



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.02.29

(51) Int. Cl. C07D 305/12 (2006.01)
C07C 67/303 (2006.01)
A61K 31/365 (2006.01)
A61P 1/18 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.04.21

(54) СПОСОБЫ СИНТЕЗА ПРОИЗВОДНЫХ ЛИПСТАТИНА

(31) 63/178,728

(32) 2021.04.23

(33) US

(86) PCT/US2022/025704

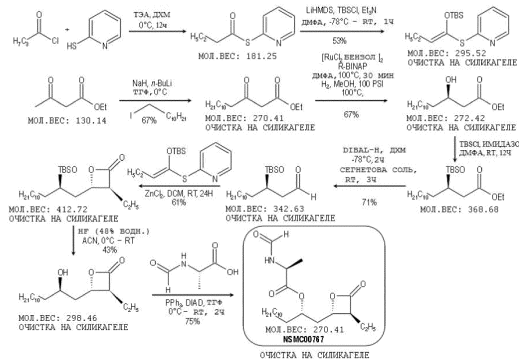
(87) WO 2022/226156 2022.10.27

(71) Заявитель:
ПАНАФИНА, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Камаль Зишан, Бокка Аппарао,
Акуратхи Гопалакришна, Ли Гэри
Ричард (US)

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы получения производного липстагина, (S)-1-((2S,3S)-3-этил-4-оксооксетан-2-ил) тридекан-2-ил формил-L-аланината. Эти способы включают одну или больше стадий, которые включают реакцию Мицунобу N-формил L-аланина в присутствии ди-трет-бутил азодикарбоксилата (DBAD) и трифенилфосфина. Также описаны соединения, полученные способом по настоящему изобретению, композиции, которые включают соединение, полученное способом по настоящему изобретению, и способы ингибирования активности липазы и/или лечения панкреатита с применением соединения, полученного способом по настоящему изобретению.



202392985

A1

A1

202392985

СПОСОБЫ СИНТЕЗА ПРОИЗВОДНЫХ ЛИПСТАТИНА

Заявление приоритета

В настоящей заявке истребуется приоритет, заявленный в предварительной заявке на патент США № 63/178,728, поданной 23 апреля 2021 года, полное содержание которой включено в настоящий текст в полном объеме посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

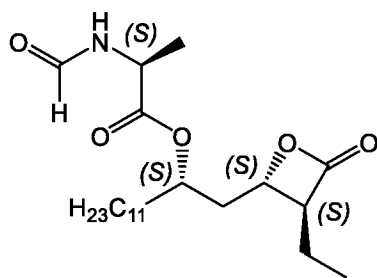
Настоящее изобретение касается способов синтеза фармацевтических соединений. Настоящее изобретение также касается низкомолекулярных ингибиторов липазы и способов их синтеза. В частности, настоящее изобретение касается способов синтеза производных липстатина.

Предшествующий уровень техники

Панкреатит представляет собой воспаление поджелудочной железы, которое может происходить, когда пищеварительные ферменты активируются еще при нахождении в поджелудочной железе, тем самым раздражая клетки поджелудочной железы и вызывая воспаление. Частота ежегодного возникновения острого панкреатита составляет примерно 20-40 случаев на 100 тысяч человек, и эта частота выросла за последние несколько десятков лет. См. Yadav et al., *Epidemiology of Pancreatitis*, GI Epidemiology: Diseases and Clinical Methodology, 2nd Ed., 2014, Blackwell Publishing. Кроме того, при сильном остром панкреатите уровень смертности составляет примерно 29%. Munoz et al., *Am Fam Physician* (2000) 62: 164-74. Поэтому ведутся поиски новых способов лечения панкреатита.

Ингибиторы липазы представляют собой класс соединений, которые были выведены на рынок как лекарства от ожирения. Липстатин, природный продукт, выделенный из *Streptomyces toxytricini*, является ранее известным ингибитором липазы. Насыщенное производное липстатина, орлистат, было разработано компанией Hoffman-La Roche и выведено на рынок как лекарство от ожирения под брендованными названиями Xenical® и Alli®. Ингибиторы липазы могут также применяться для лечения других заболеваний, таких как панкреатит.

Одним из производных липстатина является (S)-1-((2S,3S)-3-этил-4-оксооксетан-2-ил)тридекан-2-ил формил-L-аланинат, который в настоящем тексте именуется также Соединение I-A, и его структура изображена ниже.

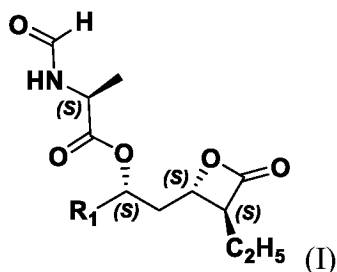


Соединение I-A

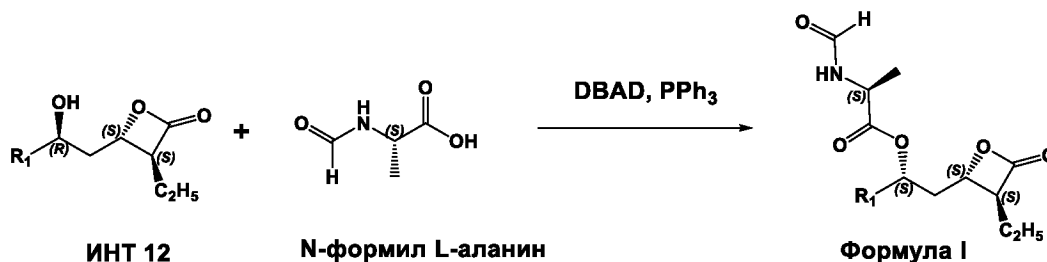
Известные к настоящему моменту способы синтеза Соединения I-A включают синтетическую методику, представленную на фиг. 1. Хотя Соединение I-A можно получить этими способами, они могут оказаться неподходящими для крупномасштабного производства и/или производства согласно правилам cGMP. Кроме того, такие способы могут иметь недостатки в плане химического процесса, включая сильный серный/тиольный запах, которые вызывают проблемы при масштабировании и представляют существенную угрозу здоровью из-за использования агрессивной водной фтористоводородной кислоты. Кроме того, синтез в целом дает выход от низкого до умеренного и требует семь стадий хроматографической очистки. Поэтому есть потребность в разработке новых способов синтеза Соединения I-A.

Краткое описание настоящего изобретения

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы синтеза соединения формулы I:



где R_1 представляет собой C_5 - C_{15} алкил (например, C_{11} алкил). В некоторых вариантах осуществления данные способы включают контактирование соединения ИНТ 12 с N-формил L-аланином, в присутствии ди-трет-бутил азодикарбоксилата (DBAD) и трифенилфосфина, с образованием соединения формулы I:



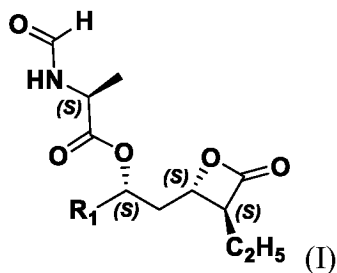
В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы синтеза соединения ИНТ 2. В некоторых вариантах осуществления эти способы включают

контактирование соединения ИНТ 1 с катализатором рутений (R)-BINAP и газообразным водородом в реакционной смеси в реакторе под давлением, с образованием соединения ИНТ 2:



В некоторых вариантах осуществления давление водорода в реакторе меньше или равно 200 фунт/кв.дюйм (например, в диапазоне от 100 до 200 фунт/кв.дюйм). Кроме того, в некоторых вариантах осуществления объемное соотношение свободного объема и реакционной смеси в реакторе составляет 3:1 или больше.

Также в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы синтеза соединения формулы I:



где R₁ представляет собой C₅-C₁₅ алкил (например, C₁₁ алкил), которые включают:

(a) контактирование соединения 1-A с соединением 1-B, опционально в присутствии магния, с образованием соединения ИНТ 1:

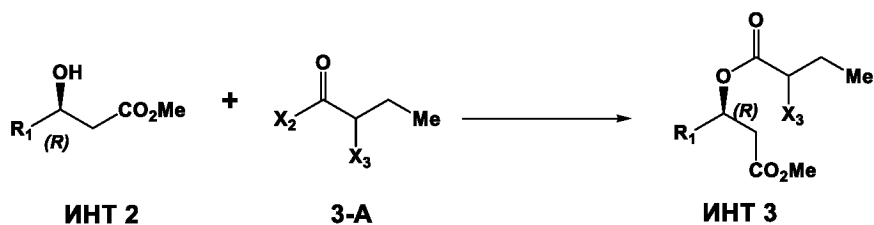


где X₁ представляет собой галоген (например, Cl или Br);

(b) контактирование соединения ИНТ1 с катализатором рутений (R)-BINAP и водородом, с образованием соединения ИНТ 2:



(c) контактирование соединения ИНТ 2 с соединением 3-A с образованием соединения ИНТ 3:

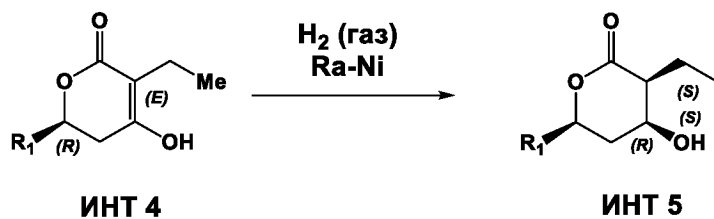


где X_2 и X_3 каждый независимо представляют собой галоген (например, Br);

(d) контактирование соединения ИНТ 3 с реагентом Гриньяра, с образованием соединения ИНТ 4:



(e) контактирование соединения ИНТ 4 с водородом в присутствии никеля Ренея в качестве катализатора, с образованием соединения ИНТ 5:



(f) контактирование соединения ИНТ 5 с первым защитным агентом с образованием соединения ИНТ 6:



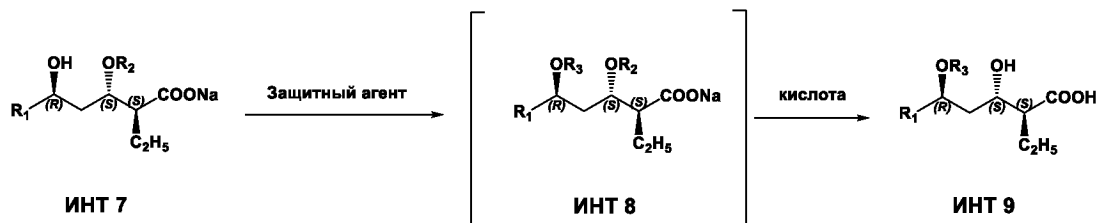
где R_2 представляет собой защитную группу (например, ТНР);

(g) контактирование соединения ИНТ 6 с гидроксидом (например, NaOH) с образованием соединения ИНТ 7:



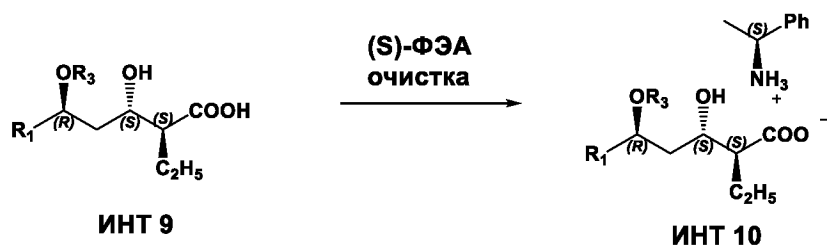
(h) защиту свободной гидроксигруппы в соединении ИНТ 7 путем реакции ИНТ 7

со вторым защитным агентом с образованием соединения ИНТ 8, и последующее удаление защитной группы с гидрокси-группы в соединении ИНТ 8 путем контактирования ИНТ 8 с кислотой, с образованием соединения ИНТ 9:

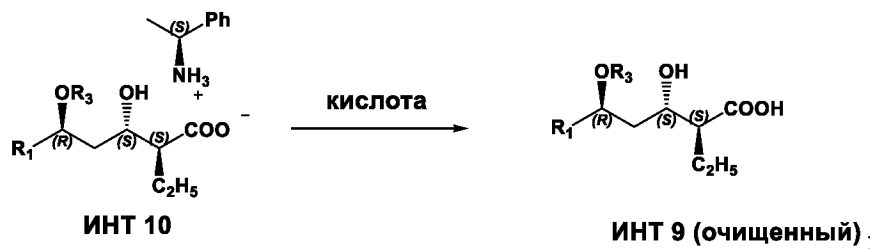


где R_3 представляет собой защитную группу (например, бензил);

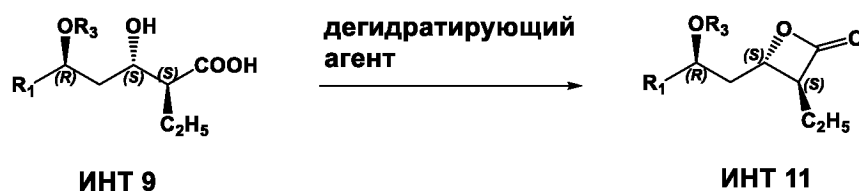
(i) опционально, очистку соединения ИНТ 9 посредством контактирования соединения ИНТ 9 с (S)-(-)-1-фенилэтиламинам с образованием соединения ИНТ 10:



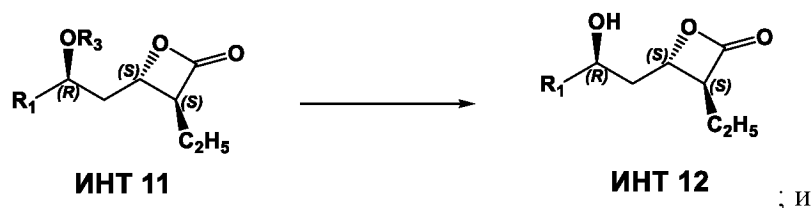
кристаллизацию и выделение ИНТ 10А, и последующий контакт ИНТ 10 с кислотой (например, HCl) с образованием ИНТ 9 (очищенного):



(j) дегидратацию соединения ИНТ 9 или соединения ИНТ 9 (очищенного) с дегидратирующим агентом, с образованием соединения ИНТ 11:

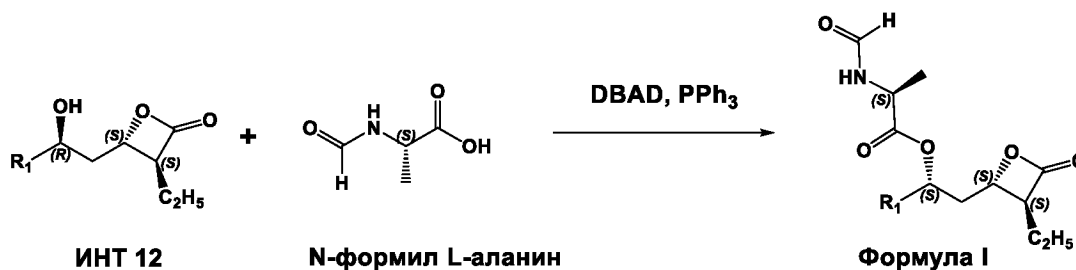


(k) снятие защиты с соединения ИНТ 11 с образованием соединения ИНТ 12:



(l) контактирование соединения ИНТ 12 с N-формил L-аланином в присутствии ди-трет-бутил азодикарбоксилата (DBAD) и трифенилфосфина, с образованием соединения

формулы I:



Также в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны соединения формулы I, полученные способом по настоящему изобретению, или их фармацевтически приемлемые соли. Также описаны композиции, которые содержат соединение по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Кроме того, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы ингибирования активности липазы у субъекта, нуждающегося в этом, которые включают введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, и/или композиции по настоящему изобретению, тем самым ингибируя активность липазы у субъекта.

Также в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы лечения панкреатита у субъекта, нуждающегося в этом, которые включают введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли и/или композиции по настоящему изобретению, для лечения панкреатита у субъекта.

Эти и другие аспекты настоящего изобретения описаны ниже более подробно в описании настоящего изобретения.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлена схема синтеза ранее известного способа получения Соединения I-A.

На фиг. 2 представлен ¹H-ЯМР спектр ИНТ 1.

На фиг. 3 представлен ¹H-ЯМР спектр энантимерно обогащенного ИНТ 2.

На фиг. 4 представлен ¹H-ЯМР спектр рацемического ИНТ 2.

На фиг. 5 представлены данные хиральной ВЭЖХ для энантимерно обогащенного ИНТ 2.

На фиг. 6А и 6В представлены фотографии ТСХ (тонкослойная хроматография) пластинок, показывающих элюирование исходного вещества (SM) и продукта ИНТ 3 в свете УФ-лампы (фиг. 6А) и с РМА (фосфорномолибденовая кислота) окрашиванием (фиг. 6В), при использовании смеси 20% этилацетат/гептан в качестве элюента.

На фиг. 7 представлен ¹H-ЯМР спектр необработанной реакционной смеси при получении ИНТ 3.

На фиг. 8А и 8В представлены фотографии ТСХ (тонкослойная хроматография) пластинок, показывающих элюирование исходного вещества (SM) и продукта ИНТ 4 в необработанной реакционной смеси (РС, фиг. 8А) и в перекристаллизованном продукте (фиг. 8В).

На фиг. 9 представлен ¹H-ЯМР спектр ИНТ 4, на котором видна кето-енольная таутомерия.

На фиг. 10 показана экспериментальная установка для гидрирования с никелем Ренея.

На фиг. 11А и 11В представлены фотографии ТСХ (тонкослойная хроматография) пластинок, показывающих элюирование исходного вещества (SM) и продукта ИНТ 5 в сыром (фиг. 11А) и кристаллическом продукте (фиг. 11В).

На фиг. 12 представлен ¹H-ЯМР спектр кристаллического ИНТ 5.

На фиг. 13 представлен LCMS спектр ИНТ 6.

На фиг. 14 представлен LCMS спектр ИНТ 7.

На фиг. 15 представлен LCMS спектр ИНТ 8.

На фиг. 16 представлен LCMS спектр ИНТ 9.

На фиг. 17 представлен LCMS спектр ИНТ 10.

На фиг. 18 представлен LCMS спектр маточного раствора, содержащего ФЭА-очищенный ИНТ 8.

На фиг. 19 представлен LCMS спектр ИНТ 9, полученного из ФЭА-очищенного ИНТ 8 в маточном растворе.

На фиг. 20 представлен LCMS спектр ИНТ 10, полученного из ФЭА-очищенного ИНТ 8 в маточном растворе.

На фиг. 21 представлен LCMS спектр ИНТ 10 после перекристаллизации.

На фиг. 22 представлен LCMS спектр ИНТ 9 (очищенного).

На фиг. 23 представлен LCMS спектр ИНТ 11.

На фиг. 24 представлен LCMS спектр ИНТ 12.

На фиг. 25 представлен LCMS спектр неочищенной смеси, содержащей Соединение I-A (RABI-767).

На фиг. 26 представлен LCMS спектр неочищенной смеси, содержащей Соединение I-A, после обработки с ТФУК/ДХМ.

На фиг. 27 представлен LCMS спектр неочищенной смеси, содержащей Соединение I-A, после обработки с ТФУК/ДХМ, при проведении синтеза в большом

масштабе.

На фиг. 28А представлена фотография колонки, упакованной для очистки Соединения I-A.

На фиг. 28В представлена фотография ТСХ-пластинок, окрашенных РМА (фосфорномолибденовой кислотой), на которых показано элюирование соединения I-A с различными другими примесями, с использованием 50/50 смеси гептан/этилацетат в качестве элюента.

На фиг. 29 представлен LCMS спектр соединения I-A.

На фиг. 30 представлен ¹H-ЯМР спектр соединения I-A.

На фиг. 31 приведены данные ВЭЖХ и спектр для Соединения I-A.

На фиг. 32 приведены данные ВЭЖХ для Соединения I-A.

На фиг. 33 показана кристаллическая структура соединения I-A.

Подробное описание примеров вариантов осуществления

Настоящее изобретение далее будет описано более подробно. Однако настоящее изобретение может иметь другие варианты осуществления и не ограничивается только вариантами осуществления, описанными в настоящем тексте. Описанные в настоящем тексте варианты осуществления приведены скорее для более полного описания изобретения и дают квалифицированному специалисту в данной области более полное представление об объеме притязаний настоящего изобретения.

Терминология, применяющаяся в описании настоящего изобретения, предназначена только для описания частных вариантов осуществления и не ограничивает объем настоящего изобретения. В контексте описания настоящего изобретения и Формулы изобретения, применение существительных в единственном числе подразумевает также включение множественного числа, если из контекста явным образом не следует обратного.

Если не указано иное, все термины (включая технические и научные термины) в настоящем тексте имеют стандартные значения, известные квалифицированным специалистам в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Следует также понимать, что термины, имеющие определения в широко используемых словарях, следует интерпретировать как имеющие значение, соответствующее его значению в контексте настоящего изобретения и соответствующей области техники, и они не должны пониматься в идеализированном или формальном смысле, если специально не указано иное. Терминология, применяющаяся в описании настоящего изобретения, предназначена только для описания частных вариантов осуществления и не ограничивает объем настоящего изобретения. Все публикации, патентные публикации, патенты и другие

источники, упомянутые в настоящем тексте, включены в настоящий текст в полном объеме посредством ссылки. В случае конфликта терминологии, настоящая спецификация является приоритетной.

Также, при использовании в настоящем тексте «и/или» означает и охватывает все и каждую возможную комбинацию одного или больше из перечисленных терминов, а также отсутствие комбинаций при интерпретации как альтернативы («или»).

Если иное не следует из контекста, различные отличительные признаки настоящего изобретения, описанные в настоящем тексте, могут применяться в любой комбинации. Кроме того, настоящее изобретение охватывает также случаи, когда в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения любой отличительный признак или комбинация отличительных признаков может быть исключена или опущена. Для иллюстрации, если в спецификации утверждается, что комплекс содержит компоненты А, В и С, то явным образом подразумевается, что любой из А, В или С, или их комбинация, могут быть опущены.

При использовании в настоящем тексте, выражение «состоящий главным образом из» (и его грамматические варианты) следует понимать как охватывающее перечисленные материалы или стадии и те, которые не влияют существенно на базовые и новые характеристики заявленного изобретения. Так, термин «состоящий главным образом из» при использовании в настоящем тексте следует понимать как эквивалент термина «содержащий.»

Следует понимать, что хотя термин «первый», «второй» и т.д. могут применяться в настоящем тексте для описания разных элементов, эти элементы не ограничиваются только этими терминами. Эти термины используются только для различения одного элемента от другого. Так, «первый» элемент можно назвать «вторым» элементом, не выходя за рамки представленных вариантов осуществления.

Термины «около» или «примерно» при использовании в настоящем тексте в отношении измеряемой величины, такой как количество или концентрация и т.п., охватывают отклонения $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.5\%$ или даже $\pm 0.1\%$ от указанного значения, а также само указанное точное значение. Например, «около X», где X это измеряемая величина, включает X вместе с отклонениями $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0.5\%$ или даже $\pm 0.1\%$ от X. Диапазон отклонений от указанного точного значения включает любой другой диапазон и/или отдельные значения, входящие в него.

«Галоген» при использовании в настоящем тексте означает любой подходящий галоген, включая -F, -Cl, -Br и -I.

«Гидрокси» или «гидроксил» при использовании в настоящем тексте означает

группу –ОН. «Свободная гидроксигруппа» это незащищенная -ОН группа. «Защищенная гидроксигруппа» представляет собой гидроксигруппу, которая связана (например, ковалентно связана) с защитной группой.

«Алкил» при использовании в настоящем тексте отдельно или как часть другой группы означает линейный или разветвленный углеводород, содержащий 1 - 15 атомов углерода. «Низший алкил» при использовании в настоящем тексте отдельно или как часть другой группы означает линейный или разветвленный углеводород, содержащий 1 - 4 атомов углерода. Репрезентативные примеры алкила включают (но не ограничиваются только ими) метил, этил, н-пропил, изо-пропил, н-бутил, втор-бутил, изо-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил, н-ундецил, н-додецил, тридецил, тетрадецил, пентадецил и т.п. Например, C₅-C₁₅ алкил включает линейные и разветвленные насыщенные алкилы, включая, например, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил, н-ундецил, н-додецил, тридецил, тетрадецил и пентадецил.

Термин «соединение» при использовании в настоящем тексте включает все стереоизомеры, геометрические изомеры, таутомеры и изотопные вариации изображенных структур. Соединения в настоящем тексте, идентифицированные названием или структурой как одна отдельная таутомерная форма, включают другие таутомерные формы, если специально не указано иное. Таутомерные формы являются результатом обмена положениями между простой связью и соседней двойной связью вместе с одновременной миграцией протона. Таутомерные формы включают прототропные таутомеры, которые являются изомерными по положению протона состояниями, имеющими одинаковые эмпирические формулы и суммарный заряд. Примеры прототропных таутомеров включают кето-енольные пары, амид-имидноокислотные пары, лактам-лактимные пары, енамин-иминные пары и циклические формы, в которых протон может занимать два или больше положений в гетероциклической системе. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или быть стерически зафиксированными в одной форме при соответствующих заместителях.

В некоторых вариантах осуществления, соединения по настоящему изобретению могут иметь один или больше асимметрических центров и поэтому существуют в виде рацематов и рацемических смесей, энантимерно обогащенных смесей индивидуальных энантимеров, индивидуальных диастереомеров и диастереомерных смесей (например, включая (R)- и (S)-энантимеры, диастереомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры, (+) (правовращающие) формы, (-) (левовращающие) формы, их рацемические смеси и другие

их смеси). Дополнительные асимметрические атомы углерода могут присутствовать в заместителе, таком как алкильная группа. Все такие изомерные формы заявленных соединений, а также их смеси, явным образом включены в настоящее изобретение, если специально не указано иное.

Соединения по настоящему изобретению могут также содержать связующие элементы, в которых вращение вокруг связи ограничено, например, вращение может быть ограничено из-за наличия кольца или двойной связи (например, углерод-углеродных связей, связей углерод-азот, таких как амидные связи). Соответственно, все цис/транс и E/Z изомеры и ротационные изомеры включены в настоящее изобретение. Если не указано иное, химическое обозначение соединения включает смесь всех возможных стереохимически изомерных форм указанного соединения.

Получение соединения по настоящему изобретению может включать защиту и снятие защиты с различных химических групп. Химия защитных групп описана, например, в работе T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999).

Мониторинг протекания реакций и идентификацию продуктов можно осуществлять известными в данной области методами. Например, формирование продуктов можно мониторить спектроскопическими методами, такими как спектроскопия ядерного магнитного резонанса, инфракрасная спектроскопия, спектрофотометрия (например, в УФ-видимой области), масс-спектрометрия, и/или хроматографическими методами, такими как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), жидкостная хроматография-масс-спектрометрия (LCMS) или тонкослойная хроматография (ТСХ). Соединения можно очищать различными методами, известными квалифицированным специалистам в данной области, если специально не указано иное.

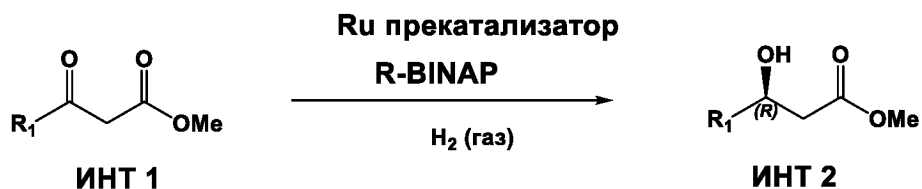
«Лечение» при использовании в настоящем тексте означает любой способ, которым облегчают или иным образом положительно влияют на один или больше симптомов заболевания или нарушения. Лечение включает также любое фармацевтическое применение композиций по настоящему изобретению, например применение для лечения панкреатита. При использовании в настоящем тексте, облегчение симптомов определенного заболевания посредством введения определенного соединения или фармацевтической композиции означает любое ослабление, постоянное или временное, длительное или краткое, которое связано с применением указанной композиции.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны способы синтеза соединения формулы I:

В некоторых вариантах осуществления, соединение 1-А контактирует с соединением 1-В в присутствии щелочного металла, такого как магний, и соединение ИНТ 1 образуется посредством алифатического ацилирования. В некоторых вариантах осуществления, щелочной металл (например, магний) сначала реагирует с метанолом с образованием раствора метоксида щелочного металла (опционально в толуоле), в который добавляют соединение 1-А. Соединение 1-В растворяют в растворителе (например, в толуоле) и затем добавляют в течение некоторого периода времени, например, через капельную воронку. В некоторых вариантах осуществления, реакцию гасят метанолом и упаривают. Затем добавляют сильную кислоту, такую как минеральная кислота, например, соляная кислота, серная кислота и/или фосфорная кислота. Затем реакционную смесь подвергают очистке любым подходящим методом, например, путем промывки водой, сушки и/или упаривания соединения ИНТ 1. Опционально, соединение ИНТ 1 можно затем перекристаллизовать (например, из метанола) для дополнительной очистки целевого соединения.

Стадия 2

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 1 контактирует с катализатором рутений R-BINAP и водородом в ходе стереоселективного восстановления кетона с образованием соединения ИНТ 2:



где R₁ имеет указанное выше значение.

В некоторых вариантах осуществления, R-BINAP, (R)-(2,2'-бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил и рутений формируют катализатор *in situ*, когда рутениевый прекатализатор и R-BINAP лиганды объединяют в инертной атмосфере и затем добавляют в реакционную смесь. В некоторых вариантах осуществления, рутениевый прекатализатор представляет собой соединение хлорида рутения, такое как [RuCl₂ бензол]₂. В некоторых вариантах осуществления, рутениевый прекатализатор и R-BINAP объединяют в дегазированном растворителе и в инертной атмосфере, и нагревают (например, до 100°C) с образованием раствора активного катализатора. Соединение ИНТ 1 растворяют в подходящем растворителе (в инертной атмосфере) с образованием реакционной смеси, и добавляют в реакционную смесь раствор активного катализатора. В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 1 и активный катализатор добавляют в автоклав или находящийся под давлением сосуд, в который закачивают водород и нагревают с

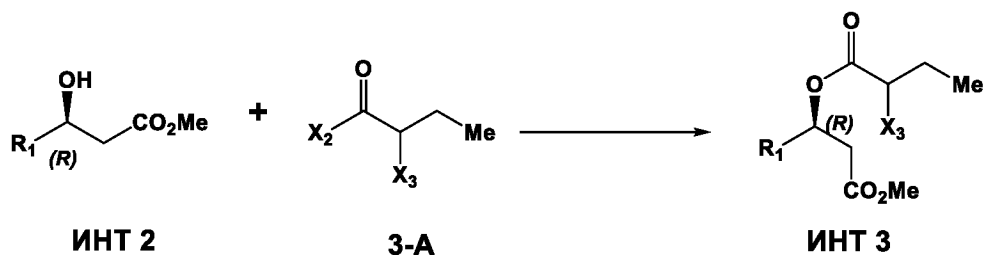
образованием соединения ИНТ 2. В некоторых вариантах осуществления, давление водорода в автоклаве или находящемся под давлением сосуде составляет 200 фунт/кв.дюйм или меньше (например, в диапазоне от 100 фунт/кв.дюйм до 200 фунт/кв.дюйм). Свободный объем в находящемся под давлением сосуде также может влиять на чистоту и энантиоселективность полученного соединения ИНТ 2. В некоторых вариантах осуществления, соотношение свободного объема и реакционной смеси в находящемся под давлением сосуде составляет 3:1 или больше (например, 4:1, 5:1 или 6:1). Сырое соединение ИНТ 2 можно дополнительно очистить экстракцией и/или промывкой, и в некоторых вариантах осуществления его перекристаллизовывают путем растворения в органическом растворителе и охлаждения.

