

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392987** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.02.07

(51) Int. Cl. *C07K 1/02* (2006.01)
C07K 5/12 (2006.01)
C07K 7/50 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.05.06

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ, СОДЕРЖАЩЕГО N-ЗАМЕЩЕННЫЙ АМИНОКИСЛОТНЫЙ ОСТАТОК**

(31) 2021-079014; 2021-188473

(32) 2021.05.07; 2021.11.19

(33) JP

(86) PCT/JP2022/019606

(87) WO 2022/234864 2022.11.10

(71) Заявитель:
**ЧУГАИ СЕЙЯКУ КАБУСИКИ
КАЙСЯ (JP)**

(72) Изобретатель:

**Хоу Цзэнъе, Сэто Кэнтаро, Танака
Кота, Аоки Масахидэ, Сакон Ая (JP)**

(74) Представитель:

**Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) В изобретении описано, что циклическое пептидное соединение можно получить эффективным образом путем связывания N-концевого аминокислотного остатка, содержащегося в пептидном соединении, и C-концевого аминокислотного остатка, содержащегося в пептидном соединении, в растворителе, включающем один или большее количество выбранных из группы, состоящей из следующих: несмешивающиеся с водой растворители, растворимые в воде алкилнитрилы и растворимые в воде простые эфиры.

202392987

A1

A1

202392987

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЦИКЛИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ, СОДЕРЖАЩЕГО N-ЗАМЕЩЕННЫЙ АМИНОКИСЛОТНЫЙ ОСТАТОК

5

[Область техники, к которой относится изобретение]

Настоящее изобретение относится к способам получения циклического соединения, содержащего N-замещенный аминокислотный остаток.

[Уровень техники]

10

Считается, что обычные соединения, используемые в качестве лекарственных средств для перорального введения, предпочтительно должны обладать молекулярной массой, равной 500 г/моль или менее, это правило известно, как правило Липинского (НПЛ 1). В последние годы стало известно, что соединения, обладающие молекулярной массой, равной более 500 г/моль, могут способствовать ингибированию взаимодействий на поверхности целевых белков, таких как белок-белковые взаимодействия, на которое затруднительно воздействовать с использованием обычных обладающих небольшими молекулами соединений, и которые считаются сложными мишенями. Эти молекулы называются соединениями, обладающими средней молекулярной массой (молекулярной массой, равной от 500 до 2000 г/моль), они не являются ни небольшими молекулами, обладающими молекулярной массой, равной более 500 г/моль или менее, использующимися в качестве лекарственных средств для перорального введения, ни полимерными молекулами, обладающими молекулярной массой, равной более 100000 г/моль, такие как фармацевтические средства на основе антител, и они стали известны, как новые средства, которые могут обеспечить создание лекарственных средств, предназначенных для воздействия на сложные мишени (НПЛ 2).

15

20

25

30

Пептиды, состоящие из природных аминокислот, такие как инсулин, использующийся для лечения гипергликемии, обладают плохой метаболической стабильностью и их обычно затруднительно приготовить в виде лекарственных средств для перорального введения. Однако установлено, что метаболическая стабильность и проницаемость мембран пептидов улучшаются при циклизации пептида и при включении в пептид неприродных аминокислот, таких как N-метиламинокислоты (НПЛ 3 и 4).

Обнаружено, что из числа циклических пептидов, содержащих
неприродные аминокислоты, циклические пептиды, в частности, содержащие N-
замещенные аминокислоты, могут характеризоваться метаболической
стабильностью и проницаемостью мембран, или, другими словами, они могут
5 являться сходными с лекарственными средствами (ПТЛ 1).

Полагают, что циклические пептидные соединения, содержащие
неприродные аминокислоты, применимы для разработки ингибиторов белок-
белковых взаимодействий (НПЛ 5).

Поскольку пептиды все в большей степени рассматривают, как важные
10 лекарственные средства, все более интенсивно исследуют методики их синтеза
(НПЛ 6). Синтез пептида проводят путем последовательной реакции
аминокислот с образованием амидной связи, при этом происходит удлинение
необходимой аминокислотной последовательности. Однако при получении
пептида, последовательность которого содержит неприродные аминокислоты, в
15 частности, N-метиламинокислоты, возникают такие затруднения, как
уменьшенный выход искомого продукта вследствие, например, их низкой
реакционной способности при проведении реакции конденсации ввиду
стерических затруднений, обусловленных наличием N-метильной группы, и
рацемизация аминокислотных остатков в α -положении (НПЛ 7). Хотя при
20 проведении синтеза пептидов широко используют галогенированные
углеводородные растворители (например, дихлорметан) и амидные растворители
(например, ДМФ (N,N-диметилформамид)), при синтезе пептидов с
использованием обладающих низкой реакционной способностью аминокислот,
таких как N-замещенные аминокислоты, могут протекать такие побочные
25 реакции (НПЛ 8). Кроме того, на использование галогенированных
углеводородных растворителей (например, дихлорметана) и амидных
растворителей (например, ДМФ) налагаются ограничения вследствие их
неблагоприятного воздействия на окружающую среду (НПЛ 9).

[Список цитированной литературы]

30 [Патентная литература]

[ПТЛ 1] WO 2013/100132

[Непатентная литература]

[НПЛ 1] Adv. Drug Del. Rev. 1997, 23, 3-25.

[НПЛ 2] Future Med. Chem., 2009, 1, 1289-1310.

[НПЛ 3] Acc. Chem. Res., 2008, 41, 1331-1342.

[НПЛ 4] Angew. Chem. Int. Ed., 2013, 52, 254-269.

[НПЛ 5] Chem. Rev., 2019, 119, 10360-10391.

[НПЛ 6] Аминогруппы Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry:
5 Building Blocks, Catalysis and Coupling Chemistry, Volume 3, 2011.

[НПЛ 7] J. Peptide Res., 2005, 65, 153-166.

[НПЛ 8] Side Reactions in Peptide Synthesis, Academic Press, 2015.

[НПЛ 9] Green Chem. Lett. Rev., 2021, 14, 153-164.

[Краткое изложение сущности изобретения]

10 [Техническая задача]

Основой настоящего изобретения являются положения, описанные выше.

В одном объекте задачей настоящего изобретения является разработка способа
эффективного получения пептидного соединения, в частности, линейного или
циклического пептидного соединения, содержащего множество неприродных
15 аминокислот, таких как N-замещенные аминокислоты, с использованием
методики, применимой для получения в крупном масштабе, в котором
промежуточные продукты не выделяют, например, до проведения последующей
стадии реакции, если она включена. В одном объекте задачей настоящего
изобретения является разработка способа выделения и очистки искомого
20 циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата без
использования колоночной хроматографии. В одном объекте задачей настоящего
изобретения является разработка способа удаления стабилизирующих агентов
(например, антиоксидантов, таких как БМФ (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол),
содержащихся в растворителях, без выделения продуктов, полученных на
25 каждой стадии, проводимого путем промывки растворителем, который
растворяет стабилизирующие агенты. В одном объекте задачей настоящего
изобретения является разработка способа уменьшения рабочего времени
проведения каждой стадии и проведения следующей стадии без остановки без
выделения пептидного соединения, например, промежуточных продуктов,
30 полученных на отдельных стадиях проведения реакций, в частности, линейного
или циклического пептидного соединения, содержащего множество
неприродных аминокислот, таких как N-замещенные аминокислоты.
Соответственно, как это разъяснено в настоящем изобретении, одной задачей
настоящего изобретения является разработка способов получения химических

соединений, который может включать одну или большее количество стадий проведения реакций, включающего использование растворителей. способных растворять стабилизирующие агенты.

Синтез пептидов обычно проводят путем повторения стадии связывания С-концевой карбоксигруппы, содержащейся в аминокислоте или пептиде, обеспечивая таким образом удлинение пептидной цепи. В ходе проведения этой стадии могут протекать различные побочные реакции (Side Reactions in Peptide Synthesis, Academic Press, 2015). Поэтому обычной практикой при проведении синтеза пептидов, в частности, при проведении жидкофазного синтеза пептидов, является выделение и очистка продукта, проводимые между стадиями удлинения и до стадии циклизации. Однако при синтезе пептидов в промышленном масштабе, поскольку выделение и очистка промежуточных продуктов приводит к увеличению продолжительности синтеза и увеличению затрат, необходимо, чтобы последующие реакции удлинения и циклизации можно было провести без выделения и очистки промежуточных продуктов до получения искомого пептида.

При этом при проведении реакции удлинения пептидной цепи карбоксигруппа, содержащаяся в аминокислоте или пептиде, часто содержит защитную группу, и ω -цепь аминокислоты также часто содержит защитную группу (Nobuo IZUMIYA, Principle and Practice of Peptide Synthesis, Maruzen (1985)). Такие содержащие защитные группы аминокислоты и пептиды легко осаждаются из растворов реакционных смесей и они часто нерастворимы в органических растворителях (WO 2017/038650, WO 2018/021233, WO 2018/155669, WO 2019/123994 и WO 2017/221889). Не содержащие защитные группы аминокислоты и пептиды также затруднительно растворить в органических растворителях вследствие их гидрофильности. Кроме того, во многих случаях при удлинении пептидной цепи усиливается агрегация, приводящая к уменьшению растворимости пептидного соединения (Kagaku To Seibutsu (Chemistry and Biology), 2018, 56(8): 558; J. Biol. Chem., 1963, 238: 4074; и Sci Rep, 2016, 6(28): 1).

Для растворения этих аминокислот и пептидов при проведении реакций синтеза пептидов используют растворители, обладающие высокой растворяющей способностью, такие как ДМФ и диметилсульфоксид. Также часто используют дихлорметан, который обладает превосходной растворяющей способностью.

Так, например, сообщали, что ДМФ и дихлорметан используют в 47% и 36% случаях проведения всех реакций синтеза пептидов соответственно; таким образом, количество случаев использования этих растворителей суммарно составляет 83% (Green Chem., 2013, 15, 596-600).

5 Однако, поскольку дихлорметан является токсичным и на использование ДМФ налагаются законодательные ограничения в зависимости от
используемого количества, следует избегать использование этих
растворителей при промышленном производстве. Кроме того, поскольку ДМФ и
диметилсульфоксид разлагаются под действием тепла и обладают высокими
10 температурами кипения, их затруднительно удалить, если они содержатся в
исскомом продукте в качестве примесей. Кроме того, диметиламин,
образующийся при разложении ДМФ, может участвовать в реакции удлинения
пептида и поэтому его наличие может привести к образованию нежелательных
побочных продуктов (Side Reactions in Peptide Synthesis, Academic Press, 2015.).
15 Затруднение также представляет неприятный запах диметилсульфида,
образующегося из диметилсульфоксида.

В частности, при производстве в промышленном масштабе, при котором
используют большие количества растворителей и необходимо длительное время
и существенное нагревание для их удаления, очевидно, что это вызывает
20 увеличение количества продуктов разложения. Поэтому важно найти
растворитель, который является термически стабильным при его удалении путем
отгонки, и в котором эффективно протекают реакции удлинения и циклизации
пептидной цепи.

Поскольку ДМФ и диметилсульфоксид обладают высокой растворимостью
25 в воде и являются смешивающимися с водой, вместе с этими органическими
растворителями в водные фазы иногда перемещаются искомые продукты, это
приводит к уменьшению выходов. Это также делает неэффективной процедуру
разделения жидкостей. Так, например, если вода попадает в органическую фазу,
то после перегонки она остается в органическом растворителе, содержащем
30 искомый продукт и в некоторых случаях вызывает гидролиз пептидных связей
(Side Reactions in Peptide Synthesis, Academic Press, 2015.).

В способах промышленного производства, в которых для отгонки
растворителей необходимо более длительное время, существуют затруднения,

связанные не только с уменьшенными выходами, но и с высокой вероятностью протекания побочных реакций, вызванных загрязнением водой.

Таким образом, необходимо разработать методику получения органической фазы, которую можно хорошо отделить от водных фаз при
5 проведению процедуры разделения жидкостей, и найти растворитель, который обеспечивает возможность проведения синтеза пептидов и в меньшей степени смешивается с водой вследствие его низкой растворимости в воде.

Кроме того, некоторые растворители могут содержать стабилизирующие агенты (например, антиоксиданты, такие как БМФ). При проведении синтеза в
10 малом масштабе или синтеза, включающего небольшое количества стадий, стабилизирующие агенты в совокупности не остаются в больших количествах и не являются существенными, как примеси. Однако, если количество стадий или объем при производстве увеличивается, стабилизирующие агенты могут оставаться в таких большим количествах, что невозможно не учитывать их
15 влияние на протекание последующих реакций (например, стабилизирующие агенты, содержащиеся в промежуточном продукте, могут влиять на протекание химической реакции, проводимой на следующей стадии, или стабилизирующие агенты, содержащиеся конечном искомом соединении, таком как активный фармацевтический ингредиент, могут оказывать непредвиденное воздействие,
20 отличающееся от фармакологического воздействия). Если промежуточные продукты выделяют и очищают, то при проведении этих процедур стабилизирующие агенты удаляют. Однако в случае способов промышленного производства, в которых предпочтительно избегают проведение таких процедур, стабилизирующие агенты могут накапливаться в промежуточном продукте и в
25 конечном соединении. Для способов промышленного производства необходимо разработать общую методику удаления стабилизирующих агентов эффективным образом.

При синтезе конечного продукта, проводимом путем последовательного удлинения пептидной цепи без выделения и очистки промежуточных продуктов,
30 каждую стадию конденсации, удаления защитной группы или подобную стадию необходимо проводить при таких условиях проведения реакции, при которых предотвращено протекание побочных реакций, и для проведения следующей стадии необходима лишь такая обработка, как разделение жидкостей. В частности, в случае синтеза пептидов в промышленном масштабе очистка

искомых продуктов с помощью колоночной хроматографии является неэффективной. Таким образом, необходима методика получения неочищенного продукта, который можно очистить с помощью кристаллизации, а не с помощью колоночной хроматографии, или методика получения искомого продукта путем проведения лишь такой обработки, как разделение жидкостей. Также необходимо разработать новые условия проведения реакции или обработки, предназначенные для этих методик.

