2,2-**三氟乙醯胺基)丁酸，化合物**V**之**PXRD**圖



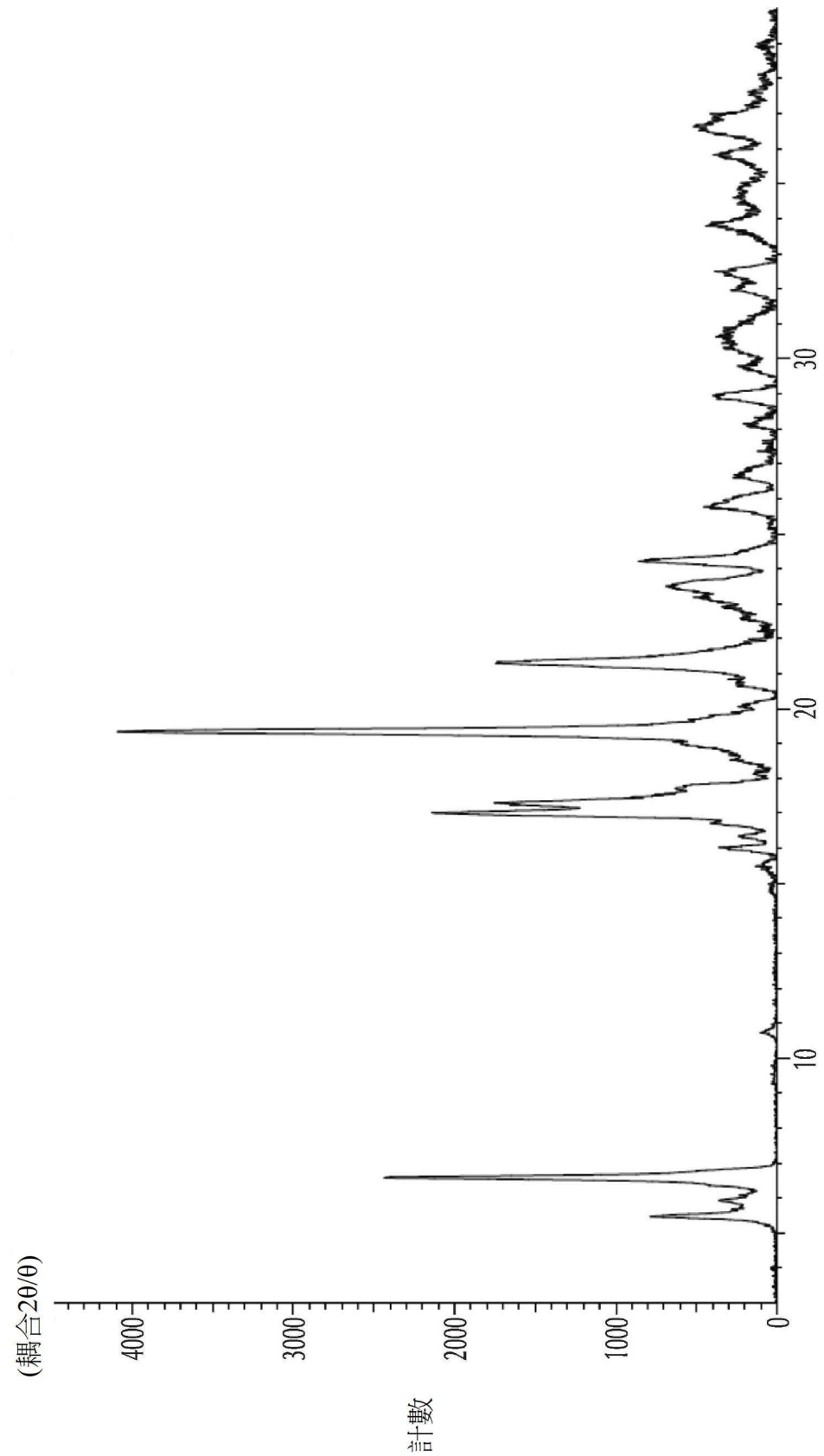
【圖5】

(1R,2S,5S)-6,6-二甲基**-3-**氮雜雙環**[3.1.0]**己烷**-2-**甲酸甲酯，化合物**VII**之**PXRD**圖

