

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 045074

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.27

(21) Номер заявки
202193007

(22) Дата подачи заявки
2020.06.03

(51) Int. Cl. C07D 401/12 (2006.01)
C07D 401/14 (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ ПИРРОЛИДИНА

(31) 19382477.8

(32) 2019.06.07

(33) EP

(43) 2022.03.25

(86) PCT/US2020/035825

(87) WO 2020/247429 2020.12.10

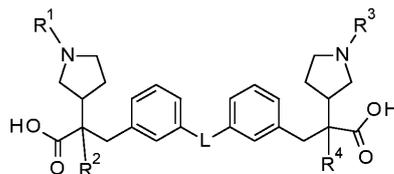
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Лафуэнте Бланко Селия, Диас
Буэсо Нурия, Мартинес Перес Хосе
Антонио, Санс Хиль Хема Консуэло,
Приего Солер Хулиан (US)

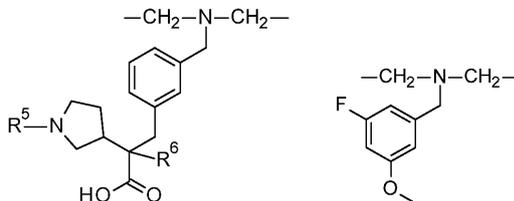
(74) Представитель:
Парамонова К.В., Угрюмов В.М.,
Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф.,
Гизатуллина Е.М., Костюшенкова
М.Ю., Строкова О.В. (RU)

(56) WO-A1-2005068412
WO-A1-2005068410
EP-A1-1452521
JIN JING YI ET AL.: "Synthesis and
Structure Determination of (2S,2'S)-3-Phenyl-2-
(pyrrolidin-2'-yl)-propionic Acid", SYNTHETIC
COMMUNICATIONS, vol. 33, no. 22, 18 August
2006 (2006-08-18), pages 3913-3917, XP055726631,
PHILADELPHIA, PA; US, ISSN: 0039-7911, DOI:
10.1081/SCC-120026314, scheme 1, compound 3

(57) В настоящем изобретении предложены соединения формулы



где L выбран из группы, состоящей из -CH₂NHCH₂-, -CH₂NH-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -O-, -OCH₂-,



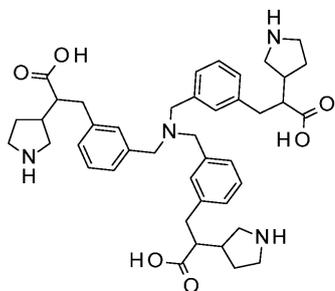
-OCH₂CH₂O-, -NHSO₂NH-,
приемлемая соль; соединение формулы

и

; или его фармацевтически

045074 B1

045074 B1



способы получения указанных соединений и их солей, фармацевтическая композиция и способы лечения пациентов, нуждающихся в таком лечении.

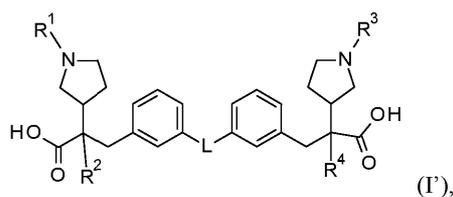
045074 B1

045074 B1

Настоящее изобретение относится к соединениям пирролидина, их фармацевтически приемлемым солям, фармацевтическим композициям и терапевтическим применениям указанных соединений.

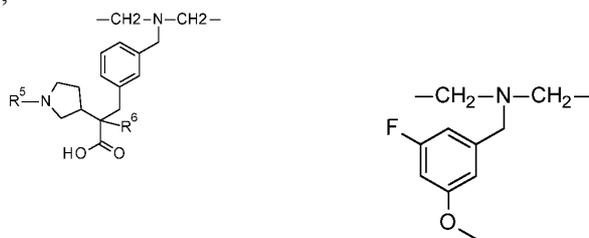
В лечении сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) были достигнуты значительные успехи. Несмотря на успехи в лечении, пациенты продолжают испытывать явления сердечно-сосудистых заболеваний, такие как стенокардия, инфаркт миокарда и инсульт, которые при отсутствии лечения приводят к смерти. Нарушение липидного обмена или дислипидемия остается основным фактором риска ССЗ. Нарушения липидного обмена можно разделить на четыре общих фактора риска: повышенный уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (Х-ЛПНП), холестерина липопротеинов низкой плотности (Х-ЛПВП), повышенный уровень триглицеридов (ТГ) и повышенный уровень липопротеинов (а) (ЛП (а)). Существуют различные схемы лечения, нацеленные на повышенный уровень Х-ЛПНП, низкий уровень Х-ЛПВП и повышенный уровень триглицеридов. Одобренных вариантов лечения пациентов с повышенными концентрациями ЛП (а) мало. В некоторых случаях можно использовать аферез для фильтрации крови для удаления ЛПНП и ЛП (а); однако эффект является временным и, как правило, процедуру нужно повторять каждые две недели. Не существует одобренного медикаментозного лечения для снижения уровня ЛП (а). Физиологическая функция ЛП (а) является сложной; однако сообщается, что повышенный уровень ЛП (а) в плазме является независимым фактором риска ССЗ. Существует потребность в медикаментозном лечении пациентов с повышенным уровнем ЛП (а)1.

Дополнительные варианты лечения являются желательными для пациентов, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, и, в частности, для пациентов, страдающих нарушениями липидного обмена или дислипидемией. Существует потребность в дополнительных вариантах лечения для пациентов, чьи сердечнососудистые риски не поддаются достаточной корректировке с использованием современных стандартных способов лечения, таких как диета, физические упражнения и/или применение одного или более лекарственных средств, таких как статины, фибраты и ниацин. В настоящем изобретении предложен другой вариант лечения для пациентов, страдающих ССЗ. Существует потребность в фармацевтически приемлемых соединениях и вариантах лечения для снижения уровней ЛП (а) в плазме. Предложено соединение формулы I':



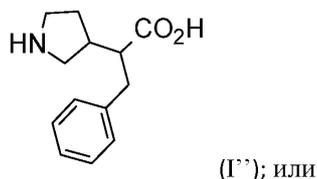
где

L выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$,



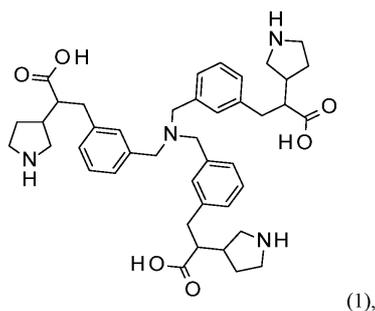
каждый R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^6 независимо выбран из группы, состоящей из H и CH_3 ; или его фармацевтически приемлемая соль.

Предложено соединение формулы I'':



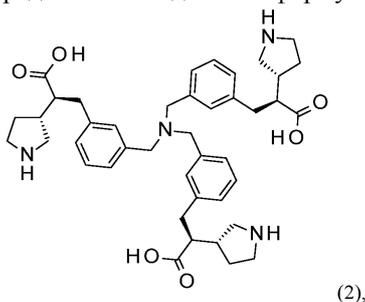
его фармацевтически приемлемая соль.

Предложено соединение формулы 1:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте реализации предложено соединение формулы 2:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В одном варианте реализации предложено соединение формулы I', I'', 1 или формулы 2, где указанное соединение представляет собой фармацевтически приемлемую соль. В одном варианте реализации предложено соединение формулы I', формулы 1 или формулы 2, где указанное соединение представляет собой гидрохлоридную соль. В одном варианте реализации предложено соединение формулы 1 или формулы 2, где указанное соединение представляет собой тетрагидрохлоридную соль.

В одном варианте реализации предложено соединение формулы I', формулы 1 или формулы 2, где указанное соединение представляет собой гидрохлоридную соль, выбранную из группы, состоящей из моногидрохлорида, дигидрохлорида, тригидрохлорида и тетрагидрохлорида. В одном из вариантов реализации предложено соединение формулы 1 или формулы 2 в виде цвиттер-иона.

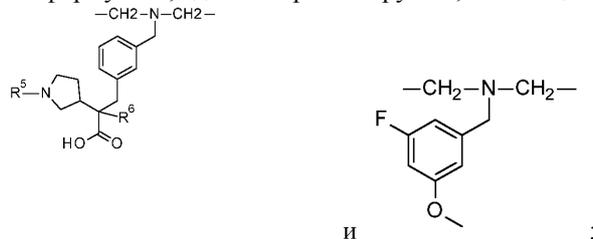
Предложено соединение формулы I', где L выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{NH}\text{SO}_2\text{NH}-$; или его фармацевтически приемлемая соль.

Предложено соединение формулы I', где каждый из R^1 и R^3 представляет собой H; и L выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{NH}\text{SO}_2\text{NH}-$; или его фармацевтически приемлемая соль.

Предложено соединение формулы I', где каждый из R^1 и R^3 представляет собой H; каждый из R^2 и R^4 представляет собой CH_3 ; и L выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{NH}\text{SO}_2\text{NH}-$; или его фармацевтически приемлемая соль.

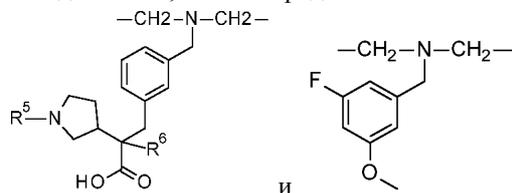
Предложено соединение формулы I', где каждый из R^1 и R^3 представляет собой H; каждый из R^2 и R^4 представляет собой H; и L выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{NH}\text{SO}_2\text{NH}-$; или его фармацевтически приемлемая соль.

Предложено соединение формулы I', где L выбран из группы, состоящей из



или его фармацевтически приемлемая соль.

Предложено соединение формулы I', где каждый из R^1 , R^3 и R^5 представляет собой



H; и L выбран из группы, состоящей из

или его фарма-

единения формул I', I'', 1 или формулы 2 могут представлять собой цвиттерионную соль, соль присоединения одной, двух или трех кислот. Соединения формул I', I'', 1 или формулы 2 могут представлять собой соли присоединения одного, двух или трех оснований.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению могут быть получены с использованием фармацевтически приемлемых добавок. Термин "фармацевтически приемлемый" относится к одному или более носителям, разбавителям и/или вспомогательным веществам, которые совместимы с другими компонентами композиции и не вредны для пациента с фармацевтической точки зрения. Примеры фармацевтических композиций и способов их получения хорошо известны специалистам в данной области и представлены, например, в публикации "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Loyd, V., et al. ред., 22-е изд., Mack Publishing Co., 2012.

В контексте настоящего документа термин "эффективное количество" относится к величине дозы, которая является эффективной при лечении нарушения. Эффективное количество для конкретного пациента может определить квалифицированный специалист в области здравоохранения.

В контексте настоящего документа термины "процесс лечения", "лечить" или "лечение" включают замедление, предотвращение или обращение вспять прогрессирующего или тяжелой существующего симптома, нарушения, патологического состояния или заболевания. В контексте настоящего документа термин "лечение сердечно-сосудистого заболевания" означает замедление, уменьшение, предотвращение или обращение вспять прогрессирующего заболевания сердца или кровеносных сосудов. Предложен способ лечения инфаркта миокарда, включающий введение соединения формулы I', формулы 1 или формулы 2 пациенту, нуждающемуся в этом.

В контексте настоящего документа термин "пациент" относится к млекопитающему. Предпочтительно пациентом является человек.

Фармацевтические композиции могут быть составлены в форму таблетки или капсулы для перорального введения, раствора для перорального введения или раствора для инъекций. В одном варианте реализации композиция подходит для перорального введения.

Некоторые сокращения определены следующим образом: "Аро" относится к аполипопротеину; "BOC" относится к трет-бутоксикарбонилу; "BCA" относится к бычьему сывороточному альбумину; "DAD" относится к детектору с диодной матрицей; "ДХМ" относится к дихлорметану или метиленхлориду; "д.и." относится к диастереомерному избытку; "ДМЭА" относится к диметилэтиламину; "ДМЕМ" относится к среде Игла, модифицированной Дульбекко; "ДМФА" относится к N,N-диметилформамиду; "ДМСО" относится к диметилсульфоксиду; "э.и." относится к энантиомерному избытку; "ЕАСА" относится к эписилон-аминокапроновой кислоте или 6-аминокапроновой кислоте; "ELISA" относится к твердофазному иммуноферментному анализу; "экв." относится к эквивалентам; "Et₂O" относится к диэтиловому эфиру; "EtOAc" относится к этилацетату; "EtOH" относится к этанолу или этиловому спирту; "Пр." относится к примеру; "ФБС" относится к фетальной бычьей сыворотке; "НЕС" относится к гидроксипроцеллюлозе; "НЕК" относится к почке эмбриона человека; "НерG2" относится к клеточной линии гепатомы человека; "НЕРЕС" относится к 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоте; "ВЭЖХ" относится к высокоэффективной жидкостной хроматографии; "HRP" относится к пероксидазе хрена; "IC50" относится к концентрации агента, которая вызывает 50% максимального ингибирующего ответа, возможного для этого агента; "мин" относится к минуте или минутам; "MeOH" относится к метанолу или метиловому спирту; "МТБЭ" относится к метил-трет-бутиловому эфиру; "ОФ-ВЭЖХ/МС" относится к обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией; "КТ" относится к комнатной температуре; "СЖХ" относится к сверхкритической жидкостной хроматографии; "SPA" относится к сквентилляционному анализу сближения; "t_R" относится ко времени удерживания; "ТГФ" относится к тетрагидрофурану; "ТМВ" относится к 3,3',5,5'-тераметилбензидину, а "Tris" относится к трис(гидроксиметил)аминометану.

Отдельные изомеры, энантиомеры и диастереомеры могут быть выделены или разделены специалистами в данной области техники в любой удобной точке синтеза соединений, перечисленных ниже, способами, известными специалистам в данной области техники, например, при помощи технологии селективной кристаллизации или хиральной хроматографии.

Соединение формулы I', формулы I'', формулы 1 или формулы 2 легко превращается в фармацевтически приемлемую соль и может быть выделено в виде такой соли. Образование соли может происходить при добавлении фармацевтически приемлемой кислоты с образованием соли присоединения кислоты или путем добавления фармацевтически приемлемого основания с образованием соли присоединения основания. Соли также могут образовываться одновременно при снятии защиты с азота или кислорода, то есть при удалении защитной группы. Примеры, реакции и условия солеобразования известны специалисту в данной области техники.

Соединения, выбранные из группы, состоящей из формулы I', формулы I'', формулы 1 и формулы 2 или их солей, могут быть получены с помощью различных способов, некоторые из которых проиллюстрированы в разделах примеры получения и примеры ниже. Конкретные стадии синтеза для каждого из описанных способов можно комбинировать различным образом или в сочетании со стадиями из других способов для получения соединений или солей согласно настоящему изобретению. Продукты каждой

стадии в разделе Примеры получения можно выделять традиционными способами, хорошо известными в данной области техники, включая экстракцию, упаривание, осаждение, хроматографию, фильтрование, растирание и кристаллизацию.