[Решение задачи]

В результате тщательных исследований, направленных на решение указанных выше задач, авторы настоящего изобретения обнаружили конкретные растворители, применимые для синтеза пептидов, которые отличаются от обычных, в основном используемых растворителей, включающих ДМФ, дихлорметан и диметилсульфоксид, например, такие, которые удовлетворяют следующим требованиям: (i) они устойчивы к разложению под действием тепла; (ii) они хорошо отделяются от водной фазы при проведении процедур разделения жидкостей; и (iii) они обеспечивают возможность протекания реакций удлинения пептидной цепи и кристаллизации в достаточной степени. Растворители, применимые в способах, описанных в настоящем изобретении, могут являться устойчивыми к разложению под действием тепла. Такую устойчивость предпочтительно определяют путем исследования стабильности растворителей при определенной температуре с использованием измерительного прибора (например, ГХ (газовый хроматограф), ЖХ (жидкостной хроматограф) или прибор для ЯМР (ядерный магнитный резонанс), предпочтительно ГХ). Особенно подходящие растворители могут обладать устойчивостью при высокой температуре (например, оставаться стабильными при температуре, равной примерно температуре кипения, в течение 48 ч, или оставаться стабильными при температуре, равной примерно комнатной температуре, в течение 2 месяцев, предпочтительно оставаться стабильными при температуре, равной примерно температуре кипения, в течение 48 ч) и сохранять их чистоту, составляющую более 99%, предпочтительно более 99,9%, при определенных условиях, описанных выше. Растворители, предлагаемые в настоящем изобретении, могут хорошо отделяться от водных фаз при проведении процедур разделения жидкостей. Такое отделение предпочтительно можно определить путем смешивания равных количеств растворителя и воды в делительной воронке,

сосуде для проведения реакции или реакторе при температуре, равной примерно комнатной температуре (например, равной от 15 до 40°C, предпочтительно от 20 до 30°C), и выдерживания в течение 30 мин, предпочтительно в течение 15 мин. Растворители, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обеспечить

5 возможность протекания реакций удлинения пептидной цепи и кристаллизации в достаточной степени. Такое протекание реакций предпочтительно можно определить на основании химического выхода искомого продукта или степени химического превращения исходного вещества в искомый продукт с

10 использованием измерительного прибора (например, ГХ, ЖХ или прибора для ЯМР, предпочтительно ГХ). Особенно подходящие растворители могут обеспечить химический выход, составляющий от 70 до 100%, и степень химического превращения, составляющую от более 70 до 100%,

15 предпочтительно химический выход и степень химического превращения, составляющие от более 80 до 100%. Более предпочтительно, если растворители, предлагаемые в настоящем изобретении, могут оставаться стабильными при температуре, равной примерно температуре кипения, в течение 48 ч, хорошо отделяться от водных фаз при температуре, равной от 20 до 30°C, в течение 15 мин, и обеспечивать химический выход и степень химического превращения

20 исходного вещества, составляющие от более 80 до 100%. Если один или большее количество растворителей, которые соответствуют этим требованиям, используют в комбинации, подходящей для проведения каждой реакции или последующей обработки реакционной смеси, то последовательное удлинение пептидных цепей, циклизацию пептидных соединений и удаление стабилизирующих агентов, содержащихся в растворителях, можно обеспечить

25 путем проведения лишь простых процедур, таких как разделение и фильтрование, без выделения промежуточных продуктов. Это означает, что отсутствует необходимость выделения промежуточного продукта (продуктов), использующегося в последующей реакции, как это принято в данной области техники, например, в виде отдельного продукта. В соответствии с настоящим

30 изобретением раствор использующийся в последующей реакции, содержит промежуточные продукты (продукт, полученный при проведении предыдущей реакции) и может дополнительно содержать один или большее количество реагентов или веществ, использовавшихся при проведении предыдущей реакции,

где один или большее количество реагентов или веществ можно растворить до проведения последующей реакции. Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что при проведении процедур разделения жидкостей органические или водные фазы можно эффективно промыть с использованием конкретных водных растворов или органических растворителей. Авторы настоящего изобретения дополнительно обнаружили, что циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, проводимым без выделения и очистки промежуточных продуктов, можно выделить и очистить путем кристаллизации, а не с помощью колоночной хроматографии, и получить циклическое пептидное соединение или его соль, или его сольват, и кристалл циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата. Кроме того, авторы настоящего изобретения обнаружили условия проведения реакции, при которых предотвращено или уменьшено образование побочных продуктов при проведении каждой реакции конденсации и удаления защитной группы.

В одном неограничивающем варианте осуществления в объем настоящего изобретения входит следующее:

[1] Способ получения циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата, проводимый по жидкофазной методике, включающий связывание N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка, содержащихся в пептидном соединении, в растворителе (растворитель А), который включает один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: один или большее количество несмешивающихся с водой растворителей, один или большее количество растворимых в воде алкилнитрилов и один или большее количество растворимых в воде простых эфиров.

[1-1] Способ, соответствующий параграфу [1], где растворитель А включает один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: 2-Ме-ТГФ, ТГФ (тетрагидрофуран), 4-метилтетрагидропиран, МТБЭ (метил-трет-бутиловый эфир), ЦПМЭ (циклопентилметиловый эфир), диметилкарбонат, этилацетат, изопропилацетат, анизол, MeCN, гептан и толуол.

[2] Способ, соответствующий параграфу [1], где N-концевой аминокислотный остаток и C-концевой аминокислотный остаток связаны

амидной связью или связью, выбранной из числа следующих: $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ или $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{O})_2(\text{CH}_2)_m-$, где n и m все независимо равны 1 или 2.

5 [3] Способ, соответствующий параграфу [1] или [2], где циклическое пептидное соединение содержит от 8 до 20 аминокислотных остатков и где по меньшей мере один из аминокислотных остатков является неприродным аминокислотным остатком.

10 [4] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [3], где циклическое пептидное соединение содержит от 9 до 15 аминокислотных остатков и где по меньшей мере один из аминокислотных остатков является неприродным аминокислотным остатком.

[5] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [4], где циклическое пептидное соединение содержит по меньшей мере один N-замещенный неприродный аминокислотный остаток.

15 [6] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [5], где циклическое пептидное соединение содержит по меньшей мере один не являющийся N-замещенным неприродный аминокислотный остаток.

20 [7] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [6], где циклическое пептидное соединение содержит по меньшей мере один α,α -дизамещенный аминокислотный остаток.

[8] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [7], где C-концевой аминокислотный остаток или N-концевой аминокислотный остаток, или они оба являются аминокислотными остатками, которые не содержат асимметрический атом углерода в положении α -углеродного атома карбоксигруппы.

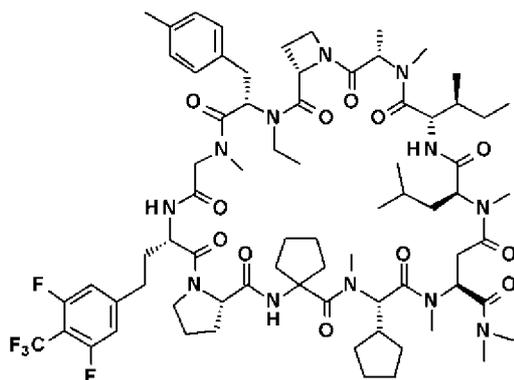
[9] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [8], где C-концевой аминокислотный остаток является аминокислотным остатком, который не содержит асимметрический атом углерода в положении α -углеродного атома карбоксигруппы.

30 [10] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [9], где N-концевой аминокислотный остаток представляет собой не являющийся N-замещенным аминокислотный остаток.

[11] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [10], где циклическое пептидное соединение или его соль, или его сольват представляет собой сольват циклического пептидного соединения.

[12] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [11], где сольват циклического пептидного соединения представляет собой гидрат циклического пептидного соединения.

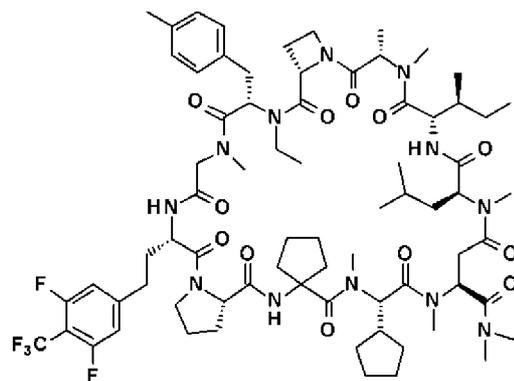
[13] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [12], где циклическое пептидное соединение описывается приведенной ниже формулой:



[14] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [13], где для выделения и/или очистки циклического пептидного соединения не используют колоночную хроматографию.

[15] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [14], дополнительно включающий выделение и/или очистку циклического пептидного соединения путем кристаллизации с получением кристалла циклического пептидного соединения.

[16] Способ, соответствующий параграфу [15], где кристалл циклического пептидного соединения представляет собой кристалл несольватированной формы или кристалл сольвата циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



[17] Способ, соответствующий параграфу [16], где кристалл сольвата циклического пептидного соединения представляет собой кристалл гидрата.

[18] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 7 пиков при углах дифракции (значениях 2θ),
5 выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

[18-1] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой
10 рентгенограмме, включающими 8 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

[18-2] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой
15 рентгенограмме, включающими 9 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

[18-3] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой
20 рентгенограмме, включающими 10 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

[18-4] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой
30 рентгенограмме, включающими 11 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

[18-5] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 12 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[18-6] Способ, соответствующий параграфу [17], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[19] Способ, соответствующий параграфу [16], где кристаллом несольватированной формы является кристалл формы F, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 5,370°, 6,934°, 8,940°, 9,838°, 10,771°, 12,181°, 13,525°, 15,179°, 16,202° и 17,554° ($\pm 0,2^\circ$).

[20] Способ, соответствующий параграфу [16], где кристаллом сольвата является кристалл сольвата гидрата с ДМСО (диметилсульфоксид) формы А, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 8,006°, 9,002°, 9,943°, 11,501°, 13,067°, 14,854°, 16,320°, 17,275°, 19,261° и 20,324° ($\pm 0,2^\circ$).

[21] Способ, соответствующий параграфу [16], где кристаллом сольвата является кристалл сольвата гидрата с ДМСО формы В, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 8,223°, 9,594°, 9,976°, 11,879°, 13,841°, 14,572°, 15,934°, 16,350°, 19,805° и 20,480° ($\pm 0,2^\circ$).

[22] Способ, соответствующий параграфу [16], где кристаллом сольвата является кристалл сольвата гидрата с ацетоном формы Н, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 7,942°, 8,283°, 8,861°, 10,097°, 10,491°, 11,805°, 12,673°, 12,830°, 13,514°, 13,855°, 15,853°, 16,405°, 16,642° и 17,772° ($\pm 0,2^\circ$).

[23] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [22], где растворитель А включает 2-Ме-ТГФ или состоит из него.

5 [23-1] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [22], где растворитель А включает один или большее количество несмешивающихся с водой растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: 2-Ме-ТГФ, 4-метилтетрагидропиран, МТБЭ, ЦПМЭ, диметилкарбонат, этилацетат, изопропилацетат, анизол, гептан и толуол.

10 [24] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [22], где растворитель А включает один или большее количество растворимых в воде алкилнитрилов, выбранных из группы, состоящей из следующих: ацетонитрил и пропионитрил.

15 [25] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [22], где растворитель А включает один или большее количество растворимых в воде простых эфиров, выбранных из группы, состоящей из следующих: ТГФ; 1,4-диоксан и диметоксиэтан.

[26] Способ получения пептидного соединения, проводимый по жидкофазной методике, включающий:
стадию 1: связывания защищенной по атому N аминокислоты или защищенного по атому N пептида с защищенной по атому С аминокислотой или защищенным по атому С пептидом;
20 стадию 2: проводимого после стадии 1 удаления защитной группы атома N; и необязательно многократное повторение стадий 1 и 2 с получением пептидного соединения;
где способ не включает выделение продукта, полученного на каждой из стадий 1
25 и 2.

[27] Способ, соответствующий параграфу [26], где пептидным соединением является линейное пептидное соединение.

[28] Способ, соответствующий параграфу [26] или [27], где пептидное соединение в качестве частичной структуры включает циклическую структуру.

30 [29] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [25], где растворитель А включает растворитель, оставшийся после получения пептидного соединения; и где пептидное соединение получают способом, соответствующим параграфу [26].

[30] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [29], где стадии 1 и 2 все проводят один раз или стадии 1 и 2 повторяют от 2 до 20 раз.

[31] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [30], где способ получения пептидного соединения дополнительно включает стадию 3
5 удаления защитной группы атома С.

[32] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [31], где заключительный цикл повторений не включает стадию 2.

[33] Способ, соответствующий параграфу [31] или [32], где в заключительном цикле повторений после стадии 1 проводят стадию 3.

[34] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [33], где
10 каждую из стадий, включенных в способ получения пептидного соединения, проводят в одном или большем количестве растворителей (растворитель В), независимо выбранных из группы, состоящей из следующих: толуол, ацетон, ДМФ, ацетонитрил, ТГФ, 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, анизол,
15 изопропилацетат, гептан, этилацетат и 4-метилтетрагидропиран.

[34-1] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [33], где растворитель В включает один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: 2-Ме-ТГФ, МТБЭ, изопропилацетат и этилацетат.

[35] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [34], где
20 обработка, проводимая на каждой из стадий, включенных в способ получения пептидного соединения, включает одну или большее количество процедур, выбранных из группы, состоящей из следующих: процедура разделения жидкостей, процедура фильтрования и процедура концентрирования.

[36] Способ, соответствующий параграфу [35], где несмешивающийся с
25 водой растворитель (растворитель С), растворимый в воде алкилнитрил и/или растворимый в воде простой эфир добавляют до проведения процедуры разделения жидкостей.

[37] Способ, соответствующий параграфу [36], где растворитель С
30 включает один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, анизол, изопропилацетат, этилацетат, МТБЭ, ЦПМЭ, 4-метилтетрагидропиран и гептан.

[38] Способ, соответствующий параграфу [36] или [37], где растворителем С является 2-Ме-ТГФ.

[39] Способ, соответствующий любому из параграфов [36] - [38], где растворитель С добавляют в количестве, которое обеспечивает разделение водной и органической фаз

5 [40] Способ, соответствующий параграфу [39], где количество, которое обеспечивает разделение равно примерно от 50 до 100 мас.% в пересчете на полное количество органической фазы.