В некоторых вариантах осуществления, для оценки энантиочистоты соединения ИНТ 2, соединение можно дериватизовать с образованием эфира Мошера. В некоторых вариантах осуществления, образование эфира Мошера проводят с использованием кислоты Мошера (α -метокси- α -трифторметилфенилуксусная кислота (МТРА)), применяя катализатор (например, 4-диметиламинопиридин (DMAP)) и дегидратирующий агент (например, дициклогексилкарбодиимид (DCC)). Эфир Мошера можно затем проанализировать методом ^1H -ЯМР, чтобы определить – является ли соединение ИНТ 2 энантиомерно обогащенным.

В некоторых вариантах осуществления, для оценки энантиочистоты соединения ИНТ 2 это соединение можно дериватизовать с помощью бензоилхлорида, например в присутствии DMAP и N,N-диизопропилэтиламина (DIPEA). Полученное таким образом производное можно проанализировать методом хирального ВЭЖХ для определения энантиомерного избытка (% ee). В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 2 имеет % ee по меньшей мере 90% (90-99 % ee), по меньшей мере 95% (95-99% ee) или по меньшей мере 97% (97-99% ee).

Стадия 3

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 2 контактирует с соединением 3-А с образованием соединения ИНТ 3:

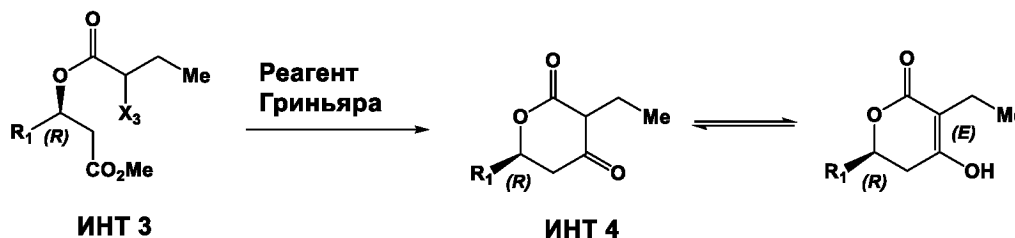


где R_1 имеет указанное выше значение и X_2 и X_3 каждый независимо представляют собой галоген (например, Br или Cl).

В некоторых вариантах осуществления, реакцию О-ацилирования соединения ИНТ 2 проводят в присутствии катализатора (например, DMAP) и бикарбоната калия (KHCO_3) в условиях реакции Шоттен-Баумана (двухфазная реакция с использованием воды и органического растворителя (такого как толуол)). Эту реакцию можно проводить при низких температурах, например в диапазоне от 0°C до 15°C . После окончания реакции можно поднять температуру и добавить воду в реакционную колбу для гидролиза всего непрореагировавшего соединения 3-А. В некоторых вариантах осуществления, полученное таким образом соединение ИНТ 3 промывают водой и/или органическую фазу экстрагируют и упаривают.

Стадия 4

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 3 контактирует с реагентом Гриньяра (реакция Реформатского) с циклизацией и образованием соединения ИНТ 4:

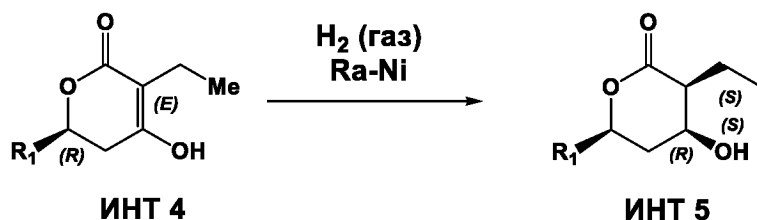


где R_1 и X_3 имеют указанные выше значения, и ИНТ 4 существует в виде таутомера.

В некоторых вариантах осуществления, реагент Гриньяра представляет собой третичный реагент Гриньяра, такой как трет-бутилMgBr, трет-амилMgBr и т.п. В некоторых вариантах осуществления, реакционную смесь, содержащую соединение ИНТ 3 и реагент Гриньяра, помещают в реактор с органическим растворителем (например, ТГФ) медленно в течение некоторого времени, до образования в реакционной смеси соединения ИНТ 4. Реакционную смесь опционально упаривают для удаления части органического растворителя, продукт охлаждают и/или добавляют холодный раствор лимонной кислоты для ускорения осаждения. В некоторых вариантах осуществления, продукт можно промыть и/или перекристаллизовать для очистки соединения ИНТ 4.

Стадия 5

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 4 контактирует с водородом в присутствии никеля Ренея с образованием соединения ИНТ 5:



где R_1 имеет указанное выше значение.

В некоторых вариантах осуществления, водород присутствует в реакционном сосуде под давлением в диапазоне от 0.5 атм до 5 атм, и в некоторых вариантах осуществления – под давлением примерно 1 атм. В некоторых вариантах осуществления, катализатор никель Ренея является свежеприготовленным перед реакцией (не куплен у коммерческих поставщиков), например непосредственно перед реакцией. В некоторых вариантах осуществления, никель Ренея (например, свежеприготовленный никель Ренея) добавляют в реакционный сосуд в инертных условиях, и затем добавляют в реакционный сосуд соединение ИНТ 4. Водород можно пропускать через реакционную смесь с помощью барботера при перемешивании. После окончания реакции (например, согласно данным ТСХ или LCMS), оставляют для оседания никеля Ренея на дно, и сливают надосадочный раствор. Продукт затем можно очистить, например, фильтрованием через слой целита и/или перекристаллизацией, например, из этилацетата и гептана.

Стадия 6

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 5 контактирует с защитным агентом для постановки защитной группы на свободную гидроксильную группу в соединении ИНТ 5:



где R_1 имеет указанное выше значение и R_2 представляет собой защитную группу (например, ТНР).

В некоторых вариантах осуществления, защитный агент представляет собой 3,4-дигидро-2Н-пиран (DHP), который дает тетрагидропиранильную (ТНР) защитную группу. Можно применять другие устойчивые к основаниям защитные группы, такие как, например, тритильная группа или пара-метоксибензильная группа, которые можно удалить в относительно мягких условиях. В некоторых вариантах осуществления, слабокислотный катализатор, такой как пиридиний *p*-толуолсульфонат (PPTS), можно добавлять к соединению ИНТ 5, которое было растворено в растворителе, таком как ТГФ.

Защитный агент (например, ДНР) затем добавляют в реакционную колбу. В некоторых вариантах осуществления, результирующее соединение ИНТ 6 можно затем растворить в органическом растворителе (например, МТБЭ) и промыть.

Стадия 7

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 6 контактирует с гидроксидом для раскрытия лактонного кольца и формирования соединения ИНТ 7:

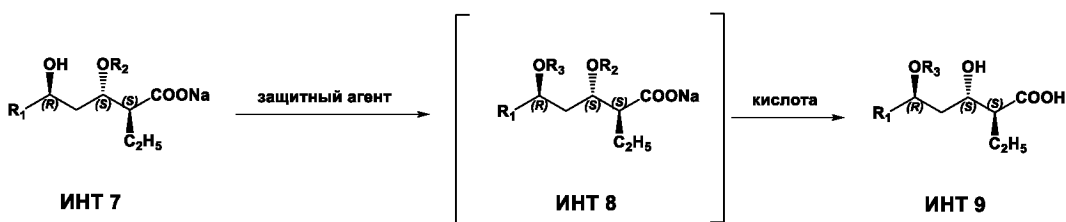


где R_1 и R_2 имеют указанные выше значения.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, гидроксид представляет собой NaOH или KOH. В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 6 растворяют в органическом растворителе (например, МТБЭ) и добавляют в реакционную колбу. Затем в реакционную колбу добавляют водный раствор гидроксида (например, 2н. раствор NaOH) и перемешивают. После окончания реакции отделяют основной водный слой, и органический слой промывают раствором соли (например, 10%-ным раствором NaCl). Затем проводят упаривание и выделяют Соединение ИНТ 7 в виде неочищенного масла. В некоторых вариантах осуществления, полученное неочищенное масло затем подвергают азеотропной отгонке с органическим растворителем(-ями) (например, МТБЭ и ТГФ) для дополнительной очистки соединения ИНТ 7.

Стадии 8 и 9

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 7 контактирует с защитным агентом для постановки защитной группы на свободный гидроксил в соединении ИНТ 7, при этом образуется соединение ИНТ 8. Соединение ИНТ 8 затем вводят в реакцию с кислотой для снятия защиты с гидроксильной группы с образованием свободной гидроксильной группы, получая таким образом соединение ИНТ 9:



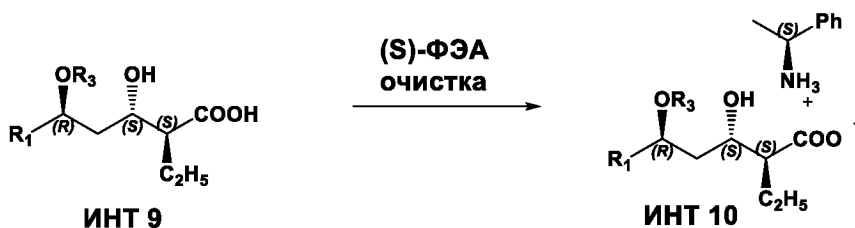
где R_1 и R_2 имеют указанные выше значения, и R_3 представляет собой устойчивую

к кислотам защитную группу, такую как бензил или замещенный бензил. Термин «устойчивая к кислотам защитная группа» означает защитную группу, которая не удаляется при добавлении кислоты к ИНТ 8 при получении ИНТ 9.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, промежуточный продукт ИНТ 8 не очищают перед получением соединения ИНТ 9. Таким образом, эти две реакции можно проводить в одном реакционном сосуде. В некоторых вариантах осуществления, защитный агент представляет собой бензилбромид, и он реагирует с соединением ИНТ 7 по реакции О-бензилирования. В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 7 перемешивают в органическом растворителе (например, ТГФ) и добавляют сильное основание (например, трет-бутоксид натрия), после чего добавляют бензилбромид. Такую реакцию можно проводить при низкой температуре (например, в диапазоне от 5°C до 10°C). После окончания реакции, реакционную смесь можно нагреть (например, до 50°C). В некоторых вариантах осуществления, кислый водный раствор (например, минеральной кислоты, такой как HCl) добавляют в реакционную смесь, содержащую соединение ИНТ 8, что дает соединение ИНТ 9. В некоторых вариантах осуществления, органические и водные слои разделяют, и органический слой промывают и фильтруют, и опционально подвергают дополнительной очистке. В некоторых вариантах осуществления, продукт экстрагируют органическим растворителем, таким как МТБЭ, и органический слой упаривают с получением сырого продукта ИНТ 9. В некоторых вариантах осуществления, полученный сырой продукт затем повторно растворяют в органическом растворителе (например, в метилацетате), промывают раствором соли и/или сушат перед фильтрованием и использованием полученного продукта на следующей стадии. В некоторых вариантах осуществления, гидрокси-ТНР, образовавшийся при снятии защиты на Стадии 9, удаляют из продукта ИНТ 9 перед использованием его в следующей стадии.

Стадия 10

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 9 контактирует с (S)-фенилэтиламином с образованием соединения ИНТ 10:

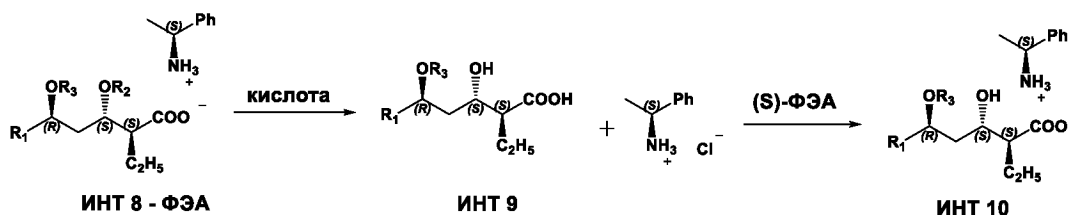


где R₁ и R₃ имеют указанные выше значения.

Эту опциональную стадию можно применять для очистки продукта. В некоторых вариантах осуществления, очистку с помощью (S)-ФЭА можно проводить в органическом

растворителе, например, метилацетате. В некоторых вариантах осуществления, эту реакцию проводят путем растворения соединения ИНТ 9 в органическом растворителе, таком как метилацетат. Реакционную смесь затем охлаждают и медленно добавляют (S)-(-)- α -метил бензиламин (также именуется (S)-(-)-1-фенилэтиламин) в реакционную колбу. Выпавшие кристаллы можно отфильтровать и промыть (например, холодным метилацетатом).

В некоторых вариантах осуществления, если гидрокси-ДНР присутствует в неочищенной реакционной смеси, соединение ИНТ 10 может превращаться в ФЭА-соль соединения ИНТ 8 (обозначается также ИНТ 8 - ФЭА). Поэтому предпочтительно удалять гидрокси-ТНР, образовавшийся на Стадии 9. В случаях, когда такое превращение наблюдается, ИНТ 8 – ФЭА можно вводить в реакцию с кислотой для превращения соединения ИНТ 8 – ФЭА в соединение ИНТ 9. Соединение ИНТ 9 можно затем очистить посредством фильтрования, экстракции, промывки и/или перекристаллизации (например, из метилацетата). Соединение ИНТ 9 можно затем превратить в соединение ИНТ 10, используя описанную выше методику с (S)-ФЭА.



Стадия 11

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 10 контактирует с кислотой с образованием очищенного соединения ИНТ 9:

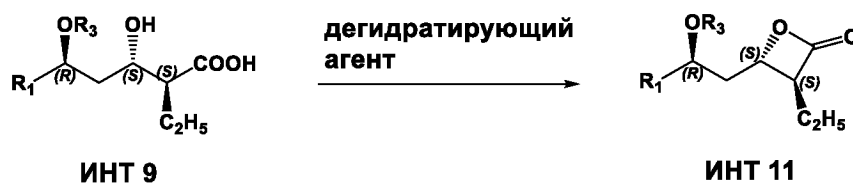


где R_1 и R_3 имеют указанные выше значения.

В некоторых вариантах осуществления, кислота представляет собой минеральную кислоту, такую как HCl (например, 1н. HCl). В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 10 растворяют в органическом растворителе, таком как гептан, затем добавляют в реакционную смесь водный раствор кислоты (например, 1н. HCl). Органический слой затем отделяют от водного слоя, промывают, сушат, фильтруют и/или упаривают, получая ИНТ 9 (очищенный).

Стадия 12

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ 9 или ИНТ 9 (очищенный) контактирует с дегидратирующим агентом с образованием соединения ИНТ 11:



где R_1 и R_3 имеют указанные выше значения.

В некоторых вариантах осуществления, дегидратирующий агент включает один или больше из следующих: бензолсульфонилхлорид, толуолсульфонилхлорид или алкилсульфонилхлорид, опционально в присутствии пиридина или замещенного пиридина. В некоторых вариантах осуществления, реакция дегидратации протекает при низкой температуре (например, ниже 5°C) и/или в инертной атмосфере. В некоторых вариантах осуществления, получаемый продукт ИНТ 11 затем экстрагируют гептаном, промывают водным кислым и/или основным раствором, промывают раствором соли, сушат или фильтруют и/или упаривают, получая соединение ИНТ 11.

Стадия 13

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, с соединения ИНТ 11 снимают защиту с образованием свободной гидроксильной группы и получают соединение ИНТ 12:



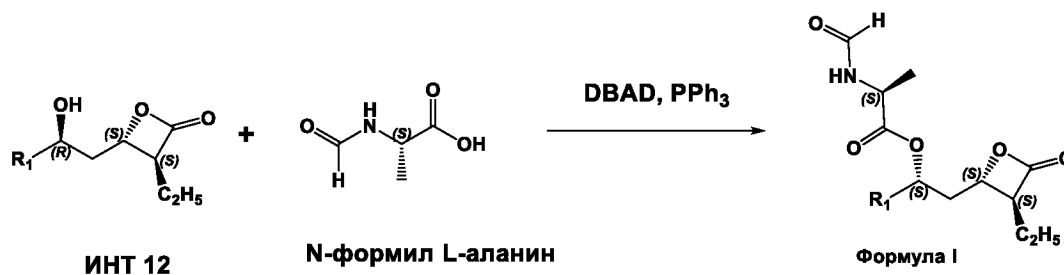
где R_3 имеет указанное выше значение.

В некоторых вариантах осуществления, R_3 представляет собой бензильную группу, и снятие защиты осуществляют по реакции дебензилирования. В некоторых вариантах осуществления, дебензилирование проводят с применением катализатора Pd/C и водорода. В некоторых вариантах осуществления, Pd/C присутствует в реакционной смеси, и водород барботируют через реакционную смесь в инертных условиях. Полученный сырой продукт, который содержит соединение ИНТ 12, затем фильтруют и упаривают в вакууме, получая очищенное соединение ИНТ 12.

Стадия 14

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение ИНТ

12 контактирует с N-формил L-аланином с образованием соединения формулы I.



В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 12 реагирует с N-формил L-аланином по реакции Мицунобу с использованием трифенилфосфина и азодикарбоксилата. Сходные соединения были синтезированы с диизопропил азодикарбоксилатом (DIAD), но эта реакция не работает достаточно хорошо в случае синтеза соединений формулы I. DIAD-H₂ образовывался в качестве основного побочного продукта, и соединение формулы I элюируется вместе с DIAD-H₂, что делает очистку проблематичной. Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что, когда ди-*трет*-бутил азодикарбоксилат (DBAD) применяется в качестве азодикарбоксилата, образующийся DBAD-H₂ и соединение формулы I имеют существенно различающиеся времена удерживания, так что их можно разделить хроматографически. Также, реакция неожиданно протекает быстрее при использовании DBAD вместо DIAD. В некоторых вариантах осуществления, реакция ИНТ 12 с N-формил L-аланином проходит в присутствии DBAD примерно в 1.5 - 2 раза (или больше) быстрее, чем в присутствии DIAD.

В некоторых вариантах осуществления, реакцию Мицунобу проводят в инертной атмосфере. В некоторых вариантах осуществления, соединение ИНТ 12, N-формил-L-аланин и PPh₃ помещают в реакционную колбу с органическим растворителем, таким как ТГФ. Затем реакционная смесь гомогенизируется, ее охлаждают до нужного диапазона температур, который ниже комнатной температуры (например, примерно до 5-10°C). В некоторых вариантах осуществления, затем DBAD растворяют в том же органическом растворителе и медленно добавляют в реакционную колбу, например, по каплям через капельную воронку. DBAD можно добавлять с такой скоростью, чтобы реакция проходила в нужном диапазоне температур (например, примерно 5-10°C). После окончания реакции реакционную смесь упаривают и заново суспендируют в органическом растворителе, таком как гептан. Гептановый слой декантируют. Затем добавляют МТБЭ в смесь и фильтруют, получая сырой продукт в виде масла. В некоторых вариантах осуществления, полученное сырое масло очищают методом колоночной хроматографии (например, используя в качестве элюента смесь этилацетат/гептан). Объединенные хроматографические фракции упаривают, получая масло. В некоторых вариантах

осуществления, в полученное масло вносят затравочный кристалл очищенного соединения формулы I для формирования кристаллов продукта в течение некоторого периода времени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, соединение формулы I имеет чистоту по меньшей мере 90% (например, чистоту по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%, и значение в любом диапазоне между указанными).

Способы по настоящему изобретению могут дополнительно включать формирование фармацевтически приемлемой соли соединения формулы I. Термин «фармацевтически приемлемая соль» означает соль, которая сохраняет биологическую эффективность и свойства свободного основания или свободной кислоты, и которая не является биологически или как-либо еще неприемлемой. Эти соли могут формироваться с неорганической кислотой, такой как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п., в частности с соляной кислотой, и с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, виноградная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоокислота, этансульфоокислота, п-толуолсульфоокислота, салициловая кислота, N-ацетилцистеин и т.п. Кроме того, эти соли можно получить добавлением неорганического основания или органического основания к свободной кислоте. Соли с неорганическими основаниями включают (но не ограничиваются только ими) натриевые, калиевые, литиевые, аммониевые, кальциевые, магниевые соли и т.п. Соли с органическими основаниями включают (но не ограничиваются только ими) соли с первичными, вторичными и третичными аминами, замещенными аминами, включая природные замещенные амины, циклическими аминами и основными ионообменными смолами, такими как изопропиламиновые, триметиламиновые, диэтиламиновые, триэтиламиновые, трипропиламиновые, этаноламиновые, лизиновые, аргининовые, N-этилпиперидиновые, пиперидиновые, полииминные смолы и т.п.

Способы по настоящему изобретению могут также дополнительно включать формирование композиции, содержащей соединение формулы I. В некоторых вариантах осуществления, соединение формулы I можно вводить в состав подходящих фармацевтических препаратов, таких как растворы, суспензии, таблетки, диспергируемые таблетки, пилюли, капсулы, порошки, препараты с замедленным высвобождением или эликсиры, для перорального введения, или в стерильные растворы или суспензии для парентерального введения, а также в состав трансдермальных пластырей и сухих порошков для

ингаляций. В одном варианте осуществления, описанные выше соединения вводят в состав фармацевтических композиций по методикам, хорошо известным в данной области (см., например, Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Fourth Edition 1985, 126).

В композициях эффективные концентрации одного или больше соединений или их фармацевтически приемлемых производных можно смешивать с подходящим фармацевтическим носителем. Соединения можно дериватизовать с получением соответствующих солей, сложных эфиров, простых или сложных эфиров енолов, ацеталей, кеталей, ортоэфиров, полуацеталей, полукеталей, кислот, оснований, сольватов, гидратов или пролекарств перед введением в состав препаратов, как описано выше. Концентрации соединений в композициях должны обеспечивать при введении в организм доставку количества, которое лечит, предотвращает и/или ослабляет панкреатит или ингибирует активность липазы.

В одном варианте осуществления, композиции вводят в состав дозированных препаратов с однократной дозой для введения. Для приготовления такой композиции нужную массу соединения по настоящему изобретению растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают с выбранным носителем в концентрации, являющейся эффективной для облегчения или предотвращения заболевания, подвергающегося лечению, или для ослабления одного или больше из его симптомов.

Активное соединение можно включать в фармацевтически приемлемый носитель в количестве, достаточном для достижения терапевтически значимого эффекта при отсутствии нежелательных побочных эффектов у пациента. Терапевтически эффективную концентрацию можно определить эмпирически посредством тестирования соединений *in vitro* и *in vivo*, и последующей экстраполяции результатов на дозировки для людей.

Концентрация соединения формулы I (также именуется «активное соединение») в фармацевтической композиции может зависеть от скорости всасывания, инактивации и выведения активного соединения, физикохимических характеристик соединения, режима введения и/или вводимого количества, а также от других факторов, известных квалифицированным специалистам в данной области. Например, вводимое количество может быть достаточным для ингибирования активности липазы и/или лечения панкреатита.

Фармацевтические композиции могут иметь вид дозированных лекарственных форм для введения людям и/или животным, таких как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные растворы или суспензии для парентерального введения, и растворы или суспензии для перорального введения, эмульсии масло-в-воде, содержащие

подходящие количества соединений по настоящему изобретению или их фармацевтически приемлемых производных. Фармацевтические терапевтически активные соединения и их производные, в одном варианте осуществления, вводят в состав и применяют в виде однократной дозированной формы или мульти-дозированной формы. Однократные дозированные формы в настоящем тексте означают физически дискретные единицы для введения людям или животным, которые индивидуально упакованы, как известно в данной области. Каждая единичная доза содержит определенное количество терапевтически активного соединения, достаточное для оказания желаемого терапевтического эффекта, в комплексе с необходимым фармацевтическим носителем или разбавителем. Примеры однократных дозированных форм включают ампулы и шприцы, а также индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Однократные дозированные формы можно вводить частями или по несколько штук. Мульти-дозированная форма представляет собой несколько идентичных однократных дозированных форм, упакованных в единый контейнер, которые предназначены для введения в виде отдельных однократных дозированных форм. Примеры мульти-дозированных форм включают флаконы, бутылки с таблетками или капсулами, или бутылки с пинтами или галлонами. Таким образом, мульти-дозированная форма представляет собой несколько однократных доз, которые не разделены в упаковке.

Жидкие фармацевтические композиции можно приготовить, например, путем растворения, диспергирования или иного смешивания активного соединения и опциональных фармацевтических адъювантов в носителе, таком как, например, вода, физраствор, водный раствор декстрозы, глицерин, гликоли, этанол и т.п., для приготовления раствора или суспензии. При желании фармацевтическая композиция может также содержать минорные количества нетоксичных вспомогательных компонентов, таких как смачивающие агенты, эмульгаторы, солюбилизаторы, pH буферные агенты и т.п., например, ацетат, цитрат натрия, производные циклодекстрина, сорбитан монолаурат, триэтаноламин натрия ацетат, триэтаноламин олеат и другие подобные агенты.

Современные методы приготовления таких дозированных форм известны или будут очевидны квалифицированным специалистам в данной области; они описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 15th Edition, 1975.

В некоторых вариантах осуществления, композиция по настоящему изобретению предназначена для перорального введения. Дозированные фармацевтические формы для перорального введения являются твердыми, гелеобразными или жидкими. Твердые

дозированные формы представляют собой таблетки, капсулы, гранулы и порошки. Типы таблеток для перорального введения включают прессованные таблетки, жевательные пастилки и таблетки с кишечнорастворимым покрытием, сахарным покрытием или пленочным покрытием. Капсулы могут представлять собой твердые или мягкие желатиновые капсулы, а гранулы и порошки могут быть в нешипучей или шипучей форме, в комбинации с другими ингредиентами, известными квалифицированным специалистам в данной области.

В некоторых вариантах осуществления, препараты представляют собой твердые дозированные формы, в одном варианте осуществления – капсулы или таблетки. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут содержать один или больше из перечисленных далее ингредиентов или соединений аналогичной природы: связующее вещество; лубрикант; разбавитель; скользящее вещество; разрыхлитель; краситель; подсластитель; ароматизатор; смачивающий агент; покрытие, вызывающее рвоту при передозировке; и пленочное покрытие. Примеры связующих веществ включают микрокристаллическую целлюлозу, трагакантовую камедь, раствор глюкозы, камедь акации, раствор желатина, мелассу, поливинилпирролидон, повидон, кроссповидоны, сахарозу и крахмальную пасту. Лубриканты включают тальк, крахмал, стеарат магния или кальция, ликоподиум и стеариновую кислоту. Разбавители включают, например, лактозу, сахарозу, крахмал, каолин, соль, маннит и дикальций фосфат. Скользящие вещества включают (но не ограничиваются только ими) коллоидный диоксид кремния. Разрыхлители включают натрий кросскармеллозу, натрий крахмал гликолят, альгиновую кислоту, кукурузный крахмал, картофельный крахмал, бентонит, метилцеллюлозу, агар и карбоксиметилцеллюлозу. Красители включают, например, любой из одобренных сертифицированных водорастворимых FD и C красителей, их смеси; и нерастворимые в воде FD и C красители, нанесенные на гидрат окиси алюминия. Подсластители включают сахарозу, лактозу, маннит и синтетические подсластители, такие как сахарин, и любые высушенные распылением ароматизаторы. Ароматизаторы включают натуральные ароматизаторы, экстрагированные из растений, таких как фрукты, и синтетические смеси соединений, которые дают приятное ощущение, такие как (но не ограничиваясь только ими) ментол и метилсалицилат. Смачивающие агенты включают пропиленгликоль моностеарат, сорбитан моноолеат, диэтиленгликоль монолаурат и полиоксиэтилен лауриловый эфир. Покрытия, вызывающие рвоту при передозировке, включают жирные кислоты, жиры, воска, шеллак, аммонизированный шеллак и ацетаты-фталаты целлюлозы. Пленочные покрытия включают гидроксипропилцеллюлозу, геллановую камедь, натрий карбоксиметилцеллюлозу, полиэтиленгликоль 4000 и ацетаты-фталаты целлюлозы.

Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемое производное можно вводить в состав композиции, которая будет защищать его от кислотной среды желудка. Например, композиция может быть заключена в кишечнорастворимое покрытие, которое сохраняет прочность в желудке и высвобождает активное соединение в кишечнике. Композицию можно также вводить в состав препарата в комбинации с антацидом и другим подобным ингредиентом. Когда однократная дозированная форма представляет собой капсулу, она может содержать, помимо веществ, описанных выше типов, жидкий носитель, такой как жирное масло. Кроме того, однократные дозированные формы могут содержать различные другие материалы, которые модифицируют физическую форму дозированной формы, например, покрытие из сахара и других кишечнорастворимых агентов. Соединения можно вводить как компонент эликсира, суспензии, сиропа, рифленной пластинки, капсулы с гранулами, жевательной резинки и т.п. Сироп может содержать, помимо активного соединения, сахарозу в качестве подсластителя и определенные консерванты, красители и ароматизаторы.

Активные компоненты можно также смешивать с другими активными соединениями, которые не ухудшают целевое действие, или с веществами, которые дополняют целевое действие, такими как антациды, H₂ блокаторы и диуретики. Активный компонент представляет собой соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемое производное. Можно применять высокие концентрации активного ингредиента до примерно 98 вес.%.

Во всех вариантах осуществления на таблетки и капсулы может быть нанесено покрытие, как известно квалифицированным специалистам в данной области, для модификации или замедления растворения активного ингредиента. Так, например, на них может быть нанесено общеизвестное кишечнорастворимое покрытие, например из фенолсалицилата, восков и ацетата-фталата целлюлозы.

Жидкие дозированные формы для перорального введения включают водные растворы, эмульсии, суспензии, растворы и/или суспензии, которые готовят из нешипучих гранул и шипучих препаратов. Водные растворы включают, например, эликсиры и сиропы. Эмульсии представляют собой эмульсии типа масло-в-воде или типа вода-в-масле.

Эликсиры представляют собой прозрачные подслащенные водно-спиртовые препараты. Фармацевтически приемлемые носители, применяющиеся в эликсирах, включают растворители. Сиропы представляют собой концентрированные водные растворы сахаров, например сахарозы, и могут содержать консервант. Эмульсия представляет собой двухфазную систему, в которой одна жидкость диспергирована в

форме мелких глобул в другой жидкости. Фармацевтически приемлемые носители, применяющиеся в эмульсиях, представляют собой неводные жидкости, эмульгаторы и консерванты. В суспензиях применяют фармацевтически приемлемые суспендирующие агенты и консерванты.

Фармацевтически приемлемые вещества, применяющиеся в нешипучих гранулах, которые растворяют с получением дозированных жидких форм для перорального введения, включают разбавители, подсластители и смачивающие агенты. Фармацевтически приемлемые вещества, применяющиеся в шипучих гранулах, которые растворяют с получением дозированных жидких форм для перорального введения, включают органические кислоты и источник диоксида углерода. Красители и ароматизаторы применяются во всех описанных выше дозированных формах. Растворители включают глицерин, сорбит, этиловый спирт и сироп. Примеры консервантов включают глицерин, метил и пропилпарабен, бензойную кислоту, бензоат натрия и спирт. Примеры неводных жидкостей, применяющихся в эмульсиях, включают минеральное масло и хлопковое масло. Примеры эмульгаторов включают желатин, смолу акации, трагакантовую камедь, бентонит и поверхностно-активные вещества, такие как полиоксиэтилен сорбитан моноолеат. Суспендирующие агенты включают натрий карбоксиметилцеллюлозу, пектин, трагакантовую камедь, ксантановую камедь, вигум и смолу акации. Подсластители включают сахарозу, сиропы, глицерин и синтетические подсластители, такие как сахарин. Смачивающие агенты включают пропиленгликоль моностеарат, сорбитан моноолеат, диэтиленгликоль монолаурат и полиоксиэтилен лауриловый эфир. Органические кислоты включают лимонную и винную кислоту. Источники диоксида углерода включают бикарбонат натрия и карбонат натрия. Красители включают любые одобренные сертифицированные водорастворимые FD и C красители, и их смеси. Ароматизаторы включают натуральные ароматизаторы, экстрагированные из растений, таких как фрукты, и синтетические бленды соединений, которые обеспечивают приятные вкусовые ощущения. Для твердых дозированных форм, раствор или суспензию, например в пропиленкарбонате, растительных маслах или триглицеридах, в одном варианте осуществления инкапсулируют в желатиновую капсулу. Для жидких дозированных форм, раствор можно разводить достаточным количеством фармацевтически приемлемого жидкого носителя, например, воды, для легкого отмеривания дозировки для введения.