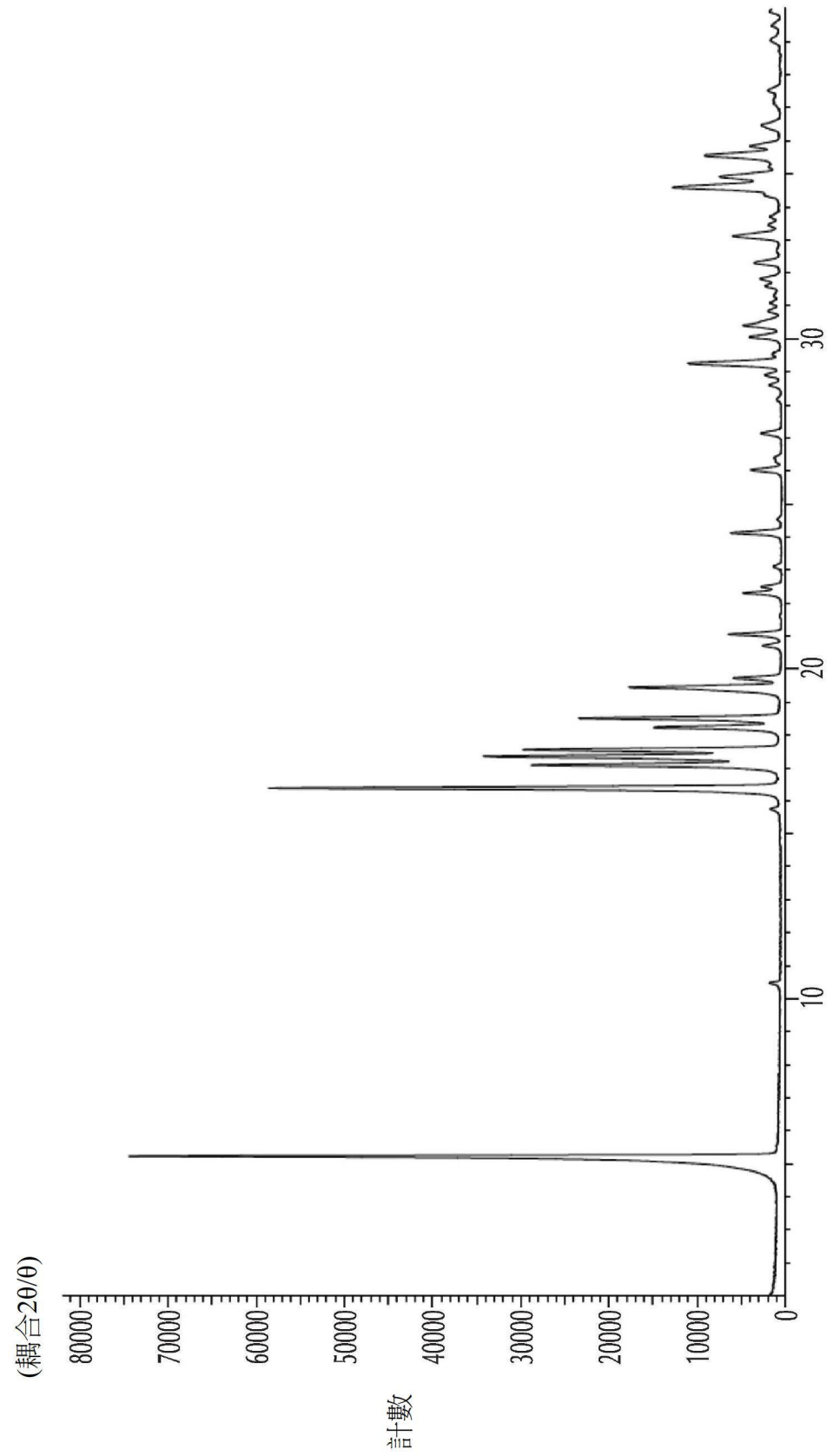


【圖6】

(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，化合物VI，初始形式之PXRD圖

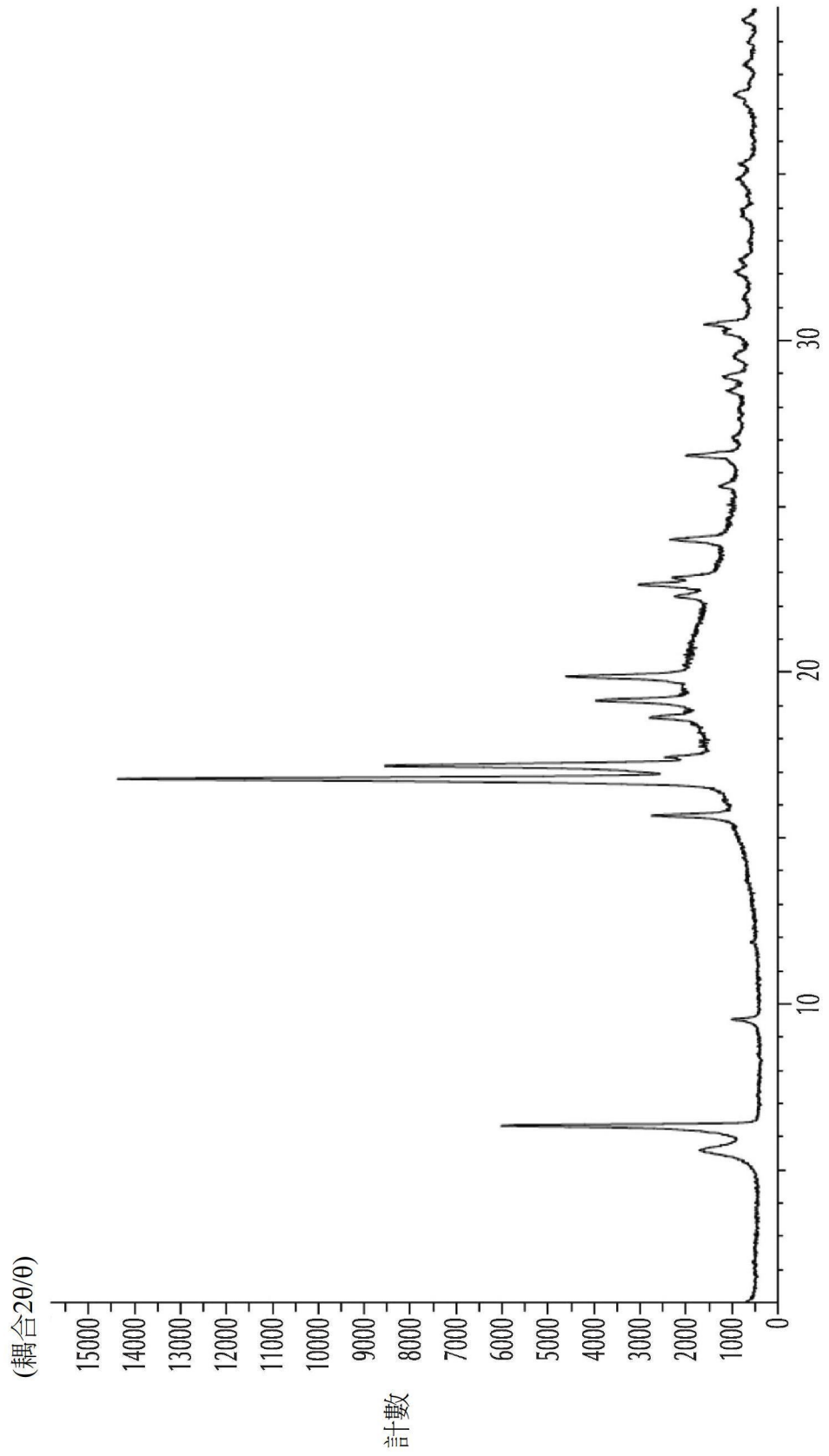


【圖7】


(1R,2S,5S)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲酸鈉，形式B之PXRD圖
(耦合2θ/θ)
計數
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
10
20
30
2θ (耦合2θ/θ) WL=1.54060