[41] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [40], где органическая фаза содержит 2-Ме-ТГФ.

10 [42] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [40], где процедура разделения жидкостей включает процедуру промывки органической фазы.

[42-1] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [41], где процедура промывки включает процедуру промывки органической фазы, проводимую с использованием водного раствора, содержащего цитрат и дикалийгидрофосфат, или процедуру промывки водной фазы, проводимую с использованием 2-Ме-ТГФ, гептана, МТБЭ или изопропилацетата.

15 [43] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [42], где процедура промывки включает процедуру промывки органической фазы, проводимую с использованием смешанного раствора, содержащего ацетонитрил и водный раствор карбоната калия.

[44] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [43], где процедура разделения жидкостей включает процедуру промывки, проводимую с использованием водного раствора карбоната натрия, водного раствора гидросульфата натрия и/или водного раствора карбоната натрия.

25 [44-1] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [43] где процедура разделения жидкостей включает процедуру промывки, проводимую с использованием водного раствора карбоната натрия, водного раствора гидросульфата натрия и водного раствора карбоната натрия.

[45] Способ, соответствующий любому из параграфов [35] - [44], где после проведения процедуры разделения жидкостей органическая фаза содержит БМФ в количестве, равном 2% или менее в пересчете на количество искомого продукта.

[45-1] Способ, соответствующий любому из параграфов [1] - [23-1],

где (1) указанное пептидное соединение получают способом, соответствующим любому из параграфов [26] - [45]; и

где (2) указанный растворитель А дополнительно включает растворитель, используемый в способе, соответствующем любому из параграфов [35] - [45].

5 [46] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [45], где стадия 1 включает реакцию конденсации N-концевой аминогруппы защищенной по атому С аминокислоты или защищенного по атому С пептида с С-концевой карбоксигруппой защищенной по атому N аминокислоты или защищенного по атому N пептида.

10 [47] Способ, соответствующий параграфу [46], где карбоксигруппа является активированной.

[48] Способ, соответствующий параграфу [46], где стадию 1 проводят в присутствии конденсирующего реагента.

15 [49] Способ, соответствующий параграфу [48], где конденсирующий реагент включает конденсирующий реагент, выбранный из группы, состоящей из следующих: ТЗР (ангидрид пропилфосфоновой кислоты), EDCI (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид), ГАТУ (О-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийгексафторфосфат), СОМУ ((1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)диметиламиноморфолинокарбенийгексафторфосфат),
20 БЭП (2-бром-1-этилпиридинийтетрафторборат), РуВОР (1Н-бензотриазол-1-илокситрипирролидинофосфонийгексафторфосфат), ДМТ-ММ (4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолинийхлорид) и РуОxim ((этилциано(гидроксиимино)ацетато-О2)-три-(1-пирролидинил)фосфонийгексафторфосфат).

25 [50] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [49], где стадию 2 проводят путем каталитического гидрирования в присутствии катализатора.

[51] Способ, соответствующий параграфу [50], где катализатор выбран из числа следующих: Pd/C, Pd(OH)₂/C или PtO₂.

30 [52] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [49], где стадию 2 проводят в присутствии реагента для удаления защитной группы.

[53] Способ, соответствующий параграфу [52], где реагент для удаления защитной группы выбран из числа следующих: ТБАФ

(тетрабутиламмонийфторид), LiBH_4 , пиперидин, трифторуксусная кислота или метансульфоновая кислота.

[54] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [53], где защитная группа атома N выбрана из числа следующих: Cbz, п-нитробензилоксикарбонил, 2-нафтилметилоксикарбонил, дифенилметилоксикарбонил, 9-антриметилоксикарбонил, Теос, Вос, трифторацетил, Fmoc или Alloc.

[55] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [44], где стадию 3 проводят в присутствии реагента для удаления защитной группы.

[56] Способ, соответствующий параграфу [55], где реакцию удаления защитной группы проводят в кислой среде.

[57] Способ, соответствующий параграфу [56], где условия кислой среды обеспечены путем объединения ГМДС (1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазан) с реагентом, выбранным из группы, состоящей из следующих: TMSOTf (триметилсилилтрифторметансульфонат), TMSI (триметилсилилиодид), TMSBr (триметилсилилбромид) и TMSCl (триметилсилилхлорид).

[58] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [57], где защитная группа атома C выбрана из числа следующих: t-Bu, тритил, кумил, метил или этил.

[59] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [58], где защищенный по атому C пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба содержат от 2 до 20 аминокислотных остатков и где защищенный по атому C пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба содержат по меньшей мере один неприродный аминокислотный остаток.

[60] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [59], где защищенный по атому C пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба содержат по меньшей мере один N-замещенный аминокислотный остаток.

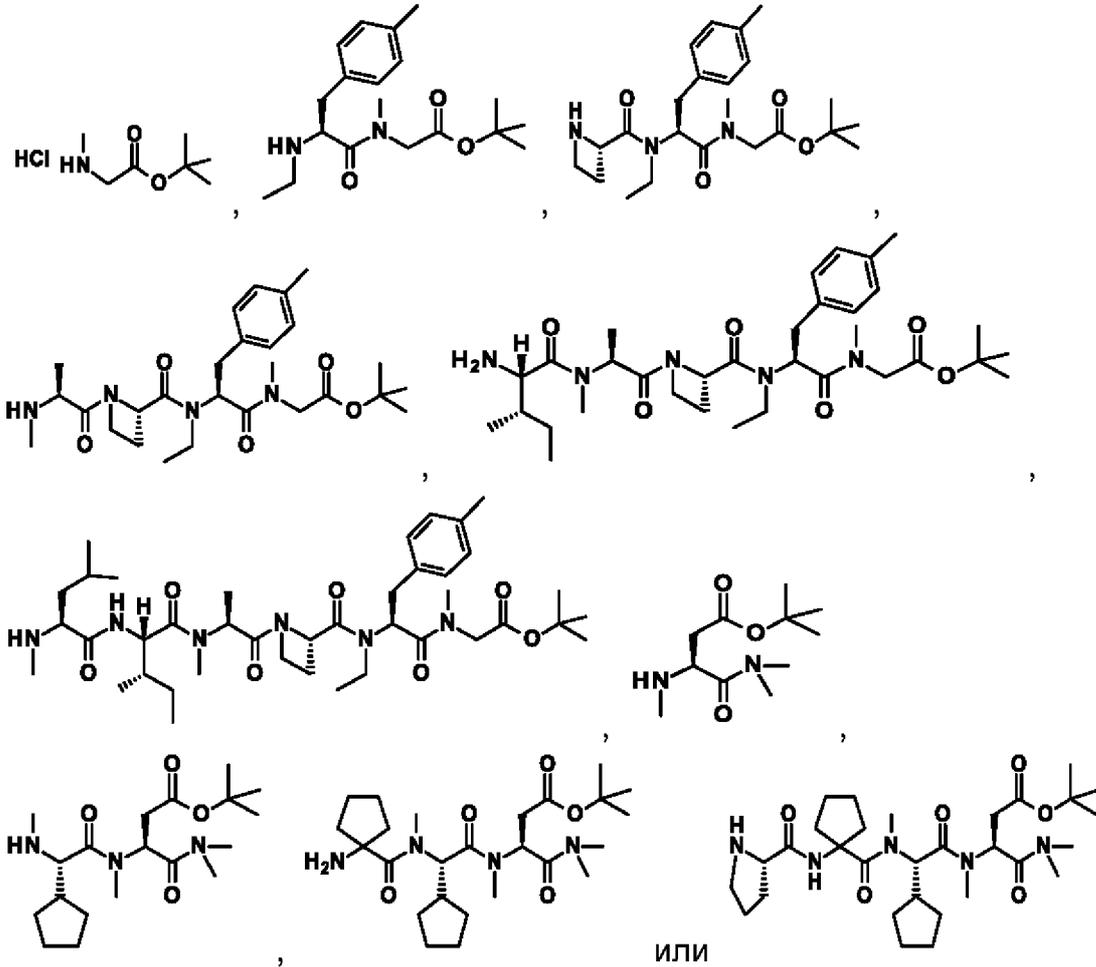
[61] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [60], где защищенный по атому C пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба содержат по меньшей мере один не являющийся N-замещенным неприродный аминокислотный остаток.

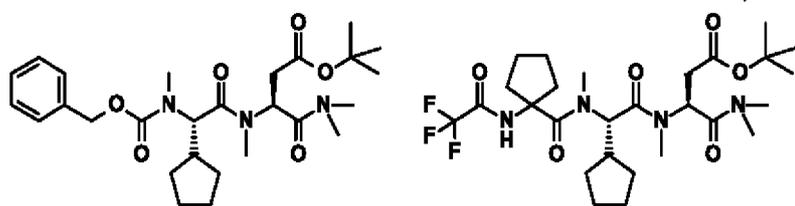
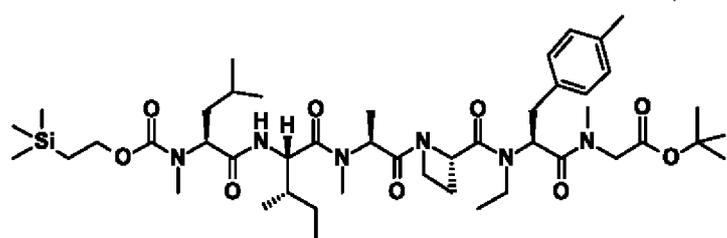
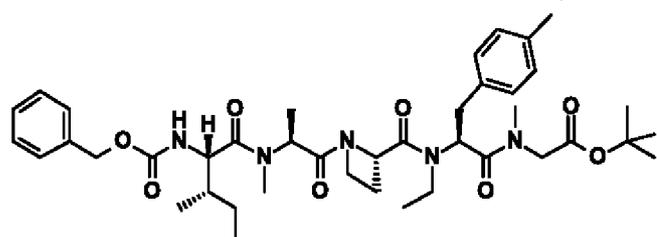
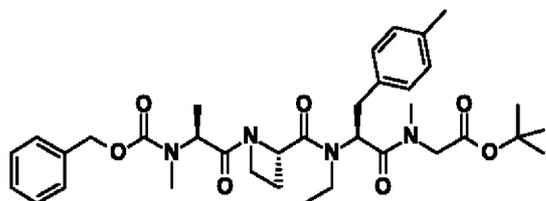
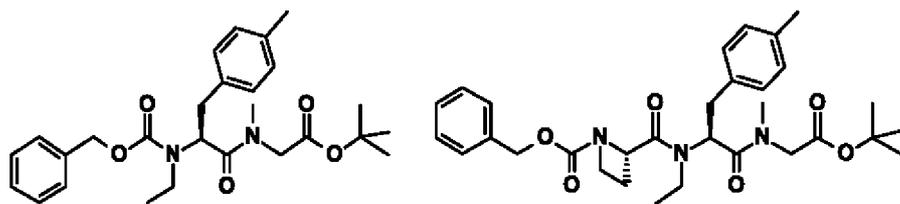
[62] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [61], где защищенный по атому C пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба, использующиеся на стадии 1 заключительного цикла повторений, содержат

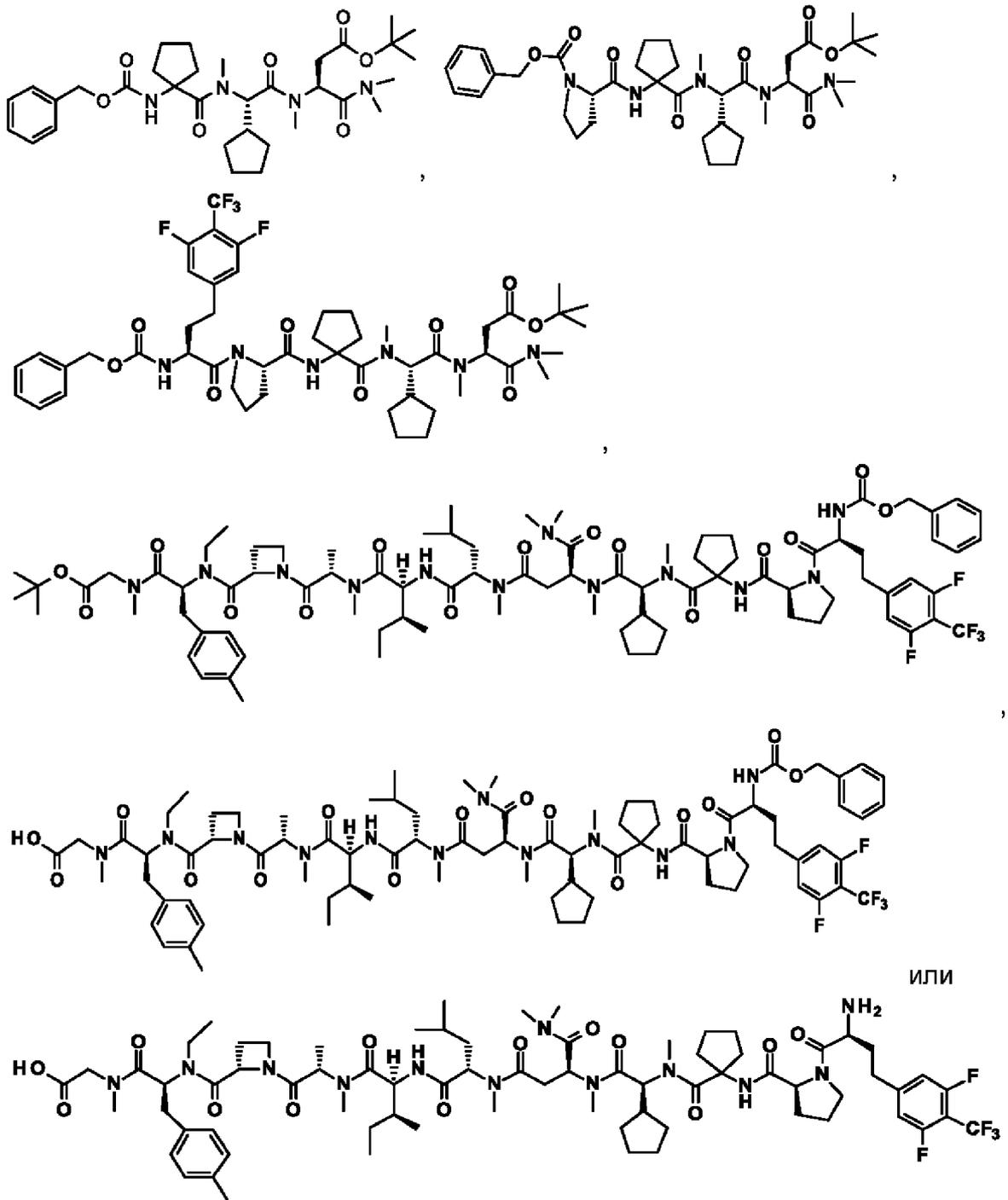
четыре или большее количество N-замещенных аминокислотных остатков или они содержат два или большее количество N-замещенных аминокислотных остатков и один или большее количество α,α -дизамещенных аминокислотных остатков.