Альтернативно, жидкие или полутвердые препараты для перорального введения можно готовить путем растворения или диспергирования активного соединения или соли в растительных маслах, гликолях, триглицеридах, сложных эфирах пропиленгликоля

(например, пропиленкарбонат) и других подобных носителях, и инкапсулирования полученных растворов или суспензий в твердые или мягкие желатиновые капсулы.

Другие препараты включают (но не ограничиваются только ими) водно-спиртовые растворы, включающие фармацевтически приемлемый ацеталь. Спирты, применяющиеся в таких препаратах, представляют собой любые фармацевтически приемлемые смешивающиеся с водой растворители, содержащие одну или больше гидроксильных групп, включая (но не ограничиваясь только ими) пропиленгликоль и этанол. Ацетали включают (но не ограничиваются только ими), ди(низший алкил) ацетали альдегидов с низшей алкильной цепочкой, такие как диэтилацеталь ацетальдегида.

Парентеральное введение композиций по настоящему изобретению включает внутривенное, подкожное и внутримышечное введение. Введение может быть интраперитонеальным или непосредственно в нужный орган или ткань, например в поджелудочную железу, или рядом с ними. Препараты для парентерального введения включают стерильные растворы для инъекций, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизованные порошки, готовые к объединению с растворителем непосредственно перед применением, включая таблетки для подкожных инъекций, стерильные суспензии для инъекций, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые с объединением с носителем непосредственно перед применением, и стерильные эмульсии. Растворы могут быть водные или неводные.

При внутривенном введении подходящие носители включают физраствор или фосфатно-солевой буфер (PBS), и растворы, содержащие загущающие и солюбилизующие агенты, такие как глюкоза, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль, а также их смеси.

Фармацевтически приемлемые носители, применяющиеся в препаратах для парентерального введения, включают водные носители, неводные носители, противомикробные агенты, изотонические агенты, буферные добавки, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие агенты, эмульгаторы, секвестрирующие или хелатирующие агенты, и другие фармацевтически приемлемые вещества.

Примеры водных носителей включают раствор хлорида натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, изотонический раствор декстрозы для инъекций, стерильную воду для инъекций, декстрозный и лактатный раствор Рингера для инъекций. Неводные носители для парентеральных препаратов включают масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и арахисовое масло. Противомикробные агенты в бактериостатических или фунгистатических

концентрациях необходимо добавлять в препараты для парентерального введения, упакованные в мультидозные контейнеры, и они включают фенолы или крезолы, ртутьсодержащие препараты, бензиловый спирт, хлорбутанол, метиловый и пропиловый эфир п-гидроксибензойной кислоты, тимеросал, бензалконий хлорид и бензетоний хлорид. Изотонические агенты включают хлорид натрия и декстрозу. Буферные добавки включают фосфат и цитрат. Антиоксиданты включают бисульфат натрия. Местные анестетики включают прокаин гидрохлорид. Суспендирующие и диспергирующие агенты включают натрий карбоксиметилцеллюлозу, ксантановую камедь, гидроксипропил метилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Эмульгаторы включают Полисорбат 80 (TWEEN™ 80). Секвестрирующий или хелатирующий агент для ионов металлов включает ЭДТА. Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешивающихся с водой носителей; и гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для регулировки pH.

Соединение формулы I можно суспендировать в тонкоизмельченном виде или другой подходящей форме, или его можно дериватизовать с получением более растворимого активного продукта или с получением пролекарства. Форма получаемой смеси зависит от ряда факторов, включая целевой путь введения и растворимость соединения в выбранном носителе. Эффективная концентрация достаточна для облегчения симптомов патологического состояния и может быть определена эмпирически.

Лиофилизированные порошки, которые для введения разводят с получением растворов, эмульсий и других смесей, также можно применять для реализации настоящего изобретения. Они могут иметь вид твердых веществ или гелей.

Стерильный лиофилизированный порошок готовят посредством растворения соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемого производного в подходящем растворителе. Растворитель может содержать вспомогательное вещество, которое улучшает стабильность, или другой фармакологический компонент порошка или раствора, приготовленного из порошка. Подходящие для применения вспомогательные вещества включают (но не ограничиваются только ими) декстрозу, сорбит, фруктозу, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкозу или сахарозу, или другое подходящее вещество. Растворитель может также содержать буфер, такой как цитрат, фосфат натрия или калия, другой буфер, известный квалифицированному специалисту в данной области, в одном варианте осуществления, при нейтральном значении pH. После стерильного фильтрования раствора с последующей лиофилизацией в стандартных условиях, известных квалифицированным специалистам в данной области, получают целевой препарат. В одном варианте

осуществления, полученный раствор распределяют в виалы для лиофилизации. Каждая виала содержит однократную дозу или несколько доз соединения. Лиофилизованный порошок можно хранить в подходящих условиях, например при температуре примерно от 4°C до комнатной температуры

Также в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения описаны соединения формулы I, полученные способом по настоящему изобретению. Также описаны фармацевтически приемлемые соли соединения формулы I, полученные способом по настоящему изобретению. Также описаны композиции, включающие соединение формулы I, полученное способом по настоящему изобретению, и, опционально, фармацевтически приемлемый носитель.

Соединение, фармацевтически приемлемая соль и/или композиция по настоящему изобретению, могут также быть использованы для ингибирования активности липазы у субъекта и/или для лечения панкреатита. Термин “субъект” включает людей и животных.

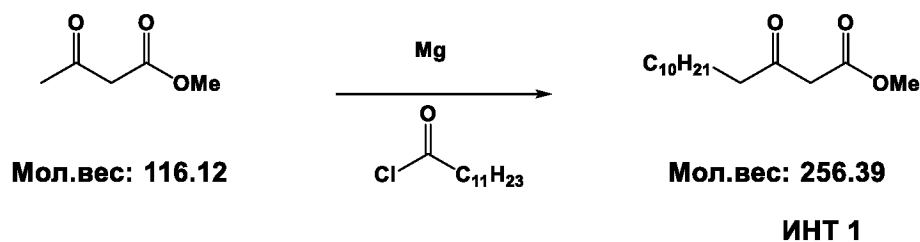
Настоящее изобретение более подробно разъяснено далее в разделе с описанием неограничивающих примеров.

Примеры

Нумерация соединений в экспериментальной части касается только экспериментальной части и может не совпадать с нумерацией в остальном тексте заявки. Таким образом, нумерация соединений в разделе Примеры не следует путать с нумерацией соединений в остальной части заявки (например, в разделах с кратким и подробным описанием, а также в Формуле изобретения).

Аббревиатуры включают: исходное вещество (SM), комнатная температура (RT), дихлорметан (ДХМ или CH₂Cl₂), этилацетат (EtOAc), метанол (MeOH), изопропанол (ИПС), диэтиловый эфир (Et₂O), уксусная кислота (AcOH), 1,2-дихлорэтан (1,2-ДХЭ), тетрагидрофуран (ТГФ), диметилформамид (ДМФА), карбонат цезия (Cs₂CO₃), сульфат натрия (Na₂SO₄) и диоксид кремния (SiO₂).

Пример 1. Получение ИНТ 1



30-литровый реактор с регулируемой температурой рубашки оснащали мешалкой, способной работать под вакуумом, вводом и выводом аргона, подсоединенным нагревателем/охладителем и термопарой/контроллером. Реактор продували аргоном 15

минут. В реактор добавляли метанол (3.85 л), затем магний (120 г, ~50 меш). Стенки реактора обмывали метанолом и нагревали реактор до 55°C и затем до 65°C. Реакционную смесь перемешивали при 65°C в течение ночи. Добавляли толуол (11.6 л) и надевали насадку для перегонки. Температуру раствора повышали до 100°C и отгоняли ~1.5 л растворителя. Температуру раствора понижали до 45°C и добавляли в реактор метил ацетоацетат (2.2 кг) при 45°C. Во время добавления температура повышалась на 10°C. Реакционную смесь перемешивали при 45°C в течение 12 часов. Температуру раствора постепенно повышали до 140°C и отгоняли ~4.9 л растворителя. Температуру охладителя устанавливали равной 60°C. Лауроил хлорид (1608 г) растворяли в толуоле (1.55 л). Раствор переносили в капельную воронку и добавляли в 30-литровый реактор в течение 2-3 часов. Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 12 часов.

1. Остановка реакции

Метанол (1.8 л) добавляли в реакционную смесь. Цвет реакционной смеси менялся с оранжевого на красный, и все твердые компоненты растворялись. Реакционную смесь упаривали примерно на 900 мл, используя перегонную насадку и вакуумный насос. Реакционную смесь перемешивали при 75°C до момента, когда основная часть трикарбонильного интермедиата превращалась в продукт по данным ТСХ. Реакционную смесь охлаждали до 25°C и добавляли конц. HCl (1502 г). Цвет реакционной смеси изменялся с оранжевого на желтый.

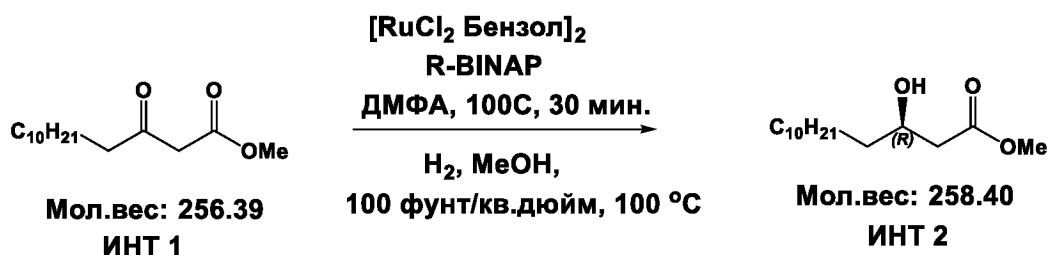
2. Обработка и выделение

Реакцию останавливали и отделяли HCl-слой. Органический слой промывали водой (2 X 3.5 л), 2% KHCO₃ (1 X 2.8 л) и водой (1 X 2.8 л). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ (~300 г) 1 час. Органический слой фильтровали и упаривали в вакууме, получая оранжевое масло (2018 г, >100%).

3. Кристаллизация

Сырой продукт растворяли в метаноле (6054 мл) и охлаждали в морозильнике для кристаллизации. Кристаллы отфильтровывали через стеклянный фрит (фильтр) P3 и сушили на воздухе 2 часа. Полученное твердое вещество переносили в подносы и продолжали сушку в термошкафу при комнатной температуре до постоянного веса. ИНТ 1 выделяли в виде белых или не совсем белых хлопьев (1248 г, 66%). ¹H-ЯМР спектр ИНТ 1 представлен на фиг. 2.

Пример 2. Получение ИНТ 2



Было обнаружено, что энантиоселективность в этой реакции зависит от нескольких факторов, включая растворитель, температуру и давление. В частности, R&D эксперименты показали, что соотношение объема реакционной смеси и свободного объема в реакторе является ключевым параметром при гидрировании при низком давлении (<1000 фунт/кв.дюйм). Для объема реактора объемом 2л масштаб реакции был зафиксирован равным 150 г ИНТ 1 (при 200 фунт/кв.дюйм) или меньше, чтобы избежать условий с недостатком водорода, которые вызывают снижение энантиоселективности.

1. Энантиоселективный синтез ИНТ 2

DMФА и метанол дегазировали 30 минут с помощью аргона. 3-горлую колбу откачивали и продували аргоном 3 раза, затем добавляли $[\text{RuCl}_2\text{бензол}]_2$ (1.95 г, 3.89 ммоль, Sigma), R-BINAP (2.7 г, 4.33 ммоль, Sigma) и дегазированный DMФА (95 мл, Sigma). Реакционную смесь нагревали до 100°C и перемешивали 30 минут и затем охлаждали до комнатной температуры (RT).

ИНТ 1 (150 г, 1.1 моль) растворяли в дегазированном метаноле (325 мл). Смесь переносили в 2-литровый автоклав и дегазировали аргоном 15 минут. Приготовленный как описано выше активный катализатор переносили в автоклав при продувании аргоном. Автоклав откачивали и заполняли водородом 3 раза, затем заполняли водородом (200 фунт/кв.дюйм). Реакционную смесь нагревали до 100°C и перемешивали 24 часа.

2. Обработка и выделение

ТСХ и LCMS реакционной смеси показали завершение реакции. Реакционную смесь фильтровали через слой целита, и слой на фильтре промывали этилацетатом (100 мл). Фильтрат упаривали в вакууме, получая масло.

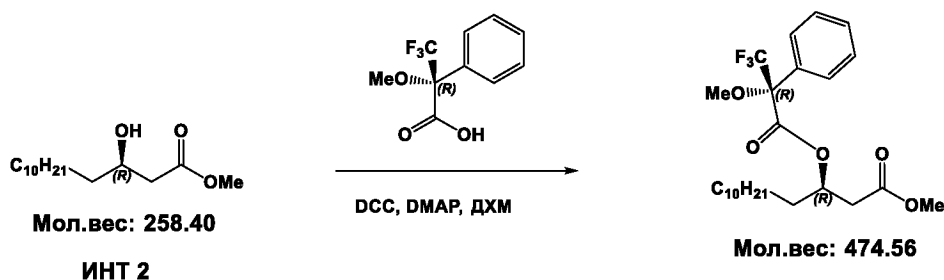
Полученное неочищенное масло растворяли в этилацетате (10 об.) и добавляли (10 об) воды. Органический слой отделяли и промывали насыщенным раствором NaCl (2 раза). Органический слой сушили над безводным Na_2SO_4 1 час. Органический слой фильтровали и упаривали в вакууме, получая не совсем белое твердое вещество. Реакцию получения ИНТ 2 повторяли в семи итерациях.

3. Кристаллизация

Неочищенный продукт (960 г) помещали в круглодонную колбу и добавляли

гептан (5 об.). Реакционную смесь нагревали до 65-70°C с образованием гомогенного раствора. Раствор охлаждали до комнатной температуры и затем до 0-5°C. Колбу выдерживали в морозильнике в течение ночи с образованием кристаллов. Кристаллы отделяли на стеклянном пористом фильтре, затем сушили на воздухе и в вакууме 3 часа, получая не совсем белое твердое вещество (870 г, 90% конверсия).

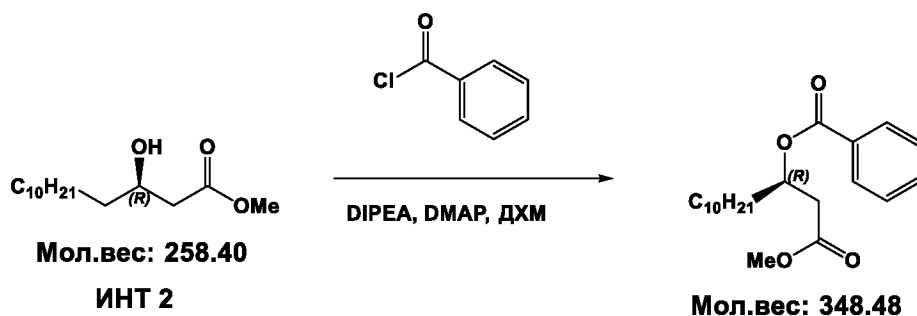
Пример 3. Дериватизация ИНТ 2



В виалу на 10 грамм добавляли ИНТ 2 (10 мг), кислоту Мошера (9.1 мг), DMAP (0.004 мг), DCC (12 мг), ДХМ (1 мл) и магнитную мешалку. Полученный гомогенный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали, и маточный раствор упаривали. Сырой продукт анализировали методом 1H-ЯМР.

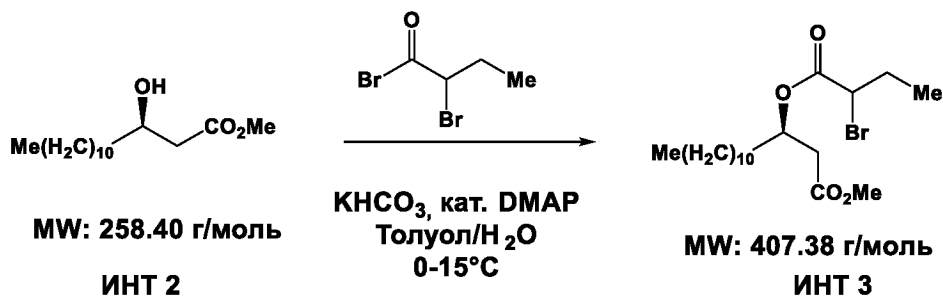
Согласно фиг. 3, присутствие двух синлетов метила между 3.5 и 3.7 говорит, что ИНТ 2 энантимерно обогащен (в рацемической смеси два набора из двух синглетов, см. фиг. 4). Также был разработан ВЭЖХ-метод для измерения энантиomerного избытка (энантиomerный избыток (ee)).

Пример 4. Дериватизация ИНТ 2



В виалу на 10 грамм помещали ИНТ 2 (50 мг), DMAP (2.3 мг, Aldrich), DIPEA (37.5 мг), бензоил хлорид (54.4 мг, Aldrich), DCM (0.5 мл) и магнитную мешалку. Содержимое виалы перемешивали при комнатной температуре 16 часов. Аликвоту (10 мкл) растворяли в 10%-ном растворе изопропилового спирта (для ВЭЖХ) в гексане (1 мл, изопропиловый спирт; гексан) и проводили анализ методом хиральной ВЭЖХ. Данные анализа методом хиральной ВЭЖХ (фиг. 5) показали, что продукт энантиomerно обогащен, и энантиomerный избыток (%ee) составляет 97%.

Пример 5. Получение ИНТ 3



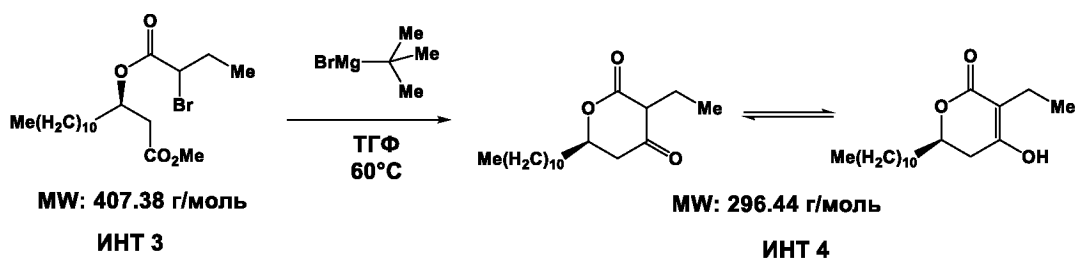
Трехгорную 12-литровую круглодонную колбу оснащали охлаждающей баней, термопарой/контроллером и верхнеприводной мешалкой. Загружали ИНТ 2 (360 г, 1.39 моль, 1 экв.), DMAP (17 г, 0.139 моль, 10 мол.%) и толуол (720 мл, 2 об.), что приводило к эндотермической реакции (Т: от 17°C до 4.6°C). Все твердые компоненты растворились при повышении температуры до ~13°C. Охладитель устанавливали на 4°C и помещали в охлаждающую баню пропиленгликоль. Сухой лед использовали для быстрого охлаждения бани до 10-15°C и поддерживали температуру с помощью охладителя. Загружали в круглодонную колбу КНСО₃ (474 г, 4.74 моль, 3.4 экв.) и воду (176 мл, 9.75 моль, 7 экв.). Когда смесь охладилась до 15-10°C, добавляли первую порцию бромангидрида кислоты (255 мл, 2.09 моль, 1.5 экв, плотность: 1.88 г/мл, Oakwood) через капельную воронку в течение 3 часов. СО₂ начинал выделяться при добавлении бромангидрида кислоты и переставал выделяться примерно через 30 минут после окончания добавления. ТСХ-анализ показал, что реакция прошла неполностью и осталось 10-30% исходного вещества. Вторую порцию бромангидрида кислоты (130 мл, 1.05 моль, 0.75 экв, Oakwood) помещали в капельную воронку и оставляли для медленного прикапывания в течение ночи при 10-15°C.

1. Обработка и выделение

На следующее утро примерно 10 мл бромангидрида кислоты оставалось в капельной воронке. Остаток этого реагента добавляли в реакционную смесь, и ТСХ и LC/MS анализы показали (22 часа), что реакция прошла полностью. Охлаждающую баню заменяли на баню с теплой водой (~40°C). Добавляли в реакционную смесь воду (1.8 л, 5 об) и МТБЭ (1.8 л, 5 об., Aldrich), температура повышалась до 25-30°C. Затем перемешивали 30 минут, чтобы гидролизовался непрореагировавший бромангидрид кислоты. Перемешивание останавливали, и после разделения слоев рН составлял ~8. Удаляли водяную баню, и водную фазу извлекали из 12-литровой круглодонной колбы. Органическую фазу промывали водой (2х, 720 мл, 2 об.) до момента, когда рН промывного раствора составлял 7. Органическую фазу переносили в оттарированную 5-литровую круглодонную колбу (остатки воды в 12-литровой круглодонной колбе удаляли

с помощью 500-миллилитровой делительной воронки) и упаривали в вакууме при 30-60°C. В продукте был суспендирован осадок, его разбавляли толуолом (200 мл) и фильтровали через оттарированный стеклянный пористый фильтр (~800 мг влажного осадка оставалось на фильтре) в оттарированную 3-литровую круглодонную колбу. Колбу и фильтр промывали минимальным количеством толуола. Растворитель снова удаляли в вакууме при 60°C в течение 2-3 часов, получая ИНТ 3 в виде темно-коричневого масла (590.76 г, 104% выход). На фиг. 6А показан ТСХ ИНТ 3 в свете УФ-лампы, и на фиг. 6В показан ТСХ при РМА-окрашивании. Элюент представлял собой 20% этилацетат/гептан. На фиг. 7 показан ¹H-ЯМР спектр неочищенного ИНТ 3.

Пример 6. Получение ИНТ 4



4-горлую 22-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, колбонагревателем, двумя капельными воронками по 1л с вводом газа в каждой, и термопарой/контроллером. Минимальное количество ТГФ (1000 мл, 1.75 об.) помещали в круглодонную колбу так, чтобы растворитель контактировал с термопарой. Контроллер устанавливали на 60°C и включали ток аргона. Через 20-30 минут нагревали ИНТ 3 (570 г, 520 мл, 1.40 моль, 1 экв.) до ~40°C для уменьшения его вязкости и помещали в 1-литровую воронку. 1М раствор *трет*-бутильного реагента Гриньяра (4.8 л, 4.9 экв, 3.5 экв.) переносили флаконами по 800 мл путем снятия Sure Seal крышки и выливания в продуваемую аргоном капельную воронку.

Когда температура достигала 55-60°C, ~20 мл реагента Гриньяра добавляли в горячий ТГФ для удаления из растворителя следов кислорода и воды. Раствор реагента непрерывно добавляли в горячий ТГФ в течение 4 часов (800 мл реагента Гриньяра и ~85 мл ИНТ 3 диспергировали каждые 40 минут), при этом наблюдалось бурное выделение изобутилена. После окончания добавления реакцию смесь перемешивали при 60°C. ТСХ-анализ (6.5 ч) показал, что ИНТ 3 полностью израсходовался, однако реакцию оставляли до 8 часов и выключали нагрев.

1. Обработка

На следующее утро LCMS-анализ показал, что исходное вещество израсходовалось. Обратный холодильник заменяли на насадку для перегонки, устанавливали температуру 75°C. Растворитель отгоняли до отгонки 2.3 литров ТГФ

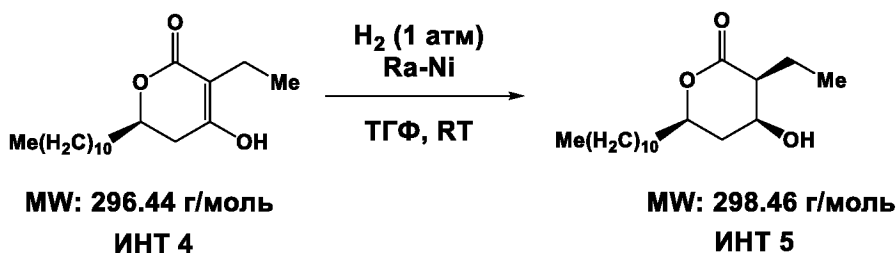
(46%, 4 об.), при этом оставалось ~2.7 л (4.7 об.) в кубе. Колбонагреватель заменяли на ледяную баню, и реактор охлаждали до 0-10°C. Добавляли холодный (10°C) 0.24M раствор лимонной кислоты (9л, 1 моль, 1.4 экв, 14 об.) в течение 20 минут (Т: 8-40°C), при этом добавление первых 500 мл было экзотермичным. Продукт начинал выпадать в осадок, и смесь перемешивали 1.5 часа, после чего большие частицы разбивались, что облегчало отфильтровывание твердого осадка. Твердый осадок отфильтровывали через оттарированный 3-литровый пористый стеклянный фильтр и промывали водой (8 X 1 л, 1.8 об.) до момента, когда pH промывных растворов составлял 6-7. Осадок на фильтре сушили в вакууме 72 часа, получая сырой продукт в виде коричневого твердого вещества (642.92 г, 155% выход), увлажненного водой. Осадок на фильтре суспендировали в толуоле (2 л, 3 об.) в 5-литровой круглодонной колбе, и полученную смесь отгоняли в вакууме при 50-70°C. Отгонку повторяли второй раз после добавления толуола (300 мл). Суммарно в приемнике собиралось 180 мл воды.

2. Кристаллизация

Твердый продукт из колбы после упаривания переносили в 22-литровую 4-горлую круглодонную колбу, оснащенную колбонагревателем, термопарой/контроллером, обратным холодильником и верхнеприводной мешалкой, содержащую теплый толуол (3 X 500 мл; суммарно: 1.5л, 2.7 об.). Смесь нагревали до 80°C и добавляли гептан (3л, 5.3 об.) с такой скоростью, чтобы температура поддерживалась равной 70-80°C. После окончания добавления выключали нагрев и оставляли смесь для кристаллизации при охлаждении до комнатной температуры в течение ночи.

На следующее утро образовавшуюся суспензию фильтровали через оттарированный 3-литровый стеклянный пористый фильтр и промывали 30%-ной смесью толуол/гептан (3 X 666 мл), затем сушили 5-10 минут. После этого продукт помещали в термошкаф при 55°C до достижения постоянной массы, получая не совсем белое твердое вещество (269.5 г, 65% выход). На фиг. 8А и 8В показан ТСХ вещества ИНТ 4 (фиг. 8А – сырой продукт (контроль реакции); на фиг. 8В – перекристаллизованный продукт). Элюентом являлась смесь 50% этилацетат/гептан. Использовали РМА-окрашивание. ¹H-ЯМР спектр ИНТ 4 (кето-енольная таутомерия) представлен на фиг. 9.

Пример 7. Получение ИНТ 5



Свежеприготовленный никель Ренея (Ra-Ni) (~700 г, 150 вес.%) перемешивали в ТГФ (12.9 л, 20 об.) в 5-литровой 3-горлой круглодонной колбе, оснащенной термопарой, пневматической верхнеприводной мешалкой и иглой для пропускания аргона. См. устройство реакционной системы на фиг. 10. Добавляли ИНТ 4 (648 г, 2.18 моль, 1 экв.) и пропускали через систему водород прямо в реакционную смесь через иглу для подачи аргона. Реакционную смесь затем интенсивно перемешивали в течение ночи.

После 18 часов перемешивания останавливали подачу водорода и затем пропускали через систему аргон 5-10 минут, после чего систему открывали для доступа атмосферного воздуха. Отбирали образцы для ион-парной хроматографии (ТСХ & LCMS). LCMS-анализ не показал наличия исходного вещества, но ТСХ-анализ показал, что исходное вещество осталось. Отмечали, что продукт начинал кристаллизоваться в игле для подачи газа, его частично растворяли с помощью 3-4 промывок ТГФ, что приводило к усилению потока газа. Через реакционную смесь снова продували водород и перемешивали. Смесь перемешивали еще 24 часа. После этого и ТСХ-анализ, и LCMS-анализ показали полное завершение реакции через 18 часов, после этого реакцию считали законченной.

1. Подготовка слоя целита

Слой песка толщиной 1-2 см помещали в 2-литровый стеклянный пористый фильтр и разравнивали. Отдельно готовили суспензию 100 вес.% целита (500 г, AW standard Super-Cel NF; Sigma Aldrich) в минимальном количестве ТГФ. Кусок фильтровальной бумаги клали поверх слоя песка, и суспензию выливали поверх фильтровальной бумаги так, чтобы сформировался 1-2 см слой целита. Оставляли целит осесть, затем применяли слабый вакуум для формирования компактного слоя целита.

2. Удаление никеля Ренея (Ra-Ni) и выделение продукта

После окончания реакции останавливали перемешивание и оставляли для оседания Ra-Ni на дно круглодонной колбы. Надосадочный раствор переносили через вакуумный сифон в 4-литровую колбу таким образом, чтобы захватить по возможности минимальное количество Ra-Ni. Затем содержимое колбы выливали на слой целита и фильтровали. Остатки Ra-Ni при фильтровании все время должны быть смочены тетрагидрофураном. ТГФ (4л) добавляли в реакционную круглодонную колбу с остатками Ra-Ni, перемешивали и оставляли для оседания твердых частиц. Снова извлекали раствор и фильтровали его через целит, и этот процесс повторяли до тех пор, пока в надосадочном растворе не оставалось продукта (ТСХ-анализ). Промывки ТГФ (2 X 2л). Раствор продукта упаривали в вакууме с помощью роторного испарителя, получая сырой продукт в виде белого твердого вещества (769 г).

2л). Органический слой содержал следы воды, его использовали в следующей стадии.

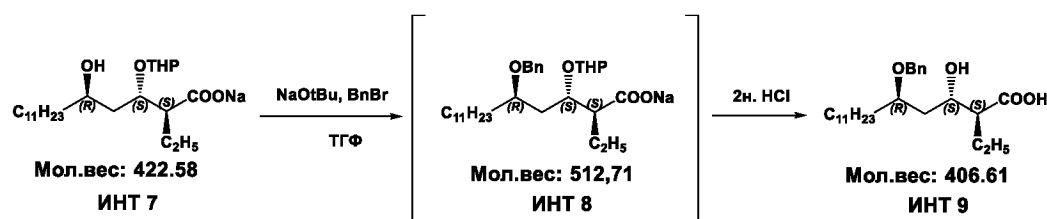
Пример 9. Получение ИНТ 7

Трехгорлую 12-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, охлаждающей баней и термопарой/контроллером. ИНТ 6 (579 г, 1.5 моль) с предыдущей стадии растворяли в МТБЭ (4.6л, 8 об.) и помещали в колбу. Готовили 2н. раствор NaOH из 32%-ного раствора NaOH. Добавляли 2н. раствор NaOH (1.3 л, 2.25 экв.) в реакционную смесь и интенсивно перемешивали при комнатной температуре 20 часов.