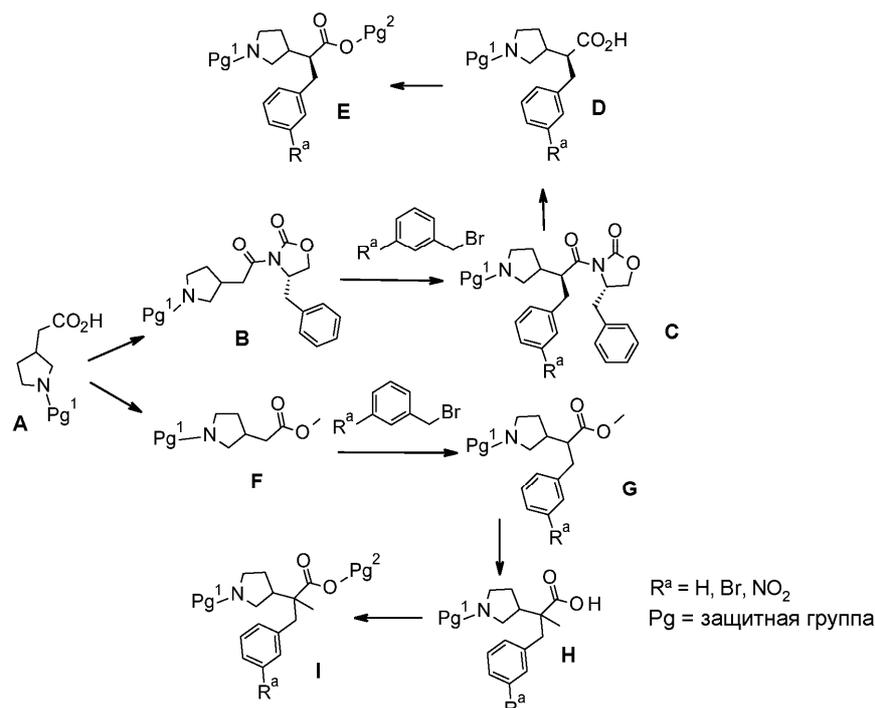
На следующих ниже схемах все заместители, если не указано иное, являются такими, как определено ранее. Реагенты и исходные вещества общедоступны специалистам в данной области техники. Не ограничивая объем изобретения, следующие схемы, способы получения и примеры представлены для дополнительной иллюстрации изобретения. Соединения формулы I', I'', формулы 1 и формулы 2 или их соли могут быть получены с использованием исходных веществ или промежуточных соединений с соответствующей желаемой стереохимической конфигурацией.

На схеме 1 показано получение промежуточных соединений, которые могут обеспечивать доступ к соединениям согласно настоящему изобретению. Защищенное производное А пирролидин-3-илуксусной кислоты сначала превращают в ацилоксазолидинон В. Этого достигают путем предварительного превращения А в хлорангидрид кислоты и взаимодействия с (4S)-4-бензилоксазолидин-2-оном в присутствии хлорида лития при 10°C. Алкилирование ацилоксазолидинона В производным бензилбромида и основанием, таким как бис(триметилсилил)амид лития, при 0°C позволяет получить промежуточное соединение С диастереоселективным образом. Специалистам в данной области известно, что стереохимия замещения оксазолидинона влияет на диастереоселективность алкилирования, и что использование производного оксазолидинона В с противоположной или рацемической стереохимической конфигурацией в этом синтезе может дать либо противоположную диастереоселективность, либо ее отсутствие. Превращение ацилоксазолидинона С в кислотное промежуточное соединение D осуществляют с помощью водного LiOH и H₂O₂ в ТГФ при температуре от 5 до 15°C. Кислотное промежуточное соединение D необязательно выделяют в виде соли аммония. Кислотное промежуточное соединение D защищено, например, в виде трет-бутилового эфира путем реакции с трет-бутил-1,3-диизопропилизомиочевинной при повышенной температуре с получением промежуточного соединения E.

На схеме 1 также изображено превращение кислоты А в сложный метиловый эфир F, что достигают путем взаимодействия А с йодметаном в присутствии карбонатного основания. Затем промежуточное соединение F алкилируют производным бензилбромида с использованием основания, такого как бис(триметилсилил)амид лития, при -78°C с получением промежуточного соединения G. Промежуточное соединение G снова алкилируют йодметаном с использованием основания, такого как бис(триметилсилил)амид лития, при -78°C, и затем сложный эфир гидролизуют гидроксидом натрия при повышенной температуре с получением кислотного промежуточного соединения H. Кислотное промежуточное соединение H защищено, например, в виде трет-бутилового эфира путем реакции с трет-бутил-1,3-диизопропилизомиочевинной при повышенной температуре с получением промежуточного соединения I.

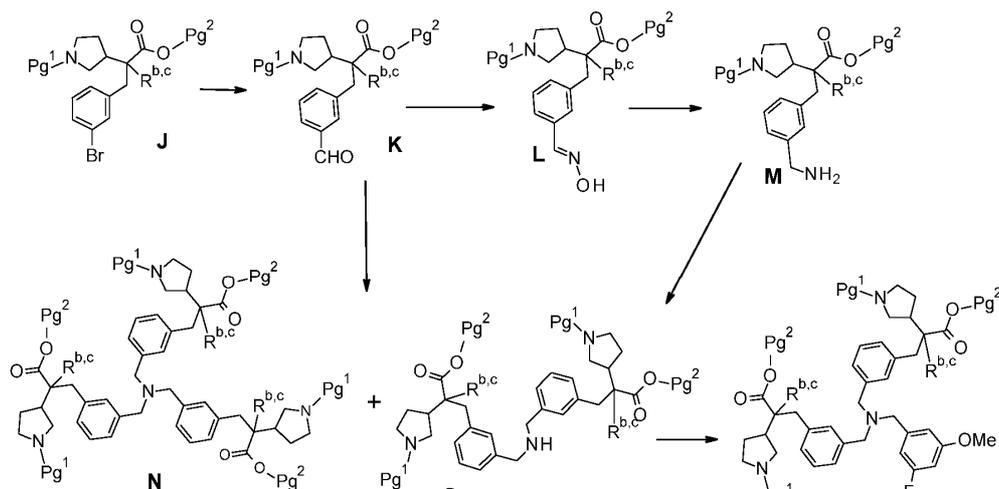
В частности, промежуточные соединения D, E, H и I, где R^a представляет собой бром или -NO₂, особенно подходят для дальнейших превращений при получении соединений формулы I'. Промежуточное соединение D, где R^a представляет собой -H, может быть получено либо путем алкилирования В бензилбромидом с последующим гидролизом ацилоксазолидинона, либо путем перемешивания промежуточного соединения D, где R^a представляет собой бром с палладием на углеродном носителе, в атмосфере водорода. Когда R^a представляет собой -H, снятие защиты с пирролидинового азота в промежуточном соединении D позволяет получить соединения формулы I''.

Схема 1.



На схеме 2 показано превращение ключевого промежуточного соединения (J, полученного, как описано на схеме 1) в предпоследние соединения согласно настоящему изобретению. Бромид превращают в альдегид К с использованием синтез-газа (1:1 CO/H₂), ацетата палладия(II), бутилди-1-адамантилфосфина и N,N,N',N' -тетраметилэтилендиамина при повышенной температуре. Затем альдегид К превращают в смесь N и O путем восстановительного аминирования К (2 или 3 эквивалента соответственно) с аммонием и восстанавливающим агентом, таким как триацетоксиборгидрид натрия или циано-боргидрид натрия, а затем N и O разделяют с помощью хроматографии. В качестве альтернативы, димерное соединение O получают путем превращения альдегида К в альдоксим L, восстановления L до амина M проточным гидрированием с использованием губчатого никелевого катализатора при повышенной температуре, с последующим восстановительным аминированием амина M альдегидом К. Промежуточное соединение P получают путем восстановительного аминирования димерного промежуточного соединения O с 3-фтор-5-метоксибенальдегидом.

Схема 2.

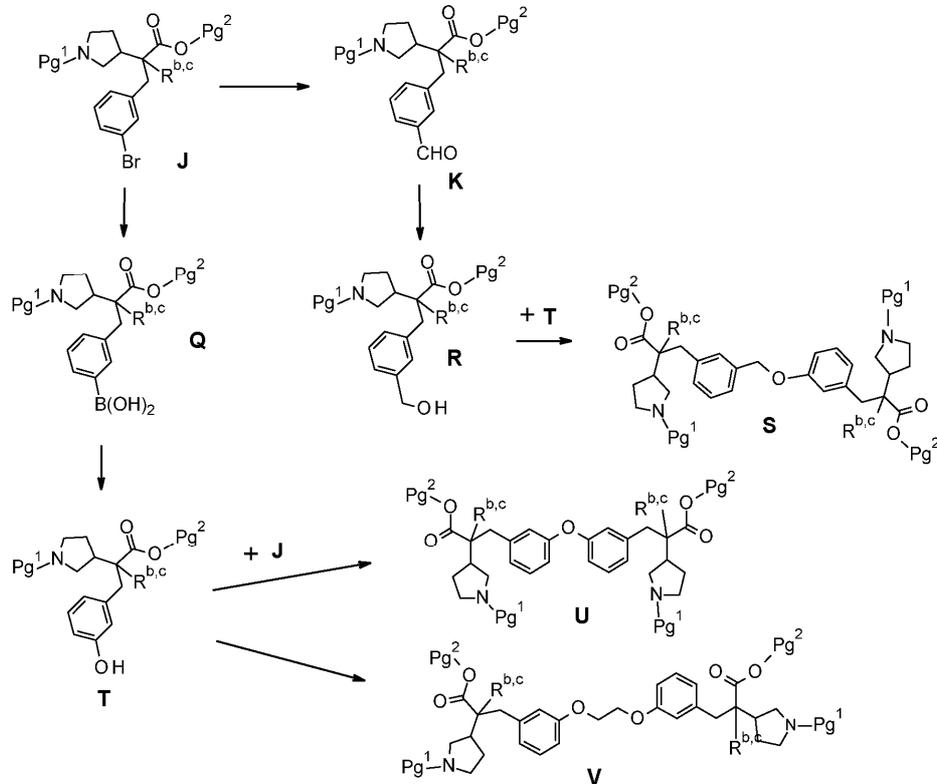


R^b и R^c независимо = -H или -CH₃

На схеме 3 показано дополнительное применение бромидного промежуточного соединения J для получения предпоследних соединений согласно настоящему изобретению. Бромид J превращают в бороновую кислоту Q с использованием тетрагидроксиборана, хлор(2-дихлоргексилфосфино-2',4',6'-трипропил-1,1'-бифенил)(2'-амино-1,1'-бифенил-2-ил)палладия(II), X-PHOS и ацетата калия при повышенной температуре. Затем бороновую кислоту Q превращают в фенол T с использованием H₂O₂ при 5°C. Фенол T связывают на бромиде J с использованием йодида меди(I), гидрохлорида N,N-диметилглицина и

карбоната цезия при повышенной температуре с получением дифенилового эфира U. Фенол T также вступает в реакцию с 1,2-дибромэтаном и карбонатным основанием при повышенной температуре с получением V. Промежуточное соединение альдегида K (полученное из бромида J, как описано на схеме 2) восстанавливают боргидридом натрия при 0°C до спирта R, который затем подвергают реакции Мицунобу с получением промежуточного соединения S.

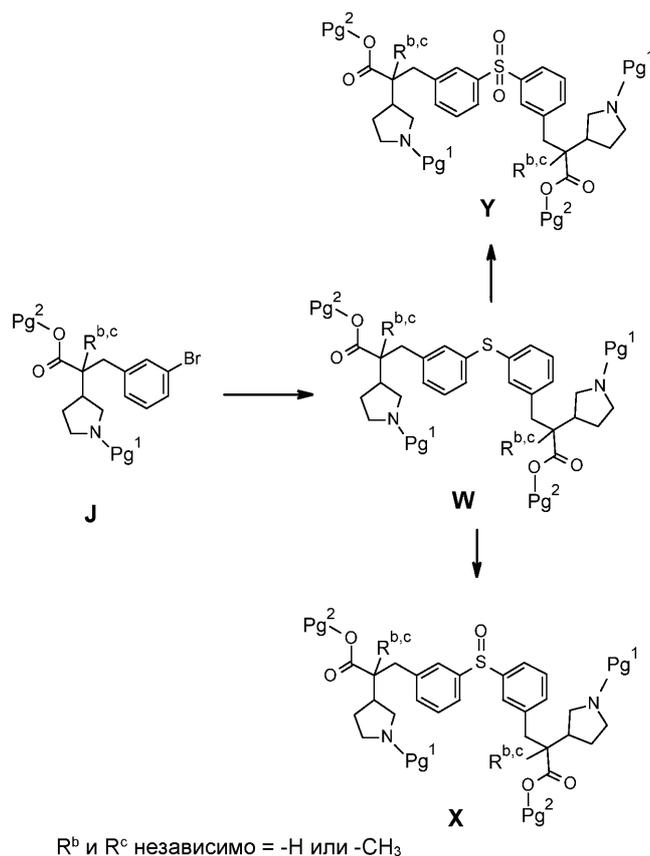
Схема 3.



R^b и R^c независимо = -H или $-CH_3$

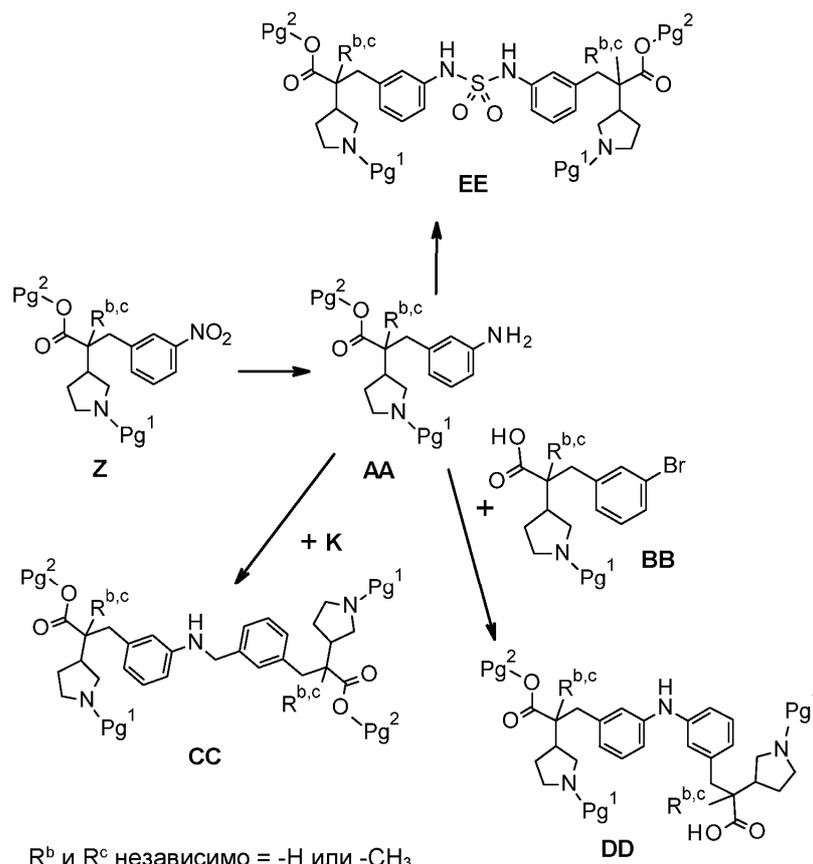
На схеме 4 показано дополнительное применение бромидного промежуточного соединения J для получения предпоследних соединений согласно настоящему изобретению. Два эквивалента бромида J соединяют с тиацетатом калия с использованием бис(дипенилиденацетон)палладия, трехосновного фосфата калия), 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцена с получением дифенилсульфида W. Затем сульфид W превращают в сульфон X или сульфоксид Y с использованием 1 или 2 эквивалентов метаклорпероксибензойной кислоты, соответственно.

Схема 4.