- 5 [63] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [62], где защищенный по атому С пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба, используемые на стадии 1 заключительного цикла повторений, состоят из 5 или 6 аминокислотных остатков и содержат 4 или 5 неприродных аминокислотных остатков.
- 10 [64] Способ, соответствующий параграфу [63], где защищенным по атому С пептидом, используемым на стадии 1 заключительного цикла повторений, является MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGly, защищенный по атому С, и защищенным по атому N пептидом, используемым на стадии 1 заключительного цикла повторений, является Hph(4-CF₃-35F₂)-Pro-cLeu-
- 15 MeGly(cPent)-MeAsp-NMe₂, защищенный по атому N.

[65] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [61], где защищенной по атому С аминокислотой или ее солью, или защищенным по атому С пептидом или его солью является:

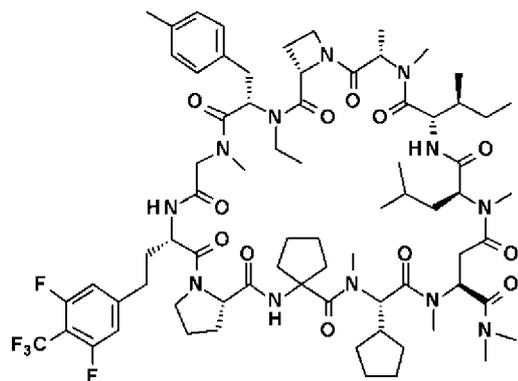






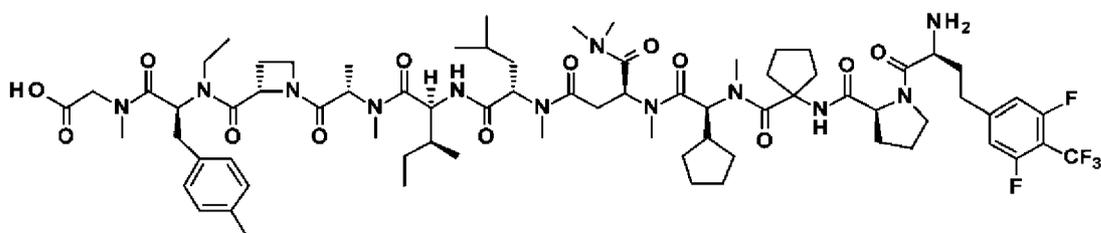
[68] Способ, соответствующий любому из параграфов [26] - [67], дополнительно включающий связывание N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка, содержащихся в пептидном соединении.

[69] Способ получения циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



или его соли, или его сольвата, где способ включает стадии:

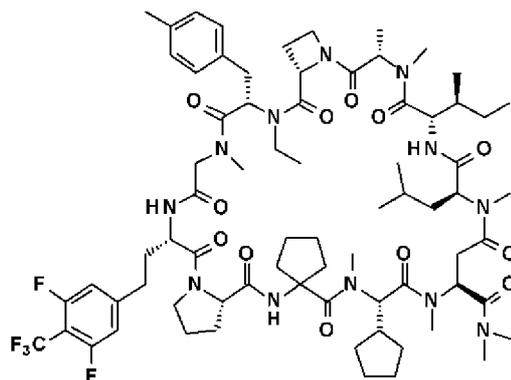
- 5 (1) получения линейного пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



; и

(2) связывания N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка.

- 10 [70] Соль, сольват или сольват соли циклического соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



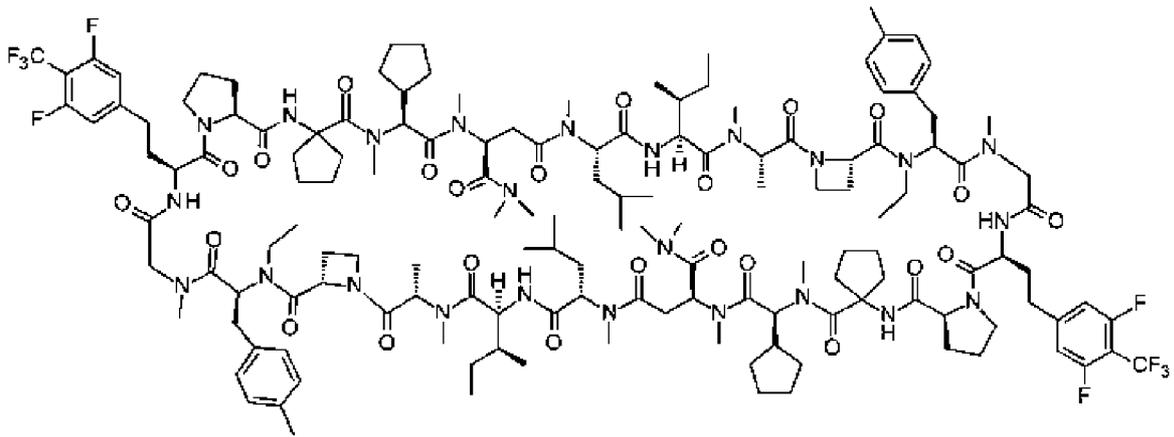
- 15 [70-1] Соединение, описывающееся формулой (1), или его соль, или его сольват, обладающий чистотой, составляющей 90% или более, например, 95% или более, 98% или более, 99% или более, определенной, как выраженное в % значение площади пика, полученное путем анализа с помощью ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) с УФ-детектированием при 210 нм.

[70-2] Обладающее высокой чистотой соединение, описываемое формулой (1), или его соль, или его сольват, характеризующийся тем, что он содержит менее 5% всех примесей, например, менее 2%, менее 1%, менее 0,5% или не поддающееся обнаружению количество всех примесей, определенное, как
5 выраженное в % значение площади пика, полученное путем анализа с помощью ВЭЖХ с УФ-детектированием при 210 нм.

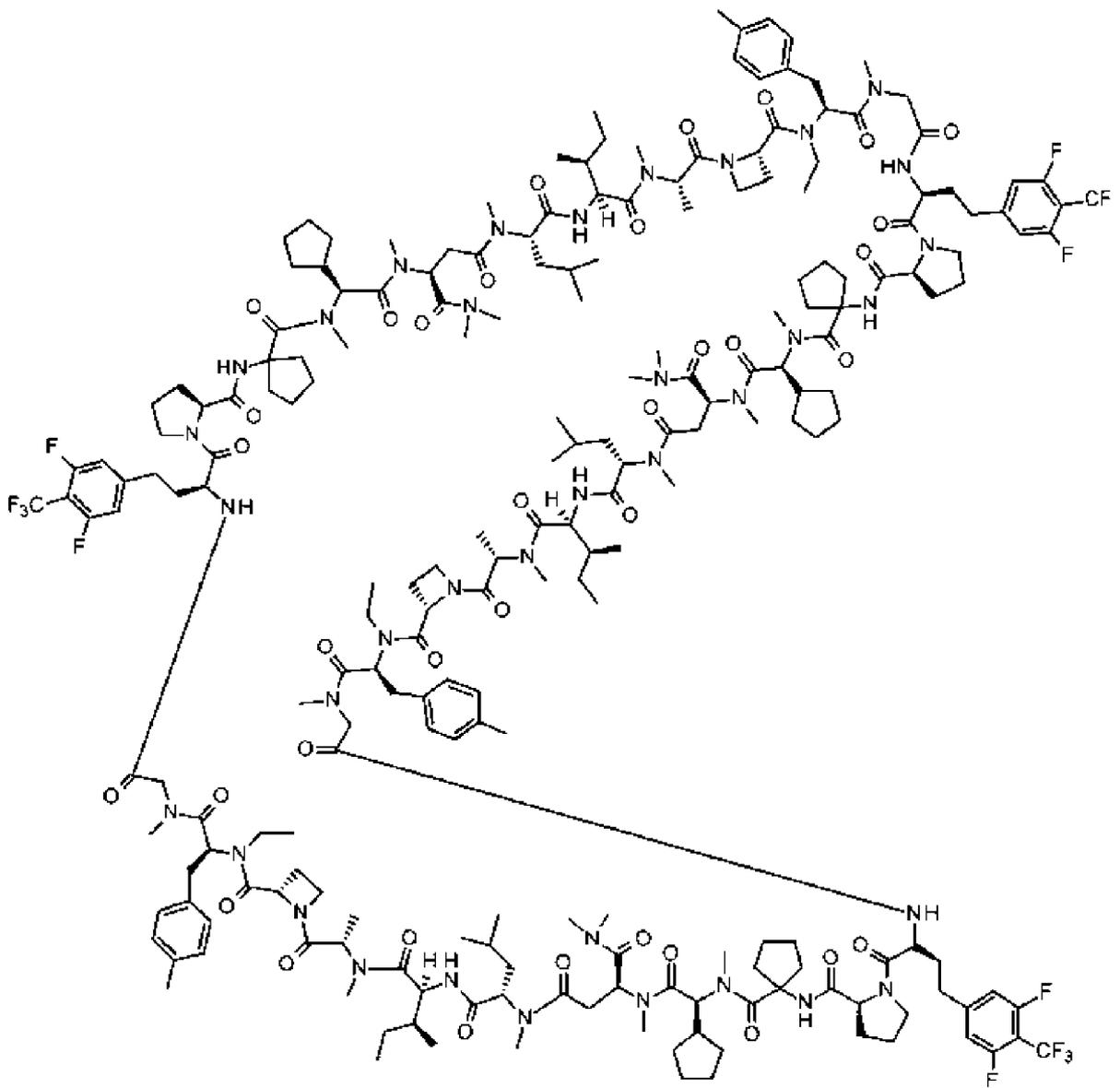
[70-3]. Обладающее высокой чистотой соединение, соответствующее параграфу [70-2], характеризующееся тем, что оно содержит менее 1%,
например, менее 0,5%, менее 0,1% или не поддающееся обнаружению
10 количество любой отдельной примеси, определенное, как выраженное в % значение площади пика, полученное путем анализа с помощью ВЭЖХ с УФ-детектированием при 210 нм.

[70-4]. Обладающее высокой чистотой соединение, соответствующее параграфу [70-2] или [70-3], характеризующееся тем, что оно содержит менее
15 1%, например, менее 0,5%, менее 0,1% или не поддающееся обнаружению количество примеси, выбранной из числа следующих: эпимеры, удлиненные продукты, поврежденные продукты, димеры и тримеры, определенное, как выраженное в % значение площади пика, полученное путем анализа с помощью ВЭЖХ с УФ-детектированием при 210 нм.

[70-5] Обладающее высокой чистотой соединение, соответствующее параграфу [70-2], [70-3] или [70-4], характеризующееся тем, что оно содержит
20 менее 1%, например, менее 0,5%, менее 0,1% или не поддающееся обнаружению количество примеси, выбранной из числа следующих: циклический димер, описываемый приведенной ниже формулой, и циклический тример,
описываемый приведенной ниже формулой, определенное, как выраженное в
25 % значение площади пика, полученное путем анализа с помощью ВЭЖХ с УФ-детектированием при 210 нм:



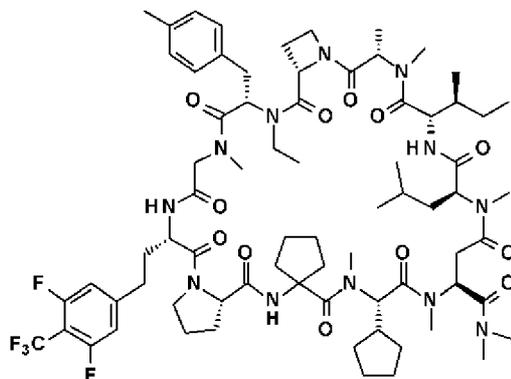
Циклический димер



Циклический тример

[71] Сольват циклического пептидного соединения, соответствующего параграфу [70], который представляет собой гидрат, сольват гидрата с ДМСО, сольват гидрата с ацетоном или сольват с ДМСО.

5 [72] Кристалл циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



или его соли, или его сольвата.

10 [73] Кристалл, соответствующий параграфу [72], где кристалл выбран из группы, состоящей из следующих: кристалл несольватированной формы, кристалл сольвата, кристалл соли и кристалл сольвата соли.

[74] Кристалл, соответствующий параграфу [73], где кристаллом является кристалл сольвата.

[75] Кристалл, соответствующий параграфу [72], где кристаллом сольвата является кристалл гидрата.

15 [76] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 7 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

20 [76-1] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 8 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

[76-2] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 9 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[76-3] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 10 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[76-4] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 11 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[76-5] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 12 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[76-6] Кристалл, соответствующий параграфу [75], где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 4,964°, 7,921°, 8,296°, 8,855°, 9,956°, 10,435°, 11,729°, 12,704°, 13,552°, 13,901°, 15,895°, 16,643° и 17,813° ($\pm 0,2^\circ$).

[77] Кристалл, соответствующий параграфу [73], где кристаллом несольватированной формы является кристалл формы F, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ),

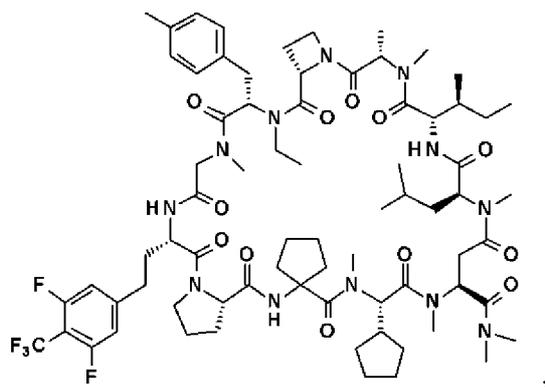
равных 5,370°, 6,934°, 8,940°, 9,838°, 10,771°, 12,181°, 13,525°, 15,179°, 16,202° и 17,554° ($\pm 0,2^\circ$).