1. Обработка и выделение

LCMS-анализ подтвердил, что реакция полностью прошла (см. фиг. 14). Реакцию останавливали и отделяли 2н. NaOH слой. Органический слой промывали 10%-ным раствором NaCl (3 X 2л). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ (~300 г) 1 час. Органический слой фильтровали и упаривали в вакууме, получая масло. Неочищенное масло подвергали азеотропной отгонке с МТБЭ (2 X 2л) и ТГФ (2 X 2л). По окончании отгонки всё масло превратилось в смесь твердых комков и порошка. Полученное вещество выдерживали в вакууме в течение ночи для дополнительной осушки (694 г, >100%).

Пример 10. Получение ИНТ 9



Трехгорлую 22-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, охлаждающей баней, вводом-выводом аргона и термопарой/контроллером. Добавляли в колбу ИНТ 7 (639 г, 1.5 моль; большие куски разбивали на маленькие, и порошок). ТГФ (6.3л, 10 об.) добавляли в колбу и интенсивно перемешивали при комнатной температуре. Полученную суспензию охлаждали до 5-10°C. Порциями добавляли трет-бутоксид натрия (290.6г, 3.0 моль, 2 экв.) в реакционную смесь в течение 1 часа. Реакционную смесь перемешивали при 5-10°C 1 час 30 минут. Во время перемешивания суспензия становилась мутной, и цвет реакционной смеси менялся со светло-оранжевого на темно-оранжевый. Бензилбромид (388 г, 270 мл, 1.5 экв, 2.3 моль) разводили в ТГФ (250 мл) и добавляли в реакционную смесь по каплям в течение 1 часа, поддерживая температуру 5-10°C. Ледяную баню удаляли, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 20 часов.

Данные LCMS показали, что 50% исходного вещества осталось непрореагировавшим, и реакцию останавливали. Брали небольшую аликвоту для теста

реакции при 50°C. Через 1 час данные LC-MS показали, что реакция прошла полностью. Охлаждающую баню заменяли на колбонагреватель и нагревали реакционную смесь при 50°C в течение выходных. Данные LCMS показали, что реакция прошла полностью. LC-MS спектр ИНТ 8 представлен на фиг. 15.

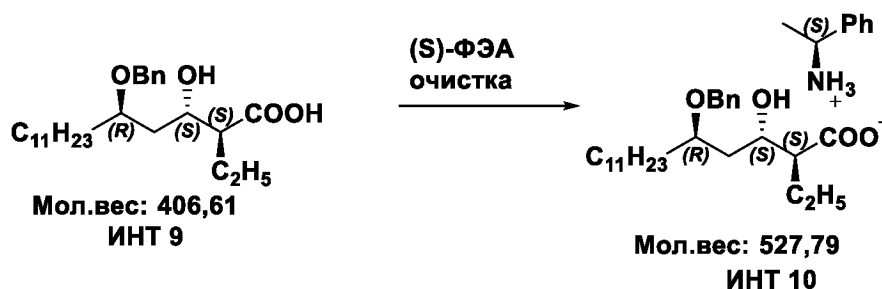
Нагрев останавливали и перемешивали реакционную смесь во время охлаждения до комнатной температуры. 2н. раствор HCl (2.5л, 4 об.) добавляли в реактор в течение 1 часа, поддерживая температуру ниже 45°C. Суспензия превращалась в прозрачный раствор. Реакционную смесь нагревали при 50°C в течение 5 часов. Нагрев останавливали, и реакционную смесь перемешивали в течение ночи до охлаждения.

1. Обработка и выделение

LCMS анализ подтвердил, что реакция закончена (см. фиг. 16). МТБЭ (5л) добавляли в реакционную смесь и перемешивали 15 минут. Перемешивание останавливали, слои разделялись, и 2н. HCl слой отделяли. Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (4 X 4л) до pH 8-9. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ (~300 г) 1 час. Органический слой фильтровали и упаривали в вакууме, получая густое кирпично-красное масло (783 г, >100%, содержит следы растворителя). Полученное сырое масло снова растворяли в этилацетате (4л). Органический слой промывали 0.5н. раствором HCl (1л), затем водой (2 X 2л), насыщенным раствором соли (1 X 2л). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ (~200 г) 1 час. Органический слой фильтровали и упаривали в вакууме, получая густое кирпично-красное масло (765 г, >100%, содержит следы растворителя).

Чтобы предотвратить обратную реакцию в ИНТ 8 - ФЭА, можно модифицировать методику обработки. После окончания реакции с 2н. HCl продукт можно экстрагировать МТБЭ и упарить органический слой, получая сырой продукт. Полученный сырой продукт затем можно заново растворить в метилацетате и промыть водой, насыщенным раствором соли и высушить над Na₂SO₄. Органический слой (метилацетат) можно отфильтровать и использовать в следующей стадии (ИНТ 10).

Пример 11. Получение ИНТ 10



Трехгорную 12-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной

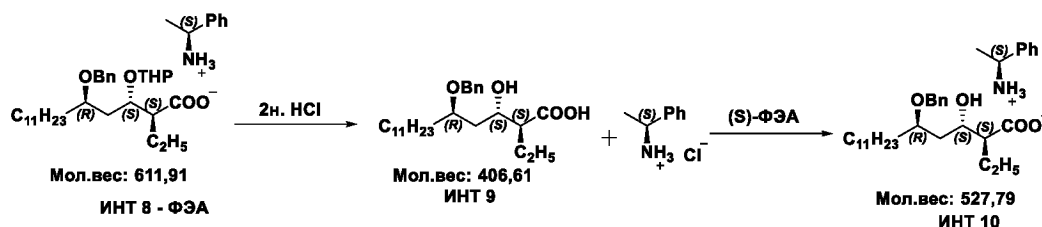
мешалкой, охлаждающей баней, вводом и выводом аргона, и термопарой/контроллером. ИНТ 9 (615 г, 1.5 моль) растворяли в 22-литровой колбе для роторного испарителя в метилацетате (3.7л, 6 об.) и переносили в 12-литровую круглодонную колбу. Реакционную смесь перемешивали и охлаждали до 5-10°C. Помещали (S)-(-)-альфа метилбензиламин ((-) ФЭА, 183.3г, 195 мл, Chem-Impex) в капельную воронку и добавляли в реакционную смесь по каплям, поддерживая температуру 5-10°C. Полученную густую смесь перемешивали при комнатной температуре 16 часов.

1. Кристаллизация и выделение

Полученные кристаллы охлаждали до 5-10°C и перемешивали 2 часа. Отделяли кристаллы на пористом стеклянном фильтре и промывали холодным метилацетатом (1 л). Кристаллы сушили на воздухе 1 час и затем сушили в вакуумном шкафу при комнатной температуре до постоянного веса. ИНТ 10 выделяли в виде светло-желтого твердого вещества (472.7 г). LS-MS спектр ИНТ 10 представлен на фиг. 17.

LCMS спектр маточного раствора (фиг. 18) показал, что некоторое количество ИНТ 10 превратилось в ФЭА-соль ИНТ 8 (ИНТ 8 – ФЭА). По-видимому, это объясняется присутствием DHP в системе. Проводили тестовую реакцию с ИНТ 8 - ФЭА по превращению его в ИНТ 9 и затем в ИНТ 10, как показано ниже на схеме. Тестовая реакция прошла успешно, и оставшееся вещество превращали из ИНТ 8 – ФЭА в ИНТ 10 этим способом.

Конверсия маточного раствора (ИНТ 8 - ФЭА) в ИНТ 10 показана ниже.



2. Превращение ИНТ 8 - ФЭА в ИНТ 10 (из маточного раствора)

Трехгорлую 12-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, колбонагревателем и термопарой/контроллером. ИНТ 8 - ФЭА (SCR410-18B, 480 г, 0.7 моль) в 22-литровой колбе для роторного испарителя растворяли в МТБЭ (2.4л, 5 объемов) и переносили в 12-литровую круглодонную колбу. Добавляли 2н. HCl (2.5л, 4 об.), и реакционную смесь нагревали при 50°C 16 часов. Отключали нагрев, и реакционную смесь перемешивали во время охлаждения до комнатной температуры.

LCMS анализ показал, что реакция превращения ИНТ 8 – ФЭА в ИНТ 9 прошла полностью (см. фиг. 19). Перемешивание останавливали для разделения слоев и отделяли 2н. HCl слой. Органический слой промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (3 X 1л) до pH 8-9. Органический слой затем сушили над безводным Na₂SO₄ (~300 г) 1 час,

фильтровали и упаривали в вакууме, получая кирпично-красное густое масло (430 г). Полученное масло снова растворяли в метилацетате (1.5 л, Aldrich). Раствор промывали 0.5н. раствором HCl (1 X 500мл, VWR), затем водой (2 X 500 мл) и насыщенным раствором соли (1 X 500 мл). Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ (~100 г) 1 час, затем фильтровали, и осадок Na₂SO₄ на фильтре промывали метилацетатом (500 мл). Объединенный фильтрат (ИНТ 9) использовали в следующей стадии.

5-литровую трехгорлую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, охлаждающей баней, вводом и выводом аргона и термопарой/контроллером. ИНТ 9 растворяли в метилацетате (2л) и переносили в 5-литровую круглодонную колбу. Реакционную смесь перемешивали и охлаждали до 5-10°C. (S)-(-)-альфа метилбензиламин (95.4 г, Chem-Impex) помещали в капельную воронку и добавляли в реакционную смесь по каплям, поддерживая температуру 5-10°C. Полученную густую суспензию перемешивали при комнатной температуре 16 часов.

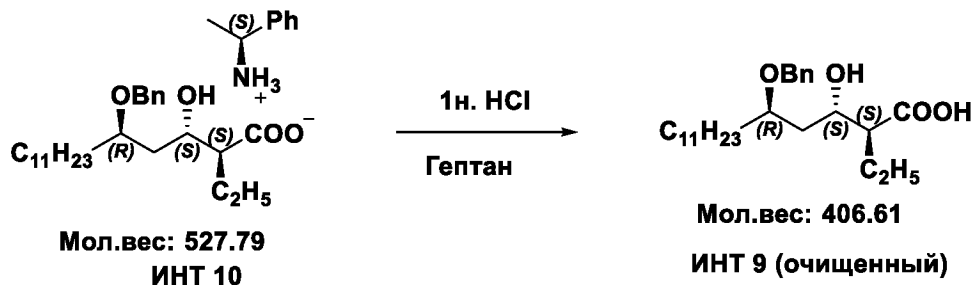
Полученную суспензию кристаллов охлаждали до 5-10°C и перемешивали 1 час. Кристаллы отфильтровывали через пористый стеклянный фильтр, и твердый осадок промывали холодным метилацетатом (200 мл). Кристаллы сушили на воздухе 1 час и затем сушили в вакуумном шкафу при комнатной температуре до постоянного веса. ИНТ 10 выделяли в виде светло-желтого твердого вещества (196.4 г). LCMS спектр представлен на фиг. 20.

3. Перекристаллизация ИНТ 10

5-литровую трехгорлую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, колбонагревателем, вводом и выводом аргона, и термопарой/контроллером. ИНТ 10 (674 г) переносили в 5-литровую круглодонную колбу. Добавляли метилацетат (2.7л, 5 объемов) и перемешивали при комнатной температуре. Полученную суспензию нагревали при 50°C до полного растворения твердого вещества. После того как смесь стала гомогенной, отключали нагрев и перемешивали в течение ночи при охлаждении до комнатной температуры.

Полученную взвесь кристаллов охлаждали до 5-10°C и перемешивали 1 час. Кристаллы отфильтровывали через пористый стеклянный фильтр, и твердый осадок промывали холодным метилацетатом (500 мл). Кристаллы сушили на воздухе 1 час и затем сушили в вакуумном шкафу при комнатной температуре до постоянного веса. ИНТ 10 выделяли в виде не совсем белого твердого вещества (589 г, 87% выход). LCMS перекристаллизованного ИНТ 10 представлен на фиг. 21.

Пример 12. Получение очищенного ИНТ 9

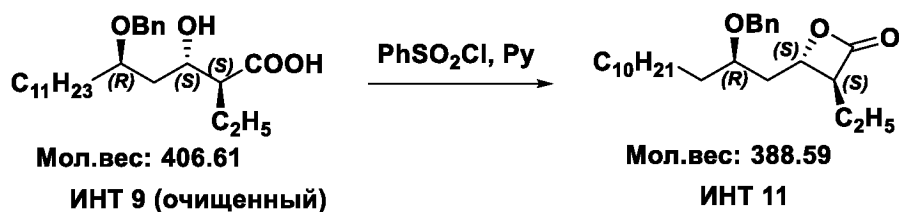


Трехгорлую 12-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, охлаждающей баней и термопарой/контроллером. ИНТ 10 (580 г, 1.1 моль) добавляли в колбу, затем добавляли гептан (5.8 л, 10 объемов) и перемешивали при комнатной температуре. 1н. HCl готовили из 2н. HCl. 1н. HCl (1160 мл, 2V) добавляли в реакционную смесь и перемешивали при комнатной температуре 16 часов.

1. Обработка и выделение

LCMS анализ подтвердил, что реакция закончена (см. фиг. 22). Перемешивание останавливали и отделяли 1н. HCl слой. Органический слой промывали водой (3 X 1 л) и сушили над безводным Na₂SO₄ (~300 г) 1 час. Органический слой фильтровали и упаривали в вакууме, получая продукт в виде масла (460.7 г, >100%, содержит следы растворителя).

Пример 13. Получение ИНТ 11



Трехгорлую 12-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, охлаждающей баней, вводом и выводом аргона, и термопарой/контроллером. ИНТ 9 (очищенный) (450 г, 1.11 моль) в 22-литровой колбе для роторного испарителя растворяли в пиридине (4.5 л, 10 объемов) и переносили в трехгорлую колбу. Реакционную смесь охлаждали до <5°C в атмосфере аргона. Бензолсульфонилхлорид (342 г, 1.75 экв, 1.94 моль, Aldrich) помещали в капельную воронку объемом 500 мл. Реагент добавляли по каплям в колбу, поддерживая температуру ниже 5°C. Затем реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре 16 часов.

1. Обработка и выделение

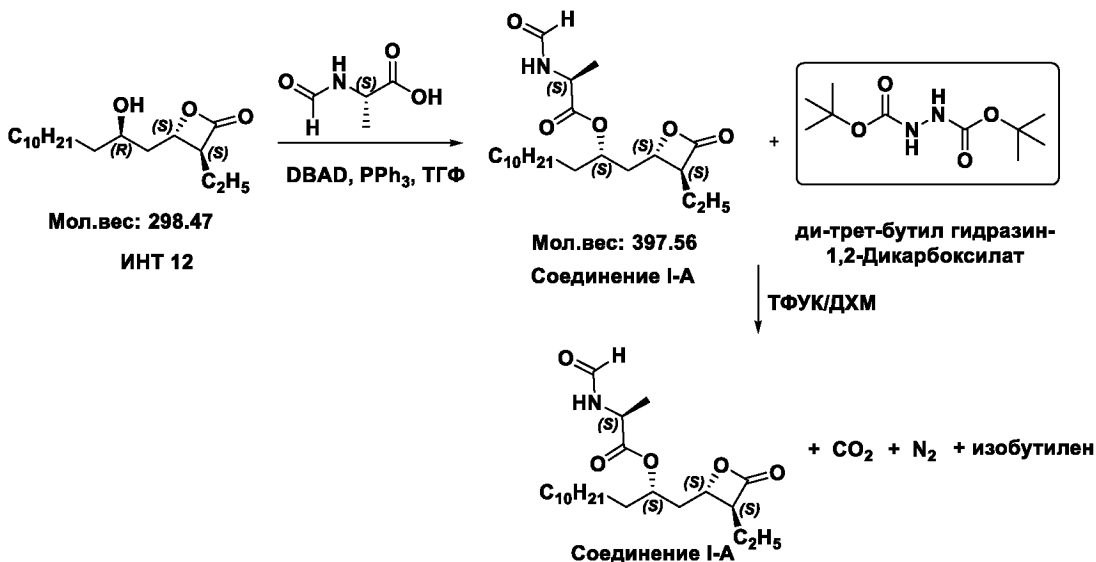
LCMS анализ подтвердил, что реакция закончена (см. фиг. 23). Реакционную смесь охлаждали до 5-10°C. Добавляли в реакционную смесь воду (4.5 л), поддерживая температуру ниже 20°C. Реакционную смесь перемешивали 30 минут. Продукт

Пример 15. Получение соединения I-A



1. Альтернативный реагент

В ранее полученных партиях соединения I-A использовался диизопропил азодикарбоксилат (DIAD) как каплинг-реагент на последней стадии вместе с трифенилфосфином. Было обнаружено, что реакционные смеси в этих стадиях содержали диизопропил гидразинодикарбоксилат (DIAD-H₂) как главный побочный продукт. При последующей хроматографической очистке было обнаружено, что почти 40% целевого продукта элюировалось вместе с DIAD-H₂. Чтобы избежать таких смесей при будущих очистках на хроматографических колонках, был выбран ди-*трет*-бутил азодикарбоксилат (DBAD) как альтернативный реагент для последней стадии. Причиной перехода на DBAD было ожидание, что побочный продукт (DBAD-H₂) будет легче удаляться путем разложения. Процесс разложения показан ниже на схеме.



Ожидалось, что обработка DBAD-H₂ в реакционной смеси добавлением ТФУК/ДХМ при повышенной температуре должна привести к разложению побочного продукта на CO₂ (газ), N₂ (газ) и изобутилен (газ), которые улетают из реакционной смеси. ИНТ 12 (300 мг) использовали для тестирования активности DBAD в реакции Мицунобу, и LCMS анализ подтвердил, что реакция работает при модифицированных условиях (фиг. 25). Из 1 грамма реакционной смеси отбирали 50 мг для реакции с ТФУК/ДХМ (1:2), и

смесь нагревали при 55°C в течение 1 часа. LCMS анализ (фиг. 26) показал, что пик DBAD-H₂ (RT: 5.21) исчез, не повлияв на стабильность соединения I-A.

Повторяли реакцию в масштабе 30 грамм по такой же методике. При проведении реакции в большем масштабе LCMS показал, что Соединение I-A частично разлагалось при разложении DBAD, и новая примесь была идентифицирована как деформированный аналог соединения I-A (см. фиг. 27). В кислых условиях и при повышенной температуре Соединение I-A разлагалось наряду с DBAD-H₂. Поэтому данный метод нереализуем в большом масштабе.

Однако другим преимуществом использования DBAD в реакции Мицунобу было то, что времена удерживания соединения I-A и DBAD-H₂ сильно различались в ТСХ, по сравнению с парой Соединение I-A и DIAD-H₂. Поэтому было решено применять DBAD в крупномасштабной реакции Мицунобу.

2. Партия для тестов токсикологии

Трехгорлую 12-литровую круглодонную колбу оснащали верхнеприводной мешалкой, охлаждающей баней, капельной воронкой объемом 500 мл, вводом-выводом аргона и термодатчиком/контроллером. ИНТ 12 (274 г, 0.918 моль, 1 экв.), N-формил L-аланин (139.7 г, 1.193 моль, 1.3 экв.) и PPh₃ (288.9 г, 1.102 моль, 1.2 экв.) помещали в колбу. ТГФ (2000 мл) помещали в круглодонную колбу и перемешивали при комнатной температуре. Реакционную смесь частично растворяли и охлаждали до 5-10°C, затем начинали подачу аргона. Ди-трет-бутил азодикарбоксилат (DBAD, 253.7 г, 1.102 моль, 1.2 экв.) разбавляли тетрагидрофураном (700 мл) и загружали в капельную воронку объемом 500 мл. Раствор добавляли в реакционную смесь по каплям, поддерживая температуру 5-10°C. Промывали капельную воронку тетрагидрофураном (40 мл) и добавляли промывочный раствор в реакционную смесь. Реакционная смесь становилась прозрачным раствором после полного добавления DBAD. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 12 часов в токе аргона.

3. Обработка и начальная очистка

ТСХ и LCMS данные подтвердили, что реакция прошла полностью. Реакционную смесь переносили в 10-литровую колбу для роторного испарителя и упаривали в вакууме, получая густое масло (971 г). Добавляли гептан (1000 мл), и результирующую смесь перемешивали при 10-15°C в течение 2 часов. Образовывалось полутвердое вещество, которое оставляли отстаиваться после перемешивания суспензии. Гептан декантировали, и полученное полутвердое вещество растирали в гептане (1000 мл). Данные ТСХ показали, что гептановый слой содержал менее полярные примеси и трифенилфосфиноксид. МТБЭ (1000 мл) добавляли к полутвердому веществу и

перемешивали при комнатной температуре. Полутвердое вещество превращалось в сыпучее твердое вещество, которое отделяли на стеклянном пористом фильтре. Полученный твердый продукт промывали МТБЭ (2 X 500 мл). Данные ТСХ и LCMS анализа показали, что выделенное твердое вещество представляло собой трифенилфосфиноксид. Объединенные МТБЭ слои упаривали в вакууме, получая 894 г сырого продукта в виде масла.

4. Очистка на колонке

Большую стеклянную колонку (см. фиг. 28А) набивали силикагелем (4.4 кг, 5 об., 60Å, 230-400 меш, Aldrich) в гептане. 893 г сырого Соединения I-A растворяли в МТБЭ (1000 мл) и добавляли к 900 г силикагеля. Полученную смесь упаривали, получая сырое соединение в адсорбированном на силикагеле виде. Высушенный силикагель загружали сверху на упакованную колонку, сверху добавляли 1 см песка и клали фильтровальную бумагу. Собирали фракции объемом 1000 мл. Соединение элюировали следующим образом: этилацетат, гептан.

100% гептан – 14 л

10% ЭА: гептан – 25 л – верхние примеси

15% ЭА: гептан – 36 л – верхние примеси+DBAD-H₂

20% ЭА: гептан – 120 л – продукт

30% ЭА: гептан – 120 л – продукт + нижние примеси

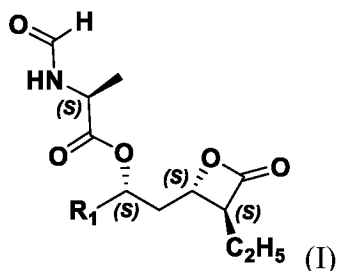
При элюировании смесью 20% ЭА: гептан, первые фракции содержали менее полярную примесь (минорную) с продуктом, а последующие фракции содержали чистый продукт. Только чистые по ТСХ фракции (см. фиг. 28В – подвижная фаза: 50:50 гептан/этилацетат, РМА-окрашивание) собирали и упаривали в вакууме.

Объединенные чистые фракции упаривали в вакууме, получая масло, в которое вносили затравку соединения I-A (1.3 г) и ставили в морозильник для затвердевания. Масло превращалось в воскоподобное не совсем белое твердое вещество (254 г, 70%) за выходные (Соединение I-A). Последующий анализ методом жидкостной хроматографии при сверхвысоком давлении (UPLC) показал, что чистота продукта составляла примерно 95% (AN при 205 нм). LC-MS спектр представлен на фиг. 29, ¹H-ЯМР спектр представлен на фиг. 30, и ВЭЖХ спектр представлен на фиг. 31 и 32. Кристаллическая структура соединения I-A показана на фиг. 33.

Приведенное выше носит является иллюстрацией настоящего изобретения и никоим образом не ограничивает его объем. Настоящее изобретение полностью охарактеризовано в Формуле изобретения и включает эквиваленты описанных в Формуле.

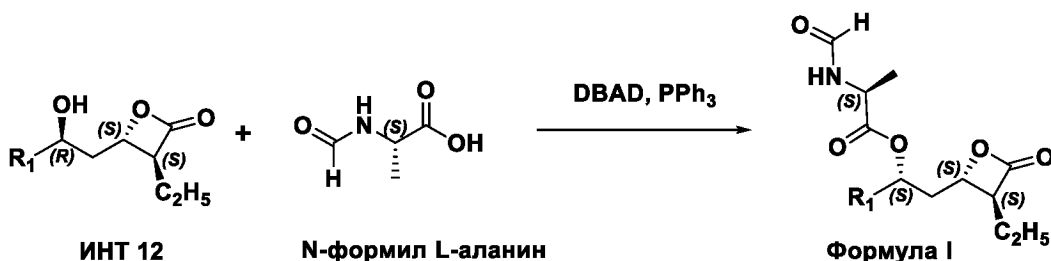
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ синтеза соединения формулы I,



где R₁ представляет собой C₅-C₁₅ алкил (например, C₅-C₁₅ линейный алкил), где способ включает:

контактирование соединения ИНТ 12 с N-формил L-аланином в присутствии ди-*трет*-бутил азодикарбоксилата (DBAD) и трифенилфосфина, с образованием соединения формулы I:



2. Способ по п. 1, где R₁ представляет собой C₁₁ алкил (например, C₁₁H₂₃).

3. Способ по п. 1 или 2, где контактирование происходит в тетрагидрофуране (ТГФ) в качестве растворителя.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где контактирование включает следующие стадии:

(а) объединение ИНТ 12, N-формил L-аланина, трифенилфосфина и растворителя (например, ТГФ) с образованием реакционной смеси;

(б) охлаждение реакционной смеси до температуры в определенном температурном диапазоне ниже комнатной температуры (например, 5-10 °С);

(с) растворение DBAD в растворителе (например, ТГФ);

(д) добавление DBAD в реакционную смесь со скоростью, достаточной для поддержания температуры в определенном температурном диапазоне, до образования соединения формулы I.

5. Способ синтеза соединения ИНТ 2, включающий

контактирование соединения ИНТ 1 с катализатором рутений (R)-BINAP и водородом в реакционной смеси в реакторе под давлением, с образованием соединения ИНТ 2:



6. Способ по п. 5, где давление водорода в реакторе меньше или равно 200 фунт/кв.дюйм (например, в диапазоне от 100 до 200 фунт/кв.дюйм).

7. Способ по п. 5 или 6, где объемное соотношение свободного объема и реакционной смеси в находящемся под давлением реакторе составляет 3:1 или больше.

8. Способ по любому из пп. 5-7, где контактирование включает

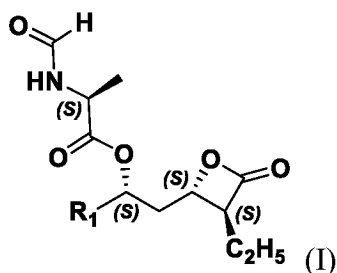
(а) объединение рутениевого прекатализатора (например, $[\text{RuCl}_2\text{бензол}]_2$) и R-BINAP с образованием катализатора рутений (R)-BINAP;

(б) объединение ИНТ 1 с растворителем (например, метанолом) с образованием реакционной смеси;

(с) добавление катализатора рутений (R)-BINAP в реакционную смесь; и

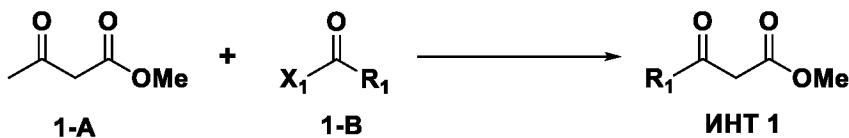
(д) нагрев реакционной смеси (например, до 100°C) с образованием ИНТ 2.

9. Способ синтеза соединения формулы I,



где R_1 представляет собой $\text{C}_5\text{-C}_{15}$ алкил (например, $\text{C}_5\text{-C}_{15}$ линейный алкил), где способ включает:

(а) контактирование соединения 1-A с соединением 1-B, опционально в присутствии щелочного металла (например, магния), с образованием соединения ИНТ 1:

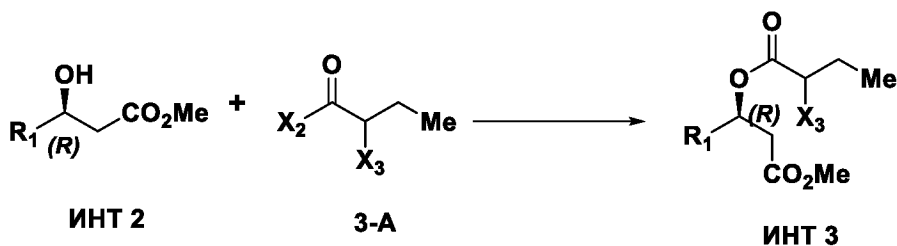


где X_1 представляет собой галоген (например, Cl или Br);

(б) контактирование соединения ИНТ 1 с катализатором рутений (R)-BINAP и водородом с образованием соединения ИНТ 2:

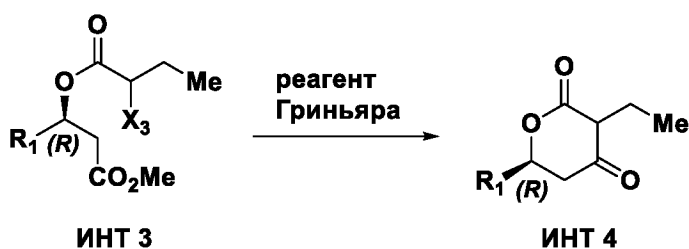


(с) контактирование соединения ИНТ 2 с соединением 3-А с образованием соединения ИНТ 3:

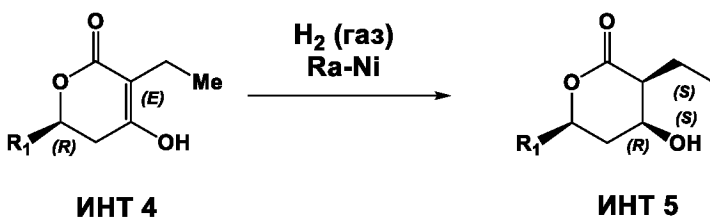


где X_2 и X_3 каждый независимо представляют собой галоген (например, Br);

(d) контактирование соединения ИНТ 3 с реагентом Гриньяра с образованием соединения ИНТ 4:



(e) контактирование соединения ИНТ 4 с водородом в присутствии катализатора никеля Ренея (Ra-Ni) с образованием соединения ИНТ 5:



(f) контактирование соединения ИНТ 5 с первым защитным агентом с образованием соединения ИНТ 6:

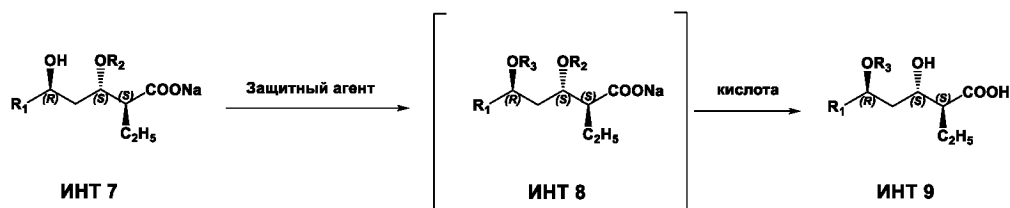


где R_2 представляет собой защитную группу (например, ТНР);

(g) контактирование соединения ИНТ 6 с гидроксидом (например, с NaOH) с образованием соединения ИНТ 7:

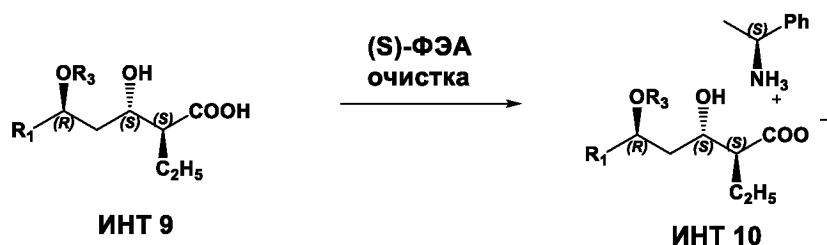


(h) защиту свободной гидроксигруппы в соединении ИНТ 7 путем реакции ИНТ 7 со вторым защитным агентом с образованием соединения ИНТ 8, и последующее удаление защитной группы с гидроксигруппы в соединении ИНТ 8 путем контактирования ИНТ 8 с кислотой, с образованием соединения ИНТ 9:

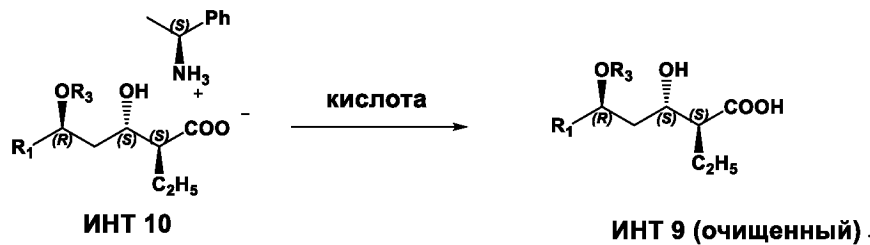


где R₃ представляет собой защитную группу (например, бензил);

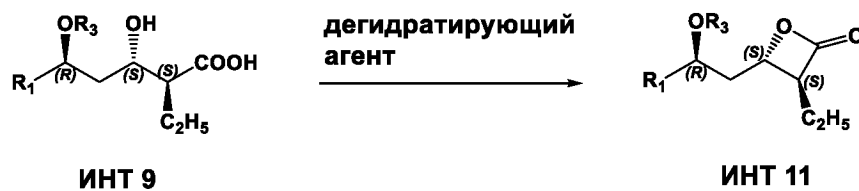
(i) опционально, очистку соединения ИНТ 9 посредством контактирования соединения ИНТ 9 с (S)-(-)-1-фенилэтиламина с образованием соединения ИНТ 10:



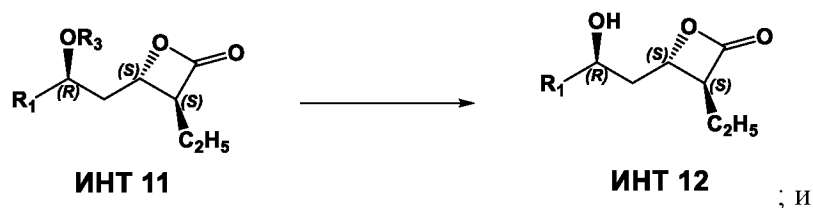
кристаллизацию и выделение ИНТ 10А, и последующий контакт ИНТ 10 с кислотой (например, HCl) с образованием ИНТ 9 (очищенного):



(j) дегидратацию соединения ИНТ 9 или соединения ИНТ 9 (очищенного) с дегидратирующим агентом, с образованием соединения ИНТ 11:

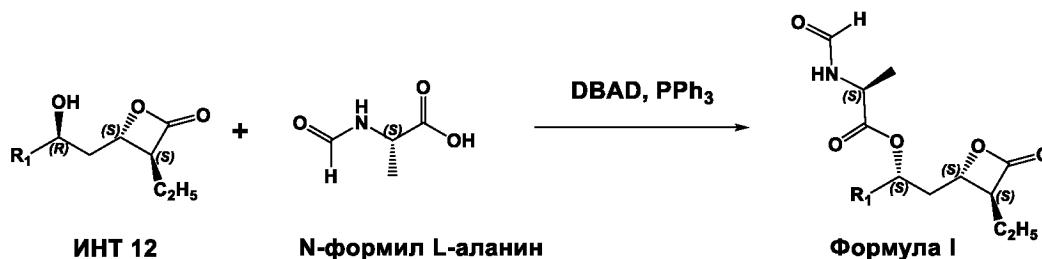


(k) снятие защиты с соединения ИНТ 11 с образованием соединения ИНТ 12:



(l) контактирование соединения ИНТ 12 с N-формил L-аланином в присутствии ди-

трет-бутил азодикарбоксилата (DBAD) и трифенилфосфина, с образованием соединения формулы I:



10. Способ по п. 9, где на стадии (b) контактирование соединения ИНТ 1 с катализатором рутений (R)-BINAP и водородом происходит в реакционной смеси в реакторе под давлением, и где объемное соотношение свободного объема и реакционной смеси в находящемся под давлением реакторе составляет 3:1 или больше.