На схеме 5 показано использование промежуточного нитро-соединения Z (полученного, как на схеме 1) для получения предпоследних соединений по настоящему изобретению. Промежуточное нитро-соединение Z восстанавливают до анилина AA в присутствии катализатора в атмосфере водорода. Анилин AA подвергают восстановительному аминированию с альдегидом К (полученным, как на схеме 2) с использованием восстанавливающего агента, такого как триацетоксиборгидрид натрия, с получением СС. Реакция Бухвальда между анилином AA и бромидом ВВ (полученным, как на схеме 1) с использованием метансульфоната [(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II) (BrettPhos Pd G3) и карбоната калия при повышенной температуре позволяет получить производное дифениламина DD. Два эквивалента анилина AA также реагируют с аддуктом 1,4-дизабицикло[2.2.2]октан-бис(диоксид серы) (DABSO) и йодом при повышенной температуре с получением сульфида EE.

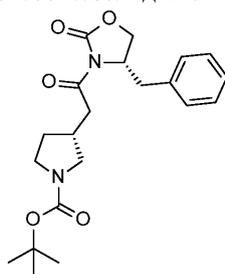
Схема 5.



Общее снятие защиты с промежуточных соединений N, O, P, S, U, V, W, X, Y, CC, DD и EE со схем 2-5 позволяет получить соединения формулы I. Если защитная группа пирролидина (Pg¹ на схемах 1-5) представляет собой -BOC, а сложный эфир (Pg² на схемах 1-5) представляет собой трет-бутиловый эфир, общее снятие защиты осуществляют в один этап с использованием раствора HCl в органическом растворителе, таком как диэтиловый эфир, диоксан или изопропанол. После снятия защиты азот пирролидина в соединениях формулы I может быть метилирован путем восстановительного аминирования параформальдегидом и триацетоксиборгидридом натрия.

Пример получения 1.

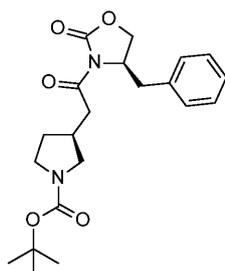
трет-Бутил-(3R)-3-[2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют триэтиламин (56,5 г, 77,9 мл, 559 ммоль, 2,5 экв.) в раствор 2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]уксусной кислоты (53,8 г, 235 ммоль, 1,05 экв.) в ТГФ (540 мл), поддерживаемый при 10°C. Через 5 мин добавляют пивалоилхлорид (33,7 г, 34,2 мл, 279 ммоль, 1,25 экв.). Через 15 мин добавляют хлорид лития (11,8 г, 279 ммоль, 1,25 экв.) в ТГФ (540 мл) и (4S)-4-бензилоксазолидин-2-он (40,0 г, 223 ммоль, 1 экв.). Дают смеси нагреться до КТ и перемешивают 24 ч. Через 24 ч добавляют 1 н. водную HCl (500 мл) и отделяют органическую фазу от водной фазы. Органическую фазу промывают 1 н. водным NaOH (500 мл) и насыщенным водным NaCl (500 мл), сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют раствор в вакууме. Осадок суспендируют в смеси MeOH/вода (1:2, 575 мл) и перемешивают при КТ в течение ночи. Отфильтровывают твердое вещество, промывают гексаном (2×150 мл) и сушат твердое вещество с получением указанного в заголовке соединения (65,7 г, 76%). ЭР/МС (m/z): 333 (M+H-трет-бутил), ¹H ЯМР (400,13 МГц, CDCl₃) δ 7,38-7,28 (m, 3H), 7,25-7,20 (m, 2H), 4,73-4,70 (m, 1H), 4,27-4,19 (m, 2H), 3,75-3,66 (m, 1H), 3,55-3,48 (m, 1H), 3,38-3,30 (m, 2H), 3,11-2,96 (m, 3H), 2,84-2,76 (m, 1H), 2,74-2,65 (m, 1H), 2,14-2,11 (m, 1H), 1,64-1,58 (m, 1H), 1,49 (s, 9H).

Пример получения 2.

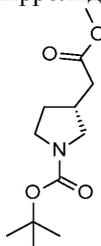
трет-Бутил-(3S)-3-[2-[(4R)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 1, с использованием 2-[(3S)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]уксусной кислоты и (4R)-4-бензилоксазолидин-2-она. Очищают продукт при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 50% EtOAc в гексанах. ЭР/МС (m/z): 333 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 3.

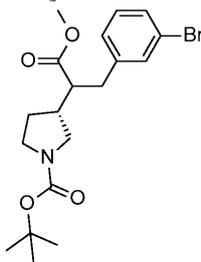
трет-Бутил-(3R)-3-(2-метокси-2-оксоэтил)пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют йодметан (2 моль/л в МТБЭ, 240 мл, 480 ммоль, 1,1 экв.) к раствору 2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]уксусной кислоты (100 г, 436 ммоль) в ДМФА (800 мл) при КТ. Добавляют карбонат калия (90,4 г, 654 ммоль, 1,5 экв.) и перемешивают полученную смесь в течение 4 ч. Добавляют воду (1,5 л) и экстрагируют МТБЭ (3 л). Органическую фазу промывают смесью лед/вода (3 x 500 мл), сушат органическую фазу над MgSO₄, фильтруют и концентрируют раствор при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (103 г, 97%). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) 5,368 (с, 3H), 3,65-3,53 (м, 1H), 3,52-3,36 (м, 1H), 3,35-3,23 (м, 1H), 3,03-2,84 (м, 1H), 2,64-2,49 (м, 1H), 2,45-2,30 (м, 2H), 2,13-1,97 (м, 1H), 1,65-1,48 (м, 1H), 1,45 (с, 9H).

Пример получения 4.

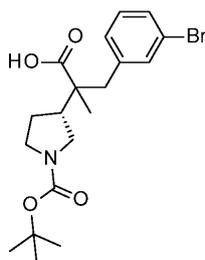
трет-Бутил-(3R)-3-[1-[(3-бромфенил)метил]-2-метокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



К раствору трет-бутил-(3R)-3-(2-метокси-2-оксоэтил)пирролидин-1-карбоксилата (7 г, 28 ммоль) в ТГФ (93 мл) при -78°C добавляют бис(триметилсилил)амид лития (1 М раствор в ТГФ, 33,5 мл, 33,5 ммоль, 1,2 экв.). Смесь перемешивают при -78°C в течение 1 ч. Добавляют раствор 3-бромбензилбромида (8,37 г, 33,5 ммоль, 1,2 экв.) в ТГФ (5 мл). Дают смеси нагреться до КТ и перемешивают в течение ночи. Гасят смесь насыщенным водным NH₄Cl и экстрагируют EtOAc. Органические слои промывают насыщенным водным раствором NaCl, сушат над MgSO₄, фильтруют и выпаривают досуха. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 40% EtOAc в гексанах, с получением смеси диастереомеров указанного в заголовке соединения (8,4 г, 73%) в виде желтого масла. ЭР/МС (m/z): 356, 358 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 5.

3-(3-Бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-2-метилпропановая кислота.

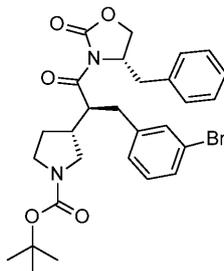


К раствору трет-бутил-(3R)-3-[1-[(3-бромфенил)метил]-2-метокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (8,4 г, 20 ммоль) в ТГФ (100 мл) в атмосфере азота и при -78°C добавляют бис(триметилсилил)амид лития (1 М раствор в ТГФ, 41 мл, 41 ммоль, 2 экв.). Перемешивают реакционную смесь при -78°C в течение 2 ч. Добавляют йодметан (25 мл, 410 ммоль, 20 экв.) и дают смеси нагреться до КТ.

Перемешивают смесь в течение ночи. Добавляют насыщенный водный NH_4Cl и экстрагируют EtOAc . Органический слой промывают насыщенным водным NaCl и сушат над MgSO_4 , фильтруют и удаляют растворитель в вакууме. Осадок растворяют в MeOH (80 мл) и ТГФ (80 мл), затем добавляют гидроксид натрия (5 М раствор в воде, 81 мл, 410 ммоль, 20 экв.) и нагревают полученную смесь при 60°C в течение 3 дней. Дают смеси остыть до КТ, добавляют HCl (1 н. водный раствор), чтобы довести pH смеси до 2-3. Экстрагируют водный слой EtOAc . Органический слой сушат над MgSO_4 , фильтруют и концентрируют в вакууме. Осадок подвергают хиральной СЖХ при следующих параметрах: колонка - Chiralpak® AD (25×3 см, 5 мкм); подвижная фаза - растворитель А= CO_2 , растворитель В= $\text{MeOH}+0,2\%$ об./об. ДМЭА; градиент - изократический 80:20 А:В; скорость потока - 120 мл/мин). Получают изомер 1 (1,7 г, 27%) и изомер 2 (3,4 г, 41%) указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 356 / 358 (М+Н-трет-бутил).

Пример получения 6.

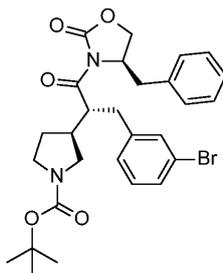
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-1-[(3-бромфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют раствор бис(триметилсилил)амида лития (1М в ТГФ, 818 мл, 818 ммоль, 1,2 экв.) за 29 мин при 0°C к раствору трет-бутил-(3R)-3-[2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (265 г, 682 ммоль) в ТГФ (1325 мл) в 3-горлой круглодонной колбе вместимостью 3 л на ледяной бане в атмосфере азота при механическом перемешивании. Смесь перемешивают в течение 47 мин при $0,6^{\circ}\text{C}$. Затем добавляют раствор 1-бром-3-(бромметил)бензола (190 г, 760 ммоль, 1,12 экв.) в ТГФ (450 мл) в течение 28 мин, повышая температуру реакции до $5,1^{\circ}\text{C}$. Дают смеси нагреться до КТ при перемешивании в течение ночи. Охлаждают реакционную смесь с помощью ледяной/водяной бани, затем добавляют насыщенный водный раствор NH_4Cl (1 л) 4 порциями с такой скоростью, чтобы поддерживать температуру реакции ниже 21°C . К смеси добавляют воду (1 л) и экстрагируют МТБЭ (3,5 л). Органический слой промывают смесью воды (1 л) и насыщенного водного NaCl (500 мл), затем насыщенным водным NaCl (500 мл). Органические вещества сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, затем концентрируют в вакууме. К осадку добавляют гексаны (1 л) и концентрируют в вакууме, затем сушат в высоком вакууме в течение ночи, чтобы получить указанное в заголовке соединения в виде оранжевого масла (416 г, > 100%), чистота оценивается в 90 мас.% на основе теоретического выхода. ЭР/МС (m/z): 501/503 (М+Н-трет-бутил).

Пример получения 7.

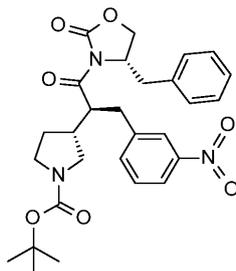
трет-Бутил-(3S)-3-[(1R)-2-[(4R)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-1-[(3-бромфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 6, с использованием трет-бутил(3S)-3-[2-[(4R)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. ЭР/МС (m/z): 501, 503 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 8.

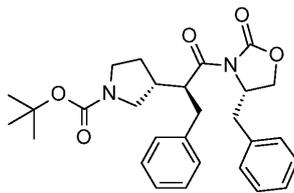
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-1-[(3-нитрофенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют бис(триметилсилил)амид лития (1,0 M в ТГФ, 46 мл, 46 ммоль, 1,2 экв.) к раствору трет-бутил-(3R)-3-[2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (15 г, 39 ммоль, 1 экв.) в ТГФ (75 мл) при -20°C. Перемешивают смесь при -20°C в течение 20 мин. Добавляют раствор 1-(бромметил)-3-нитробензола (9,17 г, 42,5 ммоль, 1,1 экв.) в ТГФ (45 мл). Перемешивают раствор в течение 2 ч и дают ему нагреться до КТ. Смесь разбавляют МТБЭ и гасят насыщенным водным раствором NH₄Cl. Разделяют фазы, и экстрагируют водную фазу МТБЭ. Органические экстракты объединяют, и органические вещества последовательно промывают водой и насыщенным водным NaCl. Сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют фильтрат в вакууме. Осадок растирают в смеси MeOH/H₂O (2:1, 150 мл). Перемешивают суспензию в течение ночи. Фильтруют, чтобы собрать твердое вещество, и промывают его гексанами. Сушат твердое вещество в вакууме при 40°C с получением указанного в заголовке соединения (19 г, 88%). ЭР/МС (m/z): 468 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 9.

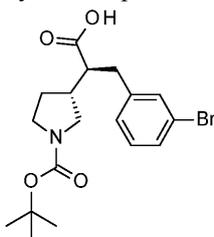
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-1-бензил-2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Получают указанное в заголовке соединение с чистотой 76% по существу так, как описано в примере получения 6, с использованием бензилбромида. ЭР/МС (m/z): 423 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 10.

(2S)-3-(3-Бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановая кислота.

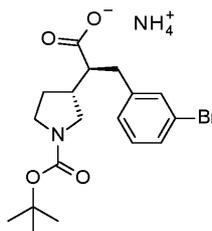


Добавляют раствор пероксида водорода (0,88 M в воде, 105 мл, 926 ммоль, 1,5 экв.) одной порцией к механически перемешиваемой смеси трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-1-[(3-бромфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (чистота 90 мас.%, 381 г, 615 ммоль) в ТГФ (4 л) и охлаждают до 8,6°C в трехгорлой круглодонной колбе вместимостью 12 л на ледяной/водяной бане. Добавляют раствор моногидрата гидроксида лития (38,7 г, 923 ммоль, 1,5 экв.) в воде

(930 мл) в течение 25 мин, повышая температуру реакции до 12,8°C. Реакционную смесь перемешивают в течение 2,5 ч, затем охлаждают до 5,7°C. Добавляют раствор бисульфита натрия (129,4 г, 1244 ммоль, 2,02 экв.) в воде (2 л) в течение 40 мин, повышая температуру реакции до 14,7°C. Добавляют водный раствор NaOH (5 н.) для повышения pH реакционной смеси до >12, затем добавляют воду (1 л) и МТБЭ (4 л). Разделяют слои, и экстрагируют водный слой МТБЭ (2 л). Органические вещества объединяют, экстрагируют водой (1 л), затем добавляют указанную водную экстракцию к основному водному раствору. Перемешивают водный раствор с МТБЭ (3 л) и охлаждают смесь до 5°C. Добавляют водный раствор соляной кислоты (5 н.) для доведения pH смеси до 3. Разделяют слои и промывают органический слой смесью насыщенного водного NaCl (1л) и воды (500 мл). Органические слои сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме при 40°C. Осадок сушат в высоком вакууме с получением указанного в заголовке соединения (221,5 г, 90%) в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 342/344 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 11.

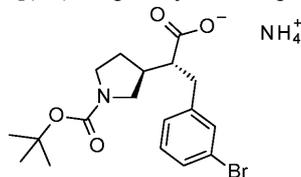
Аммоний;(2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропаноат.