[78] Кристалл, соответствующий параграфу [73], где кристаллом сольвата является кристалл сольвата гидрата с ДМСО формы А, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 8,006°, 9,002°, 9,943°, 11,501°, 13,067°, 14,854°, 16,320°, 17,275°, 19,261° и 20,324° ($\pm 0,2^\circ$).

[79] Кристалл, соответствующий параграфу [73], где кристаллом сольвата является кристалл сольвата гидрата с ДМСО формы В, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 8,223°, 9,594°, 9,976°, 11,879°, 13,841°, 14,572°, 15,934°, 16,350°, 19,805° и 20,480° ($\pm 0,2^\circ$).

[80] Кристалл, соответствующий параграфу [73], где кристаллом сольвата является кристалл сольвата гидрата с ацетоном формы Н, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме при углах дифракции (значениях 2θ), равных 7,942°, 8,283°, 8,861°, 10,097°, 10,491°, 11,805°, 12,673°, 12,830°, 13,514°, 13,855°, 15,853°, 16,405°, 16,642° и 17,772° ($\pm 0,2^\circ$).

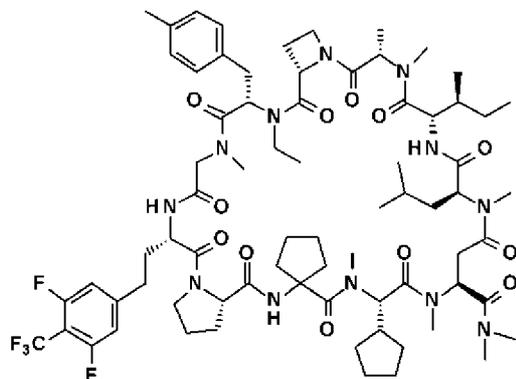
[81] Способ получения кристалла гидрата циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



где способ включает стадии:
растворения циклического пептидного соединения в первом полярном органическом растворителе с получением раствора, где первый полярный органический растворитель предоставлен в количестве, достаточном для растворения циклического пептидного соединения;
концентрирования раствора с получением остатка, содержащего циклическое пептидное соединение; и

добавления к остатку смеси воды и второго полярного органического растворителя с получением кристалла гидрата циклического пептидного соединения.

[82] Способ получения кристалла гидрата циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



где способ включает стадии:

растворения циклического пептидного соединения, находящегося в аморфном состоянии, в ДМСО с получением раствора;

лиофилизации раствора с получением лиофилизата, содержащего циклическое пептидное соединение; и

добавления к лиофилизату смеси воды и ацетонитрила с получением кристалла гидрата циклического пептидного соединения.

В приведенной выше нумерации номер, указанный при перечислении зависимых параграфов, включает номера подпараграфов, если не указано иное. Так, например, номер [1], указанный при перечислении зависимых параграфов, включает номер [1-1], который является номером подпараграфа, а также номер [1]. То же самое применимо к другой нумерациям.

[Преимущества настоящего изобретения]

Настоящее изобретение обеспечивает возможность эффективного получения циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата путем предотвращения рацемизации и внутримолекулярной реакции аминокислотных остатков, даже если пептидное соединение обладает сложной аминокислотной последовательностью, содержащей множество неприродных аминокислотных остатков. Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает возможность эффективного получения искомого пептидного соединения, поскольку обеспечена возможность последовательного удлинения и последующей циклизации пептидной цепи с использованием простой обработки,

такой как разделение жидкостей, фильтрование и концентрирование, без выделения и очистки промежуточных продуктов. Поскольку с помощью способа получения, предлагаемого в настоящем изобретении, можно уменьшить затраты на получение пептидного соединения, а также уменьшить отрицательное
5 воздействие на окружающую среду, он является особенно подходящим для синтеза пептидов в крупном масштабе.

[Краткое описание чертежей]

На фиг. 1 представлены полученные с помощью порошковой рентгенографии результаты для кристалла гидрата соединения 1 (форма С),
10 полученного в примере 25. По оси ординат указана интенсивность дифракции и по оси абсцисс указан угол дифракции 2θ ($^{\circ}$).

На фиг. 2 представлены полученные с помощью порошковой рентгенографии результаты для кристалла несольватированной формы соединения 1 (форма F), полученного в примере 25-2. По оси ординат указана
15 интенсивность дифракции и по оси абсцисс указан угол дифракции 2θ ($^{\circ}$).

На фиг. 3 представлены полученные с помощью порошковой рентгенографии результаты для кристалла соединения 1 (форма А), полученного в примере 25-3. По оси ординат указана интенсивность дифракции и по оси абсцисс
20 указан угол дифракции 2θ ($^{\circ}$).

На фиг. 4 представлены полученные с помощью порошковой рентгенографии результаты для кристалла соединения 1 (форма В), полученного в примере 25-3. По оси ординат указана интенсивность дифракции и по оси абсцисс
25 указан угол дифракции 2θ ($^{\circ}$).

На фиг. 5 представлены результаты, полученные с помощью термогравиметрии/дифференциального термического анализа кристалла соединения 1 (форма В), полученного в примере 25-3. По оси абсцисс указана температура ($^{\circ}\text{C}$) и по расположенной справа оси ординат
30 указано изменение массы образца (%), полученное с помощью термогравиметрического анализа. По расположенной слева оси ординат указан тепловой поток, наблюдающийся при проведении дифференциального термического анализа.

На фиг. 6 представлены результаты, полученные путем анализа кристалла соединения 1 (форма В), полученного в примере 25-3, с помощью ^1H -ЯМР.

На фиг. 7 представлены полученные с помощью порошковой рентгенографии результаты для кристалла гидрата соединения 1 (форма С), полученного в примере 25-4, при относительных влажностях, равных 75%, 30% и 0%. По оси ординат указана интенсивность дифракции и по оси абсцисс указан
5 угол дифракции 2θ ($^{\circ}$).

На фиг. 8 представлены результаты, полученные с помощью термогравиметрии/дифференциального термического анализа кристалла гидрата соединения 1 (форма С), полученного в примере 26. По оси абсцисс указана температура ($^{\circ}\text{C}$) и продолжительность измерения (мин), и по расположенной
10 справа оси ординат указано изменение массы образца (мг), полученное с помощью термогравиметрического анализа. По расположенной слева оси ординат указан тепловой поток (мВт), наблюдающийся при проведении дифференциального термического анализа.

На фиг. 9 представлена полученная с помощью рентгеноструктурного анализа монокристаллов кристаллическая структура кристалла гидрата
15 соединения 1 (форма С), полученного в примере 26.

На фиг. 10 представлены результаты исследования динамической сорбции паров кристалла гидрата соединения 1 (форма С), полученного в примере 26. По
20 оси ординат указано изменение массы (%) и по оси абсцисс указана относительная влажность (%). На фиг. 10 "цикл 1, адсорбция" (черные ромбы) означает адсорбцию при проведении цикла 1, "цикл 1, десорбция" (черные квадраты) означает десорбцию при проведении цикла 1, "цикл 2, адсорбция" (серые треугольники) означает адсорбцию при проведении цикла 2 и "цикл 2, десорбция" (серые квадраты) означает десорбцию при проведении цикла 2.

На фиг. 11 представлена полученная с помощью рентгеноструктурного анализа монокристаллов кристаллическая структура кристалла сольвата гидрата с ДМСО соединения 1 (форма А), полученного в примере 26-1. Эта
25 кристаллическая структура смоделирована при отношении количеств соединения 1:ДМСО:вода, составляющем 1:6:3.

На фиг. 12 представлена полученная с помощью рентгеноструктурного анализа монокристаллов кристаллическая структура кристалла сольвата гидрата с ацетоном соединения 1 (форма Н, для рентгеноструктурного анализа
30 монокристаллов), полученного в примере 26-2. Эта кристаллическая структура

смоделирована при отношении количеств соединения 1 : ацетон : вода, составляющем 1 : 1 : 4.

На фиг. 13 представлены полученные с помощью порошковой рентгенографии результаты для кристалла сольвата гидрата с ацетоном соединения 1 (форма Н, для исследования с помощью порошковой рентгенографии), полученного в примере 26-2. По оси ординат указана интенсивность дифракции и по оси абсцисс указан угол дифракции 2θ ($^\circ$).

[Описание вариантов осуществления]

В настоящем изобретении следующие используются аббревиатуры:

10	2-Ме-ТГФ:	2-метилтетрагидрофуран
	АсОEt:	этилацетат
	Алloc:	аллилоксикарбонил
	БЭП:	2-бром-1-этилпиридинийтетрафторборат
	БМФ:	2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол
15	Вос:	трет-бутоксикарбонил
	Cbz:	бензилоксикарбонил
	СОМУ:	(1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)диметиламиноморфолинокарбонийгексафторфосфат
	ЦПМЭ:	циклопентилметиловый эфир
20	КСК:	10-камфорсульфоновая кислота
	ДИПЭА:	N,N-диизопропилэтиламин
	ДМА:	N,N-диметилацетамид
	ДМАП:	4-диметиламинопиридин
	ДМФ:	N,N-диметилформаид
25	ДМТ-ММ:	4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолинийхлорид
	EDCI:	1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид
	ГАТУ:	O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетрамилуронийгексафторфосфат
30	ГМДС:	1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазан
	НОAt:	1-гидрокси-7-азабензотриазол
	НОВt:	1-гидроксибензотриазол
	IPAc:	изопропилацетат
	MeCN:	ацетонитрил

MTБЭ:	метил-трет-бутиловый эфир
MTГП:	4-метилтетрагидропиран
NMP:	N-метилпирролидон
PyBOP:	1H-бензотриазол-1-
5	илокситрипирролидинофосфонийгексафторфосфат
PyOxim:	(этилциано(гидроксиимино)ацетато-O2)-три-(1- пирролидинил)фосфонийгексафторфосфат
TЗР:	ангидрид пропилфосфоновой кислоты
ТБАФ:	тетрабутиламмонийфторид
10 Теос:	2-(триметилсилил)этоксикарбонил
ТГФ:	тетрагидрофуран
TMSOTf:	триметилсилилтрифторметансульфонат

Определения функциональных групп и т. п. (В настоящем изобретении все термины и выражения используют в том смысле, как это обычно принято в
15 данной области техники. Типичные неограничивающие определения приведены ниже)

В настоящем изобретении примеры "атомов галогенов" включают F, Cl, Br и I.

В настоящем изобретении "алкил" означает одновалентную группу,
20 образованную вследствие удаления любого одного атома водорода из алифатического углеводорода, и он включает подгруппу структур гидрокарбильной или углеводородной группы, не содержащих ни гетероатом (который означает атом, отличающийся от атомов углерода и водорода), ни ненасыщенную углерод-углеродную связь, но содержащих в основной цепи
25 атомы водорода и углерода. Алкил включает линейные и разветвленные алкилы. Точнее, алкил содержит от 1 до 20 атомов углерода (C₁-C₂₀, ниже в настоящем изобретении "C_p-C_q" означает, что количество атомов углерода равно от p до q) и предпочтительно, если им является C₁-C₁₀ алкил, и более предпочтительно, если им является C₁-C₆-алкил. Конкретные примеры алкила включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, изобутил (2-метилпропил),
30 н-пентил, втор-пентил (1-метилбутил), трет-пентил (1,1-диметилпропил), неопентил (2,2-диметилпропил), изопентил (3-метилбутил), 3-пентил (1-этилпропил), 1,2-диметилпропил, 2-метилбутил, н-гексил, 1,1,2-триметилпропил, 1,2,2-триметилпропил, 1,1,2,2-тетраметилпропил, 1,1-диметилбутил, 1,2-

диметилбутил, 1,3-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 2,3-диметилбутил, 3,3-диметилбутил, 1-этилбутил и 2-этилбутил.

В настоящем изобретении "алкенил" означает одновалентную группу, содержащую по меньшей мере одну двойную связь (два соседних атома углерода, находящиеся в sp^2 -состоянии). В зависимости от расположения двойной связи и заместителя (если он содержится), геометрическая форма двойной связи может являться такой, что заместители находятся в конфигурации "напротив" (E) или "с одной стороны" (Z), а также цис- или транс-. Алкенил включает линейные и разветвленные алкенилы. Алкенилом предпочтительно является C_2 - C_{10} -алкенил и более предпочтительно C_2 - C_6 -алкенил, и конкретные примеры включают винил, аллил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-бутенил, 2-бутенил (включая цис- и транс-формы), 3-бутенил, пентенил, 3-метил-2-бутенил и гексенил.

В настоящем изобретении "алкинил" означает одновалентную группу, содержащую по меньшей мере одну тройную связь (два соседних атома углерода, находящиеся в sp -состоянии). Алкинил включает линейные и разветвленные алкинилы. Алкинилом предпочтительно является C_2 - C_{10} -алкинил и более предпочтительно C_2 - C_6 -алкинил, и конкретные примеры включают этинил, 1-пропинил, пропаргил, 3-бутинил, пентинил, гексинил, 3-фенил-2-пропинил, 3-(2'-фторфенил)-2-пропинил, 2-гидрокси-2-пропинил, 3-(3-фторфенил)-2-пропинил и 3-метил-(5-фенил)-4-пентинил.

В настоящем изобретении "циклоалкил" означает насыщенную или частично насыщенную циклическую одновалентную алифатическую углеводородную группу и включает моноциклическое кольцо, бициклическое кольцо и спироциклическое кольцо. Циклоалкилом предпочтительно является C_3 - C_8 -циклоалкил и конкретные примеры включают циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, бицикло[2.2.1]гептил и спиро[3.3]гептил.

В настоящем изобретении "арил" означает одновалентное ароматическое углеводородное кольцо и им предпочтительно является C_6 - C_{10} -арил. Конкретные примеры арила включают фенил и нафтил (например, 1-нафтил и 2-нафтил).