11. Способ по п. 9, где на стадии (b) давление водорода меньше 200 фунт/кв.дюйм (например, в диапазоне от 100 до 200 фунт/кв.дюйм).

12. Способ по п. 9, где на стадии (c) контактирование происходит в присутствии диметиламинопиридина (DMAP) и водного раствора бикарбоната калия (KHCO₃) в двухфазной реакционной смеси.

13. Способ по п. 9, где на стадии (d) реагент Гриньяра представляет собой *трет*-бутилMgBr.

14. Способ по п. 9, где на стадии (e) катализатор никель Ренея является свежеприготовленным, и давление водорода находится в диапазоне от 0.5 до 2 атм.

15. Способ по п. 9, где на стадии (f) защитный агент представляет собой 3,4-дигидро-2H-пиран (DHP), и R₂ представляет собой тетрагидропирановую (THP) группу.

16. Способ по п. 9, где на стадии (i) после кристаллизации и выделения соединения ИНТ 10, соединение ИНТ 10 контактирует с кислотой с образованием очищенного ИНТ 9.

17. Способ по п. 9, где дегидратирующий агент на стадии (j) представляет собой бензолсульфонилхлорид.

18. Способ по п. 9, где на стадии (k) снятие защиты включает реакцию дебензилирования, опционально с применением Pd/C и водорода.

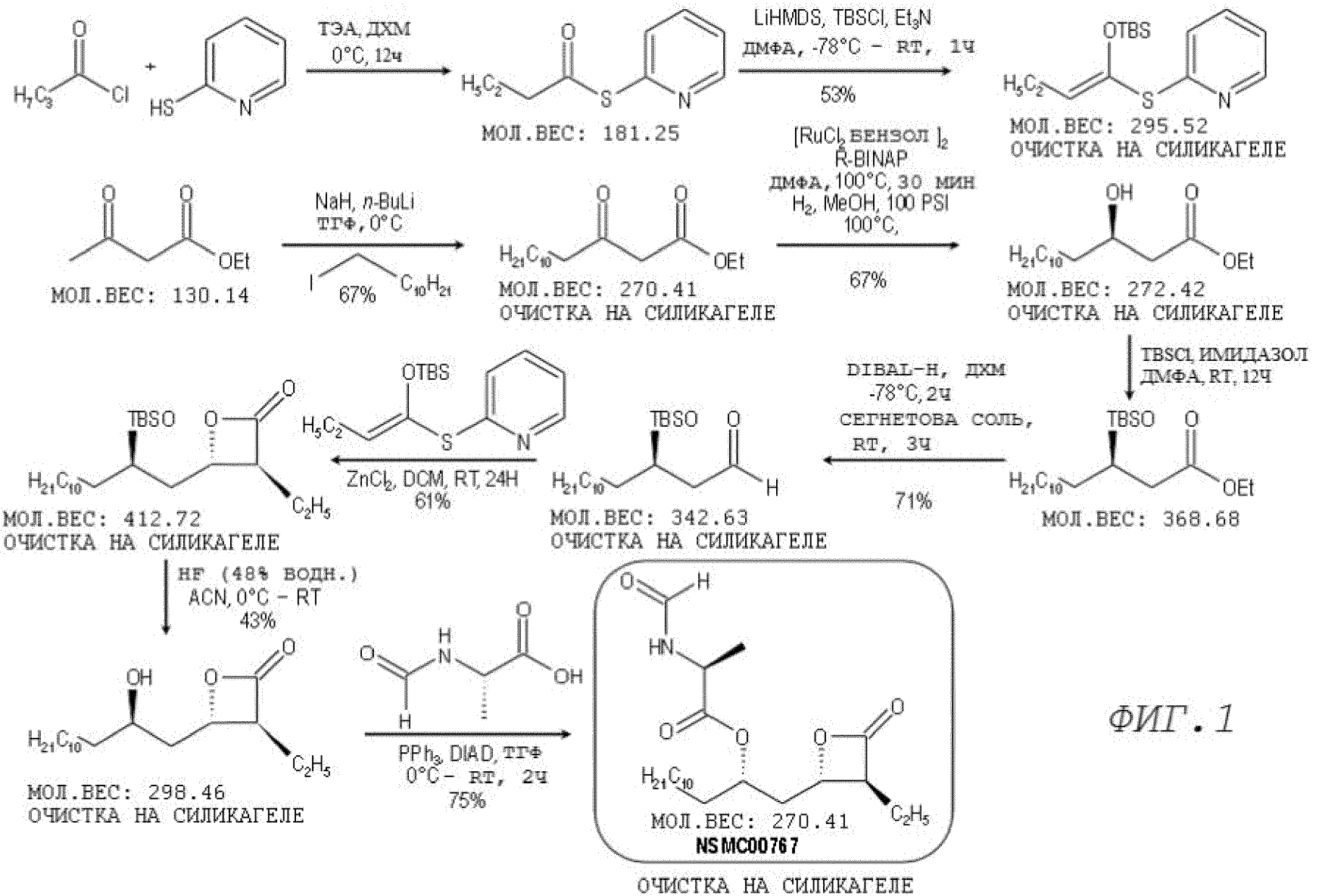
19. Соединение формулы I, полученное способом по любому из пп. 1-18, или его фармацевтически приемлемая соль.

20. Композиция, содержащая соединение по п. 19 и фармацевтически приемлемый носитель.

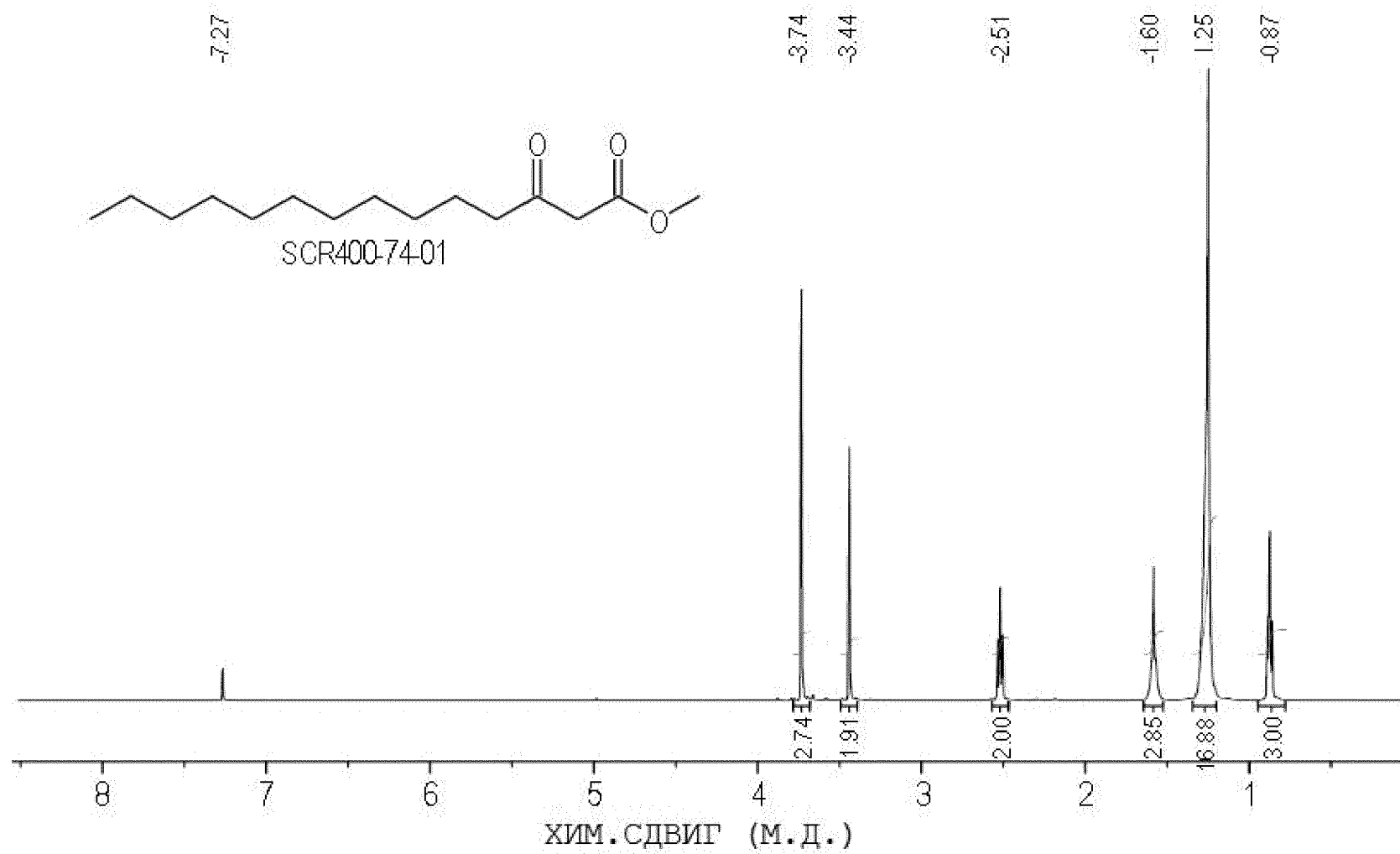
21. Способ ингибирования активности липазы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по п. 19 или его фармацевтически приемлемой соли и/или композиции по п. 20, тем самым

ингибируя активность липазы у субъекта.

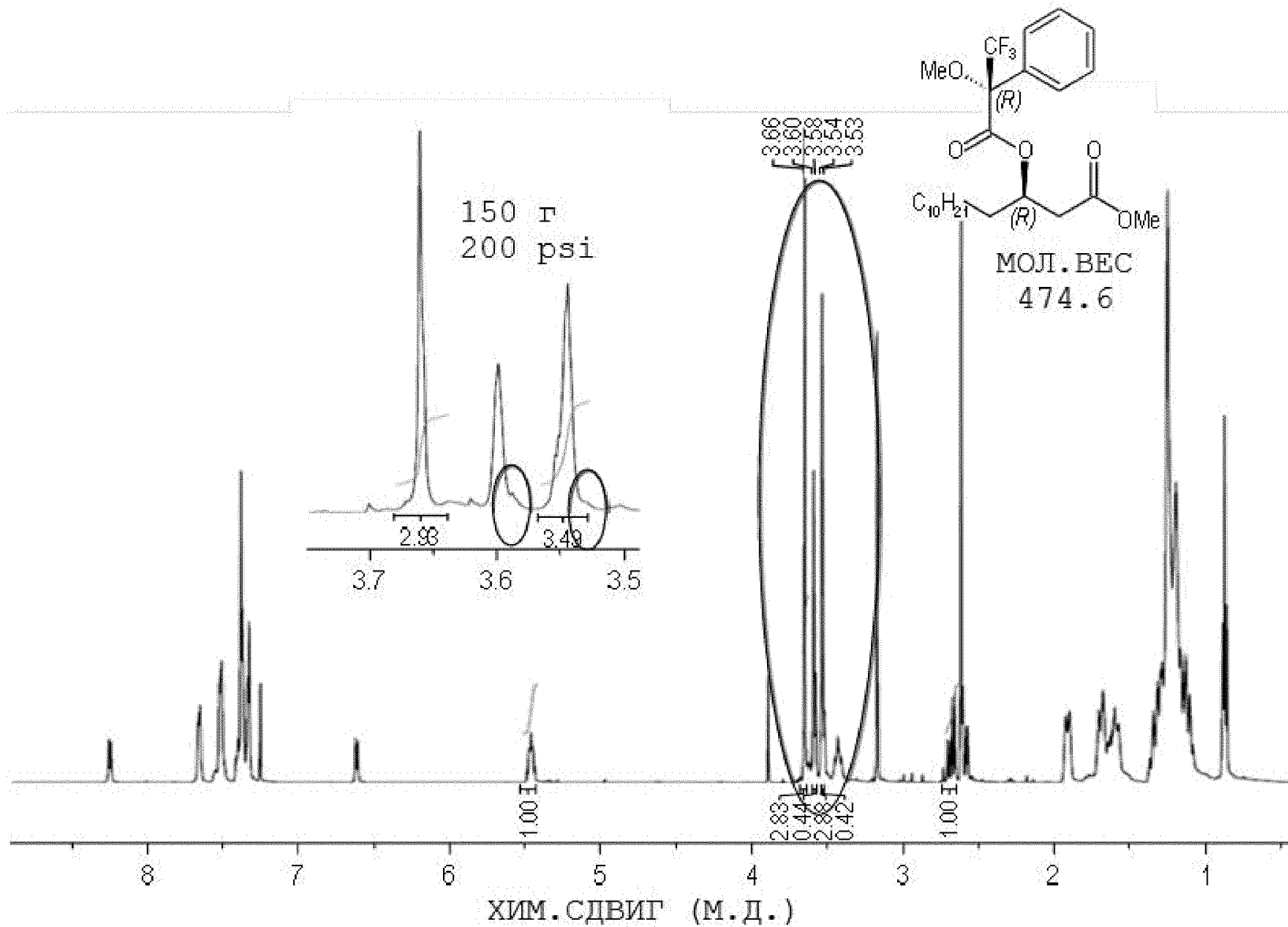
22. Способ лечения панкреатита у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения по п. 19 или его фармацевтически приемлемой соли и/или композиции по п. 20, для лечения панкреатита у субъекта.



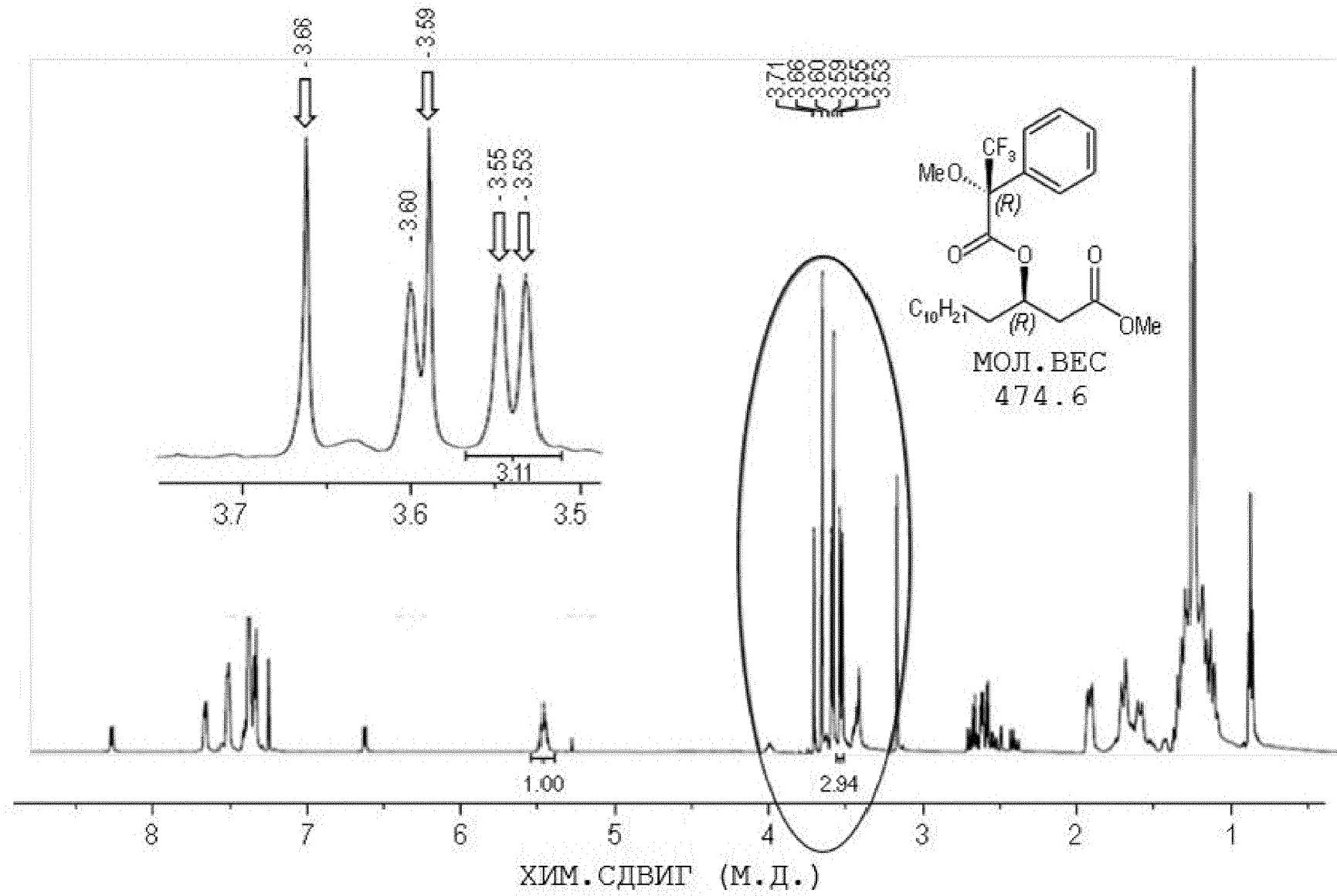
ФИГ. 1

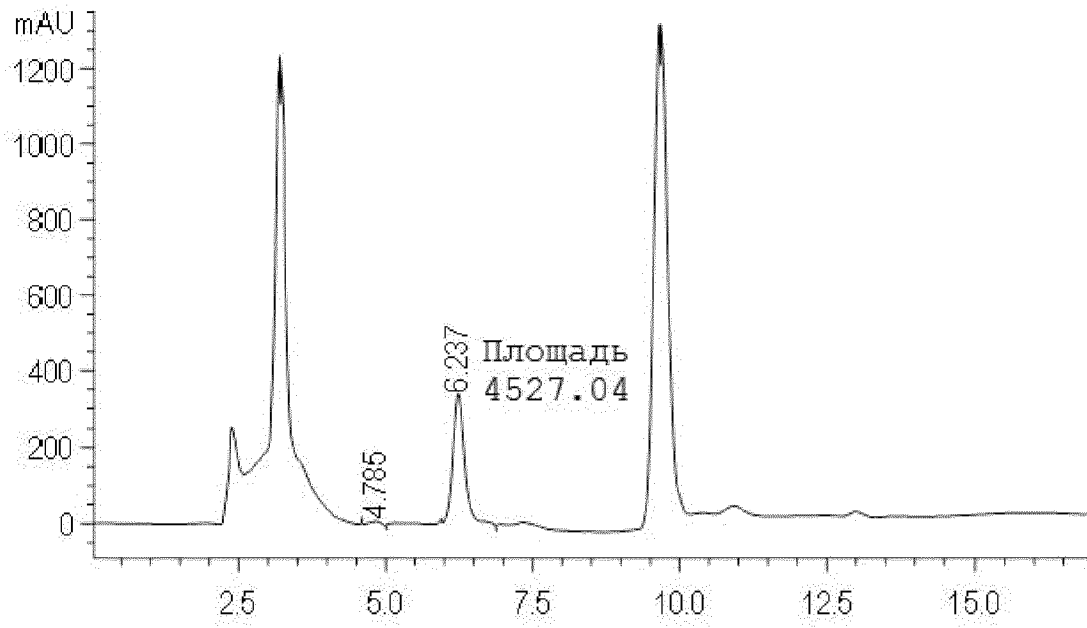


ФИГ. 2

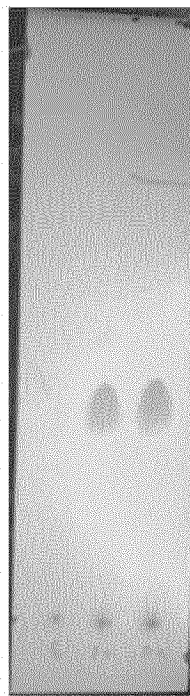


ФИГ. 3

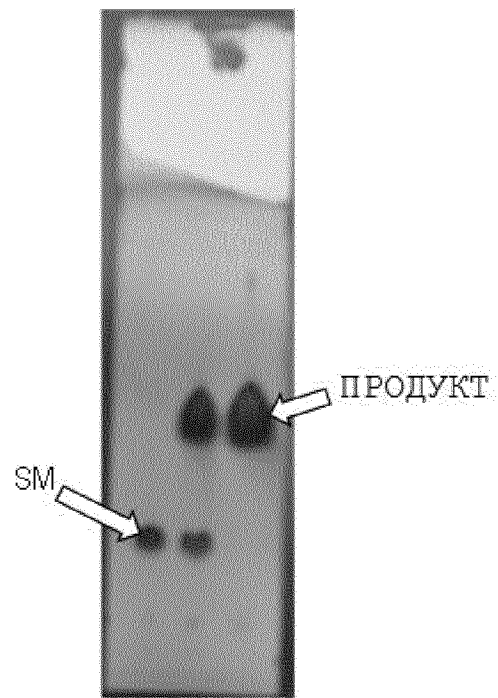




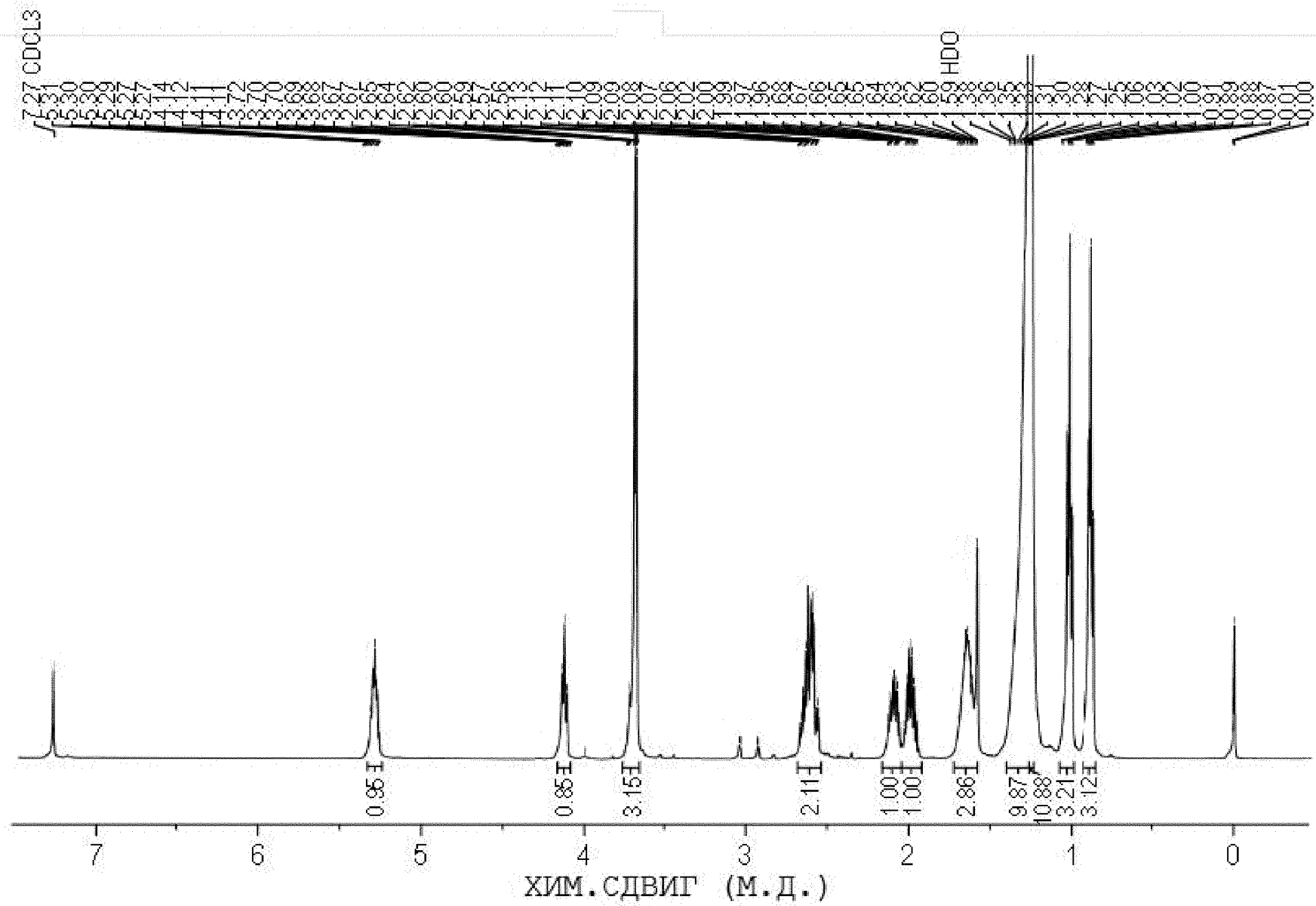
ФИГ. 5



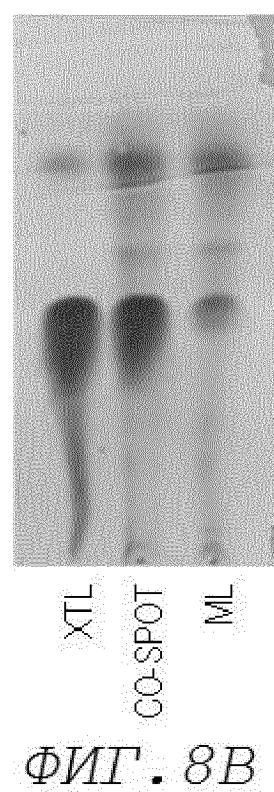
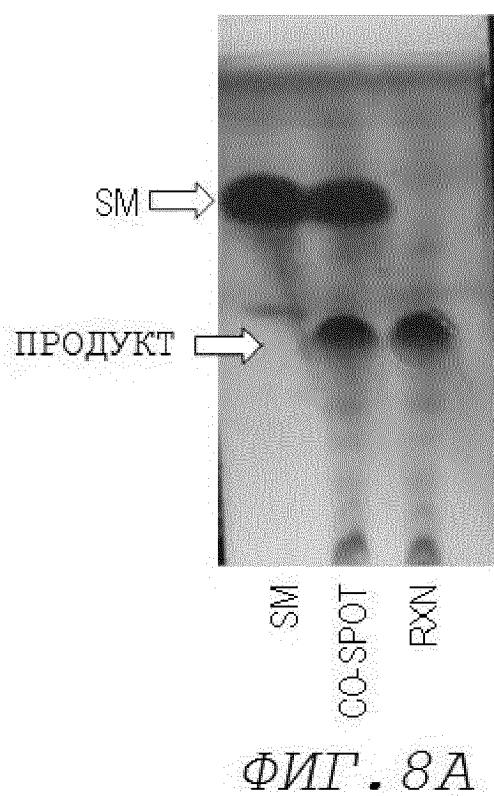
ФИГ. 6А