Смешивают (2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановую кислоту (237,6 г, 596,5 ммоль) и МТБЭ (3801 мл) с образованием мутной смеси с твердыми веществами. Фильтруют смесь через 2 бумажных фильтра из стекловолна и добавляют аммоний (7 М) в MeOH (128 мл, 896 ммоль, 1,5 экв.) к фильтрату в атмосфере азота при механическом перемешивании. В осадок выпадает белое твердое вещество, и смесь становится очень густой. К смеси добавляют МТБЭ (800 мл), чтобы получить текучую суспензию. Смесь перемешивают при КТ в течение 1,5 ч, затем охлаждают от -5 до 0°C на ледяной/ацетоновой бане и перемешивают в течение 1,5 ч. Твердое вещество фильтруют путем вакуумной фильтрации через пропиленовый мат и пористую стеклянную воронку вместимостью 3 л и промывают твердое вещество МТБЭ (1 л), затем продолжают подавать вакуум при КТ в течение ночи в атмосфере азота. Объединяют твердое вещество с еще двумя партиями материала, приготовленными аналогичным образом, начиная с (2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановой кислоты (47,3 г, 113 ммоль и 53,0 г, 120 ммоль). Суспендируют твердое вещество в ацетонитриле (4300 мл) и перемешивают смесь при 23°C при механическом перемешивании в атмосфере азота в течение ночи. Твердое вещество фильтруют с помощью вакуумной фильтрации и промывают ацетонитрилом (500 мл) и МТБЭ (1 л), затем продолжают применять вакуум в течение 4 ч при КТ в атмосфере азота с получением указанного в заголовке соединения в виде белого порошка (249,5 г, 77%). ЭР/МС (m/z): 342/344 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 12.

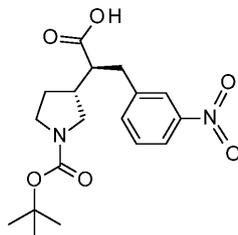
Аммоний; (2R)-3-(3-бромфенил)-2-[(3S)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропаноат.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 10, с использованием трет-бутил-(3S)-3-[(1R)-2-[(4R)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-1-[(3-бромфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата с последующим образованием соли аммония, как описано в примере получения 11. ЭР/МС (m/z): 342, 344 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 13.

(2S)-2-[(3R)-1-трет-Бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-(3-нитрофенил)пропановая кислота.

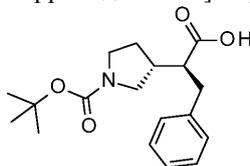


Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 10,

с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-1-[(3-нитрофенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата, пропуская стадию добавления водного раствора бисульфита натрия в процессе реакции. ЭР/МС (m/z): 309 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 14.

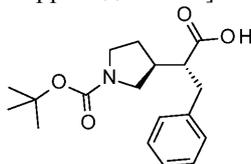
(2S)-2-[(3R)-1-трет-Бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-фенилпропановая кислота.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 10, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-бензил-2-[(4S)-4-бензил-2-оксооксазолидин-3-ил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. Продукт очищают путем растирания со смесью 1:1 MeOH:вода. ЭР/МС (m/z): 264 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 15.

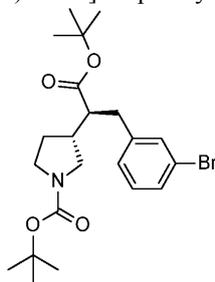
(2R)-2-[(3S)-1-трет-Бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-фенилпропановая кислота.



Растворяют аммоний;(2R)-3-(3-бромфенил)-2-[(3S)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропаноат (830 мг, 2,08 ммоль) в EtOH (20 мл) и добавляют палладий на углеродном носителе (10 мас.%, 222 мг, 0,208 ммоль, 0,1 экв.). Смесь перемешивают в атмосфере водорода при КТ в течение ночи. Реакционную смесь фильтруют через слой диатомита. Концентрируют фильтрат, и очищают осадок при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 40% EtOAc в гексанах с добавлением 1% уксусной кислоты, с получением указанного в заголовке соединения (560 мг, 84%) в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 264 (M+H-трет-бутил).

Пример получения 16.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-бромфенил)метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



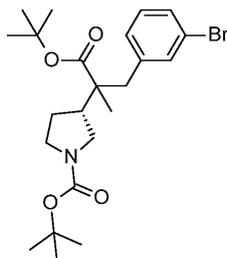
Добавляют в реактор аммоний; (2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропаноат (500 г, 1210 ммоль), 2-метилтетрагидрофуран (4000 мл) и затем раствор KHSO₄ (1M в воде, 3000 мл). Смесь перемешивают в течение 30 мин, за это время измеряется pH 2-3. Разделяют фазы реакционной смеси и экстрагируют водный слой 2-метилтетрагидрофураном (1000 мл).

Объединяют органические фазы и промывают их насыщенным водным NaCl. Органическую фазу сушат над MgSO₄ и фильтруют. Переносят раствор в реактор и добавляют 2-трет-бутил-1,3-диизопропилизомочевину (618,2 г, 3024 ммоль, 2,5 экв.). Перемешивают смесь при 65°C в течение трех часов и добавляют еще 2-трет-бутил-1,3-диизопропилизомочевину (247,3 г, 1210 ммоль, 1 экв.). Смесь перемешивают при 65°C в течение ночи. Смесь охлаждают до КТ. Отфильтровывают твердое вещество, и промывают органический слой насыщенным водным раствором NaHCO₃ (1000 мл). Сушат органический слой над MgSO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме. К осадку добавляют МТБЭ (2000 мл), и отфильтровывают твердое вещество. Концентрируют фильтрат с получением указанного в заголовке соединения (483 г, 88%) в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 342/344 (M+H- 2x трет-бутил).

Пример получения 17.

трет-Бутил-(3R)-3-[1-[(3-бромфенил)метил]-2-трет-бутокси-1-метил-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.

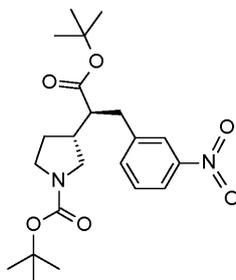
045074



К раствору 3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-2-метилпропановой кислоты, изомера 2 (3,4 г, 8,2 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (33 мл) добавляют 2-трет-бутил-1,3-диизопропилизомочевину (5,1 г, 5,7 мл, 25 ммоль, 3 экв.) и нагревают смесь при 55°C в течение 3,5 ч. Добавляют дополнительное количество 2-трет-бутил-1,3-диизопропилизомочевины (5,1 г, 5,7 мл, 25 ммоль, 3 экв.) и продолжают нагревать реакционную смесь при 55°C в течение 1,5 ч. Добавляют дополнительное количество 2-трет-бутил-1,3-диизопропилизомочевины (2,5 г, 2,9 мл, 12 ммоль, 1,5 экв.) и продолжают нагревать реакционную смесь при 55°C в течение ночи. Отфильтровывают белое твердое вещество и промывают МТБЭ, затем выпаривают фильтрат досуха. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 0 до 100% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (3,6 г, 93%) в виде желтого масла. ЭР/МС (m/z): 356, 358 [M+H-(2×трет-бутил)].

Пример получения 18.

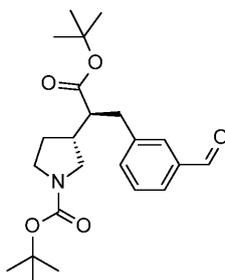
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[(3-нитрофенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 17, с использованием (2S)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-(3-нитрофенил)пропановой кислоты, и проводят реакцию при 80°C в толуоле в качестве реакционного растворителя. Неочищенный продукт очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 5 до 20% EtOAc в гексанах. ЭР/МС (m/z): 309 [M+H-(2×трет-бутил)].

Пример получения 19.

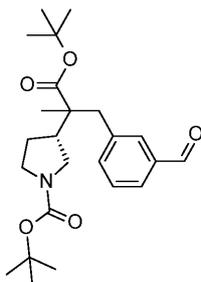
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[(3-формилфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют в реактор Парра раствор трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-бромфенил)метил]-2-трет-бутоксид-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (300 г, 660 ммоль) в толуоле (3000 мл) с последующим добавлением ацетата палладия (II) (7,41 г, 33,0 ммоль, 0,05 экв.), бутилди-1-адамантилфосфина (24,92 г, 66,02 ммоль, 0,1 экв.) и N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина (115 г, 149 мл, 990 ммоль, 1,5 экв.). Создают в смеси давление синтетического газа 70 фунтов/кв. дюйм (CO/H₂ 1:1) и перемешивают при 100°C в течение ночи. Смесь охлаждают до КТ и выпаривают растворитель досуха. Осадок растворяют в EtOAc и фильтруют через силикагель с получением указанного в заголовке соединения (273 г, 97%) в виде оранжевого масла. ЭР/МС (m/z): 426 (M+Na).

Пример получения 20.

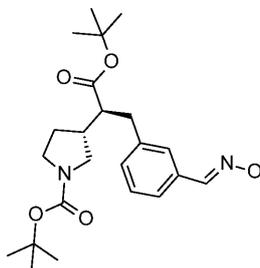
трет-Бутил-(3R)-3-[2-трет-бутоксид-1-[(3-формилфенил)метил]-1-метил-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 19, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[1-[(3-бромфенил)метил]-2-трет-бутокси-1-метил-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. Неочищенный продукт очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 30% ацетона в гексанах. ЭР/МС (m/z): 262 (M+H-трет-бутил-ВОС).

Пример получения 21.

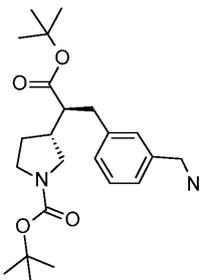
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[гидроксииминометил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Смешивают трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-(3-формилфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (50 г, 105 ммоль, чистота 85%), EtOH (400 мл), пиридин (17,0 мл, 211 ммоль, 2 экв.) и гидроксид гидроксиламина (10,98 г, 158,0 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивают при КТ в течение 2 ч. Выпаривают растворитель, добавляют KHSO₄ (1 М раствор в воде, 300 мл) и МТБЭ (500 мл). Отделяют органический слой, промывают органический слой насыщенным водным NaHCO₃, фильтруют и сушат над MgSO₄. Фильтруют через Целит® и концентрируют досуха, получая указанное в заголовке соединение в виде желтого масла (49 г, выход 98%, чистота 88% мас./мас.). ЭР/МС (m/z): 319 (M+H-Вос).

Пример получения 22.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-(аминометил)фенил]метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



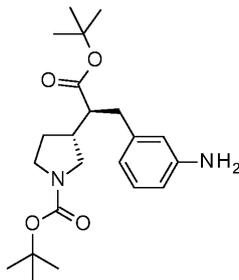
Подготавливают проточный химический реактор высокого давления FlowCAT (H.E.L Ltd) реакторной колонной с уплотненным слоем из нержавеющей стали (внутренний диаметр 1,2 см/длина 10 см), содержащей губчатый никелевый катализатор (2 г) и стеклянные шарики (6 г, от 212 до 300 мкм). Реактор оборудован регуляторами расхода газа и жидкости и нагревательной рубашкой вокруг колонны. Уравновешивают колонку промывкой MeOH и газообразным водородом со следующими параметрами: скорость потока жидкости - 4 мл/мин; скорость потока H₂ - 60 мл/мин; давление - 50 Бар; температура рубашки реакторной колонны - 120°C (температура внутренней реакции поддерживается на уровне 50°C).

Растворяют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[гидроксииминометил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (49 г, 103 ммоль, чистота 88% мас./мас.) в аммонии (7 М раствор в MeOH, 606 мл) и промывают его через реакторную колонку вместе с газообразным водородом, используя параметры уравновешивания колонны, собирая элюат из реакторной колонны. Снова промывают колонку аммонием (7 М раствор в MeOH) в течение 20 мин, собирая элюат из колонны реактора. Объединяют фракции элюата из реакторной колонны и концентрируют смесь в вакууме с получением указанного в заголовке соединения в виде масла (46,9 г, выход 88%, чистота 78% мас./мас.). ЭР/МС (m/z): 405 (M+H).

Пример получения 23.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-(аминофенил)метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-

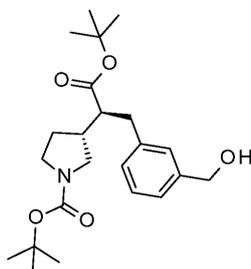
карбоксилат.



Добавляют палладий на углеродном носителе (10% мас./мас., 380 мг, 0,36 ммоль, 0,05 экв.) к перемешиваемому раствору трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-tert-бутоксид-1-[(3-нитрофенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (3 г, 7,1 ммоль) в EtOAc (71 мл) в атмосфере азота. Смесь продувают водородом и перемешивают в атмосфере водорода при КТ в течение ночи. Реакционную смесь фильтруют через слой диатомита. Концентрируют фильтрат в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (2,62 г, 94%) в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 291 (M+H-BOC).

Пример получения 24.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-tert-бутоксид-1-[[3-(гидроксиэтил)фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.

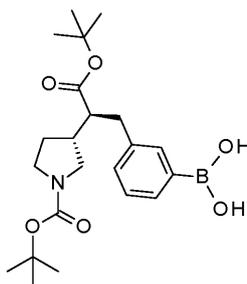


Добавляют боргидрид натрия (0,208 г, 5,50 ммоль, 1,2 экв.) к раствору трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-tert-бутоксид-1-(3-формилфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (1,85 г, 4,58 ммоль) в MeOH (25 мл) при 0°C. Через 10 мин выпаривают растворитель. Добавляют насыщенный водный NaHCO₃ и экстрагируют водный слой EtOAc. Промывают органический слой водой и насыщенным водным раствором NaCl.

Органические слои сушат над MgSO₄ и концентрируют в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (2,94 г, 97,5%) в виде бесцветного масла. ЭР/МС (m/z): 428 (M+Na).

Пример получения 25.

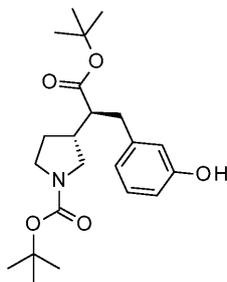
[3-[(2S)-3-tert-Бутоксид-2-[(3R)-1-tert-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]бороновая кислота.



Смешивают трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-бромфенил)метил]-2-tert-бутоксид-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (16,4 г, 36,1 ммоль), тетрагидроборид (5,00 г, 54,1 ммоль, 1,5 экв.), хлор-(2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенилил)]палладий (II) (XPhos Pd G2, 0,145 г, 0,180 ммоль, 0,005 экв.), 2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропилбифенил (XPhos, 0,176 г, 0,361 ммоль, 0,01 экв.), ацетат калия (10,6 г, 108 ммоль, 3 экв.), EtOH (246 мл) и этиленгликоль (6,10 мл, 108 ммоль, 3 экв.). Продувают азотом в течение 5 мин. Смесь перемешивают при 90°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждают до КТ, добавляют 2-метилтетрагидрофуран (158 мл) и фильтруют. Концентрируют и используют осадок из Примера получения 26 без дополнительной очистки. ЭР/МС (m/z): 308 (M+H-2× трет-бутил).

Пример получения 26.

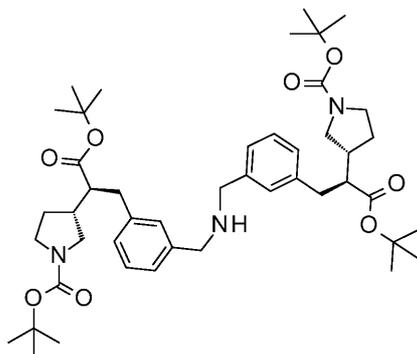
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-tert-бутоксид-1-[(3-гидроксифенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



К раствору [3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]бороновой кислоты (3,8 г, 8,4 ммоль) в ТГФ (42 мл) добавляют раствор пероксида водорода (30% в воде, 9,1 мл, 84 ммоль, 10 экв.). Реакционную смесь перемешивают при КТ в течение ночи. Медленно гасят реакцию, добавляя раствор бисульфита натрия (20% мас./об. в воде, 120 мл). Дважды экстрагируют смесь EtOAc и промывают объединенные органические слои насыщенным водным NaCl. Органические слои сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 40% ацетона в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (3,05 г, 90%) в виде твердого вещества бежевого цвета. ЭР/МС (m/z): 280 (M+H-2× трет-бутил).