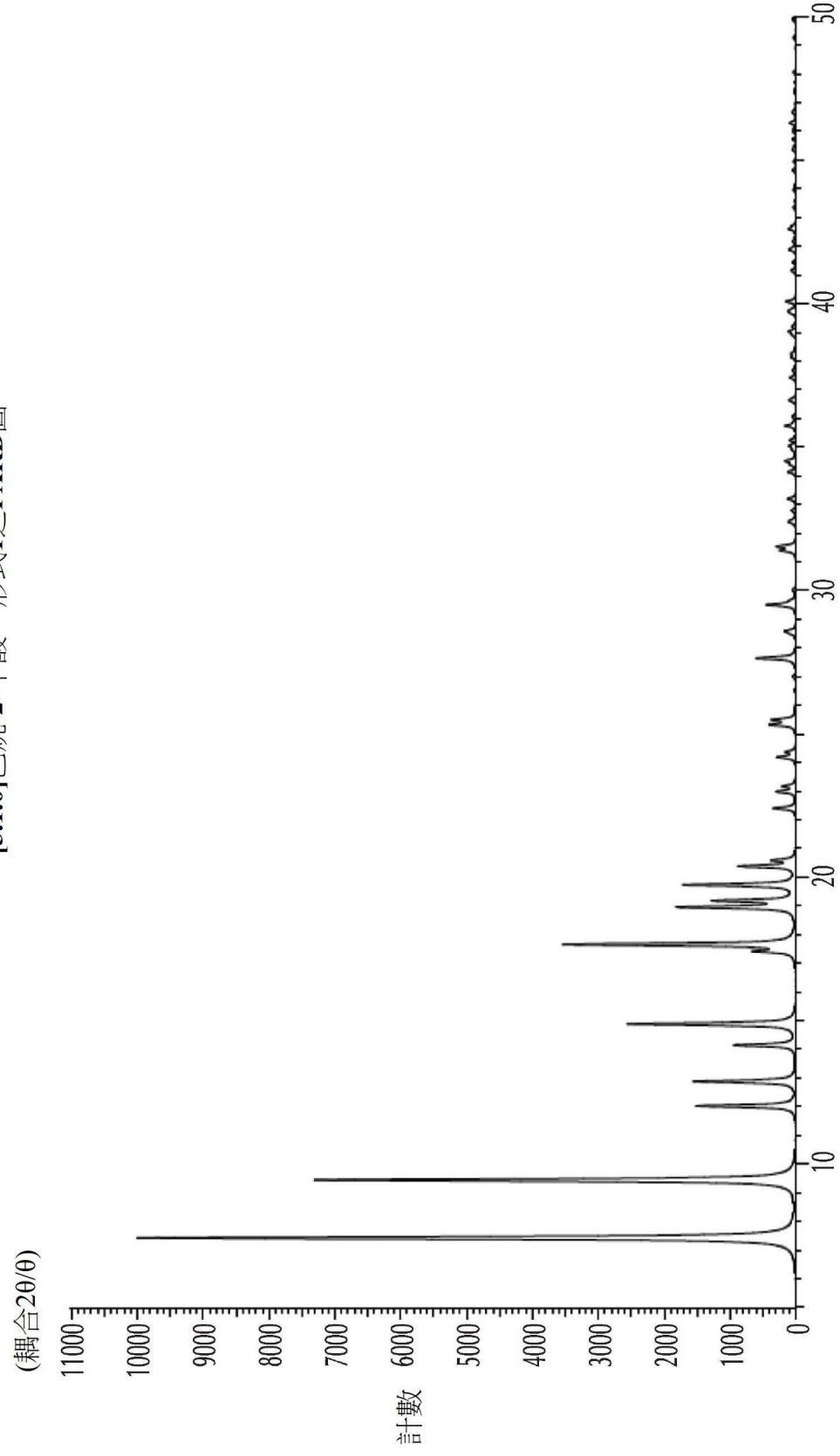
【圖8】

(1R,2S,5S)-6,6-二甲基**-3-**氮雜雙環**[3.1.0]**己烷**-2-**甲酸鈉，材料**A**之**PXRD**圖



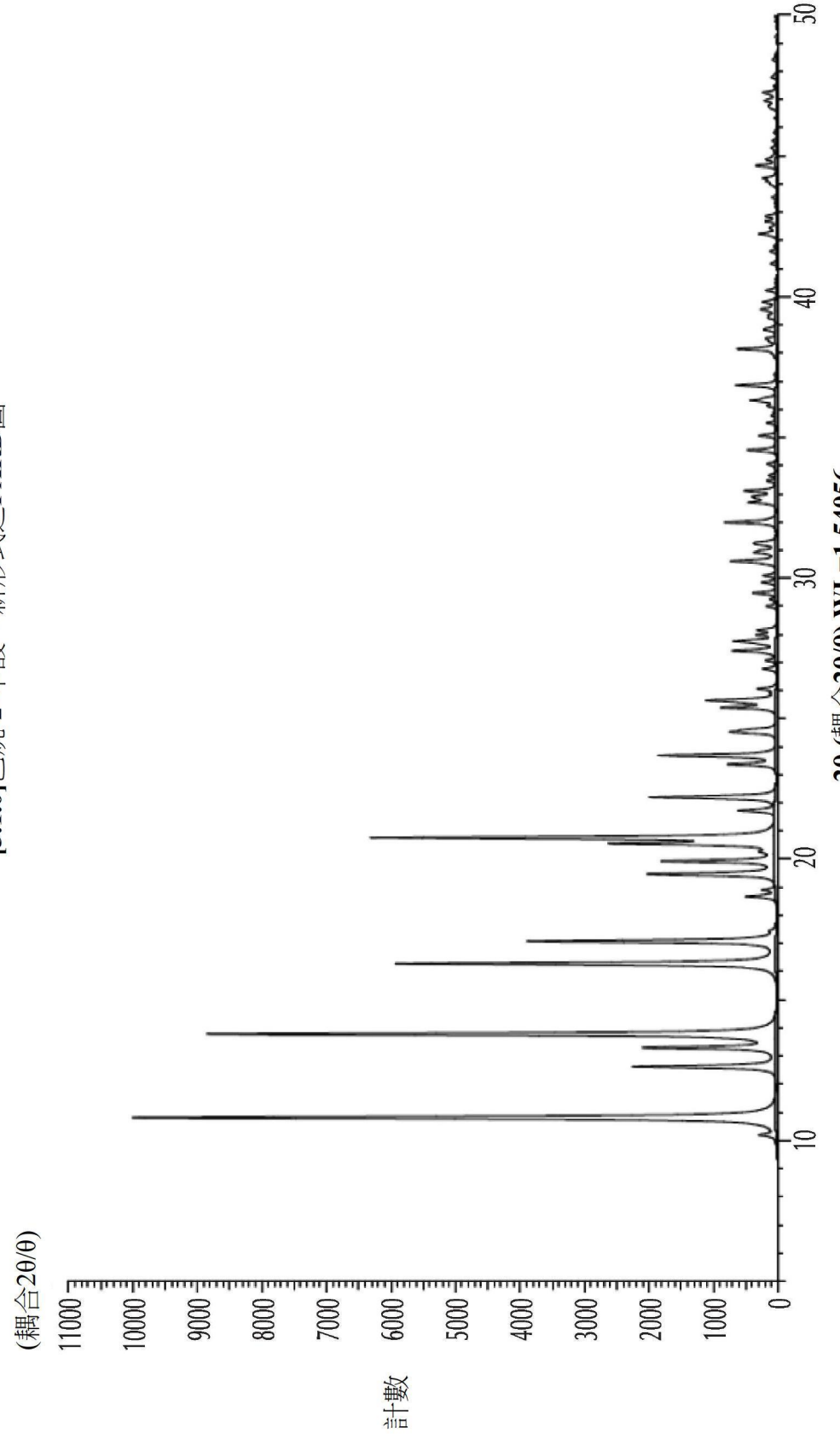
【圖9】

(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基**-2-(2,2,2-**三氟乙醯胺基)丁醯基**)-6,6-**二甲基**-3-**氮雜雙環**[3.1.0]**己烷**-2-**甲酸，形式**1**之**PXRD**圖