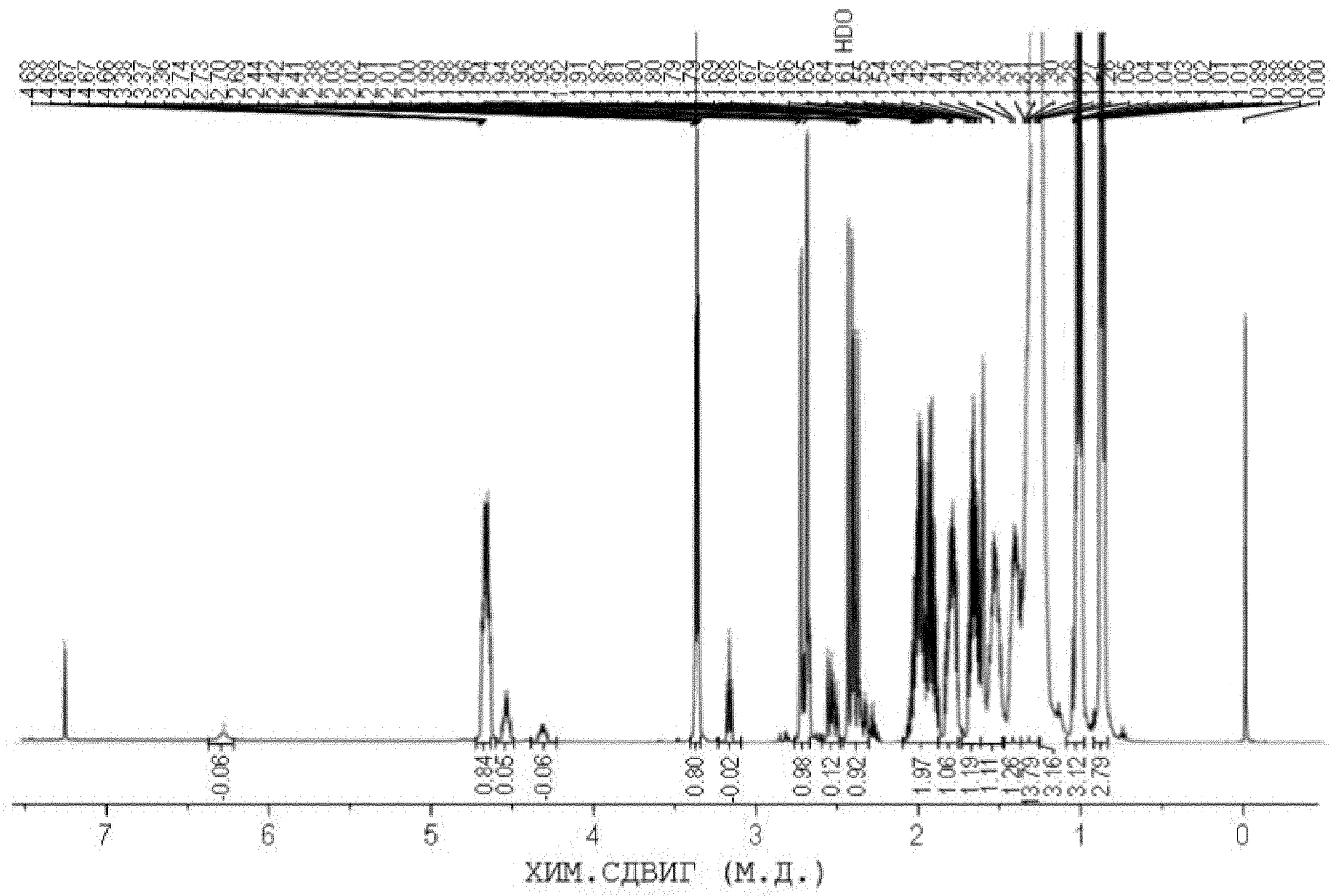


ФИГ. 6В



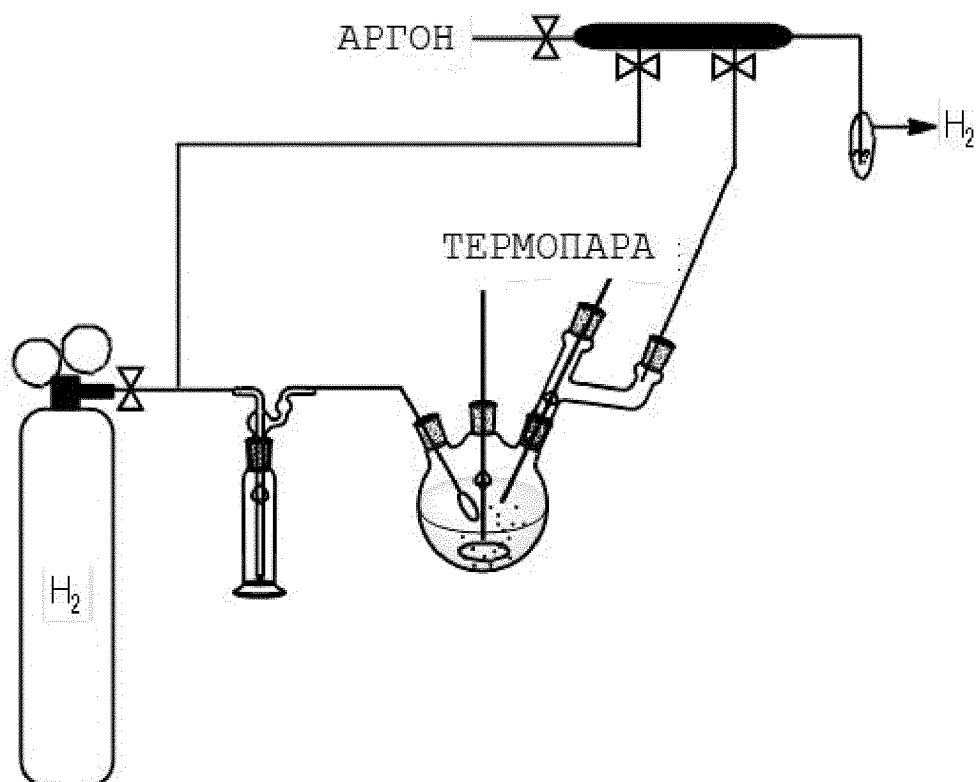
ФИГ. 7





ХИМ. СДВИГ (М. Д.)

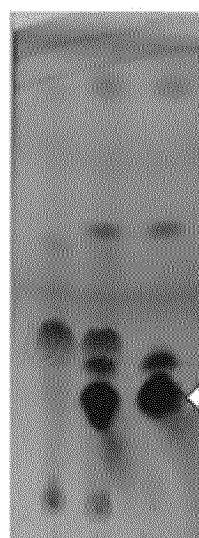
ФИГ. 9



ФИГ. 10

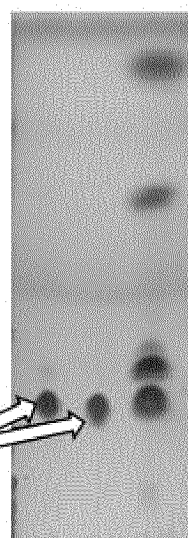
СЫРОЙ

КРИСТАЛЛИЗОВАННЫЙ



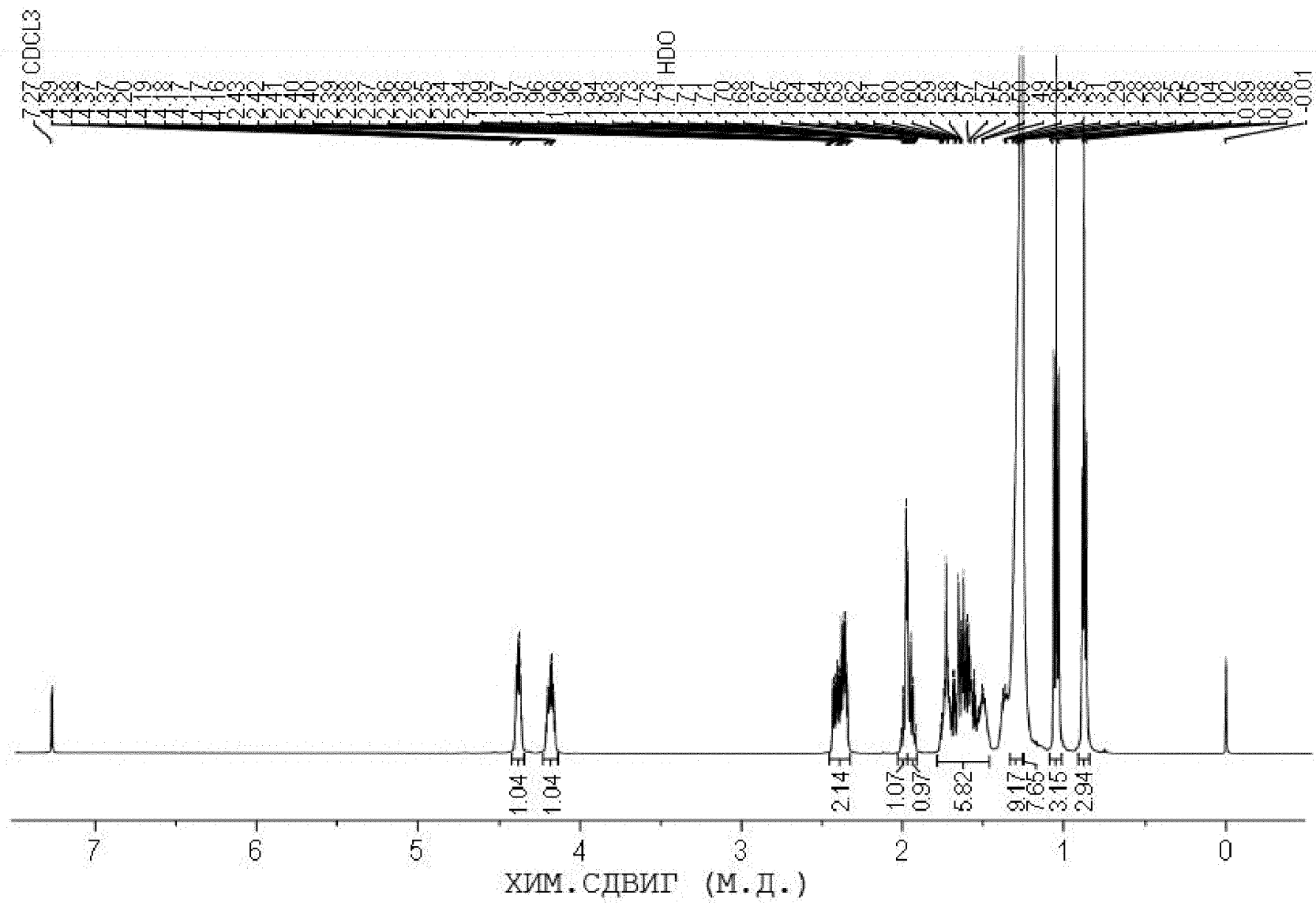
PMA

ФИГ. 11A

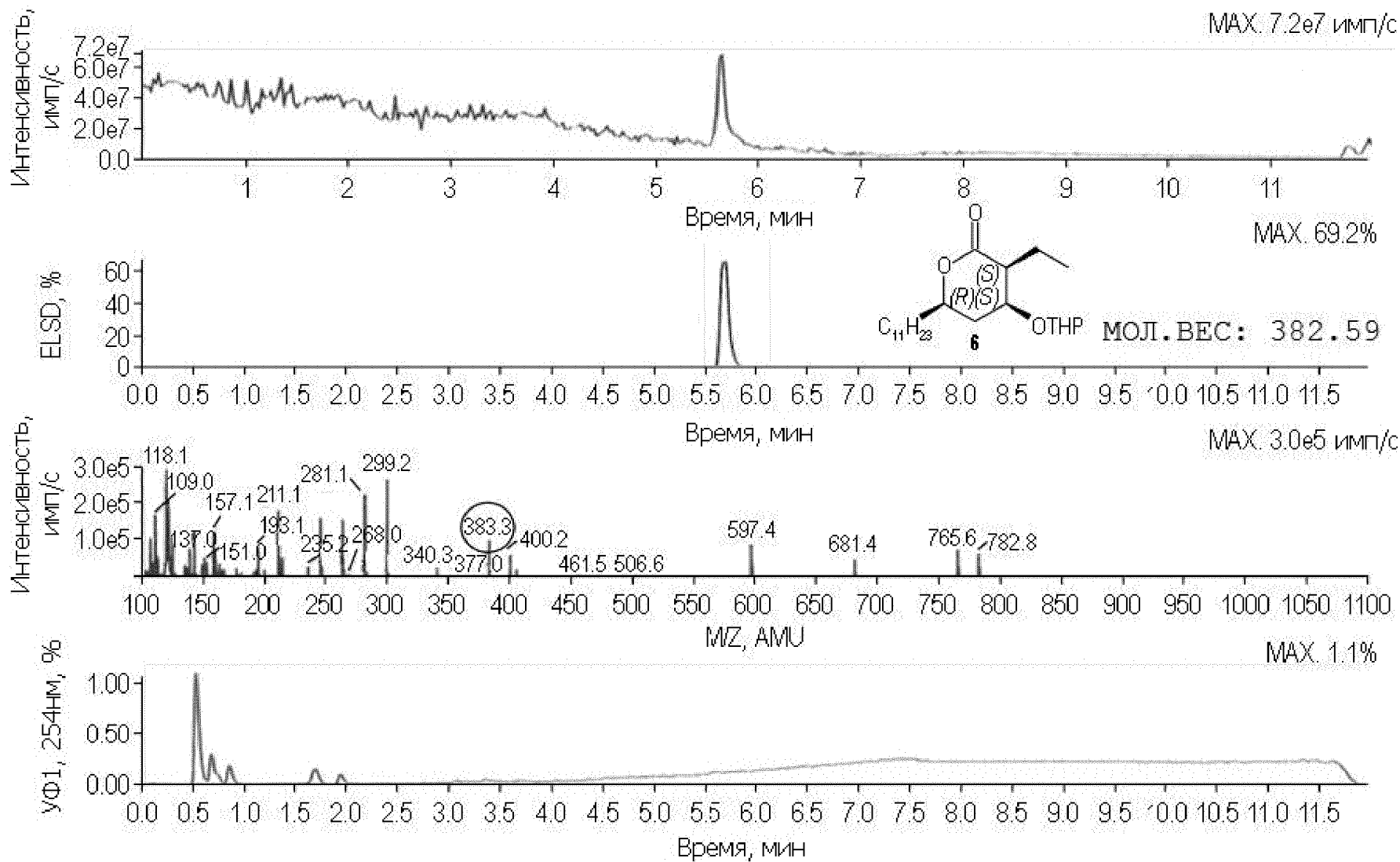
FRIT 1
FRIT 2
ML

PMA

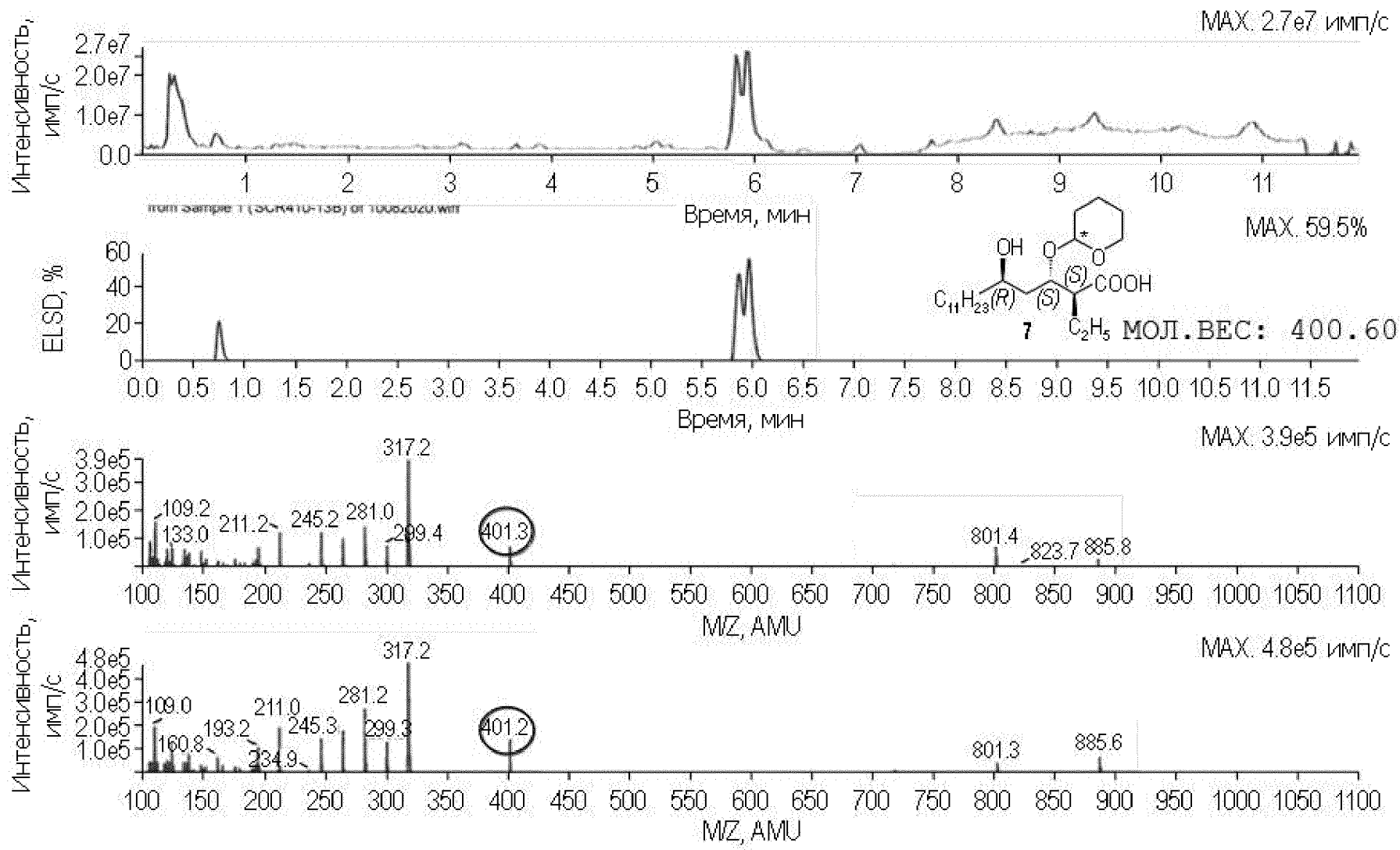
ФИГ. 11B



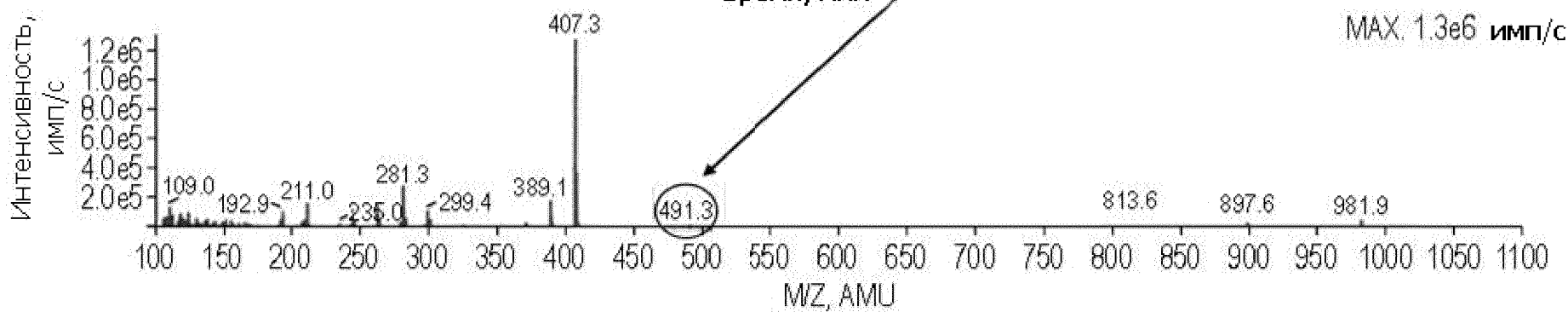
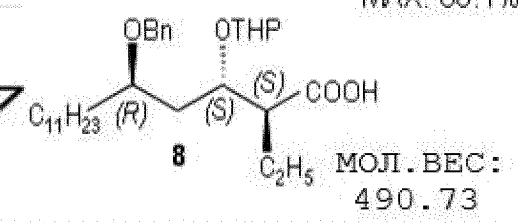
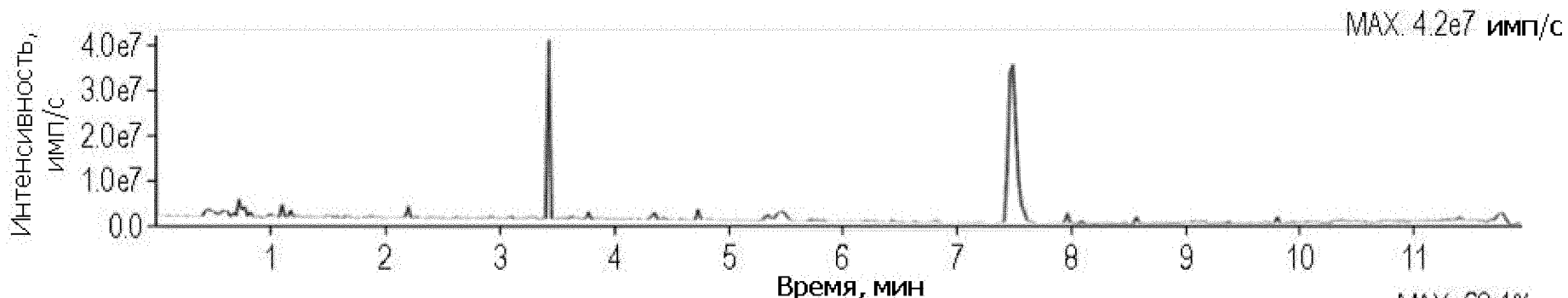
ФИГ. 12



ФИГ. 13

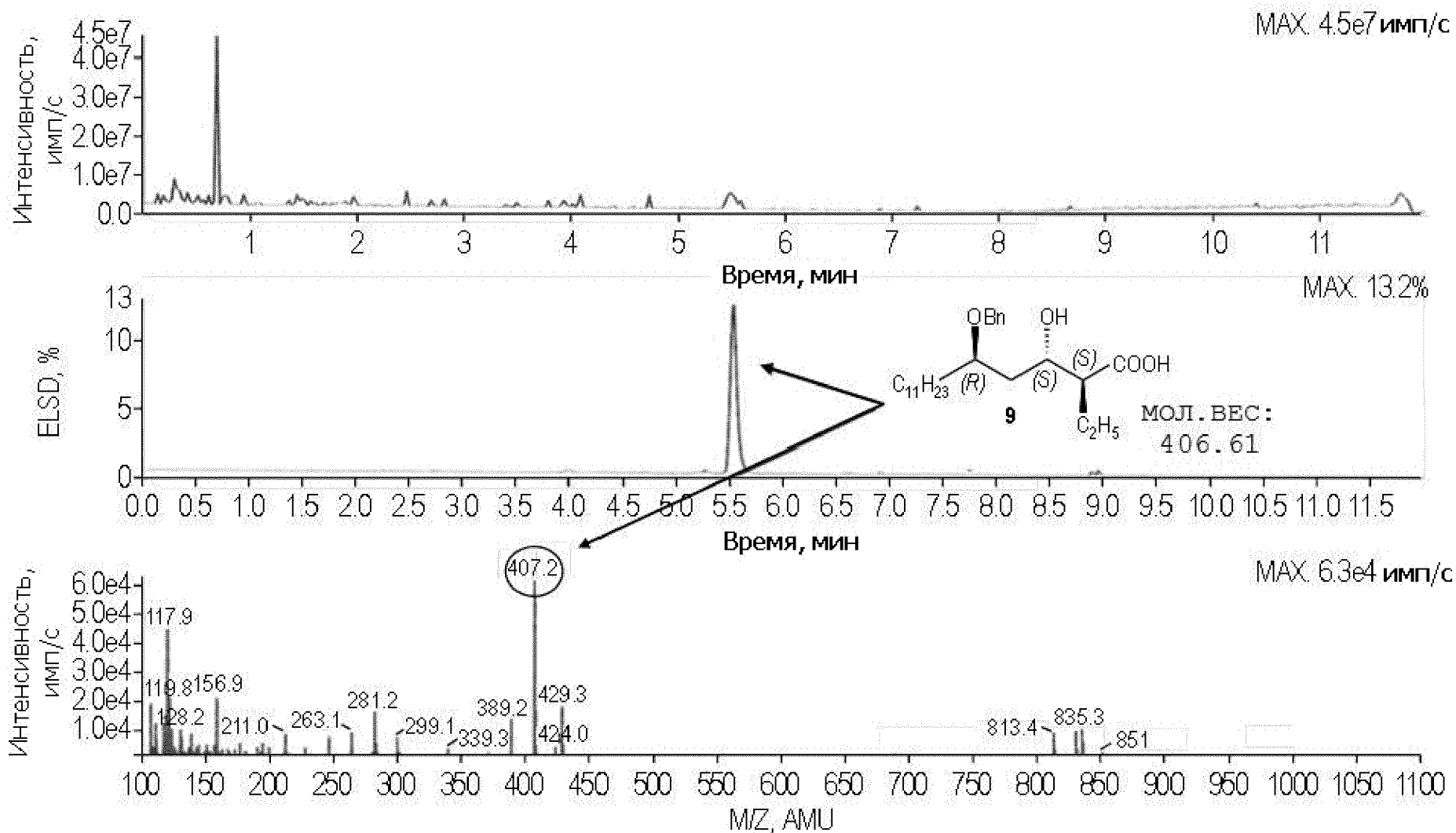


ФИГ. 14

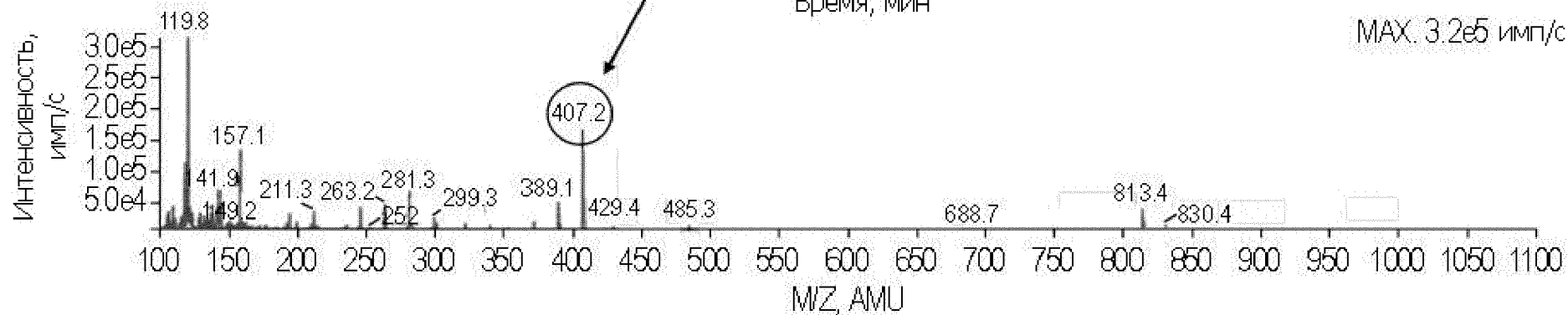
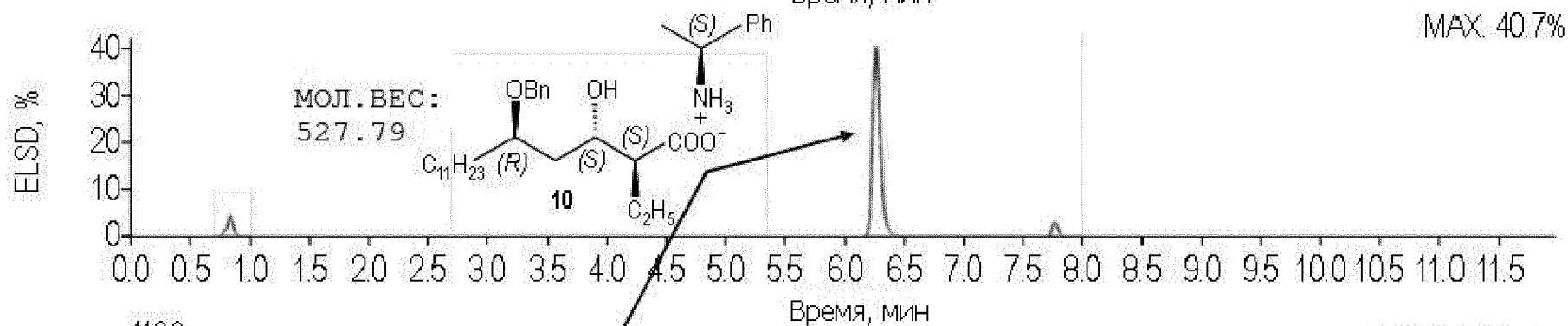
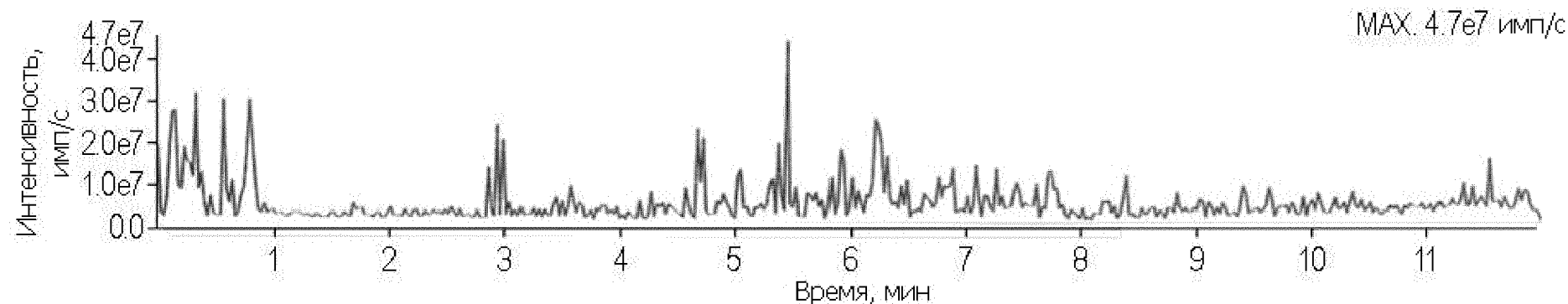