Пример получения 27.

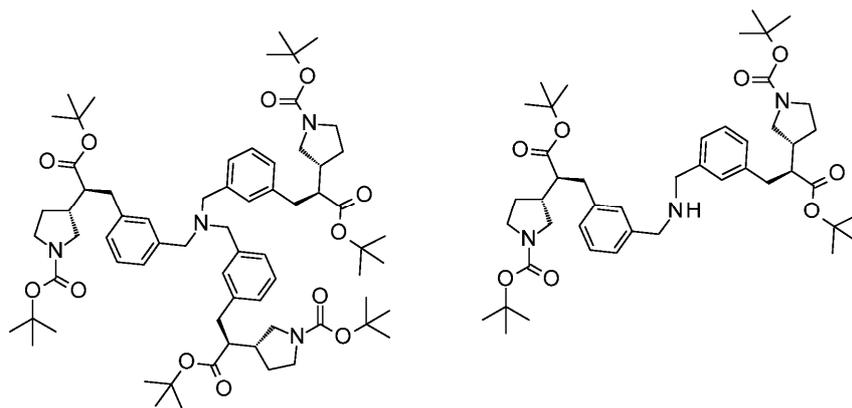
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (48 г, 100 ммоль, чистота 85% мас./мас., 1,1 экв.), изопропанол (328 мл) и трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-(аминометил)фенил]метил]-2-трет-бутоксипирролидин-1-карбоксилат (46,9 г, 93 ммоль, чистота 78%, 1 экв.) в круглодонную колбу. Смесь перемешивают при КТ в течение 1 ч. Смесь охлаждают до 0°C и добавляют триацетоксиборгидрид натрия (59 г, 280 ммоль, 3 экв.), и перемешивают смесь при КТ в течение 2 дней. Удаляют растворитель при пониженном давлении с получением осадка. Добавляют воду (200 мл), насыщенный водный NaHCO₃ (300 мл) и EtOAc (500 мл). Органический слой отделяют и очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 50 до 100% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (36 г, выход 42%, чистота 85% мас./мас.). ЭР/МС (m/z): 792 (M+H).

Пример получения 28.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[бис[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутоксипирролидин-1-карбоксилат и трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Способ 1 получения указанных в заголовке соединений в виде смеси с последующим разделением при помощи хроматографии.

В круглодонную колбу добавляют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-1-карбоксилат (222 г, 550 ммоль), 2-пропанол (888 мл) и раствор аммония (2M в 2-пропанол, 302,6 мл, 605,2 ммоль, 1,1 экв.). Охлаждают смесь до 0-5°C при помощи ледяной бани. Добавляют триацетоксиборгидрид натрия (116,6 г, 550,2 ммоль, 1 экв.) четырьмя порциями, выдерживая 40 мин между добавлением каждой порции. Перемешивают смесь при КТ в течение ночи. Выпаривают растворитель досуха. К осадку добавляют воду (200 мл), водный K₂HPO₄ (300 мл) и экстрагируют водный слой МТБЭ (2×500 мл). Органический слой сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют досуха. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 20 до 80% EtOAc в гексанах, с получением трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[бис[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутоксипирролидин-1-карбоксилата (57,8 г, 27%) в виде белого твердого вещества. ¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,30-7,24 (m, 6H), 7,12 (s, 3H), 7,04 (s, 3H), 3,75-3,43 (m, 12H), 3,30-3,21 (m, 3H), 3,10-2,96 (m, 3H), 2,89-2,76 (m, 6H), 2,49 (d, J=4,7 Гц, 3H), 2,37 (dd, J=7,2, 14,4 Гц, 3H), 1,98-1,90 (m, 3H), 1,74-1,61 (m, 3H), 1,48 (s, 27H), 1,22 (s, 27H).

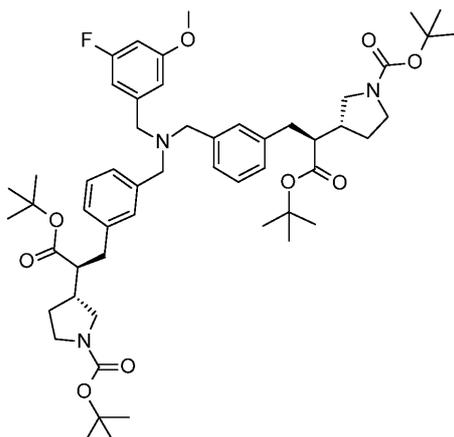
При помощи хроматографии на силикагеле, описанной выше, также получают трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (82,50 г, 34%) в виде бесцветного масла. ЭР/МС (m/z): 792 (M+H), чистота согласно ВЭЖХ составляет 90 мас.%.

Способ 2 получения трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[бис[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутоксипирролидин-1-карбоксилата.

В круглодонную колбу добавляют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (чистота 90 мас.%, 81,5 г, 92,6 ммоль), трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (чистота 85 мас.%, 50,6 г, 106 ммоль, 1,15 экв.), 2-пропанол (652 мл) и уксусную кислоту (5,31 мл, 92,6 ммоль, 1 экв.) и перемешивают смесь в течение 30 мин. К смеси добавляют триацетоксиборгидрид натрия (2 экв., 185 ммоль, 39,3 г) и перемешивают при КТ в течение 2 ч, затем концентрируют реакционную смесь в вакууме. К осадку добавляют воду (200 мл) и МТБЭ (300 мл), а затем добавляют концентрированный водный гидроксид аммония для доведения pH до 9-10. Органическую фазу отделяют и сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют досуха. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 20 до 40% EtOAc в гексанах, с получением трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[бис[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутоксипирролидин-1-карбоксилата (89 г, 82%) в виде белого твердого вещества.

Пример получения 29.

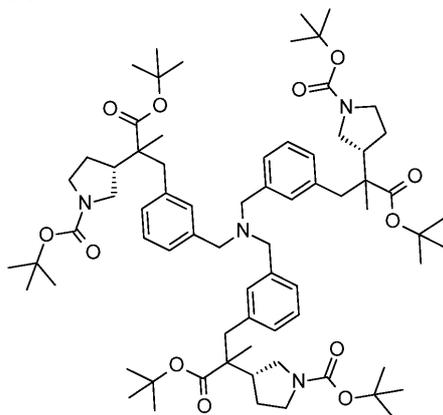
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксипирролидин-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутоксипирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]-(3-фтор-5-метоксифенил)метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Смешивают трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (36 г, 39 ммоль, чистота 85%), 3-фтор-5-метоксибензальдегид (6,684 г, 42,49 ммоль, 1,1 экв.), изoproпанол (288 мл) и триацетоксиборгидрид натрия (16,38 г, 77,26 ммоль, 2 экв.), и перемешивают смесь при КТ в течение 2 ч. Выпаривают растворитель. Добавляют насыщенный водный NaHCO_3 (500 мл) и экстрагируют водный слой EtOAc (500 мл). Органический слой сушат над MgSO_4 , затем фильтруют и концентрируют досуха. Очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 40% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (32 г, выход 76%, чистота 85% мас./мас.). ЭР/МС (m/z): 931 (M+H).

Пример получения 30.

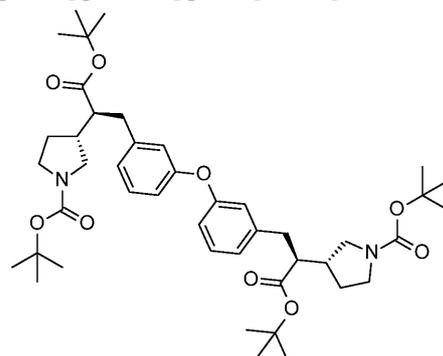
трет-бутил-(3R)-3-[1-[[3-[[бис[[3-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-2-метил-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутокси-1-метил-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 28, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[2-трет-бутокси-1-[(3-формилфенил)метил]-1-метил-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. Неочищенный материал очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 20 до 40% EtOAc в гексанах. ^1H ЯМР (400,21 МГц, d_6 -ДМСО): δ 7,27-7,19 (m, 6H), 7,13 (s, 3H), 7,08-7,00 (m, 3H), 3,57-3,24 (m, 9H, в растворителе), 3,22-2,98 (m, 9H), 2,63-2,38 (m, 9H, в растворителе), 1,86-1,68 (m, 6H), 1,40 (s, 27H), 1,31 (s, 27H), 0,93 (s, 9H).

Пример получения 31.

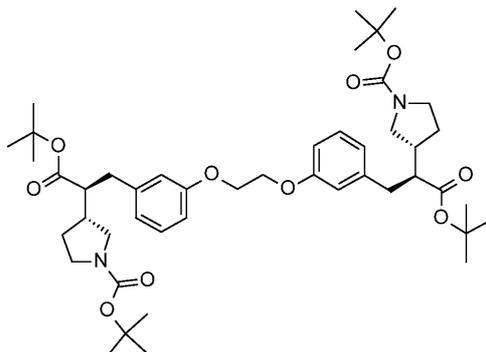
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенокси]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Смешивают трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-бромфенил)метил]-2-трет-бутоксид-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (150 мг, 0,330 ммоль), трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[(3-гидроксифенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (0,155 г, 0,396 ммоль, 1,2 экв.), йодид меди (6 мг, 0,03 ммоль, 0,1 экв.), гидрохлорид N,N-диметилглицина (0,0138 г, 0,0990 ммоль, 0,3 экв.) и карбонат цезия (0,215 г, 0,660 ммоль, 2 экв.) в ДМФА (2,3 мл). Смесь перемешивают в атмосфере азота при 110°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждают, затем фильтруют через слой диатомита, промывая ДХМ и MeOH. Смесь концентрируют в вакууме. Полученный осадок очищают с помощью ОФ-ВЭЖХ/МС, используя следующие параметры: колонка - XBridge™ C18 (19×100 мм, 5 мкм); подвижная фаза - растворитель А = 20 мМ бикарбонат аммония в воде (pH 9), растворитель В = ацетонитрил; градиент - от 0:100 до 100:0 В: А; скорость потока - 25 мл/мин. Получают указанное в заголовке соединение (43 мг, 17%). ЭР/МС (m/z): 665 (M+H-ВОС).

Пример получения 32.

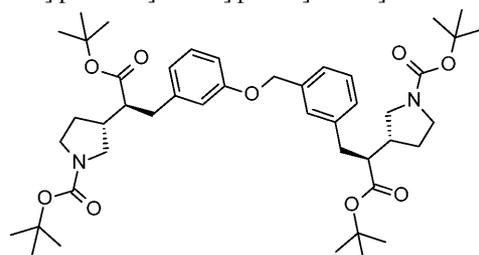
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[2-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]феноксид]этоксид]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Растворяют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[(3-гидроксифенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (275 мг, 0,70 ммоль) в ДМФА (1,2 мл). Добавляют карбонат цезия (285 мг, 0,86 ммоль) и 1,2-дибромэтан (0,030 мл, 0,34 ммоль) и перемешивают при КТ в течение 3 дней. В течение следующих 9 дней добавляют три дополнительные порции карбоната цезия или карбоната калия и 1,2-дибромэтана и постепенно увеличивают температуру до 70 и 110°C. Смесь охлаждают при КТ и добавляют насыщенный водный NH₄Cl. Экстрагируют водный слой EtOAc. Органическую фазу промывают насыщенным водным раствором NaCl и водой. Органическую фазу сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют раствор в вакууме. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 0 до 30% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (33,4 мг, 11%) в виде бесцветного масла. ЭР/МС (m/z): 709 (M+H-ВОС).

Пример получения 33.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]феноксид]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.

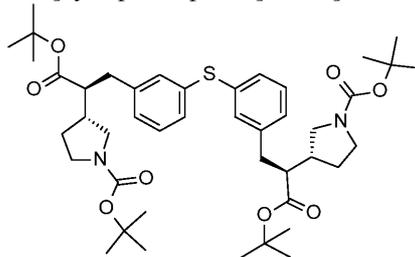


Добавляют трифенилфосфин (0,5733 г, 2,164 ммоль, 1,5 экв.) к раствору трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-(гидрокси)метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (585 мг, 1,443 ммоль) и трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[(3-гидроксифенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (0,8472 г, 2,164 ммоль, 1,5 экв.) в ТГФ (14 мл). Продувают азотом и затем по каплям добавляют диэтилазодикарбоксилат (0,34 мл, 2,2 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивают в течение ночи при КТ. Фильтруют реакционную смесь через подушку из диатомита, затем промывают ДХМ и MeOH. Смесь концентрируют в вакууме. Полученный осадок очищают с помощью СЖХ со следующими параметрами: колонка - Chiracel® OD (5 мкм, 2×25 см); подвижная фаза - растворитель А = CO₂, растворитель В = MeOH + ДМЭА (1,0% об./об.); градиент - изократический 80:20 А: В; расход - 80 мл/мин; давление - 120 бар; температура колонки - 40°C. Получают указанное в заголовке соединение (315 мг, 28%). ЭР/МС (m/z): 679 (M+H-ВОС).

Пример получения 34.

трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонил-

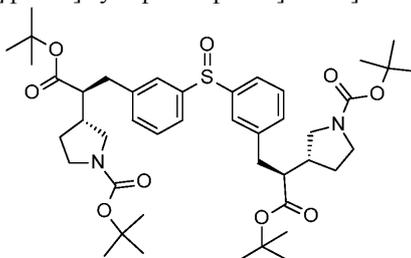
пирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфанилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют сухой толуол (0,9 мл) и ацетон (1,8 мл) к смеси трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-бромфенил)метил]-2-трет-бутоксид-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (796 мг, 1,75 ммоль), трехосновного фосфата калия (229 мг, 1,06 ммоль), бис(дипенилиден)ацетон)палладия (50 мг, 0,09 ммоль), 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцена (70 мг, 0,12 ммоль) и тиацетата калия (103 мг, 0,90 ммоль). Полученную смесь обрабатывают ультразвуком в течение пяти минут в атмосфере азота, затем перемешивают при 110°C в течение 6 ч. Добавляют насыщенный водный NH₄Cl и EtOAc. Промывают органический слой водой. Органическую фазу сушат над MgSO₄, фильтруют и концентрируют в вакууме. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 0 до 40% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла (370 мг, 52%). ЭР/МС (m/z): 781 (M+H).

Пример получения 35.

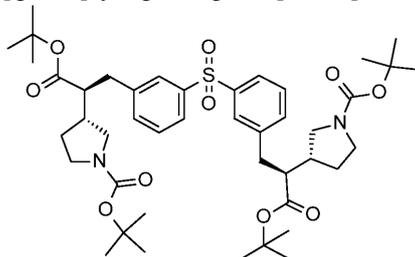
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфинилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Растворяют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфанилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (111 мг, 0,14 ммоль) в ДХМ (2 мл). Добавляют 3-хлорпероксибензойную кислоту (34 мг, 0,14 ммоль, 1 экв.). Смесь перемешивают при КТ в течение 3 ч. Добавляют насыщенный водный NaHCO₃, затем ДХМ и разделяют слои. Органическую фазу промывают раствором NaOH (3% мас./об. в воде) и водой. Органическую фазу сушат над MgSO₄, затем фильтруют и концентрируют раствор в вакууме. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 0 до 60% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (97,2 мг, 87%) в виде бесцветного масла. ЭР/МС (m/z): 697 (M+H-BOC).