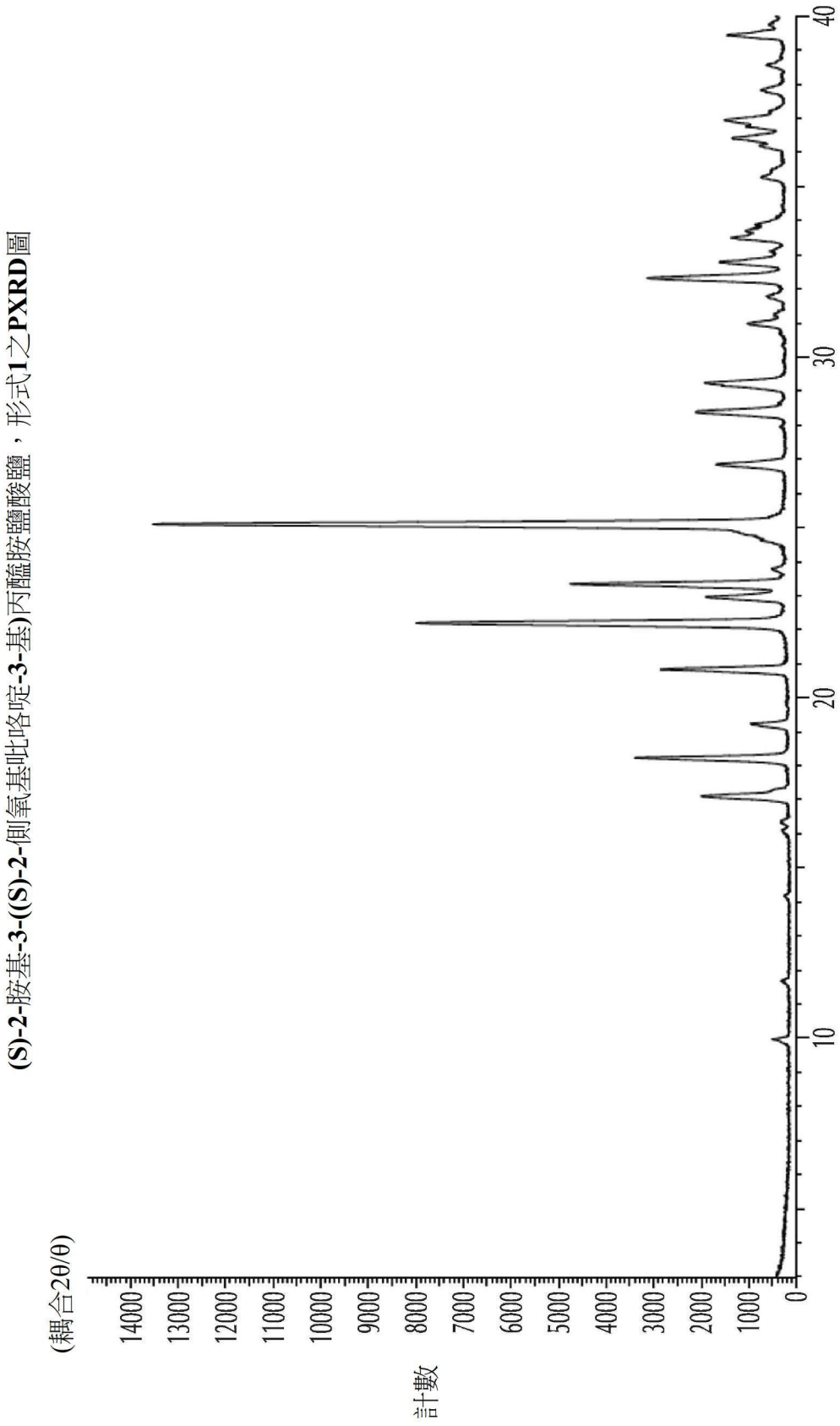
【圖10】

(1R,2S,5S)-3-((S)-3,3-二甲基**-2-(2,2,2-**三氟乙醯胺基)丁醯基)**-6,6-**二甲基**-3-**氮雜雙環**[3.1.0]**己烷**-2-**甲酸，新形式之**PXRD**圖