13/30

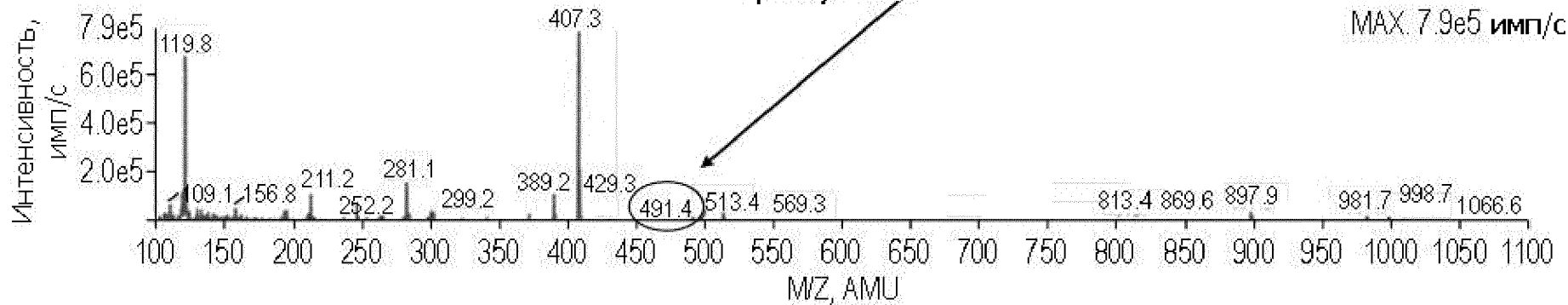
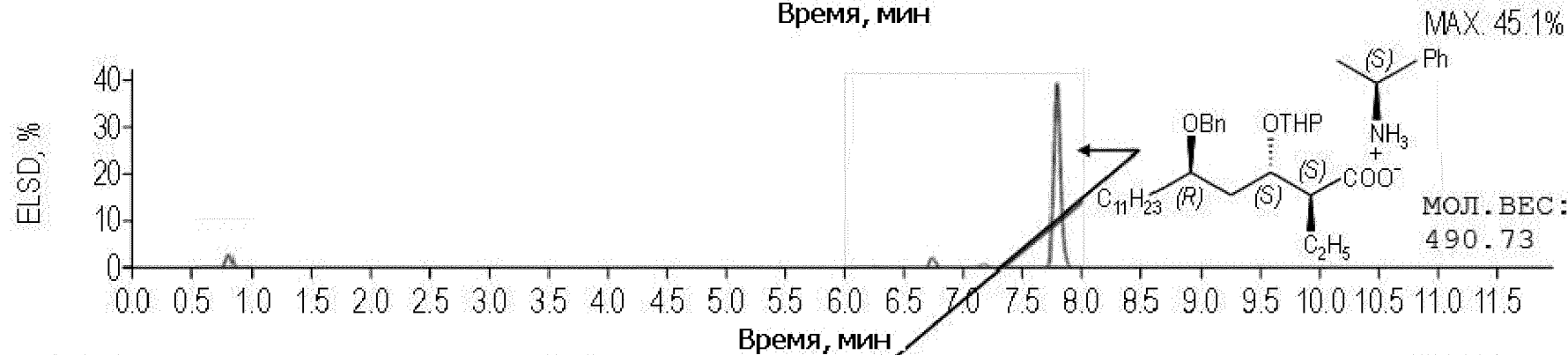
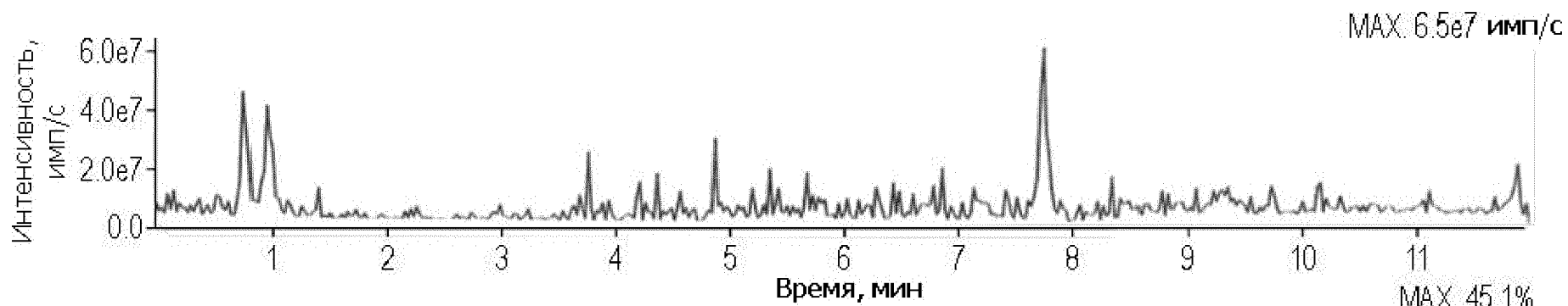
ФИГ. 15



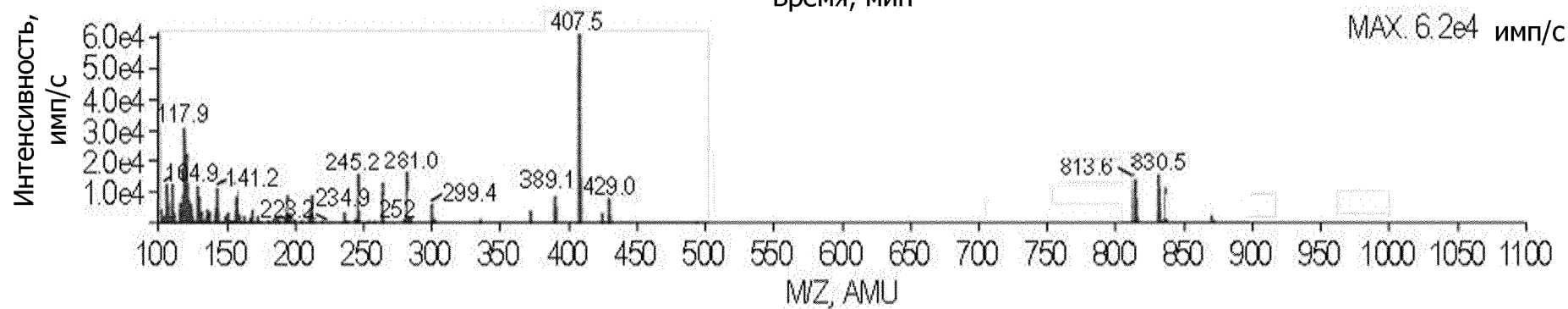
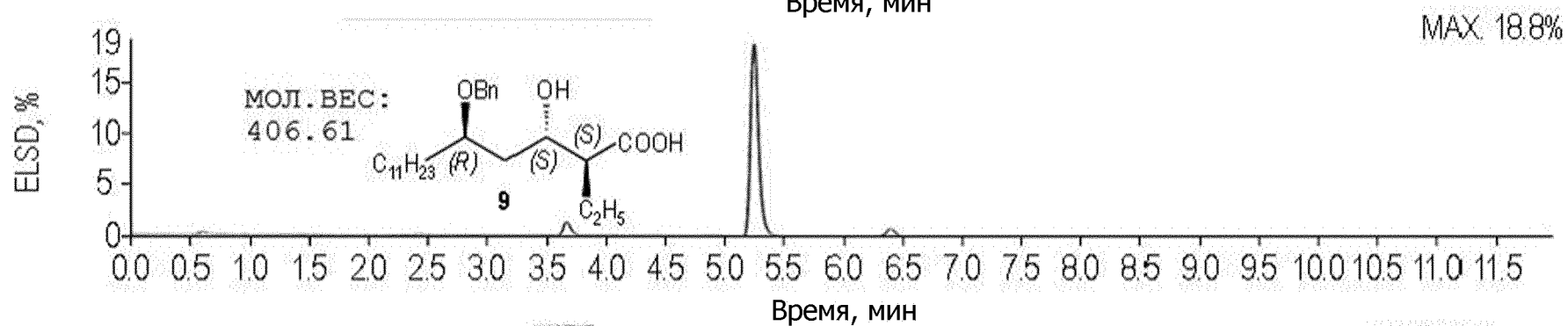
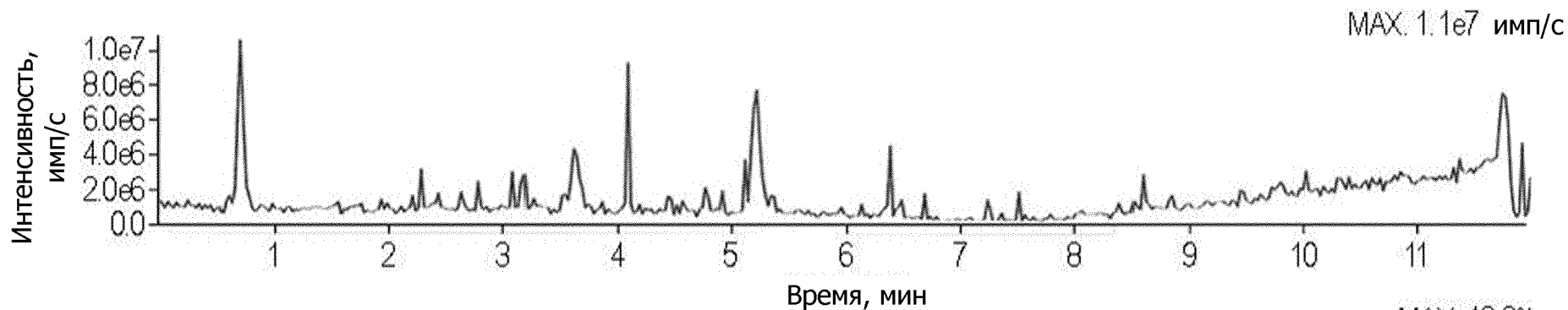
ФИГ. 16



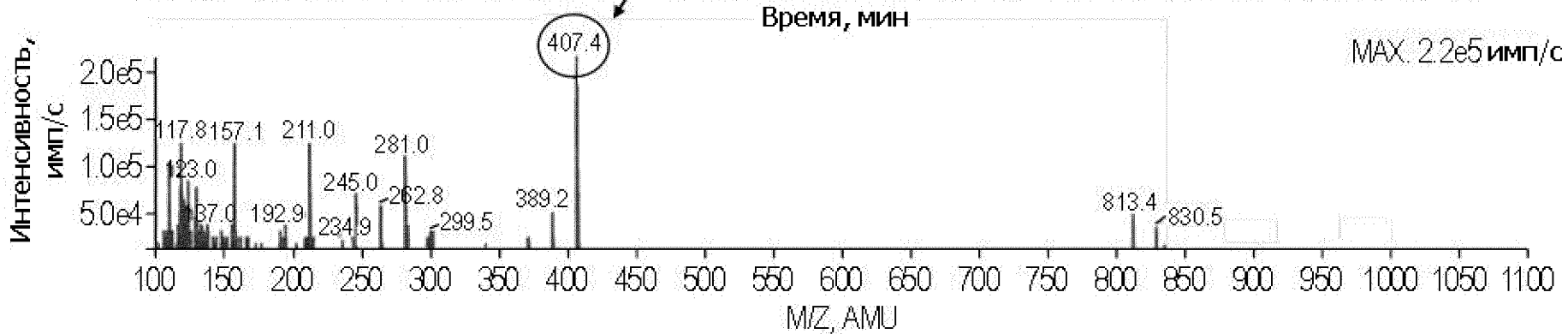
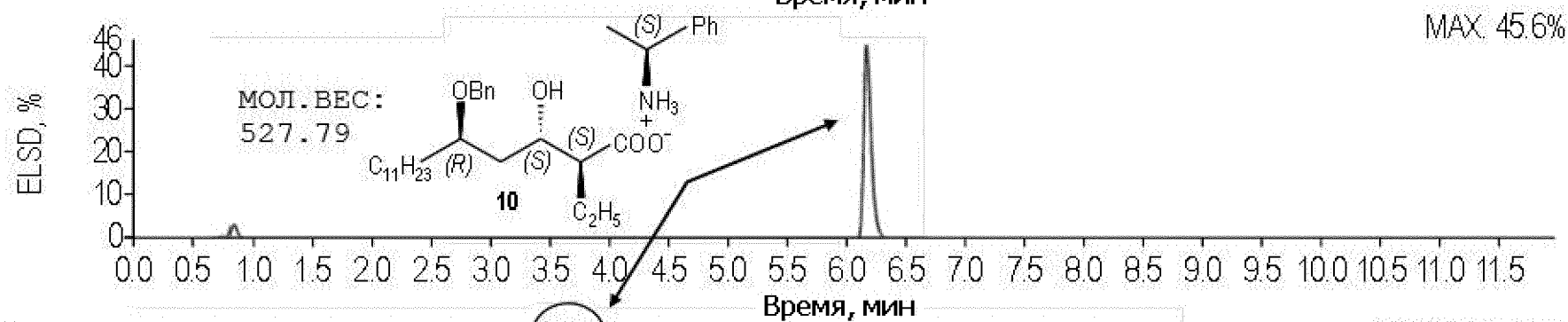
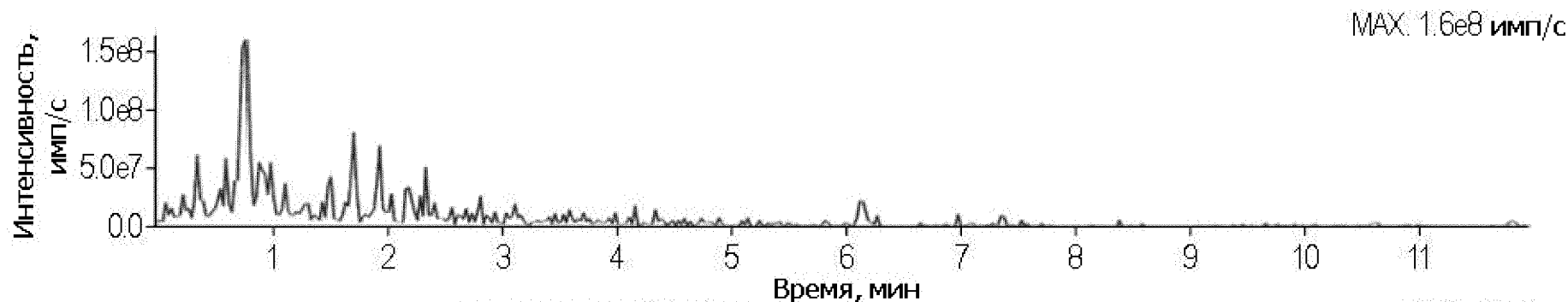
ФИГ. 17



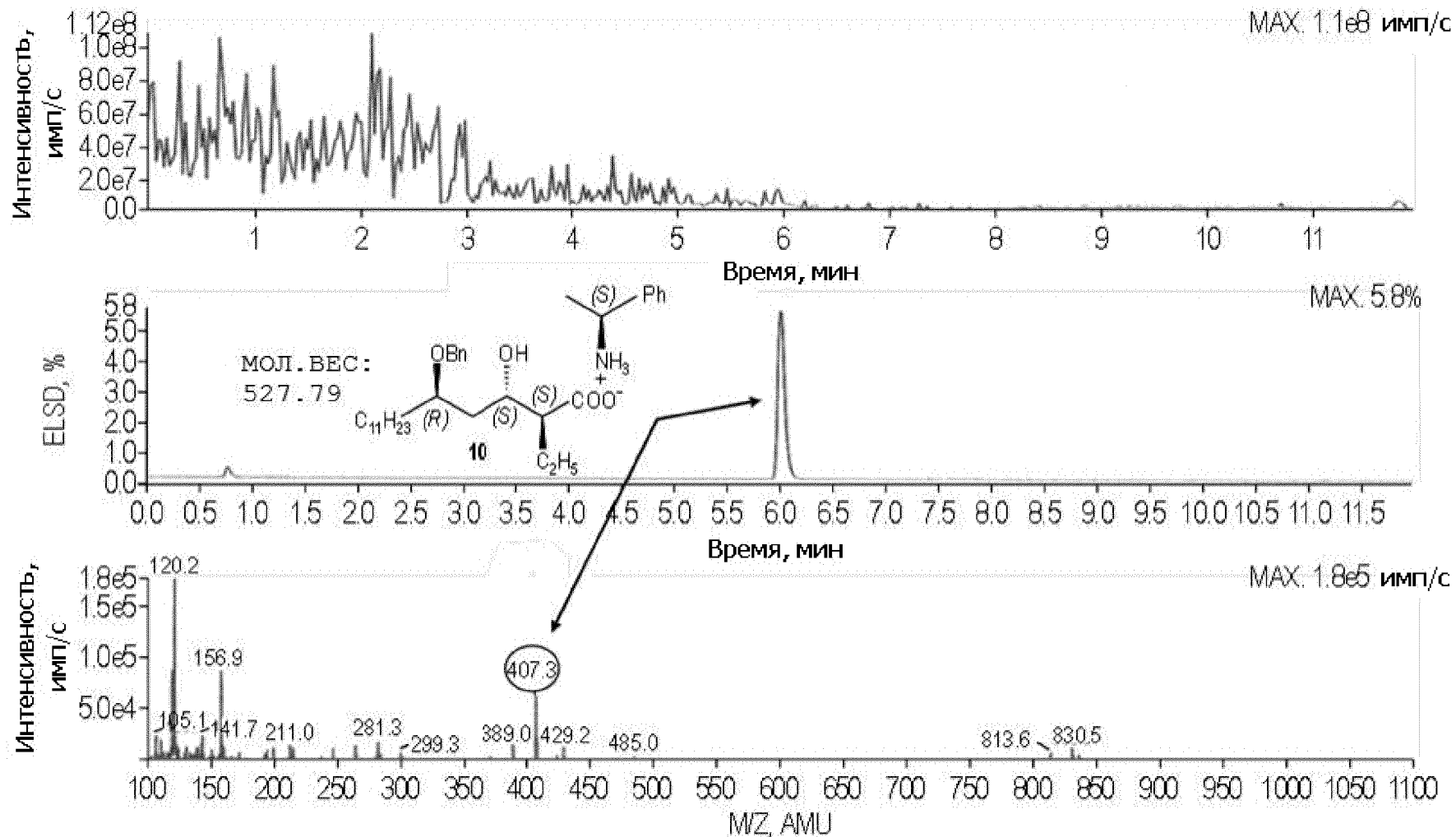
ФИГ. 18



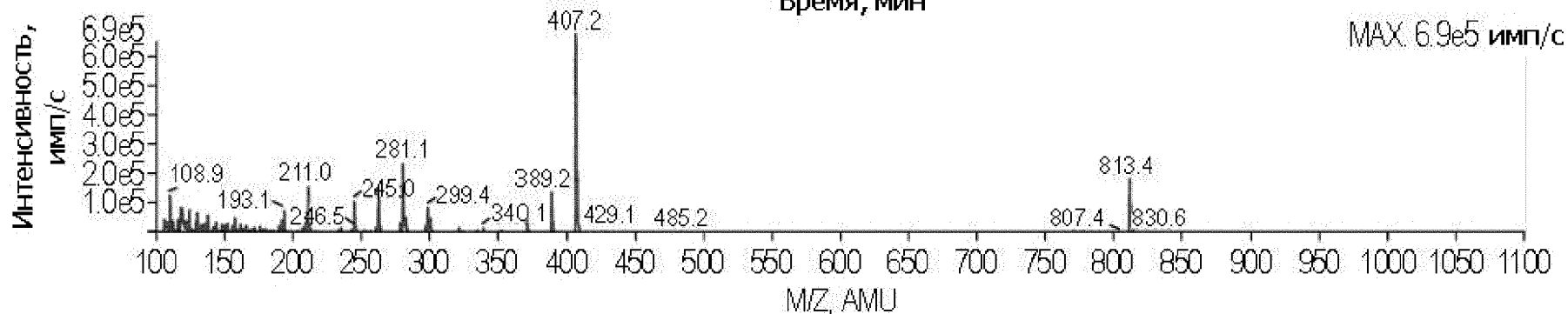
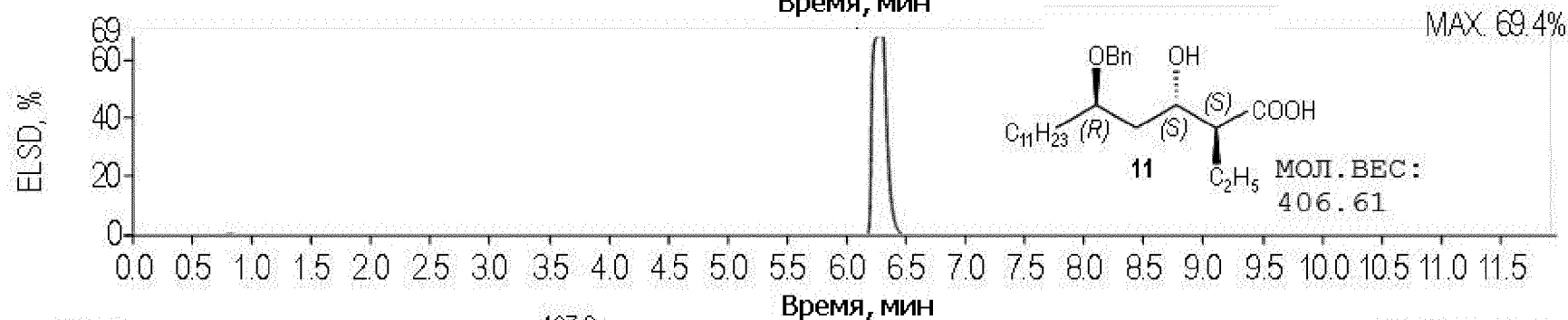
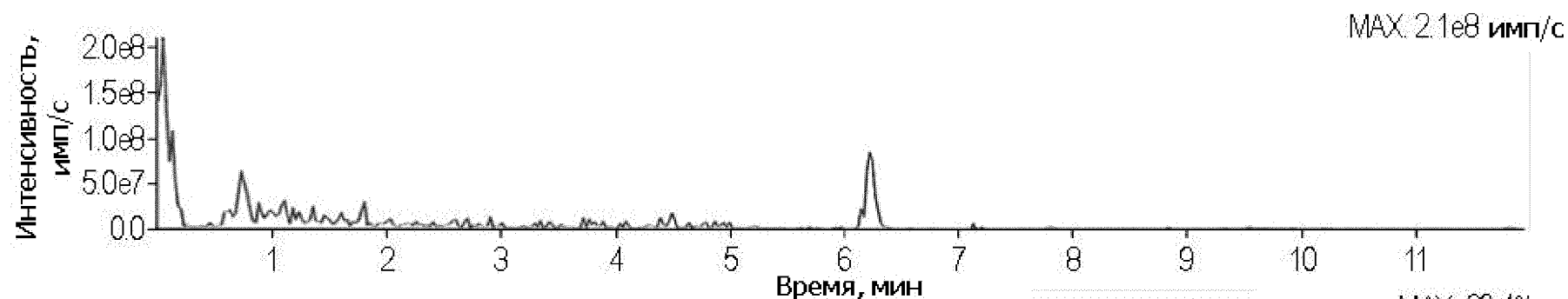
ФИГ. 19



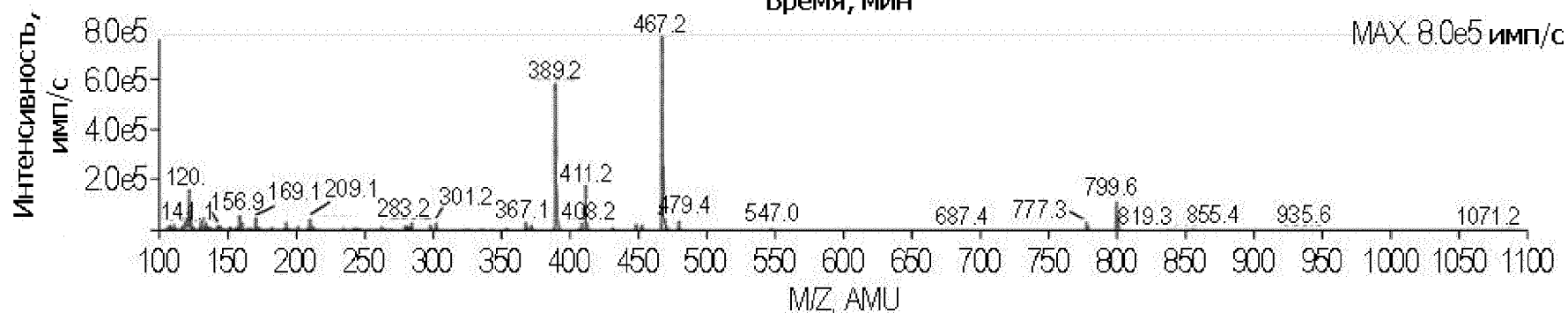
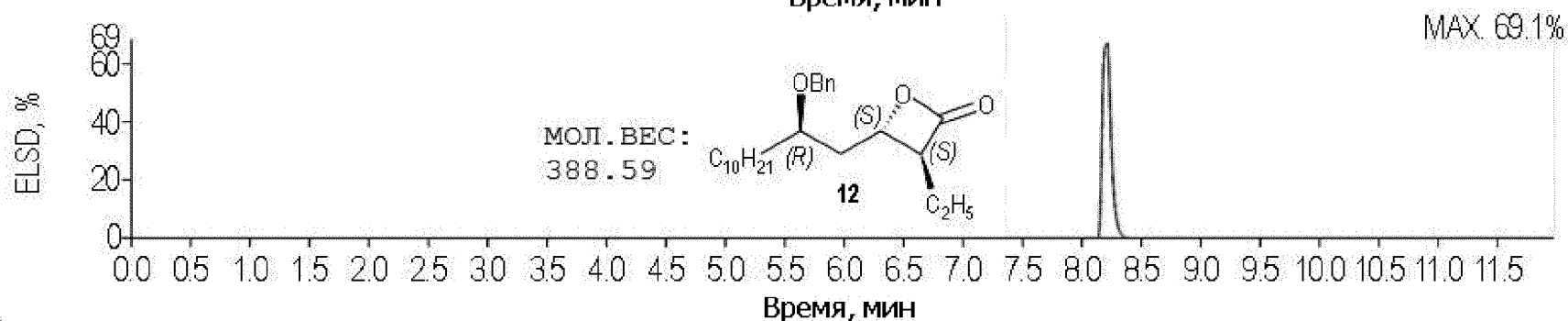
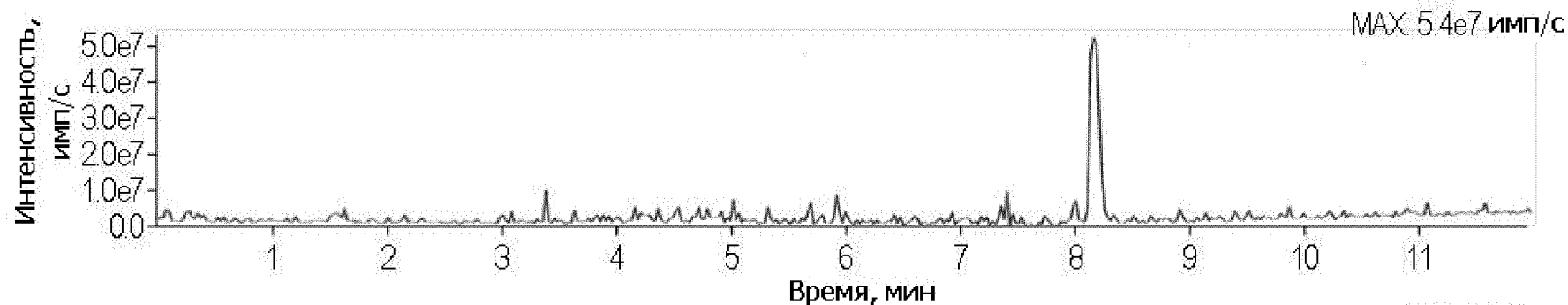
ФИГ. 20



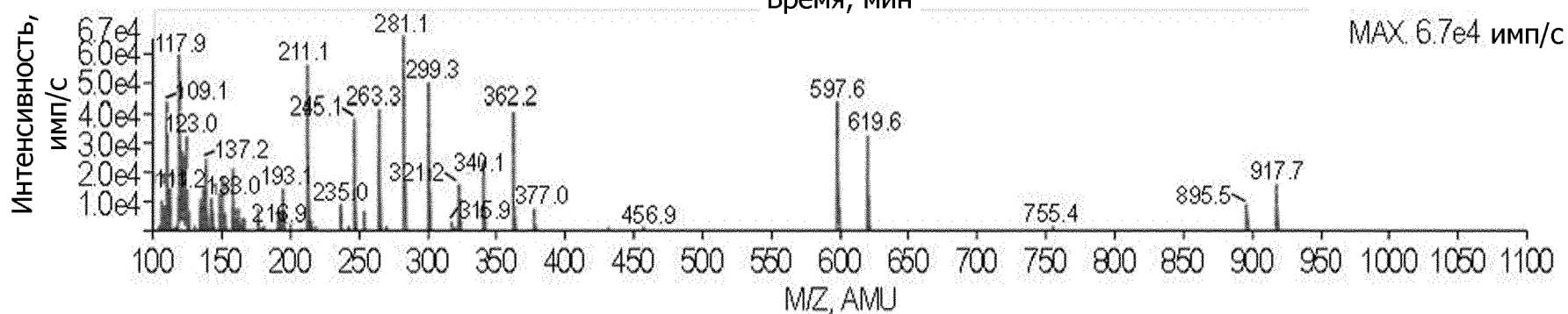
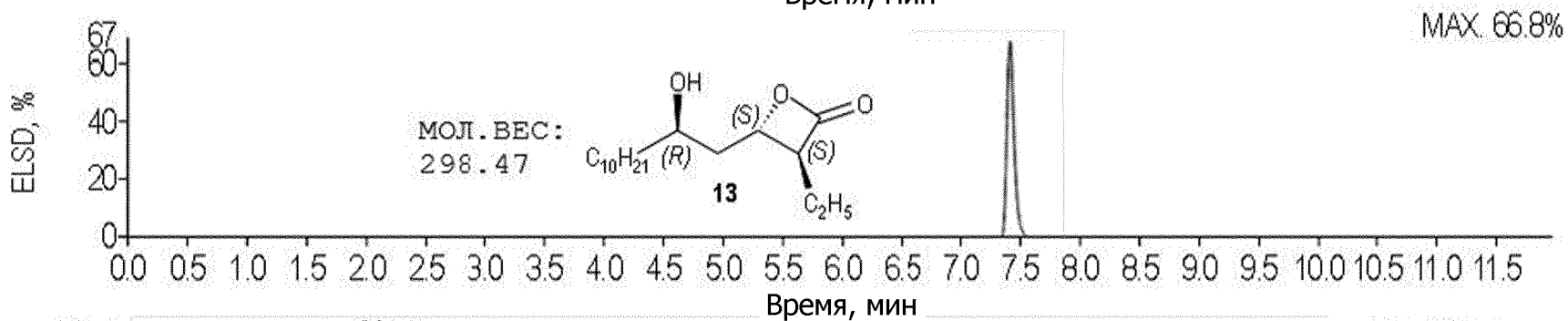
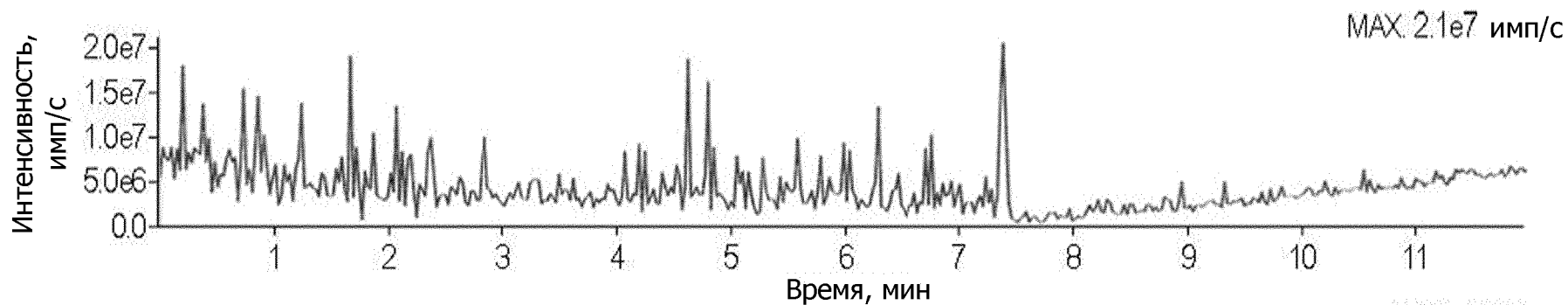
ФИГ. 21