Пример получения 36.

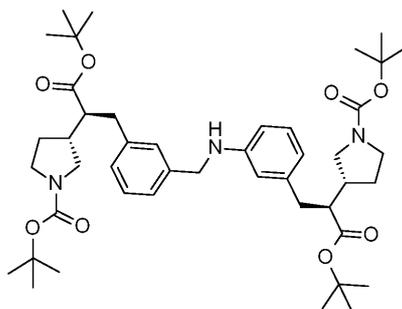
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфонилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Соединение получают способом, по существу аналогичным способу из примера получения 35, но с использованием 2,5 эквивалентов 3-хлорпероксибензойной кислоты. Неочищенный продукт очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 20 до 60% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (116,6 мг, 82%) в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 713 (M+H-BOC).

Пример получения 37.

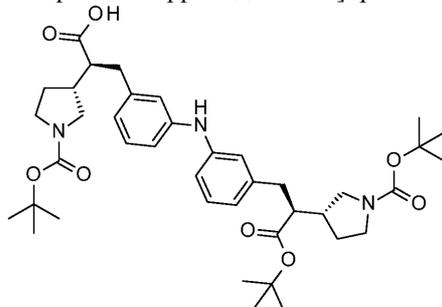
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]анилино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Добавляют триацетоксиборгидрид натрия (543 мг, 2,56 ммоль, 2 экв.) к раствору трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-аминофенил)метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (500 мг, 1,28 ммоль), трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[(3-формилфенил)метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (620 мг, 1,54 ммоль, 1,2 экв.) и уксусной кислоты (220 мкл, 3,84 ммоль, 3 экв.). Перемешивают при КТ в течение 4 дней. Добавляют насыщенный водный NaHCO_3 и экстрагируют водный слой ДХМ. Сушат объединенные органические слои над MgSO_4 , фильтруют и концентрируют раствор в вакууме. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 50% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (850 мг, 72%). ЭР/МС (m/z): 778 (M+H).

Пример получения 38.

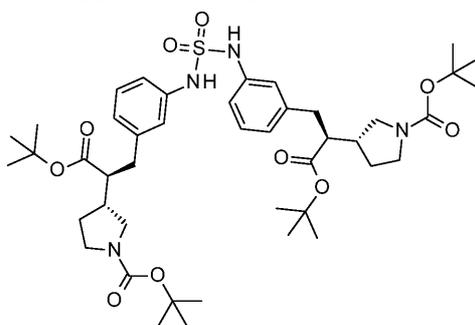
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]анилино]фенил]-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановая кислота.



Смешивают (2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановую кислоту (8 г, 20 ммоль) в 1,4-диоксане (160 мл), трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-аминофенил)метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (8,628 г, 22,09 ммоль, 1,1 экв.) и карбонат калия (4 экв., 11,22 г, 80,34 ммоль). Смесь нагревают при 60°C в течение 15 мин в атмосфере азота. Добавляют [(2-дициклогексилфосфино-3,6-диметокси-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]метансульфонат палладия (II) (BrettPhos Pd G3, 0,371 г, 0,402 ммоль, 0,02 экв.) и нагревают реакцию смесь при 100°C при перемешивании в течение ночи. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, разбавляют EtOAc и доводят pH смеси до значения менее 3, добавляя водную HCl (1 н.). Трижды экстрагируют водный слой Me-TГФ . Промывают объединенные органические слои насыщенным водным раствором NaCl . Сушат органическую фазу над MgSO_4 и концентрируют раствор в вакууме. Очищают осадок при помощи хроматографии на силикагеле, элюируя градиентом 0-100% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (9,5 г, 67%). ЭР/МС (m/z): 608 (M+H-BOC).

Пример получения 39.

Ди-трет-бутил-3,3'-((2S,2'S)-((сульфонилбис(азандиил))бис(3,1-фенилен))бис(3-(трет-бутокси)-3-оксопропан-1,2 -диил))(3R,3'R)-бис(пирролидин-1-карбоксилат).

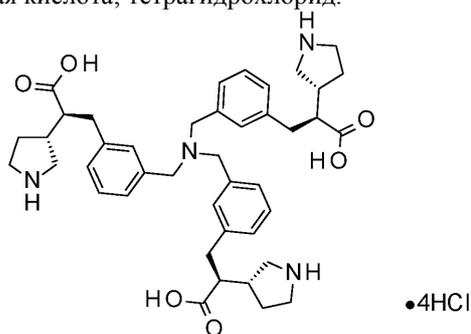


Охлаждают до 0°C раствор аддукта 1,4-диазабицикло[2.2.2]октан-бис(диоксид серы) (DABSO, 0,6279 г, 2,561 ммоль, 2 экв.) в ацетонитриле (12,8 мл). Добавляют йод (0,4875 г, 1,921 ммоль, 1,5 экв.). Смесь перемешивают при 0°C в течение 15 мин, а затем добавляют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[(3-

аминофенил)метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (500 мг, 1,280 ммоль). Нагревают реакционную смесь до 80°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждают, фильтруют через слой диатомита и промывают слой ДХМ и MeOH. Фильтрат концентрируют в вакууме. Очищают остаток с помощью ОФ-ВЭЖХ/МС со следующими параметрами: колонка -XBridge™ C18(19×100 мм, 5 мкм); подвижная фаза - растворитель А = 20 мМ водный бикарбонат аммония (pH 9), растворитель В = ацетонитрил; градиент - изократический 80:20 А:В; скорость потока - 25 мл/мин; КТ. Получают указанное в заголовке соединение (195 мг, 18%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 743 (M+H-ВОС).

Пример 1.

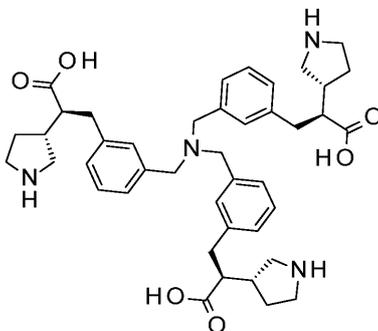
(2S)-3-[3-[[Бис[[3-[(2S)-2-карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]метил]амино]метил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; тетрагидрохлорид.



Добавляют раствор соляной кислоты (4М в 1,4-диоксане, 67 мл, 270 ммоль, 20 экв.) к трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[бис[[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилату (15,7 г, 13,3 ммоль) и перемешивают смесь при 40°C в течение ночи. Смесь охлаждают до КТ и затем концентрируют досуха. Растворяют осадок в воде (40 мл) и лиофилизируют. Полученное твердое вещество снова растворяют в воде (40 мл) и лиофилизируют с получением указанного в заголовке соединения (8,6 г, 75%) в виде белой пены. ЭР/МС (m/z): 711 (M+H); ¹H-ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 7,35-7,10 (m, 12H), 4,25-4,17 (m, 6H), 3,55 (dd, J=8,1, 11,5 Гц, 3H), 3,38-3,33 (m, 3H), 3,22-3,15 (m, 3H), 3,03-2,87 (m, 12H), 2,56-2,45 (m, 3H), 2,12-2,08 (m, 3H), 1,73-1,63 (m, 3H).

Пример 2.

(2S)-3-[3-[[бис[[3-[(2S)-2-карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]метил]амино]метил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота.

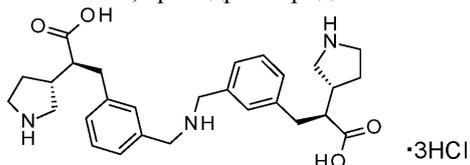


В круглодонную колбу добавляют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[бис[[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (499,3 г, 423,3 ммоль), 1,4-диоксан (1997 мл) и раствор соляной кислоты (12 М в воде, 529,1 мл, 15 экв.). Смесь перемешивают при 40°C в течение 1 ч, а затем концентрируют смесь в вакууме для удаления 1,4-диоксана, в результате чего получают водную суспензию. Смесь фильтруют через пропиленовый фильтр для удаления нерастворимых частиц. Доводят pH фильтрата до 9-10, используя раствор NaOH (2М в воде). Перемешивают смесь при КТ в течение ночи. Медленно отфильтровывают образовавшееся твердое вещество, используя бумажный фильтр (медленная фильтрация, используют низкий вакуум). Твердое вещество промывают водой и высушивают под вакуумом при 45°C с получением указанного в заголовке соединения (281 г, 88%) в виде белого кристаллического твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 711 (M+H); ¹H-ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 7,33 (t, J=7,6 Гц, 3H), 7,27 (d, J=7,8 Гц, 3H), 7,13 (d, J=7,8 Гц, 3H), 7,09 (s, 3H), 4,20 (s, 6H), 3,54 (dd, J=7,9, 11,6 Гц, 3H), 3,39-3,34 (m, 3H), 3,23-3,17 (m, 3H), 3,02-2,98 (m, 3H), 2,84 (dd, J=4,6, 13,7 Гц, 3H), 2,76 (dd, J=10,6, 13,3 Гц, 3H), 2,60 (td, J=9,9, 4,8 Гц, 3H), 2,48 (td, J=17,3, 9,6 Гц, 3H), 2,12-2,07 (m, 3H), 1,73-1,65 (m, 3H).

Пример 3.

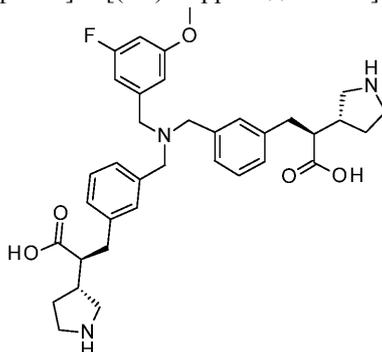
(2S)-3-[3-[[[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]метиламино]метил]фенил]-2-

[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; тригидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 1, используя трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[[[3-[(2S)-3]-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат и 2 М НСl в Et₂O при КТ. ЭР/МС (m/z): 480 (M+H).

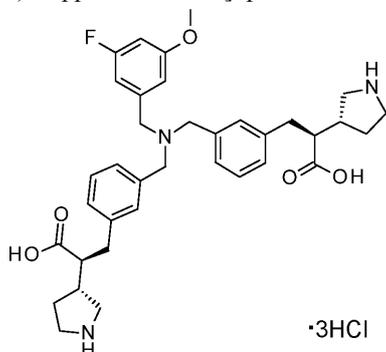
Пример 4 (2S)-3-[3-[[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]метил]-[(3-фтор-5-метоксифенил)метил]амино]метил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 2, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]-[(3-фтор-5-метоксифенил)метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. ЭР/МС (m/z): 618 (M+H).

Пример 5.

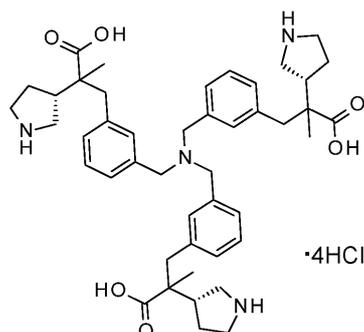
(2S)-3-[3-[[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]метил]-[(3-фтор-5-метоксифенил)метил]амино]метил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; тригидрохлорид.



Смешивают трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[[[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]метил]-[(3-фтор-5-метоксифенил)метил]амино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (541 мг, 0,582 ммоль), НСl (2 М раствор в диэтиловом эфире, 5,8 мл) и воду (0,5 мл). Смесь перемешивают при КТ в течение 5 ч. Удаляют растворитель при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (434 мг, 102%). ЭР/МС (m/z): 618 (M+H).

Пример 6.

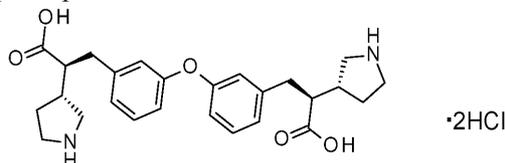
3-[3-[[бис[[3-2-карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]-2-метил-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; тетрагидрохлорид.



Смешивают трет-бутил-(3R)-3-[1-[[3-[[бис[[3-[3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-2-метил-3-оксопропил]фенил]метил]амино]метил]фенил]метил]-2-трет-бутокси-1-метил-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (275 мг, 0,225 ммоль) в ДХМ (1,4 мл) и добавляют HCl (2 М раствор в Et₂O, 3,4 мл, 6,7 ммоль, 30 экв.). Перемешивают смесь при КТ в течение ночи. Сливают реакционный растворитель с белого твердого вещества и растворяют твердое вещество в воде. Смесь выпаривают досуха под струей азота, затем сушат в вакууме при 40°C с получением указанного в заголовке соединения (190 мг, 86%) в виде белого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 753 (M+H).

Пример 7.

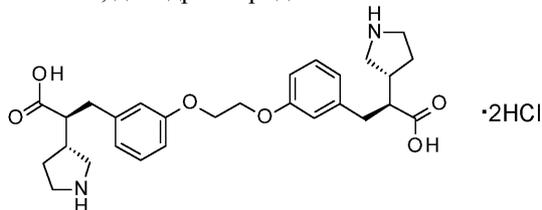
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенокси]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутокси]]-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенокси]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. ЭР/МС (m/z): 453 (M+H).

Пример 8.

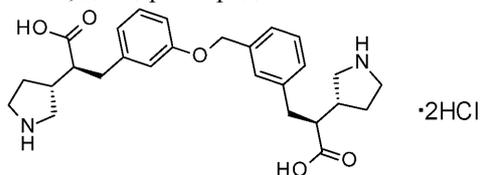
(2S)-3-[3-[2-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенокси]этокси]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[2-[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенокси]этокси]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. Выделяют продукт путем растирания с МТБЭ. ЭР/МС (m/z): 497 (M+H).

Пример 9.

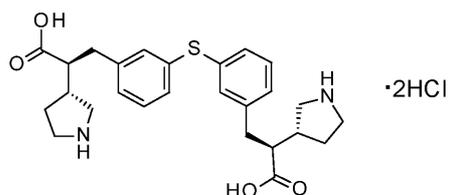
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенокси]метил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутокси-1-[[3-[[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенокси]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. ЭР/МС (m/z): 467 (M+H).

Пример 10.

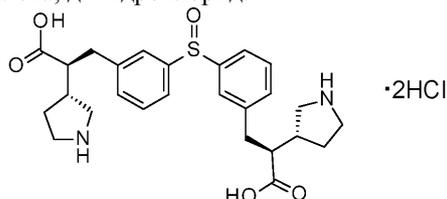
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]сульфанилфенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид]]-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфинилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат. Выделяют продукт путем растирания с Et₂O. ЭР/МС (m/z): 469 (M+H).

Пример 11.

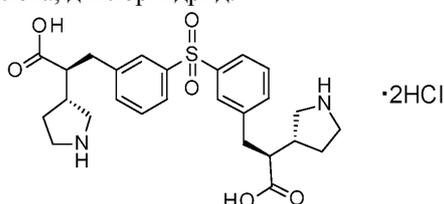
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]сульфинилфенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфинилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. Продукт выделяют путем растирания с Et₂O с последующей ОФ-ВЭЖХ/МС, используя следующие параметры: колонка - Agilent ZORBAX Bonus RP; подвижная фаза - растворитель А = 0,05% трифторуксусной кислоты в воде (рН 2,5), растворитель В = ацетонитрил + 0,05% трифторуксусная кислота; градиент - от 5 до 30% растворителя В в растворителе А; Скорость потока: 25 мл/мин. Помещают продукт в смесь HCl (10% мас./об.) и воды, затем выпаривают растворители в потоке азота при 40°C. ЭР/МС (m/z): 485 (M+H).