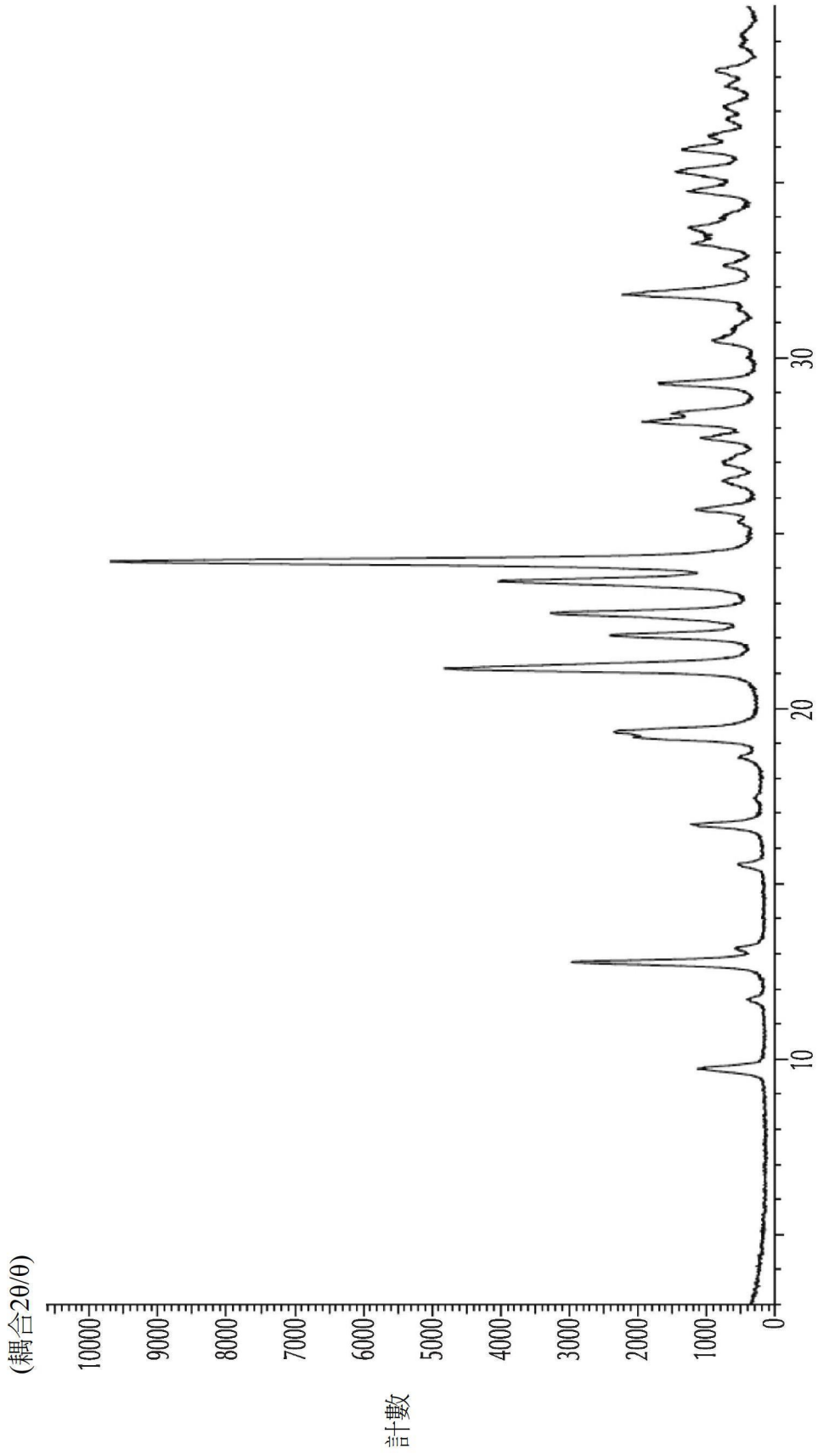
【圖11】

(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式1之PXRD圖



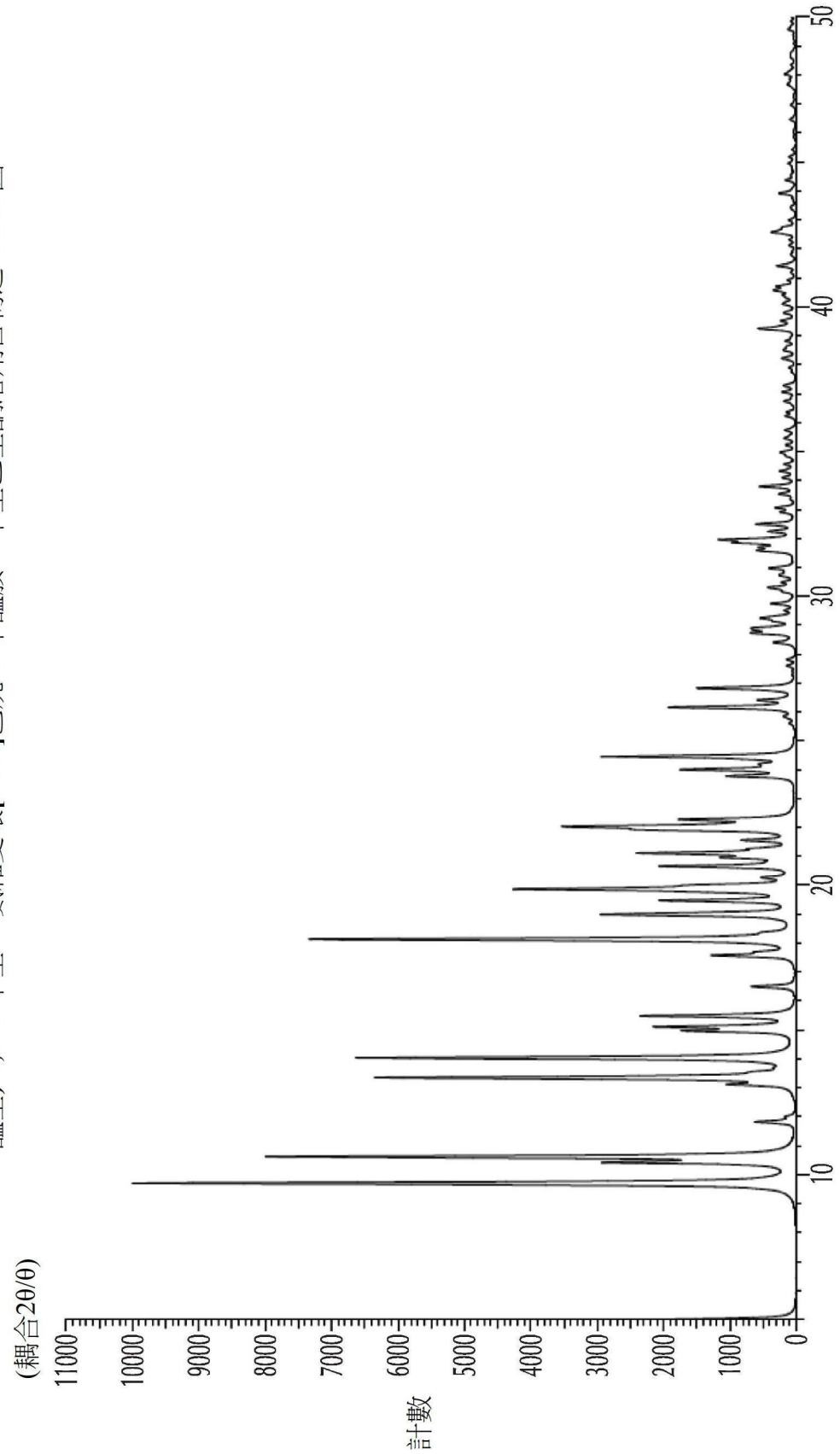
【圖12】

(S)-2-胺基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙醯胺鹽酸鹽，形式2之PXRD圖