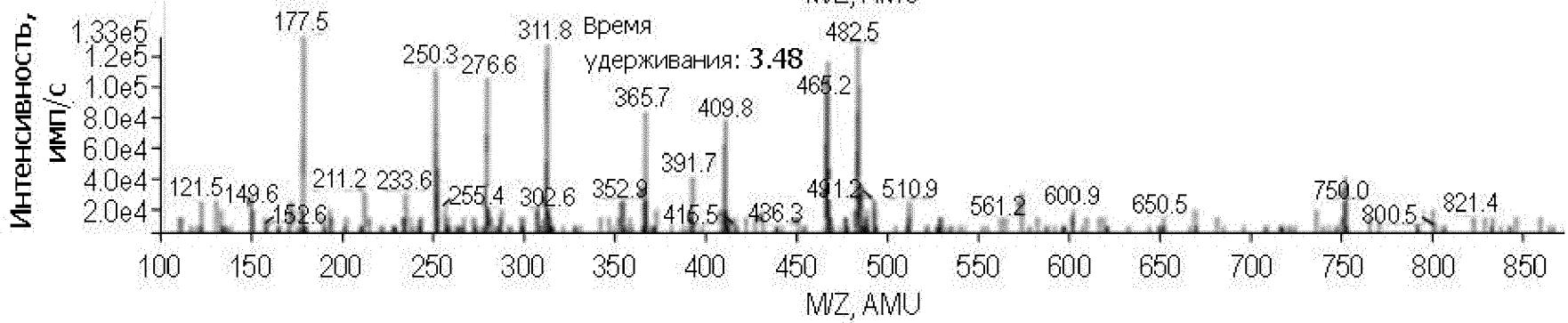
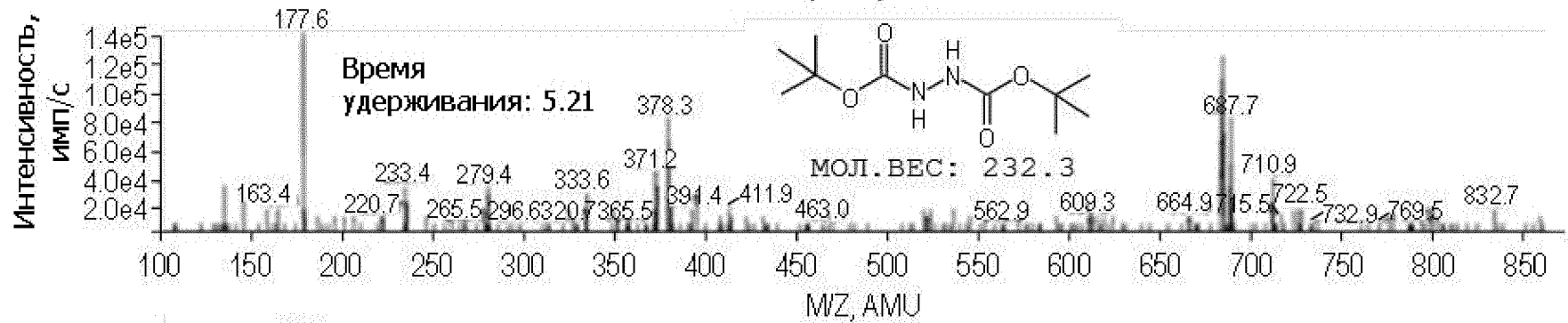
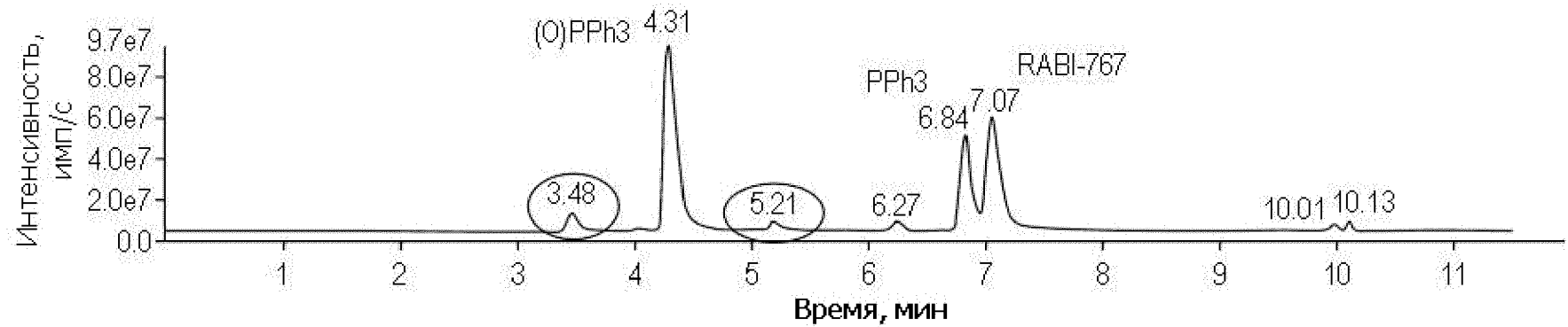
ФИГ. 22



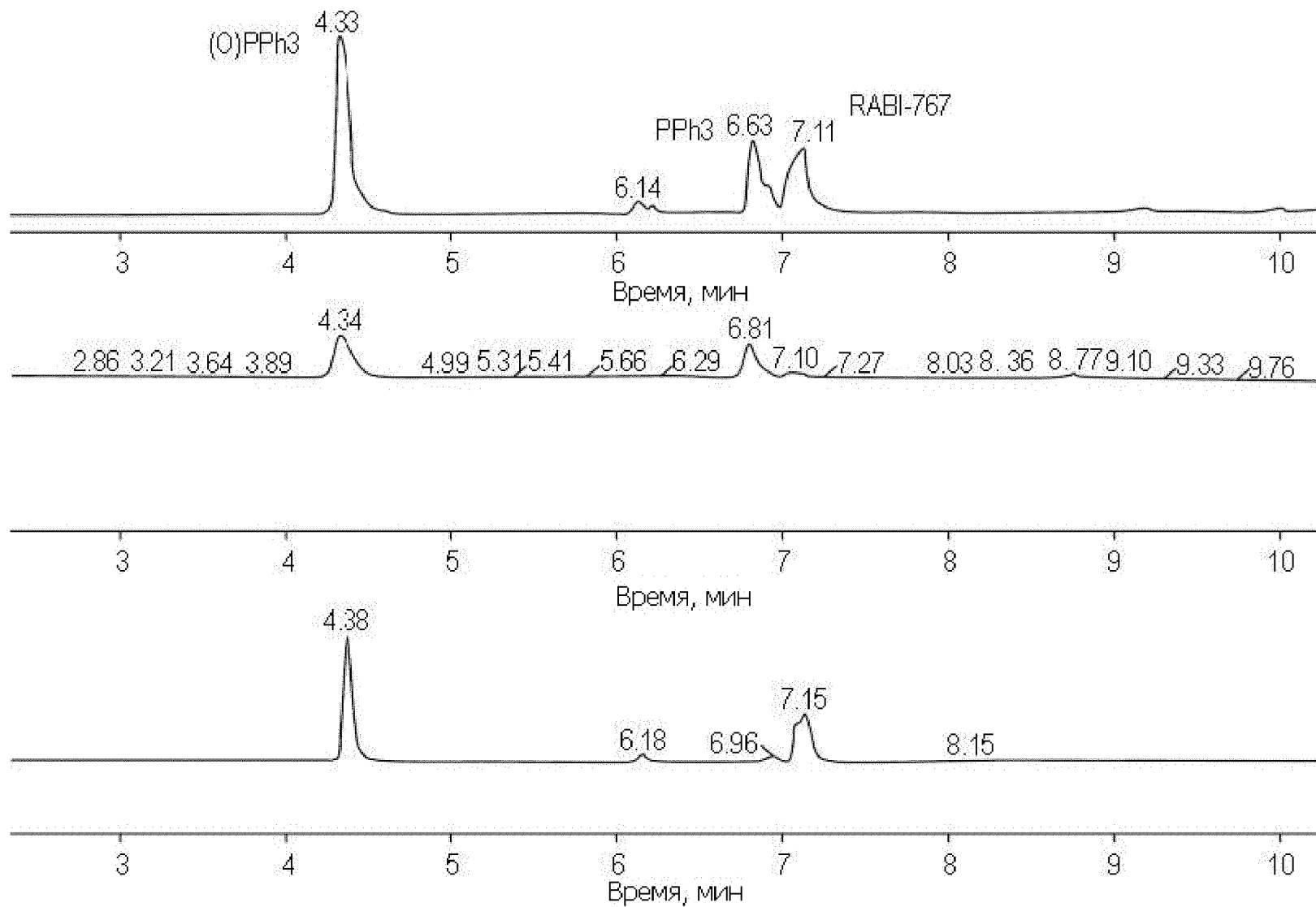
ФИГ. 23



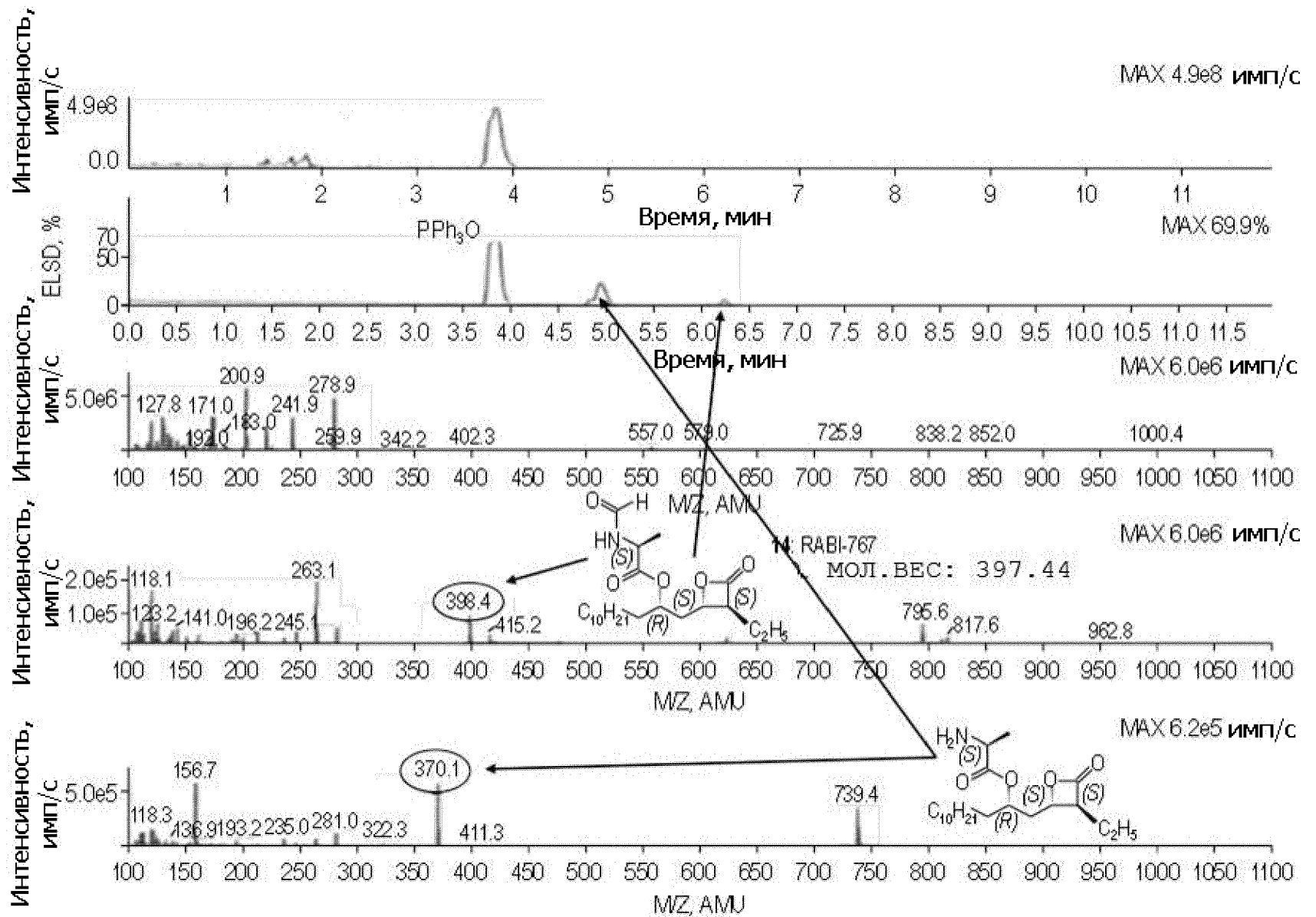
ФИГ. 24



ФИГ. 25

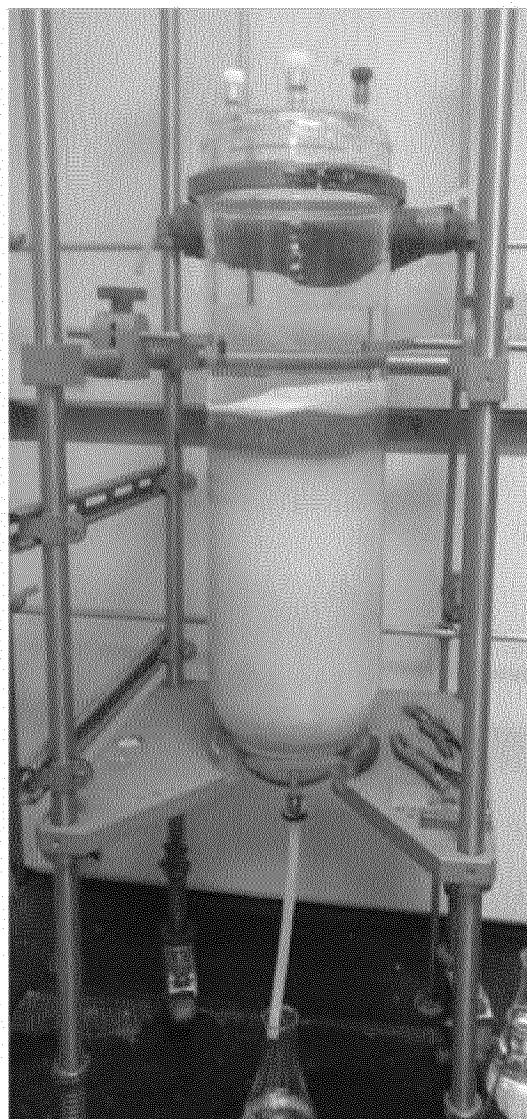


ФИГ. 26

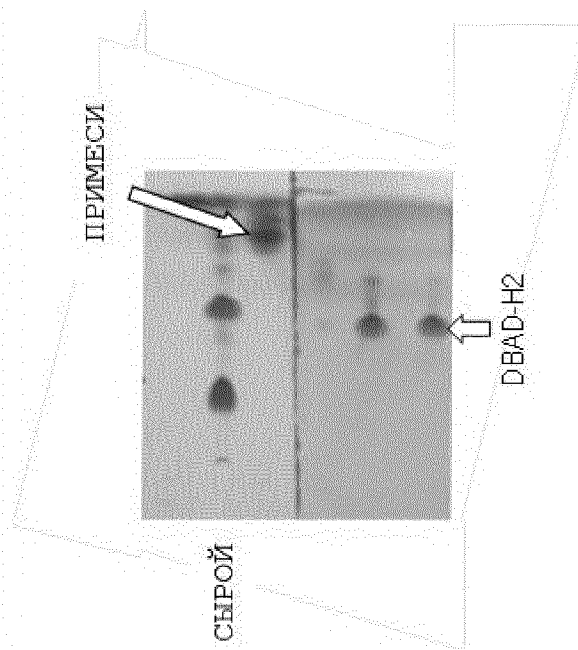


25/30

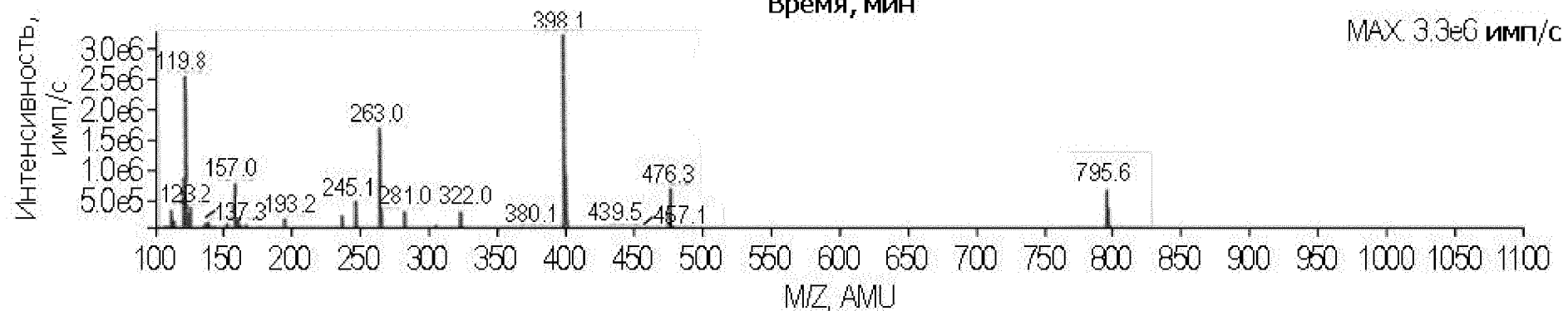
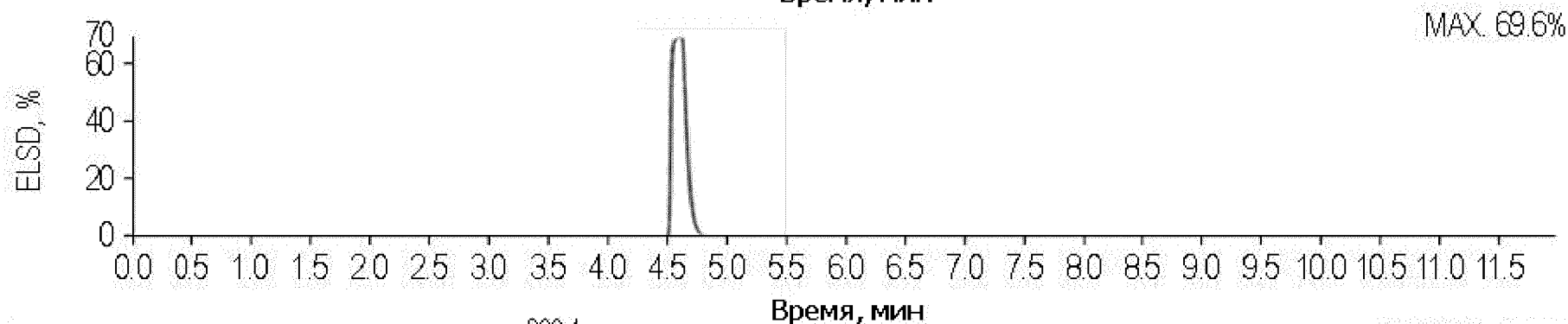
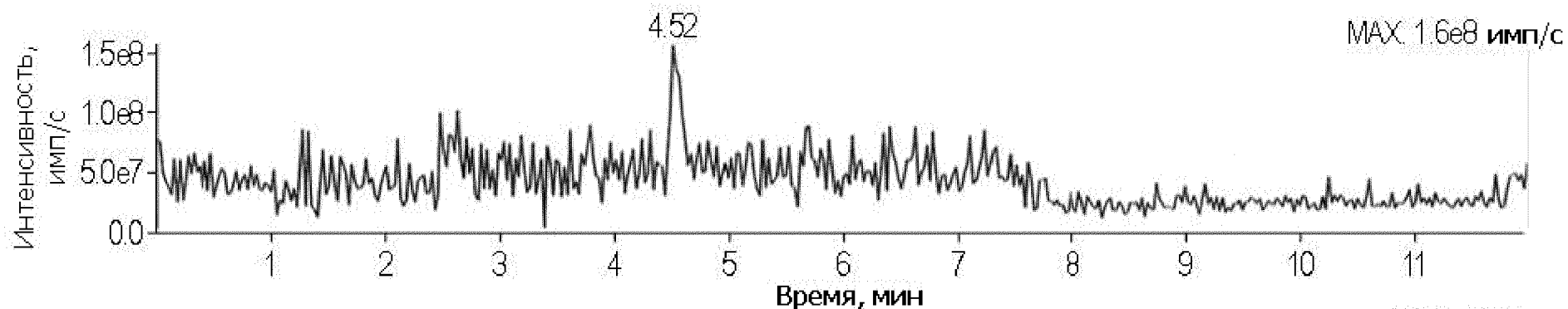
ФИГ. 27



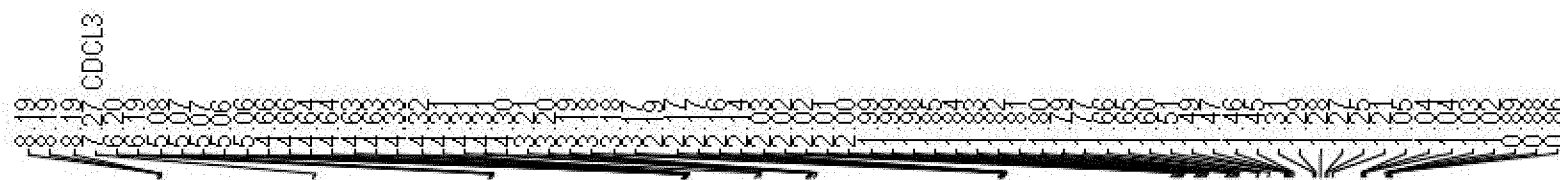
ФИГ. 28А



ФИГ. 28В

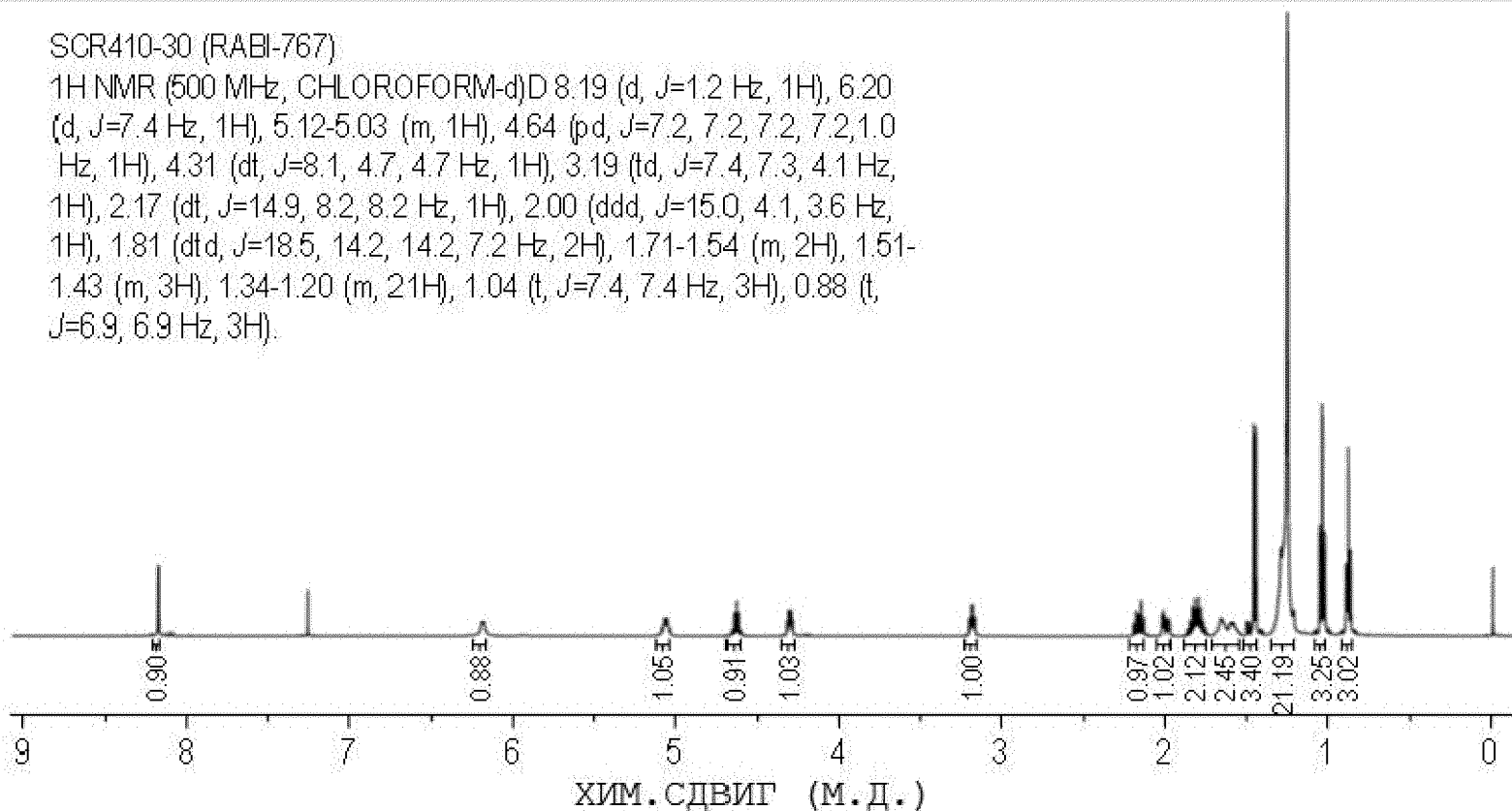


ФИГ. 29



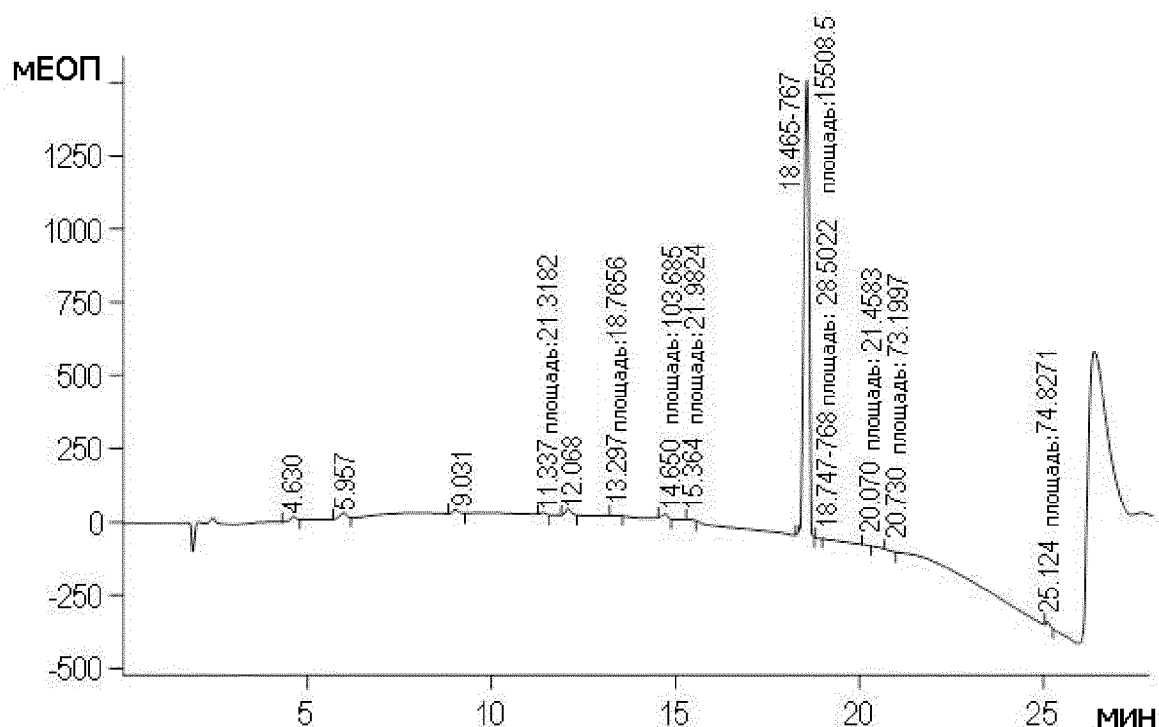
SCR410-30 (RABI-767)

¹H NMR (500 MHz, CHLOROFORM-d) 8.19 (d, $J=1.2$ Hz, 1H), 6.20 (d, $J=7.4$ Hz, 1H), 5.12-5.03 (m, 1H), 4.64 (pd, $J=7.2, 7.2, 7.2, 1.0$ Hz, 1H), 4.31 (dt, $J=8.1, 4.7, 4.7$ Hz, 1H), 3.19 (td, $J=7.4, 7.3, 4.1$ Hz, 1H), 2.17 (dt, $J=14.9, 8.2, 8.2$ Hz, 1H), 2.00 (ddd, $J=15.0, 4.1, 3.6$ Hz, 1H), 1.81 (ddd, $J=18.5, 14.2, 14.2, 7.2$ Hz, 2H), 1.71-1.54 (m, 2H), 1.51-1.43 (m, 3H), 1.34-1.20 (m, 21H), 1.04 (t, $J=7.4, 7.4$ Hz, 3H), 0.88 (t, $J=6.9, 6.9$ Hz, 3H).



ХИМ. СДВИГ (М.Д.)

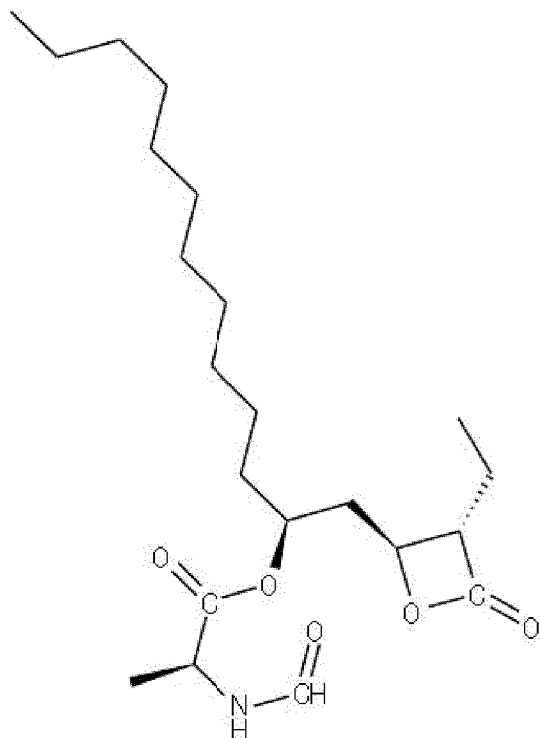
ФИГ. 30



ФИГ. 31

Пик №	Время удерживания (МИН)	Тип	Ширина (МИН)	площадь (МЕОП*S)	площадь %	Название
1	4.630	ВВ	0.1578	102.40739	0.6278	?
2	5.957	ВВ	0.1656	132.14258	0.8101	?
3	9.031	ВВ	0.1721	79.90495	0.4899	?
4	11.337	ММ	0.1672	21.31818	0.1307	?
5	12.068	ВВ	0.1456	123.97527	0.7600	?
6	13.297	ММ	0.1871	18.76562	0.1150	?
7	14.650	ММ	0.1606	103.68544	0.6357	?
8	15.364	ММ	0.1484	21.98244	0.1348	?
9	18.465	МФ	0.1665	1.55085e4	95.0761	767
10	18.737	ММ	0.1379	29.50220	0.1809	768
11	20.070	ММ	0.1427	21.45829	0.1316	?
12	20.730	ММ	0.1670	73.19973	0.4480	?
13	25.124	ММ	0.1062	74.82709	0.4587	?
Итого:				1.63117e4		

ФИГ. 32



(S)-1-((2S,3S)-3-ЭТИЛ-4-ОКСОКСЕТАН-2-ИЛ)ТРИДЕКАН-2-ИЛ ФОРМИЛ-L-АЛАНИНАТ

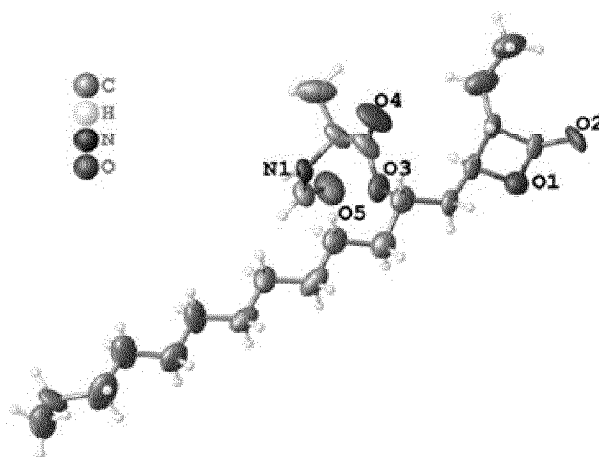
ХИМИЧЕСКАЯ ФОРМУЛА: $C_{22}H_{39}NO_5$

ТОЧНАЯ МАССА: 397.28

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ВЕС: 397.56

M/Z: 397.28 (100.0%), 398.29 (24.4%), 399.29 (3.9%)

ЭЛЕМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ: С, 66.47; Н, 9.89; N, 3.52; O, 20.12



ФИГ. 33