Пример 12.

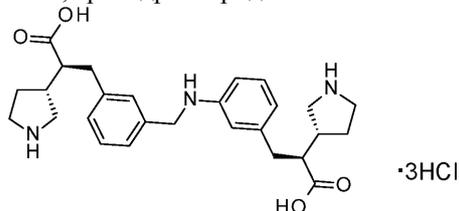
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]фенил]сульфонилфенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дихлоргидрид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]фенил]сульфонилфенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. Выделяют продукт путем растирания с Et₂O. ЭР/МС (m/z): 501 (M+H).

Пример 13.

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]анилино]метил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; тригидрохлорид.

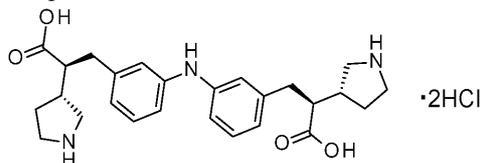


Получают указанное в заголовке соединение по существу, как описано в примере 6, с использованием трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксид-1-[[3-[3-[(2S)-3-трет-бутоксид-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]анилино]метил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата. После декантации продукта его очищают с помощью ОФ-ВЭЖХ/МС, используя следующие параметры: колонка - Waters™ XBridge™ C18 (19×100 мм, 5 мкм); подвижная фаза - растворитель А = 20 мМ NH₄HCO₃ в воде, растворитель В = ацетонитрил; скорость потока 25 мл/мин; градиент - от 5:95 до 25:75 В:А. Растворяют очищенный материал в водной HCl (1 н.), перемешивают при КТ в течение 1 ч, выпаривают растворитель в потоке азота и сушат твердое вещество в вакууме при

40°C. ЭР/МС (m/z): 466 (M+H).

Пример 14.

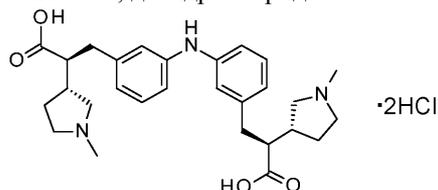
(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]анилино]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.



Смешивают (2S)-3-[3-[3-[(2S)-3-трет-бутокси-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-оксопропил]анилино]фенил]-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановую кислоту (9 г, 12,7 ммоль), изопропанол (27 мл) и HCl (5,5 М раствор в изопропанол) и перемешивают при КТ в течение 2,5 ч. Реакционную смесь нагревают до 60°C в течение 2,5 ч, затем охлаждают до КТ и перемешивают в течение 3 дней. Реакционную смесь снова нагревают до 60°C в течение 2 ч, охлаждают до КТ и концентрируют реакционную смесь в вакууме досуха. Растирают твердый осадок с МТБЭ с обработкой ультразвуком, фильтруют и промывают МТБЭ, затем сушат твердое вещество в вакууме. Твердое вещество смешивают с концентрированной водной HCl и нагревают до 80°C в течение ночи, затем охлаждают до КТ и концентрируют в вакууме досуха. Остаток растворяют в минимальном количестве воды и доводят pH до 7,5 путем добавления водного раствора NaOH. Смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 3 часов, затем отфильтровывают выпавшее твердое вещество. Растворяют твердое вещество в водной HCl (1 н.) и перемешивают в течение 15 мин при комнатной температуре, затем удаляют воду в вакууме. Осадок сушат в вакууме при 45°C в течение ночи с получением указанного в заголовке соединения (5,4 г, 81%). ЭР/МС (m/z): 452 (M+H).

Пример 15.

(2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-Карбокси-2-[(3R)-1-метилпирролидин-3-ил]этил]анилино]фенил]-2-[(3R)-1-метилпирролидин-3-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид.

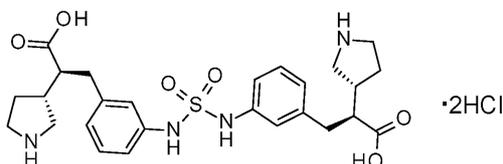


Добавляют параформальдегид (89 мг, 0,95 ммоль) к суспензии (2S)-3-[3-[3-[(2S)-2-карбокси-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]этил]анилино]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановой кислоты; дигидрохлорида (100 мг, 0,19 ммоль) в MeOH (1,9 мл).

Перемешивают при КТ в течение 15 мин. Добавляют триацетоксиборгидрид натрия (202 мг, 0,95 ммоль) и перемешивают при КТ в течение 16 ч. Смесь концентрируют в вакууме. Осадок очищают при помощи обращенно-фазовой хроматографии (колонка: ClariCser C-series, связанная с диоксидом кремния C₁₈), используя градиент от 5 до 25% ацетонитрила в водном NH₄CO₃ (pH 9). Растворяют очищенный материал в водном растворе соляной кислоте (1 н., 1 мл) и перемешивают при КТ в течение 6 ч. Раствор концентрируют в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (30 мг, 27%). ЭР/МС (m/z): 480 (M+H).

Пример 16.

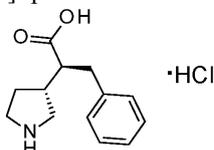
(2S,2'S)-3,3'-[Сульфонилбис(азандиил-3,1-фенилен)]бис{2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота}; дигидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием ди-трет-бутил-3,3'-((2S,2'S)-((сульфонилбис(азандиил)бис(3,1-фенилен)бис(3-(трет-бутокси)-3-оксопропан-1,2-диил)))(3R,3'R)-бис(пирролидин-1-карбоксилат)). ЭР/МС (m/z): 531 (M+H).

Пример 17.

(2S)-3-Фенил-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; гидрохлорид.

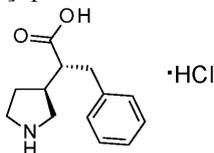


Добавляют HCl (5,5 М в изопропанол, 511 мл, 2,81 моль, 13 экв.) к раствору (2S)-2-[(3R)-1-трет-

бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-фенилпропановой кислоты (69 г, 216 ммоль) в изопропанол (207 мл) и перемешивают при КТ в течение ночи. Смесь разбавляют смесью 2:1 МТБЭ:гексаны (900 мл) и перемешивают в течение 10 мин. Суспензию фильтруют, и твёрдое вещество промывают 1:1 МТБЭ:гексанами (100 мл). Сушат твёрдое вещество в вакууме при 50°C с получением указанного в заголовке соединения (51,3 г, 93%). ЭР/МС (m/z): 220 (M+H).

Пример 18.

(2R)-3-Фенил-2-[(3S)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; гидрохлорид.

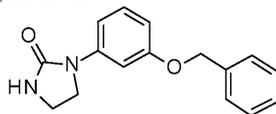


Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере 6, с использованием (2R)-2-[(3S)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-фенилпропановой кислоты. Выделенный продукт перемешивают с HCl (2M в эфире) и водой в течение 3 ч, концентрируют в вакууме, затем растирают с МТБЭ и сушат в вакууме при 40°C. ЭР/МС (m/z): 220 (M+H).

Синтез меченого радиоактивным изотопом и холодного (т.е. немеченого радиоактивным изотопом) стандарта для анализа связывания Аро(a) in vitro.

Пример получения 40.

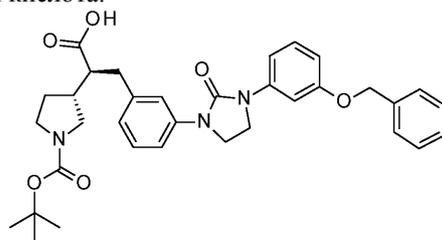
1-(3-Бензилоксифенил)имидазолидин-2-он.



Добавляют барботированный аргоном ДМФА (20 мл) к смеси этиленмочевины (1,4 г, 16 ммоль), 1-бензилокси-3-йодбензола (4,9 г, 16 ммоль, 1,0 экв.), йодида меди (0,61 г, 3,1 ммоль, 0,20 экв.), дигидрофосфата калия (4,2 г, 31 ммоль, 2,0 экв.). К образовавшейся суспензии добавляют N,N'-диметилэтилендиамин (0,33 мл, 0,28 г, 3,1 ммоль, 0,20 экв.). Нагревают синюю суспензию в микроволновом реакторе при 120°C в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждают и фильтруют через слой силикагеля, промывая указанный слой EtOAc. Фильтрат концентрируют. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 0 до 100% смеси 5:20:75 MeOH:ацетон: EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (1,10 г, 26%) в виде желтого твердого вещества. ЭР/МС (m/z): 269 (M+H).

Пример получения 41.

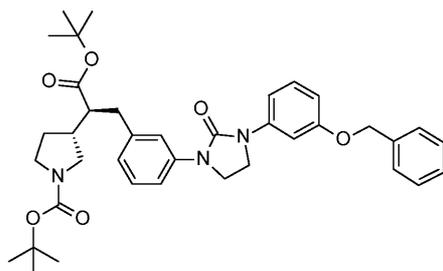
(2S)-3-[3-[3-(3-Бензилоксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановая кислота.



К смеси 1-(3-бензилоксифенил)имидазолидин-2-она (3,33 г, 12,4 ммоль, 1,50 экв.) и аммония; (2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропаноата (3,30 г) в атмосфере азота добавляют ацетонитрил (41 мл) и ДМФА (для улучшения растворимости). Пропускают через суспензию постоянный поток аргона в течение 15 мин. Добавляют карбонат калия (3,75 г, 26,8 ммоль, 3,24 экв.), йодид меди (0,316 г, 1,66 ммоль, 0,2 экв.) и N,N'-диметилэтилендиамин (0,360 мл, 3,31 ммоль, 0,4 экв.). Нагревают запечатанный сосуд до 100°C в течение выходных. Добавляют воду и дважды экстрагируют водный слой EtOAc. Подкисляют водную фазу 0,5 н. HCl в воде и экстрагируют водный слой EtOAc, ДХМ и затем EtOAc. Сушат объединенные органические фазы над MgSO₄, фильтруют и упаривают до суха. Осадок очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 10 до 60% (1% уксусная кислота/ацетон) в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (4 г, 82%). ЭР/МС (m/z): 486 (M+H-BOC).

Пример получения 42.

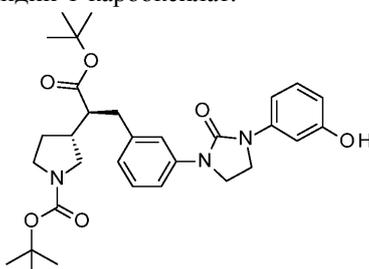
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[3-(3-бензилоксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]метил]-2-трет-бутокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



К раствору (2S)-3-[3-[3-(3-бензилоксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановой кислоты (4,0 г, 6,8 ммоль) в толуоле (68 мл) при 70°C, добавляют N,N-диметилформамид ди-трет-бутилацеталь (15 мл, 55 ммоль, 8,0 экв.) и нагревают реакционную смесь при 70°C в течение ночи. Очищают осадок при помощи хроматографии на силикагеле, элюируя градиентом 0-50% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (1,56 г, 33%). ЭР/МС (m/z): 542 (M+H-BOC).

Пример получения 43.

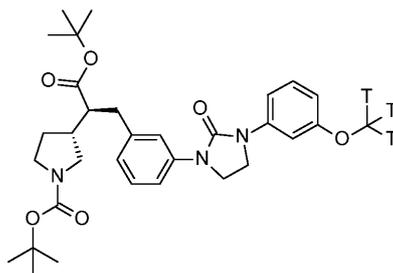
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксигидрокси-1-[[3-[[3-(3-гидроксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат.



Растворяют трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-1-[[3-[[3-(3-бензилоксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]метил]-2-трет-бутоксигидрокси-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилат (1,56 г, 2,43 ммоль) в ТГФ (80 мл) и добавляют гидроксид палладия (0,7 г, 0,99 ммоль, 0,41 экв.). Реакционную смесь дегазируют в вакууме, а затем трижды подвергают воздействию газообразного водорода. Перемешивают реакционную смесь при КТ в атмосфере водорода (1 атм.) в течение 4 ч. Концентрируют реакционную смесь, и очищают осадок при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 0 до 50% EtOAc в гексанах, с получением указанного в заголовке соединения (1,19 г, 87%). ЭР/МС (m/z): 452 (M+H-BOC).

Пример получения 44.

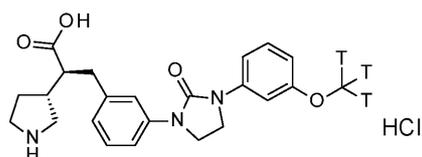
трет-Бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксигидрокси-1-[[3-[2-оксо-3-[3-(третбутилокси)фенил]имидазолидин-1-ил]фенил]метил]этил]пирролидин-1-карбоксилат.



К раствору трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксигидрокси-1-[[3-[[3-(3-гидроксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]метил]-2-оксоэтил]пирролидин-1-карбоксилата (4 мг, 0,007 ммоль) в ДМФА (0,5 мл) добавляют карбонат цезия (10 мг, 0,03 ммоль). Перемешивают раствор при КТ в течение 10 минут. Добавляют [³H]метилнозилат (50 мКи) и перемешивают при КТ в течение 1,5 ч. Реакционную смесь очищают с помощью ОФ-ВЭЖХ/МС, используя следующие параметры: колонка - Phenomenex® Gemini® C18 (250×10 мм); подвижная фаза - растворитель А = вода + трифторуксусная кислота (0,1%), растворитель В = ацетонитрил + трифторуксусная кислота (0,1%); градиент - от 50 до 100% В за 50 мин; скорость потока - 3 мл/мин. Очищенный продукт растворяют в EtOH и переходят к Примеру получения 45 без дополнительного описания.

Пример получения 45.

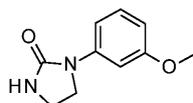
(2S)-3-[3-[2-Оксо-3-[3-(третбутилокси)фенил]имидазолидин-1-ил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; гидрохлорид.



Удаляют растворитель из трет-бутил-(3R)-3-[(1S)-2-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-[[3-[2-оксо-3-[3-(тритритиометокси)фенил]имидазолидин-1-ил]фенил]метил]этил]пирролидин-1-карбоксилата в вакууме и растворяют осадок в хлористом водороде (4M раствор в 1,4-диоксане). Перемешивают смесь при КТ в течение ночи. Реакционную смесь очищают с помощью ОФ-ВЭЖХ/МС, используя следующие параметры: колонка - Phenomenex® Gemini® C18 (250×10 мм); подвижная фаза - растворитель А = вода + трифторуксусная кислота (0,1%), растворитель В = ацетонитрил + трифторуксусная кислота (0,1%); градиент - от 10 до 70% В в А за 60 мин; скорость потока - 3 мл/мин. Очищенный продукт растворяют в этаноле. Масс-спектрометрия показывает спектр, который согласуется с неактивным материалом [ЭР/МС (m/z): 410 (M+H)] и удельной активностью 63 Ки/ммоль.

Пример получения 46.

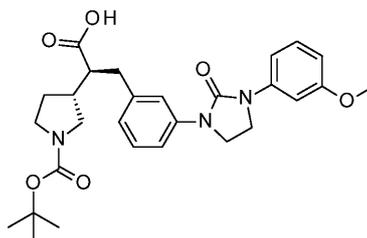
1-(3-Метоксифенил)имидазолидин-2-он.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано для примера получения 40, с использованием 1-йод-3-метоксифенола и трехосновного фосфата калия в качестве основания. Используют обычный нагрев для нагревания реакции до 120°C в течение 16 ч. Реакцию обрабатывают разбавлением EtOAc, фильтруют через слой Целита®, промывают органические слои водой, водным раствором NH₄OH и насыщенным водным раствором NaCl. Неочищенный материал очищают при помощи хроматографии на силикагеле, используя градиент от 20 до 100% EtOAc в гексанах. ЭР/МС (m/z): 193 (M+H).