В настоящем изобретении "гетероциклил" означает неароматическую циклическую одновалентную группу, содержащую в дополнение к атомам углерода от 1 до 5 гетероатомов. Гетероциклил может содержать в кольце

двойную и/или тройную связь, атом углерода, содержащийся в кольце, может быть окислен с образованием карбонила, и гетероцикл может представлять собой моноциклическое кольцо или конденсированное кольцо. Количество атомов, образующих кольцо, предпочтительно равно от 4 до 10 (4-10-членный гетероцикл) и более предпочтительно от 4 до 7 (4-7-членный гетероцикл). Конкретные примеры гетероцикла включают азетидинил, оксиранил, оксетанил, азетидинил, дигидрофурил, тетрагидрофурил, дигидропиранил, тетрагидропиранил, тетрагидропиридил, тетрагидропиримидил, морфолинил, тиоморфолинил, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, пиразолидинил, имидазолинил, имидазолидинил, оксазолидинил, изоксазолидинил, тиазолидинил, изотиазолидинил, 1,2-тиазинан, тиадиазолидинил, азетидинил, оксазолидон, бензодиоксанил, бензоксазолил, диоксоланил, диоксанил, тетрагидропирроло[1,2-с]имидазол, тиетанил, 3,6-диазабицикло[3.1.1]гептанил, 2,5-диазабицикло[2.2.1]гептанил, 3-окса-8-азабицикло[3.2.1]октанил, сультам и 2-оксаспиро[3.3]гептил.

В настоящем изобретении "гетероарил" означает ароматическую циклическую одновалентную группу, содержащую в дополнение к атомам углерода от 1 до 5 гетероатомов. Кольцо может представлять собой моноциклическое кольцо, оно может представлять собой конденсированное кольцо, образованное вместе с другим кольцом, или оно может быть частично насыщенным. Количество атомов, образующих кольцо, предпочтительно равно от 5 до 10 (5-10-членный гетероарил) и более предпочтительно от 5 до 7 (5-7-членный гетероарил). Конкретные примеры гетероарила включают фурил, тиенил, пирролил, имидазолил, пиразолил, тиазолил, изотиазолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиадиазолил, триазолил, тетразолил, пиридил, пиримидил, пиридазинил, пиразинил, триазинил, бензофуранил, бензотиенил, бензотиадиазолил, бензотиазолил, бензоксазолил, бензоксадиазолил, бензимидазолил, индолил, изоиндолил, индазолил, хинолил, изохинолил, циннолинил, хиназолинил, хиноксалинил, бензодиоксилил, индолизинил и имидазопиридил.

В настоящем изобретении "алкоксигруппа" означает оксигруппу, к которой присоединен определенный выше "алкил", и ей предпочтительно является C₁-C₆-алкоксигруппа. Конкретные примеры алкоксигруппы включают метоксигруппу, этоксигруппу, 1-пропоксигруппу, 2-пропоксигруппу, н-

бутоксигруппу, изобутоксигруппу, втор-бутоксигруппу, трет-бутоксигруппу, пентилоксигруппу и 3-метилбутоксигруппу.

В настоящем изобретении "алкенилоксигруппа" означает оксигруппу, к которой присоединен определенный выше "алкенил", и ей предпочтительно является С₂-С₆-алкенилоксигруппа. Конкретные примеры алкенилоксигруппы включают винилоксигруппу, аллилоксигруппу, 1-пропенилоксигруппу, 2-пропенилоксигруппу, 1-бутенилоксигруппу, 2-бутенилоксигруппу (включая цис- и транс-формы), 3-бутенилоксигруппу, пентенилоксигруппу и гексенилоксигруппу.

В настоящем изобретении "циклоалкоксигруппа" означает оксигруппу, к которой присоединен определенный выше "циклоалкил", и ей предпочтительно является С₃-С₈-циклоалкоксигруппа. Конкретные примеры циклоалкоксигруппы включают циклопропоксигруппу, циклобутоксигруппу и циклопентилоксигруппу.

В настоящем изобретении "арилоксигруппа" означает оксигруппу, к которой присоединен определенный выше "арил", и ей предпочтительно является С₆-С₁₀-арилоксигруппа. Конкретные примеры арилоксигруппы включают феноксигруппу, 1-нафтилоксигруппу и 2-нафтилоксигруппу.

В настоящем изобретении "аминогруппа" в узком смысле означает -NH₂ и в широком смысле означает -NRR', где R и R' независимо выбраны из группы, включающей водород, алкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклил, арил или гетероарил, или R и R' вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют кольцо. Аминогруппой предпочтительно является -NH₂, моно-С₁-С₆-алкиламиногруппа, ди-С₁-С₆-алкиламиногруппа, 4-8-членная циклическая аминогруппа и т. п.

В настоящем изобретении "моноалкиламиногруппа" означает группу, соответствующую определенной выше "аминогруппе", в которой R обозначает водород и R' обозначает определенный выше "алкил", и ей предпочтительно является моно-С₁-С₆-алкиламиногруппа. Конкретные примеры моноалкиламиногруппы включают метиламиногруппу, этиламиногруппу, н-пропиламиногруппу, изопропиламиногруппу, н-бутиламиногруппу, втор-бутиламиногруппу и трет-бутиламиногруппу.

В настоящем изобретении "диалкиламиногруппа" означает группу, соответствующую определенной выше "аминогруппе", в которой R и R'

независимо обозначают определенный выше "алкил", и ей предпочтительно является ди-С₁-С₆-алкиламиногруппа. Конкретные примеры диалкиламиногруппы включают диметиламиногруппу и диэтиламиногруппу.

В настоящем изобретении "циклическая аминогруппа" означает группу, соответствующую определенной выше "аминогруппе", в которой R и R' вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют кольцо, и ей предпочтительно является 4-8-членная циклическая аминогруппа. Конкретные примеры циклической аминогруппы включают 1-азетидил, 1-пирролидил, 1-пиперидил, 1-пиперазил, 4-морфолинил, 3-оксазолидил, 1,1-диоксидетиоморфолин-4-ил и 3-окса-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил.

В настоящем изобретении "защищенная аминогруппа" означает аминогруппу, защищенную любой защитной группой. Конкретные примеры защищенной аминогруппы включают аминогруппу, защищенную такой защитной группой, как Boc, Fmoc, Cbz, Troc, Alloc, Teoc или трифторацетил.

В настоящем изобретении "аминокарбонил" означает карбонильную группу, к которой присоединена определенная выше "аминогруппа", и им предпочтительно является -CONH₂, моно-С₁-С₆-алкиламинокарбонил, ди-С₁-С₆-алкиламинокарбонил и 4-8-членный циклический аминокарбонил. Конкретные примеры аминокарбонила включают -CONH₂, диметиламинокарбонил, 1-азетидинилкарбонил, 1-пирролидинилкарбонил, 1-пиперидинилкарбонил, 1-пиперазинилкарбонил, 4-морфолинилкарбонил, 3-оксазолидинилкарбонил, 1,1-диоксидетиоморфолин-4-илкарбонил и 3-окса-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-илкарбонил.

В настоящем изобретении "алкенилоксикарбонил" означает карбонильную группу, к которой присоединена определенная выше "алкенилоксигруппа", и им предпочтительно является С₂-С₆-алкенилоксикарбонил. Конкретные примеры алкенилоксикарбонила включают винилоксикарбонил, аллилоксикарбонил, 1-пропенилоксикарбонил, 2-пропенилоксикарбонил, 1-бутенилоксикарбонил, 2-бутенилоксикарбонил (включая цис- и транс-формы), 3-бутенилоксикарбонил, пентенилоксикарбонил и гексенилоксикарбонил.

В настоящем изобретении "алкилсульфонил" означает сульфонильную группу, к которой присоединен определенный выше "алкил", и им предпочтительно является С₁-С₆-алкилсульфонил. Конкретные примеры алкилсульфонила включают метилсульфонил.

В настоящем изобретении "гидроксиалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на гидроксигруппы, и им предпочтительно является С₁-С₆-гидроксиалкил. Конкретные примеры гидроксиалкила включают

5 гидроксиметил, 1-гидроксиэтил, 2-гидроксиэтил, 2-гидрокси-2-метилпропил и 5-гидроксипентил.

В настоящем изобретении "галогеналкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на атомы галогенов, и им предпочтительно является С₁-С₆-галогеналкил и более предпочтительно С₁-С₆-фторалкил. Конкретные примеры галогеналкила включают дифторметил, трифторметил, 2,2-дифторэтил, 2,2,2-

10 трифторэтил, 3,3-дифторпропил, 4,4-дифторбутил и 5,5-дифторпентил.

В настоящем изобретении "цианоалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше

15 "алкиле", заменены на цианогруппу, и им предпочтительно является С₁-С₆-цианоалкил. Конкретные примеры цианоалкила включают цианометил и 2-цианоэтил.

В настоящем изобретении "аминоалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше

20 "алкиле", заменены на определенную выше "аминогруппу", и им предпочтительно является С₁-С₆-аминоалкил. Конкретные примеры аминоалкила включают 1-пиридилметил, 2-(1-пиперидил)этил, 3-(1-пиперидил)пропил и 4-аминобутил.

В настоящем изобретении "карбоксиалкил" означает группу, в которой

25 один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на карбоксигруппу, и им предпочтительно является С₂-С₆-карбоксиалкил. Конкретные примеры карбоксиалкила включают карбоксиметил.

В настоящем изобретении "алкенилоксикарбонилалкил" означает группу,

30 в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "алкенилоксикарбонил", и им предпочтительно является С₂-С₆-алкенилоксикарбонил-С₁-С₆-алкил и более предпочтительно С₂-С₆-алкенилоксикарбонил-С₁-С₂-алкил. Конкретные примеры

алкенилоксикарбонилалкила включают аллилоксикарбонилметил и 2-(аллилоксикарбонил)этил.

В настоящем изобретении "алкоксиалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном
5 выше "алкиле", заменены на определенную выше "алкоксигруппу", и им предпочтительно является C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно C₁-C₆-алкокси-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры алкоксиалкила включают метоксиметил, этоксиметил, 1-пропоксиметил, 2-пропоксиметил, н-
10 бутоксиметил, изобутоксиметил, втор-бутоксиметил, трет-бутоксиметил, пентилоксиметил, 3-метилбутоксиметил, 1-метоксиэтил, 2-метоксиэтил и 2-этоксиэтил.

В настоящем изобретении "циклоалкилалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном
15 выше "алкиле", заменены на определенный выше "циклоалкил", и им предпочтительно является C₃-C₈-циклоалкил-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно C₃-C₆-циклоалкил-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры циклоалкилалкила включают циклопропилметил, циклобутилметил, циклопентилметил и циклогексилметил.

В настоящем изобретении "циклоалкоксиалкил" означает группу, в
20 которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенную выше "циклоалкоксигруппу", и им предпочтительно является C₃-C₈-циклоалкокси-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно C₃-C₆-циклоалкокси-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры циклоалкоксиалкила включают циклопропоксиметил и
25 циклобутоксиметил.

В настоящем изобретении "гетероциклилалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в
определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "гетероциклил",
и им предпочтительно является 4-7-членный гетероциклил-C₁-C₆-алкил и более
30 предпочтительно 4-7-членный гетероциклил-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры гетероциклилалкила включают 2-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)этил и 2-(азетидин-3-ил)этил.

В настоящем изобретении "алкилсульфонилалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в

определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "алкилсульфонил", и им предпочтительно является C₁-C₆-алкилсульфонил-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно C₁-C₆-алкилсульфонил-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры алкилсульфонилалкила включают метилсульфонилметил и 2-

5 (метилсульфонил)этил.

В настоящем изобретении "аминокарбонилалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "аминокарбонил", и им предпочтительно является аминокарбонил-C₁-C₆-алкил и

10 более предпочтительно аминокарбонил-C₁-C₄-алкил. Конкретные примеры аминокарбонилалкила включают метиламинокарбонилметил, диметиламинокарбонилметил, трет-бутиламинокарбонилметил, 1-азетидинилкарбонилметил, 1-пирролидинилкарбонилметил, 1-пиперидинилкарбонилметил, 4-морфолинилкарбонилметил, 2-

15 (метиламинокарбонил)этил, 2-(диметиламинокарбонил)этил, 2-(1-азетидинилкарбонил)этил, 2-(1-пирролидинилкарбонил)этил, 2-(4-морфолинилкарбонил)этил, 3-(диметиламинокарбонил)пропил и 4-(диметиламинокарбонил)бутил.

В настоящем изобретении "арилоксиалкил" означает группу, в которой

20 один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенную выше "арилоксигруппу", и им предпочтительно является C₆-C₁₀-арилокси-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно C₆-C₁₀-арилокси-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры арилоксиалкила включают феноксиметил и 2-феноксиэтил.

В настоящем изобретении "аралкил (арилалкил)" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "арил", и им

25 предпочтительно является C₇-C₁₄-арилалкил и более предпочтительно C₇-C₁₀-арилалкил. Конкретные примеры арилалкила включают бензил, фенетил и 3-фенилпропил.

30

В настоящем изобретении "арилалкоксигруппа" означает оксигруппу, к которой присоединен определенный выше "арилалкил", и ей предпочтительно является C₇-C₁₄-арилалкоксигруппа и более предпочтительно C₇-C₁₀-

арилалкоксигруппу. Конкретные примеры арилалкоксигруппы включают бензилоксигруппу, фенетилоксигруппу и 3-фенилпропоксигруппу.

В настоящем изобретении "арилалкоксиалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном
5 выше "алкиле", заменены на определенную выше "арилалкоксигруппу", и им предпочтительно является C₇-C₁₄-арилалкокси-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно C₇-C₁₄-арилалкокси-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры арилалкоксиалкила включают бензилоксиметил и 1-(бензилокси)этил.

В настоящем изобретении "гетероарилалкил" означает группу, в которой
10 один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "гетероарил", и им предпочтительно является 5-10-членный гетероарил-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно 5-10-членный гетероарил-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры гетероарилалкила включают 3-тиенилметил, 4-тиазолилметил, 2-пиридилметил,
15 3-пиридилметил, 4-пиридилметил, 2-(2-пиридил)этил, 2-(3-пиридил)этил, 2-(4-пиридил)этил, 2-(6-хинолил)этил, 2-(7-хинолил)этил, 2-(6-индолил)этил, 2-(5-индолил)этил и 2-(5-бензофуранил)этил.