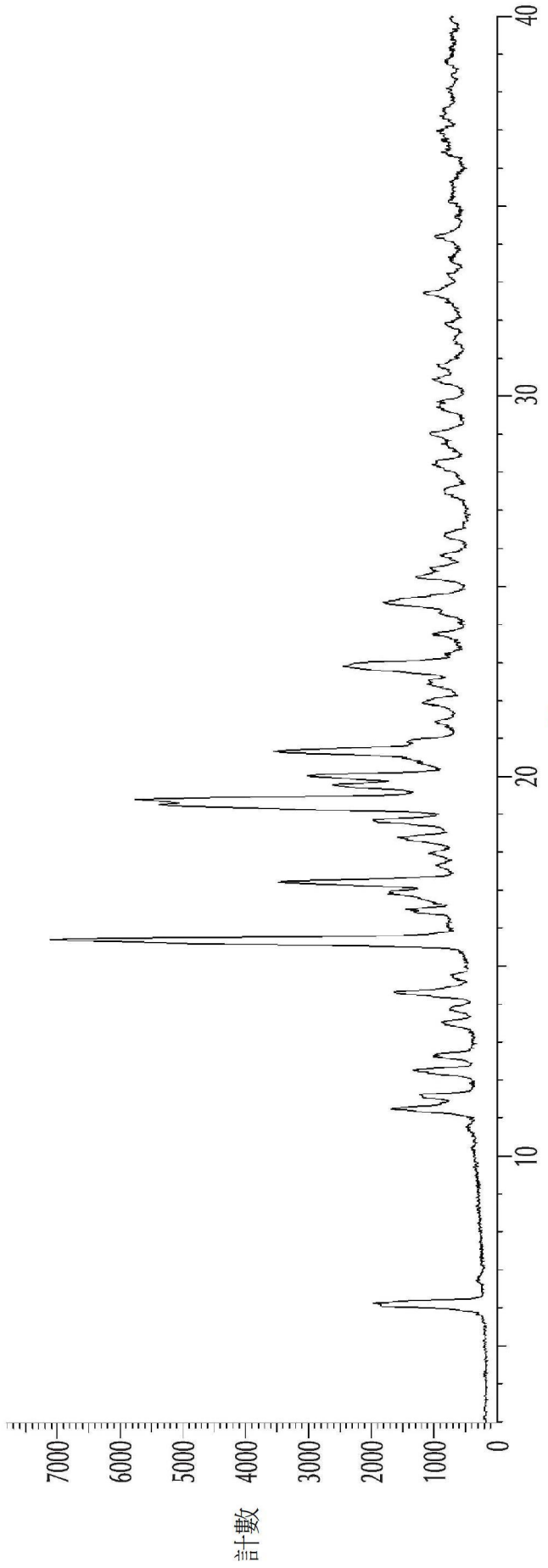
【圖13】

(1R,2S,5S)-N-((S)-1-胺基-1-側氧基-3-((S)-2-側氧基吡咯啶-3-基)丙-2-基)-3-((S)-3,3-二甲基-2-(2,2,2-三氟乙醯胺基)丁醯基)-6,6-二甲基-3-氮雜雙環[3.1.0]己烷-2-甲醯胺，甲基乙基酮溶劑合物之PXRD圖



【圖14】

PF-07321332乙酸異丙酯溶劑合物之PXRD圖



【圖15】