Пример получения 47.

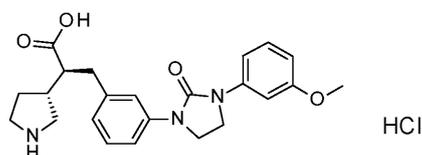
(2S)-2-[(3R)-1-трет-Бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-[3-[3-(3-метоксифенил)-2-оксоимидазолидин-1-ил]фенил]пропановая кислота.



Смешивают (2S)-3-(3-бромфенил)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]пропановую кислоту (190 мг, 0,4770 ммоль), 1-(3-метоксифенил)имидазолидин-2-он (0,2751 г, 1,431 ммоль, 3 экв.), [(2-ди-трет-бутилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)-2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]метансульфонат палладия (II) (tBuXPhos-Pd-G3, 0,0379 г, 0,0477 ммоль, 0,1 экв.) и трет-бутоксид натрия (0,1418 г, 1,431 ммоль, 3 экв.) в 1,4-диоксане (4,8 мл) и перемешивают смесь в атмосфере азота при 100°C в течение ночи. Смесь разбавляют EtOAc и подкисляют водным раствором HCl (1 н.). Смесь фильтруют через слой Целита®, слои разделяют, и сушат органические слои над MgSO₄. Фильтруют и концентрируют органические слои, затем очищают осадок при помощи обращенно-фазовой флэш-хроматографии (колонка C18, связанная с диоксидом кремния), используя градиент от 40 до 70% ацетонитрила в водном NH₄CO₃ (pH 9), с получением указанного в заголовке соединения (70 мг, 28%) в виде белого твердого вещества. Получают дополнительное количество указанного в заголовке соединения (90 мг, 36%) с помощью ОФ-ВЭЖХ/МС, используя следующие параметры: колонка - Waters™ XBridge™ C18 (19×100 мм, 5 мкм); подвижная фаза - растворитель А = 20 mM NH₄HCO₃ в воде, растворитель В = ацетонитрил; скорость потока 25 мл/мин; градиент - от 30:70 до 50:50 В:А. ЭР/МС (m/z): 510 (M+H).

Пример получения 48.

(2S)-3-[3-[2-Оксо-3-[3-(метоксифенил)имидазолидин-1-ил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; гидрохлорид.



Получают указанное в заголовке соединение по существу так, как описано в примере получения 45, с использованием (2S)-2-[(3R)-1-трет-бутоксикарбонилпирролидин-3-ил]-3-[3-[3-(3-метоксифенил)-2-

оксоимидазолидин-1-ил]фенил]пропановой кислоты. ЭР/МС (m/z): 410 (M+H).

Биологические анализы.

Анализ связывания Аро(а) *in vitro*.

Аффинность связывания соединений *in vitro* с целевым белком Аро(а) человека тестировали в конкурентном анализе связывания. Белок Аро(а) человека, содержащий 17 повторов Kringle, аффинно очищают от кондиционированных сред временно трансфицированных клеток НЕК-293F. Все реагенты готовят в буфере для анализа, содержащем 50 мМ Трис-НСl, рН 7,4, 0,1% БСА. Анализ связывания проводят путем добавления в каждую лунку планшета с прозрачным дном по 50 мкл каждого из (1) тестируемого соединения в серии разведений (конечная концентрация 0,32~10000 нМ), (2) белка Аро(а) (6 нг/лунку), (3) повторно суспендированных поливинилтолуоловых гранул SPA агглютинаина зародышей пшеницы, поливинилтолуола (20 мг/мл) и (4) радиолиганда, меченного тритием (2S)-3-[3-[2-оксо-3-[3-(триметокси)фенил]имидазолидин-1-ил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановой кислоты; гидрохлорида (конечная концентрация 0,52 нМ). Планшеты инкубируют в течение 60 минут при КТ и подсчитывают на TRILUX LSC. Неспецифическое связывание, определяемое как связывание в присутствии 10 мкМ холодного (т.е. не радиоактивно меченного) лиганда: (2S)-3-[3-[2-оксо-3-[3-(метокси)фенил]имидазолидин-1-ил]фенил]-2-[(3R)-пирролидин-3-ил]пропановая кислота; гидрохлорида вычитают для определения специфического связывания. Данные анализируют путем подгонки к стандартной модели связывания с одним сайтом и определяют IC₅₀ для примера тестируемого соединения. Эти результаты обобщены в табл. 1 и указывают на то, что Примеры тестируемых соединений связываются с белком Аро(а) человека. Ингибирование сборки частицы ЛПНП с аро(а) посредством связывания с белком Аро(а) поддерживает снижение уровней ЛП (а).

Таблица 1

Пример	IC ₅₀ * (нМ)
1	<0,314 (n=1)
3	2,13 ± 0,159 (n=2)
6	<0,314 (n=1)
14	<0,314 (n=1)
17	152 ± 21,3 (n=2)
18	126 ± 5,97 (n=2)

*Среднее геометрическое ± СОС (n)

Анализ сборки ЛП (а) *in vitro*.

Способность соединений ингибировать образование частиц ЛП (а) *in vitro* оценивают при помощи анализа бесклеточной сборки. Кондиционированные среды (DMEM с добавлением 10% ФБС, 20 мМ НЕРЕС и 1х пенициллин/стрептомицин) собирают из конфлюэнтных клеток НерG2 дикого типа (источник эндогенно экспрессируемого АроВ) и из стабильной клеточной линии НЕК293, экспрессирующей белок Аро(а) человека, содержащий 17 повторов Kringle (выбранных на 1 мг/мл генетицина), после 24 ч культивирования при 37°C и 5% CO₂. Анализ сборки *in vitro* проводят путем объединения равных частей среды, кондиционированной НерG2 и НЕК293, с тестируемыми соединениями, добавленными в серии разведений (конечная концентрация 0,01~100 нМ). Реакционную смесь инкубируют при 37°C в течение 2 ч и затем останавливают добавлением 6-аминокапроновой кислоты (ЕАСА) до конечной концентрации 150 мМ. ЛП (а) детектируют с помощью сэндвич-ELISA с захватывающим антителом против ЛП (а) и детекторным антителом анти-АроВ, конъюгированным с HRP. ELISA проводят с использованием ТМВ, останавливают при помощи 1 н. серной кислоты, и сигнал считывают при 450 нм на планшет-ридер Molecular Devices. % ингибирования ЛП (а), образующегося для каждого условия тестирования, определяют с помощью реакции сборки без присутствия ингибитора (с соответствующей концентрацией ДМСО на уровне 1%), установленной на 0% ингибирования, и реакции сборки с минимальным количеством НерG2 в кондиционированной среде (50-кратное разведение), установленным на 100% ингибирования. Данные подгоняют к 4-параметрической кривой для определения значений IC₅₀, обобщенных в табл. 2. Добавление примера тестируемого соединения к кондиционированной среде, содержащей АроВ и Аро(а), приводит к зависящему от концентрации ингибированию образования ЛП (а) *in vitro*, как показано в табл. 2. Результаты показывают, что указанные соединения ингибируют сборку ЛП (а) из Аро(а) и частицы ЛПНП.

Таблица 2

Пример	IC ₅₀ * (нМ)
1	0,0963 ± 0,0233 (n=9)
3	0,934 ± 0,306 (n=2)
5	0,17 ± 0,0124 (n=4)
6	0,108 ± 0,0149 (n=4)
7	0,372 ± 0,0464 (n=8)
8	0,288 ± 0,19 (n=4)
9	0,359 ± 0,0292 (n=2)
10	0,36 ± 0,119 (n=4)
11	0,396 ± 0,241 (n=4)
12	0,235 ± 0,0509 (n=2)
13	2,39 ± 0,61 (n=2)
14	0,348 ± 0,0984
15	54,6 ± 9,15 (n=3)
16	0,563 ± 0,119 (n=2)
17	1690 ± 402
18	635 ± 165 (n=9)

*Среднее геометрическое ± СОС (n)

Ингибирование ЛПП (а) у мышей *in vivo*.

Способность соединений снижать равновесную концентрацию ЛПП (а) *in vivo* оценивают на модели трансгенных мышей, способных продуцировать гуманизированные частицы ЛПП (а). Влияние *in vivo* соединений-разрушителей ЛПП (а) тестировали на 7-17-месячных самках двойных трансгенных мышей, экспрессирующих apoB-100 человека и apo (а) человека, содержащий 17 повторов Kringle: B6.SJL-Tg (APOB)1102Sgy Tg(Alb-LPA)32Arte. Мышей содержат со стандартным световым циклом (12 ч света/12 ч темноты), при комнатной температуре 72±8°F и относительной влажности 30~70%, а также со свободным доступом к воде и обычным рационом питания (диета Harlan Teklad, 2014 г.). Мышей рандомизируют в группы лечения (n=5/группу) за 3-5 дней до исследования по массе тела и исходной концентрации ЛПП (а) в плазме с использованием BRAT (Block Randomized Allocation Tool) для исследования. Мышам вводят перорально (или подкожно, если указано) носитель для пероральной дозы: 10 мл/кг, 1% НЕС, 0,25% Tween80, 0,01% пеноноситель; подкожная доза носителя: 5 мл/кг физиологического раствора) или тестируемое соединение в различных дозах дважды в сутки (6:30 и 15:30) в течение 5 дней. Кровь собирают в капиллярные пробирки, покрытые гепарином, через хвостовой надрез. Двадцать мкл каждого образца крови переносят на карту DBS (номер в каталоге Whatman: WB12 9243) для анализа воздействия лекарственного средства. Оставшиеся образцы крови центрифугируют для отделения плазмы. Концентрацию ЛПП (а) в плазме измеряют с помощью сэндвич-ELISA, как описано для анализа сборки ЛПП (а) *in vitro*. % ингибирования для каждой группы дозирования определяют с помощью среднего уровня ЛПП (а) контрольной группы носителя, установленного на 0% ингибирования. В табл. 3 показаны результаты исследований доза-ответ, в которых образцы крови из хвоста отбирают на 3-й день через 8 ч после утренней пероральной дозы. Расчеты ED₅₀ (эффективная доза для ингибирования 50% ЛПП (а)), как определено анализом пороговой минимальной эффективной дозы. В табл. 4 показаны результаты исследований однократной дозы, в которых образцы крови из хвоста берут на 3-й день через 4 ч (или 8 ч, если указано) после утренней пероральной дозы (или подкожной дозы, если указано). Эти результаты, показанные в табл. 3 и 4, демонстрируют, что соединения эффективны для снижения уровней ЛПП (а) в плазме *in vivo*, подтверждая предположение, что соединения можно использовать для снижения концентрации ЛПП (а) в плазме.

Таблица 3

Пример	ED ₅₀ (мг/кг) ¹	Ингибирование ЛП (а) (% при 30 мг/кг) ²
1	3,3 ± 0,53	91 ± 0,73
14	14,6 ± 2,48	72 ± 2,23
17	20,6 ± 1,79	60 ± 3,46
18	7,6 ± 2,43	68 ± 1,82

1. ED₅₀ ± стандартная ошибка
2. (среднее ± СОС)

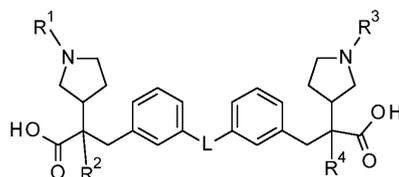
Таблица 4

Пример	Доза (мг/кг)	Ингибирование ЛП (а) (%) ¹
5	3	43,8 ± 4,24
7	30 ²	44,6 ± 5,0
9	30	56,5 ± 2,77
10	30	43,6 ± 4,6
12	30	50 ± 3,82 ³

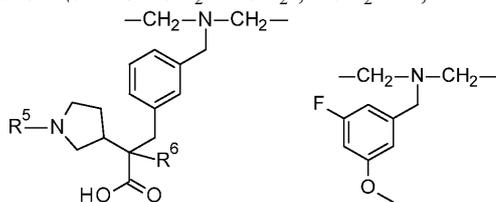
1. Среднее ± СОС
2. Подкожное дозирование
3. Образцы взяты через 8 ч после перорального приема

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы



где L выбран из группы, состоящей из -CH₂NHCH₂-, -CH₂NH-, -NH-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -O-,



-OCH₂-, -OCH₂CH₂O-, -NHSO₂NH-,

каждый R¹, R², R³, R⁴, R⁵ и R⁶ независимо выбран из группы, состоящей из H и CH₃; или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R¹ представляет собой H и R³ представляет собой H; или его фармацевтически приемлемая соль.

3. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R⁵ представляет собой H; или его фармацевтически приемлемая соль.

4. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R² представляет собой H и R⁴ представляет собой H; или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R⁶ представляет собой H; или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R² представляет собой CH₃ и R⁴ представляет собой CH₃; или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R² представляет собой CH₃, R⁴ представляет собой CH₃ и R⁶ представляет собой CH₃; или его фармацевтически приемлемая соль.

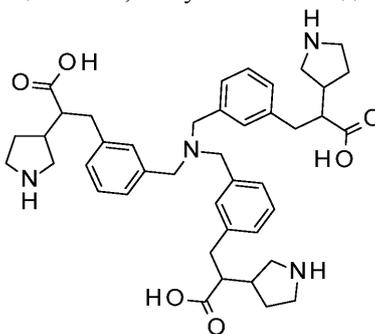
8. Соединение по п.1, в котором L выбран из группы, состоящей из $-\text{CH}_2\text{NHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ и $-\text{NHSO}_2\text{NH}-$; или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Соединение по п.1, отличающееся тем, что L представляет собой



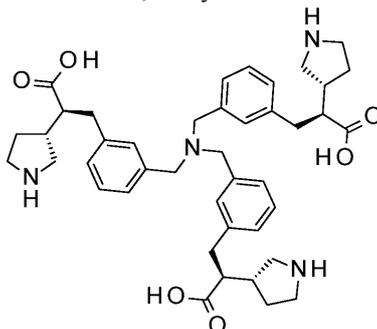
или его фармацевтически приемлемая соль.

10. Соединение по п.1, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

11. Соединение по п.10, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

12. Соединение по п.11, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой гидрохлоридную соль.

13. Соединение по п.12, отличающееся тем, что указанное соединение представляет собой тетрагидрохлоридную соль.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

15. Применение композиции по п.14 для лечения сердечно-сосудистого заболевания.

16. Применение композиции по п.14 для снижения повышенных уровней липопротеина (а) (ЛП (а)) в плазме.

17. Способ лечения сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение эффективного количества соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли.

18. Способ снижения повышенных уровней ЛП (а) в плазме, включающий введение эффективного количества соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли.

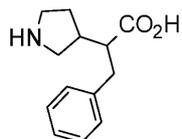
19. Применение соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения сердечно-сосудистого заболевания.

20. Применение соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для снижения повышенных уровней ЛП (а) в плазме.

21. Применение соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения сердечно-сосудистого заболевания.

22. Применение соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного средства, причем указанное лекарственное средство подходит для снижения повышенных уровней ЛП (а) в плазме.

23. Соединение формулы



или его фармацевтически приемлемая соль.

24. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.23 или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2