В настоящем изобретении "гетероарилалкоксигруппа" означает
оксигруппу, к которой присоединен определенный выше "гетероарилалкил", и ей
20 предпочтительно является 5-10-членный гетероарил-C₁-C₆-алкоксигруппа и более предпочтительно 5-10-членный гетероарил-C₁-C₂-алкоксигруппа. Конкретные примеры гетероарилалкоксигруппы включают 3-тиенилметоксигруппу и 3-пиридилметоксигруппу.

В настоящем изобретении "гетероарилалкоксиалкил" означает группу, в
25 которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "гетероарилалкоксигруппа", и им предпочтительно является 5-10-членный гетероарил-C₁-C₆-алкокси-C₁-C₆-алкил и более предпочтительно 5-10-членный гетероарил-C₁-C₂-алкокси-C₁-C₂-алкил. Конкретные примеры
30 гетероарилалкоксиалкила включают 3-пиридилметоксиметил.

В настоящем изобретении "гетероциклоалкилиденалкил" означает группу, в которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном выше "алкиле", заменены на определенный выше "гетероциклоалкилиден", и им предпочтительно является 4-7-членный

гетероциклоалкилиден-С₁-С₆-алкил и более предпочтительно 4-7-членный
гетероциклоалкилиден-С₁-С₂-алкил. Конкретные примеры
гетероциклоалкилиденалкила включают тетрагидро-4Н-пиран-4-илиденметил и
азетидин-3-илиденметил.

5 В настоящем изобретении "алкоксиалкенил" означает группу, в которой
один или большее количество атомов водорода, содержащихся в определенном
выше "алкениле", заменены на определенную выше "алкоксигруппу", и им
предпочтительно является С₁-С₆-алкокси-С₂-С₆-алкенил. Конкретные примеры
алкоксиалкенила включают (Е)-4-метоксибут-2-ен-1-ил.

10 В настоящем изобретении "аминокарбонилалкенил" означает группу, в
которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в
определенном выше "алкениле", заменены на определенный выше
"аминокарбонил", и им предпочтительно являетсяаминокарбонил-С₂-С₆-алкенил.
Конкретные примеры аминокарбонилалкенила включают (Е)-3-
15 (диметиламинокарбонилкарбонил)проп-2-ен-1-ил.

В настоящем изобретении "галогеналкоксигруппа" означает группу, в
которой один или большее количество атомов водорода, содержащихся в
определенной выше "алкоксигруппе", заменены на атомы галогенов, и ей
предпочтительно является С₁-С₆-галогеналкоксигруппа. Конкретные примеры
20 галогеналкоксигруппы включают дифторметоксигруппу, трифторметоксигруппу,
2,2-дифторэтоксигруппу и 2,2,2-трифторэтоксигруппу.

В настоящем изобретении "алкилен" означает двухвалентную группу,
образованную вследствие дополнительного удаления любого одного атома
водорода из указанного выше "алкила", и им предпочтительно является С₄-С₈-
25 алкилен. Конкретные примеры алкилена включают -СН₂-, -(СН₂)₂-, -(СН₂)₃-, -
СН(СН₃)СН₂-, -С(СН₃)₂-, -(СН₂)₄-, -СН(СН₃)СН₂СН₂-, -С(СН₃)₂СН₂-, -
СН₂СН(СН₃)СН₂-, -СН₂С(СН₃)₂-, -СН₂СН₂СН(СН₃)-, -(СН₂)₅-, -(СН₂)₆-, -(СН₂)₇- и
-(СН₂)₈.

В настоящем изобретении "алициклическое кольцо" означает
30 неароматическое углеводородное кольцо. Алициклическое кольцо может
содержать в кольце ненасыщенную связь и оно может представлять собой
полициклическое кольцо, включающее два или большее количество колец. Атом
углерода, содержащийся в кольце, может быть окислен с образованием
карбонила. Алициклическим кольцом предпочтительно является 3-8-членное

алициклическое кольцо, и конкретные примеры включают циклопропановое кольцо, циклобутановое кольцо, циклопентановое кольцо, циклогексановое кольцо, циклогептановое кольцо, циклооктановое кольцо и бицикло[2.2.1]гептановое кольцо.

5 В настоящем изобретении "насыщенное гетероциклическое кольцо" означает неароматическое гетероциклическое кольцо, содержащее дополнение к атомам углерода от 1 до 5 гетероатомов, и не содержащее в кольце двойную связь и/или тройную связь. Насыщенное гетероциклическое кольцо может представлять собой моноциклическое кольцо или оно может образовать
10 конденсированное кольцо вместе с другим кольцом, например, ароматическим кольцом, таким как бензольное кольцо. Насыщенным гетероциклическим кольцом предпочтительно является 4-7-членное насыщенное гетероциклическое кольцо, и конкретные примеры включают азетидиновое кольцо, оксетановое кольцо, тетрагидрофурановое кольцо, тетрагидропирановое кольцо,
15 морфолиновое кольцо, тиоморфолиновое кольцо, пирролидиновое кольцо, 4-оксопирролидиновое кольцо, пиперидиновое кольцо, 4-оксопиперидиновое кольцо, пиперазиновое кольцо, пиразолидиновое кольцо, имидазолидиновое кольцо, оксазолидиновое кольцо, изоксазолидиновое кольцо, тиазолидиновое кольцо, изотиазолидиновое кольцо, тиадиазолидиновое кольцо, оксазолидиноное
20 кольцо, диоксолановое кольцо, диоксановое кольцо, тиетановое кольцо, октагидроиндольное кольцо и индолиновое кольцо.

В настоящем изобретении на "пептид" не налагаются особые ограничения при условии, что он представляет собой пептид, образованный путем связывания природных аминокислот и/или неприродных аминокислот с помощью амидной
25 или сложноэфирной связи, однако предпочтительно, если он представляет собой пептид, содержащий от 5 до 30 остатков, более предпочтительно от 7 до 15 остатков и еще более предпочтительно от 9 до 13 остатков. Пептид может являться линейным пептидом или циклическим пептидом.

В настоящем изобретении "пептидная цепь" означает пептидную цепь, в
30 которой 1, 2, 3, 4 или большее количество природных аминокислот и/или неприродных аминокислот соединены амидной связью и/или сложноэфирной связью. Пептидной цепью предпочтительно является пептидная цепь, содержащая от 1 до 4 аминокислотных остатков, и более предпочтительно пептидная цепь, содержащая от 1 до 4 аминокислотных остатков.

В настоящем изобретении "необязательно замещенная" означает, что группа может быть замещена любым заместителем.

В настоящем изобретении "необязательно защищенная" означает, что группа может быть защищена любой защитной группой.

5 В настоящем изобретении "один или большее количество" означает один или два, или большее количество. В случае, если выражение "один или большее количество" используют в отношении заместителя, содержащегося в группе, то оно означает количество, равное от одного до максимального количества заместителей, которое допустимо для этой группы. Конкретные примеры
10 "одного или большего количества" включают значения, равные 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 и/или более.

Соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, может находиться в форме их соли и предпочтительно в форме его химически или фармацевтически приемлемой соли. Соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, или его
15 соль может также находиться в форме его сольвата предпочтительно в форме его химически или фармацевтически приемлемого сольвата. Примеры солей соединения, предлагаемого в настоящем изобретении, включают гидрохлорид, гидробромид; гидройодид; фосфат; фосфонат; сульфат; сульфонаты, такие как метансульфонат и п-толуолсульфонат; карбоксилаты, такие как ацетат, цитрат, малат, тартрат, сукцинат и салицилат; соли, образованные с щелочными
20 металлами, такие как натриевая соль и калиевая соль; соли, образованные с щелочноземельными металлами, такие как магниевая соль и кальциевая соль; и соли, образованные с аммонием, такие как алкиламмониевая соль, диалкиламмониевая соль, триалкиламмониевая соль и тетраалкиламмониевая
25 соль. Эти соли получают, например, путем введения соединения во взаимодействие с кислотой или с основанием, пригодным для получения фармацевтических продуктов. В настоящем изобретении сольват соединения означает, что в растворе молекулы растворенного вещества прочно связаны с молекулами растворителя и образуют одну молекулярную группу, и он
30 называется гидратом, если растворителем является вода. Сольватом соединения, раскрытого в настоящем изобретении, предпочтительно является гидрат и конкретные примеры таких гидратов включают соединения от моно- до декагидратов, предпочтительно от моно- до пентагидратов и более предпочтительно от моно- до тригидратов. Сольват соединения, предлагаемого в

настоящем изобретении, включает не только сольват, образованный с одним растворителем, таким как вода, спирт (например, метанол, этанол, 1-пропанол или 2-пропанол) или диметилформамид, но и сольват, образованный с несколькими растворителями.

5 Термин "аминокислота" при использовании в настоящем изобретении включает природные и неприродные аминокислоты. Термин "природная аминокислота" при использовании в настоящем изобретении означает Gly, Ala, Ser, Thr, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, His, Glu, Asp, Gln, Asn, Cys, Met, Lys, Arg или Pro. Примеры неприродной аминокислоты без наложения особых
10 ограничений включают β -аминокислоты, γ -аминокислоты, D-аминокислоты, N-замещенные аминокислоты, α,α -дизамещенные аминокислоты, аминокислоты, содержащие боковые цепи, которые отличаются от боковых цепей природных аминокислот, и гидроксикарбоновые кислоты. Аминокислоты, предлагаемые в настоящем изобретении, могут обладать любой структурой. На выбор боковой
15 цепи аминокислоты не налагаются особые ограничения и в дополнение к атому водорода ее можно без ограничений выбрать, например, из числа следующих: алкильная группа, алкенильная группа, алкинильная группа, арильная группа, гетероарильная группа, арилалкильная группа и циклоалкильная группа. Одна или две не являющиеся соседними метиленовые группы, содержащиеся в такой
20 группе, необязательно могут быть замещены атомом кислорода, карбонильной группой (-CO-) или сульфонильной группой (-SO₂-). Каждая группа может содержать заместитель и на заместитель не накладываются ограничения. Так, например, один или большее количество заместителей могут быть без
25 ограничений и независимо выбраны из числа любых заместителей, включая атом галогена, атом O, атом S, атом N, атом B, атом Si или атом P. Примеры включают необязательно замещенную алкильную группу, алкенильную группу, алкинильную группу, арильную группу, гетероарильную группу, арилалкильную группу и циклоалкильную группу. В неограничивающем варианте осуществления аминокислоты, предлагаемые в настоящем изобретении, могут
30 представлять собой соединения, содержащие в одной и той же молекуле карбоксигруппу и аминогруппу (даже в этом случае такие аминокислоты, как пролин и гидроксипролин, также включены в аминокислоты).

Содержащаяся в основной цепи аминокислоты аминогруппа может являться незамещенной (группа -NH₂) или замещенной (т. е. группа -NHR, где R

обозначает алкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил, арилалкил или циклоалкил, который может содержать заместитель, одна или две не являющиеся соседними метиленовые группы, содержащиеся в такой группе, необязательно могут быть замещены атомом кислорода, карбонильной группой (-CO-) или сульфонильной группой (-SO₂-), и углеродная цепь, присоединенная к атому N, и атом углерода, находящийся в α-положении, могут образовать кольцо, как в случае пролина). Заместитель R выбирают таким же образом, как и заместитель, содержащийся в указанной выше боковой цепи аминокислоты. Если содержащаяся в основной цепи аминокислоты является замещенной, то при использовании в настоящем изобретении R включен в "боковую цепь аминокислоты". Такие аминокислоты, в которых содержащаяся в основной цепи аминокислоты является замещенной, в настоящем изобретении называются "N-замещенными аминокислотами". При использовании в настоящем изобретении предпочтительные примеры "N-замещенных аминокислот" включают, но не ограничиваются только ими, N-алкиламиноаминокислоты, N-C₁-C₆-алкиламиноаминокислоты, N-C₁-C₄-алкиламиноаминокислоты и N-метиламиноаминокислоты.

При использовании в настоящем изобретении "аминокислоты", которые образуют пептидное соединение, включают все изотопные формы, соответствующие каждой аминокислоте. Изотопная форма "аминокислоты" означает такую форму, в которой по меньшей мере один атом заменен на атом, обладающий таким же атомным числом (количеством протонов) и другим массовым числом (суммарное количество протонов и нейтронов). Примеры изотопов, содержащихся в "аминокислоте", образующей пептидные соединения, раскрытые в настоящем изобретении, включают атом водорода, атом углерода, атом азота, атом кислорода, атом фосфора, атом серы, атом фтора и атом хлора, которые соответственно включают ²H и ³H; ¹³C и ¹⁴C; ¹⁵N; ¹⁷O и ¹⁸O; ³¹P и ³²P; ³⁵S; ¹⁸F и ³⁶Cl.

Заместители, содержащие атом галогена при использовании в настоящем изобретении включают галогензамещенные алкильную группу, циклоалкильную группу, алкенильную группу, алкинильную группу, арильную группу, гетероарильную группу или арилалкильную группу. Более конкретные примеры включают фторалкил, дифторалкил и трифторалкил.

Заместители, содержащие атом O, включают такие группы, как гидроксигруппа (-OH), оксигруппа (-OR), карбонил (-C=O-R), карбоксигруппа (-

CO₂H), оксикарбонил (-C=O-OR), карбонилксигруппа (-O-C=O-R), тиокарбонил (-C=O-SR), карбонилтиогруппа (-S-C=O-R), аминокарбонил (-C=O-NHR), карбониламиногруппа (-NH-C=O-R), оксикарбониламиногруппа (-NH-C=O-OR), сульфониламиногруппа (-NH-SO₂-R), аминосульфонил (-SO₂-NHR),
5 сульфоамиламиногруппа (-NH-SO₂-NHR), тиокарбокксигруппа (-C=O-SH) и карбокксикарбонил (-C=O-CO₂H).

Примеры оксигруппы (-OR) включают алкоксигруппу, циклоалкоксигруппу, алкенилоксигруппу, алкинилоксигруппу, арилоксигруппу, гетероарилоксигруппу и арилалкилоксигруппу. Предпочтительно, если
10 алкоксигруппой является C₁-C₄-алкоксигруппа и C₁-C₂-алкоксигруппа, и особенно предпочтительно, если ей является метоксигруппа или этоксигруппа.

Примеры карбонила (-C=O-R) включают формил (-C=O-H), алкилкарбонил, циклоалкилкарбонил, алкенилкарбонил, алкинилкарбонил, арилкарбонил, гетероарилкарбонил и арилалкилкарбонил.

15 Примеры оксикарбонила (-C=O-OR) включают алкилоксикарбонил, циклоалкилоксикарбонил, алкенилоксикарбонил, алкинилоксикарбонил, арилоксикарбонил, гетероарилоксикарбонил и арилалкилоксикарбонил.

Примеры карбонилксигруппы (-O-C=O-R) включают алкилкарбонилксигруппу, циклоалкилкарбонилксигруппу,
20 алкенилкарбонилксигруппу, алкинилкарбонилксигруппу, арилкарбонилксигруппу, гетероарилкарбонилксигруппу и арилалкилкарбонилксигруппу.

Примеры тиокарбонила (-C=O-SR) включают алкилтиокарбонил, циклоалкилтиокарбонил, алкенилтиокарбонил, алкинилтиокарбонил,
25 арилтиокарбонил, гетероарилтиокарбонил и арилалкилтиокарбонил.

Примеры карбонилтиогруппы (-S-C=O-R) включают алкилкарбонилтиогруппу, циклоалкилкарбонилтиогруппу, алкенилкарбонилтиогруппу, алкинилкарбонилтиогруппу, арилкарбонилтиогруппу, гетероарилкарбонилтиогруппу и
30 арилалкилкарбонилтиогруппу.

Примеры аминокарбонила (-C=O-NHR) включают алкиламинокарбонил (примеры которого включают C₁-C₆- или C₁-C₄-алкиламинокарбонил, в частности, этиламинокарбонил и метиламинокарбонил), циклоалкиламинокарбонил, алкениламинокарбонил, алкиниламинокарбонил,

ариламинокарбонил, гетероариламинокарбонил и арилалкиламинокарбонил. Дополнительные примеры включают соединения, в которых атом Н, присоединенный к атому N, содержащемуся в группе $-C=O-NHR$, дополнительно заменен на алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил или арилалкил.

5
10
15
20
25
30

Примеры карбониламиногруппы ($-NH-C=O-R$) включают алкилкарбониламиногруппу, циклоалкилкарбониламиногруппу, алкенилкарбониламиногруппу, алкинилкарбониламиногруппу, арилкарбониламиногруппу, гетероарилкарбониламиногруппу и арилалкилкарбониламиногруппу. Дополнительные примеры включают соединения, в которых атом Н, присоединенный к атому N, содержащемуся в группе $-NH-C=O-R$, дополнительно заменен на алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил или арилалкил.

Примеры оксикарбониламиногруппы ($-NH-C=O-OR$) включают алкоксикарбониламиногруппу, циклоалкоксикарбониламиногруппу, алкенилоксикарбониламиногруппу, алкинилоксикарбониламиногруппу, арилоксикарбониламиногруппу, гетероарилоксикарбониламиногруппу и арилалкилоксикарбониламиногруппу. Дополнительные примеры включают соединения, в которых атом Н, присоединенный к атому N, содержащемуся в группе $-NH-C=O-OR$, дополнительно заменен на алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил или арилалкил.

Примеры сульфоаминогруппы ($-NH-SO_2-R$) включают алкилсульфоаминогруппу, циклоалкилсульфоаминогруппу, алкенилсульфоаминогруппу, алкинилсульфоаминогруппу, арилсульфоаминогруппу, гетероарилсульфоаминогруппу и арилалкилсульфоаминогруппу. Дополнительные примеры включают соединения, в которых атом Н, присоединенный к атому N, содержащемуся в группе $-NH-SO_2-R$, дополнительно заменен на алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил или арилалкил.

Примеры аминосульфонил ($-SO_2-NHR$) включают алкиламиносульфонил, циклоалкиламиносульфонил, алкениламиносульфонил, алкиниламиносульфонил, ариламиносульфонил, гетероариламиносульфонил и арилалкиламиносульфонил. Дополнительные примеры включают соединения, в которых атом Н, присоединенный к атому N, содержащемуся в группе $-SO_2-NHR$, дополнительно

заменен на алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил или арилалкил.

Примеры сульфамоиаминогруппы (-NH-SO₂-NHR) включают алкилсульфамоиаминогруппу, циклоалкилсульфамоиаминогруппу, алкенилсульфамоиаминогруппу, алкинилсульфамоиаминогруппу, арилсульфамоиаминогруппу, гетероарилсульфамоиаминогруппу и арилалкилсульфамоиаминогруппу. Два атома Н, присоединенные к атому N, содержащемуся в группе -NH-SO₂-NHR, могут быть дополнительно заменены заместителями, независимо выбранными из группы, включающей алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил и арилалкил, и эти два заместителя могут образовать кольцо.

Заместители, содержащие атом S, включают такие группы, как тиол (-SH), тиогруппа (-S-R), сульфенил (-S=O-R), сульфонил (-SO₂-R) и сульфогруппа (-SO₃H).

Примеры тиогруппы (-S-R) включают алкилтиогруппу, циклоалкилтиогруппу, алкенилтиогруппу, алкинилтиогруппу, арилтиогруппу, гетероарилтиогруппу и арилалкилтиогруппу.

Примеры сульфонила (-SO₂-R) включают алкилсульфонил, циклоалкилсульфонил, алкенилсульфонил, алкинилсульфонил, арилсульфонил, гетероарилсульфонил и арилалкилсульфонил.

Заместители, содержащие атом N, включают такие группы, как азидная группа (-N₃, также называемая "азидогруппой"), цианогруппа (-CN), первичная аминогруппа (-NH₂), вторичная аминогруппа (-NH-R; также называемая монозамещенной аминогруппой), третичная аминогруппа (-NR(R')); также называемая дизамещенной аминогруппой), амидиновая группа (-C(=NH)-NH₂), замещенная амидиновая группа (-C(=NR)-NR'R''), гуанидиновая группа (-NH-C(=NH)-NH₂), замещенная гуанидиновая группа (-NR-C(=NR''')-NR'R''), аминокарбониламиногруппа (-NR-CO-NR'R''), пиридил, пиперидиновая группа, морфолиновая группа и азетидинил.

Примеры вторичной аминогруппы (-NH-R; монозамещенная аминогруппа) включают алкиламиногруппу, циклоалкиламиногруппу, алкениламиногруппу, алкиниламиногруппу, ариламиногруппу, гетероариламиногруппу и арилалкиламиногруппу.

Примеры третичной аминогруппы (-NR(R')); дизамещенная аминогруппа) включают аминогруппы, содержащие два заместителя, каждый из которых независимо выбран из группы, включающей алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил и арилалкил, например, алкил(арилалкил)аминогруппу, где любые два таких заместителя могут образовать кольцо. Конкретные примеры включают диалкиламиногруппу, в частности, C₁-C₆-диалкиламиногруппу, C₁-C₄-диалкиламиногруппу, диметиламиногруппу и диэтиламиногруппу. Термин "C_p-C_q-диалкиламиногруппа" при использовании в настоящем изобретении означает аминогруппу, замещенную двумя C_p-C_q-алкильными группами, где две C_p-C_q-алкильные группы могут быть одинаковыми или разными.

Примеры замещенной амидиновой группы (-C(=NR)-NR'R") i включают группы, в которых три заместителя R, R' и R", присоединенные к атому N, все независимо выбраны из группы, включающей алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил и арилалкил, например, алкил(арилалкил)(арил)амидиновую группу.

Примеры замещенной гуанидиновой группы (-NR-C(=NR''')-NR'R") включают группы, в которых R, R', R" и R''' все независимо выбраны из группы, включающей алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил и арилалкил, или группы, в которых эти заместители образуют кольцо.

Примеры аминокарбониламиногруппы (-NR-CO-NR'R") включают группы, в которых R, R' и R" все независимо выбраны из группы, включающей атом водорода, алкил, циклоалкил, алкенил, алкинил, арил, гетероарил и арилалкил, или группы, в которых эти заместители образуют кольцо.

В настоящем изобретении "аминокислотный остаток", входящий в состав пептидного соединения, может просто называться "аминокислотой".

При использовании в настоящем изобретении значение термина "и/или" включает любую комбинацию "и" и "или", которая является подходящей. Точнее, например, "A, B и/или C" включает следующие семь возможностей: (i) A, (ii) B, (iii) C, (iv) A и B, (v) A и C, (vi) B и C, и (vii) A, B и C.

Выражение "в основном состоящий (состоящие) из/в основном состоит (состоят) из" при использовании в настоящем изобретении означает, что основными компонентами являются указанные в настоящем изобретении (примеры которых включают, но не ограничиваются только ими,

кристаллические формы циклических пептидных соединений, циклические пептидные соединения и пептидные соединения), и могут содержаться другие компоненты, если они не оказывают неблагоприятное влияние на преимущества варианта осуществления настоящего изобретения, или, если они содержатся в таком количестве или в такой форме, что они не оказывают такое неблагоприятное влияние. Так, например, компоненты, не указанные в настоящем изобретении (примеры примесей включают, но не ограничиваются только ими, другие кристаллические формы искомого соединения, побочные продукты, полученные при проведении реакции, и непрореагировавшие продукты), могут содержаться, если они не оказывают неблагоприятное влияние на преимущества варианта осуществления настоящего изобретения, или, если они содержатся в таком количестве или в такой форме, что они не оказывают такое неблагоприятное влияние.

Выражение "в основном не содержащий (содержащие)/в основном не содержит (содержат)" при использовании в настоящем изобретении означает, что компоненты, указанные в настоящем изобретении (примеры которых включают, но не ограничиваются только ими, кристаллические формы циклических пептидных соединений, циклические пептидные соединения и пептидные соединения), не содержатся или, даже если такие компоненты содержатся, они не оказывают неблагоприятное влияние на преимущества варианта осуществления настоящего изобретения, или они содержатся в таком количестве или в такой форме, что они не оказывают такое неблагоприятное влияние. Так, например, такие компоненты, указанные в настоящем изобретении, могут содержаться, если они не оказывают неблагоприятное влияние на преимущества варианта осуществления настоящего изобретения, или, если они содержатся в таком количестве или в такой форме, что они не оказывают такое неблагоприятное влияние.

При использовании в настоящем изобретении термин "неблагоприятное влияние", используемый в контексте преимуществ, обеспечиваемых настоящим изобретением, означает влияние, которое уменьшает эффективность преимуществ настоящего изобретения. Так, например, если эффективность преимуществ настоящего изобретения уменьшена на 30%, 20%, 10% или 5% или менее, учитывая, что эффективность преимуществ, которая должна быть

продемонстрирована, разумеется, составляет 100%, можно считать, что существует "неблагоприятное влияние".

Способ получения циклических пептидных соединений

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата, проводимому по жидкофазной методике, и способ включает связывание N-концевого аминокислотного остатка, содержащегося в пептидном соединении, с C-концевым аминокислотным остатком, содержащимся в пептидном соединении, в растворителе (растворитель А), включающем один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: один или большее количество несмешивающихся с водой растворителей (например, растворители, обладающие низкой растворимостью в воде, растворители, обладающие высокими значениями коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$), или растворители, обладающие высокими теоретическими значениями коэффициента распределения в системе вода/октанол), один или большее количество растворимых в воде алкилнитрилов и один или большее количество растворимых в воде простых эфиров.

В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как сложный эфир, содержащий от 3 или большего количества до 10 или меньшего количества атомов углерода, такой как этилацетат, изопропилацетат, н-пропилацетат, трет-бутилацетат, метилпропионат или этилпропионат.

В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как циклический сложный эфир, содержащий от 4 или большего количества до 10 или меньшего количества атомов углерода, такой как 2-Ме-ТГФ, ТГФ, 4-метилтетрагидропиран или 1,4-диоксан. В некоторых вариантах осуществлен несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как ациклический простой эфир, содержащий от 4 или большего количества до 10 или меньшего количества атомов углерода, такой как МТБЭ, диизопропиловый эфир или диэтиловый эфир.

В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как простой эфир, содержащий и циклическую, и ациклическую алкильную группу, такой как ЦПМЭ.

В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как карбонат, содержащий от 3 или большего количества до 10 или меньшего количества атомов углерода, такой как диметилкарбонат, диэтилкарбонат или диизопропилкарбонат.

5 В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как углеводород, содержащий от 5 или большего количества до 10 или меньшего количества атомов углерода, такой как пентан, гексан или гептан.

10 В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может быть охарактеризован, как ароматический углеводород, содержащий от 6 или большего количества до 10 или меньшего количества атомов углерода, такой как толуол, ксилол или бензол.

15 В некоторых вариантах осуществления несмешивающийся с водой растворитель может характеризоваться тем, что он обладает низкой температурой кипения при давлении окружающей среды (примерно 1 атм.). Примером низкой температуры кипения при давлении окружающей среды (примерно 1 атм.) является равная выше 35°C и ниже 140°C.

20 Растворители, обладающие температурой кипения при давлении окружающей среды (примерно 1 атм.), равной выше 140°C, такие как ДМФ, ДМА, NMP или ДМСО, можно исключить из объема настоящего изобретения.

25 В некоторых вариантах осуществления растворитель, который, вероятно, может вступать в реакцию с пептидными соединениями или циклическими пептидными соединениями, можно исключить из числа несмешивающихся с водой растворителей, входящих в объем настоящего изобретения. В некоторых вариантах осуществления растворители, неподходящие для использования в качестве несмешивающихся с водой растворителей, могут быть охарактеризованы, как амин (например, н-пропиламин или диизопропиламин) или спирт (например, метанол, этанол, н-пропанол, фенол).

30 При использовании в настоящем изобретении несмешивающийся с водой растворитель включает, но не ограничивается только им, растворитель, обладающий низкой растворимостью в воде (например, обладающий растворимостью, составляющей менее 150 г/л). Растворимость в воде можно определить по любой методике, известной в данной области техники или описанной в настоящем изобретении. Типичные методики определения

растворимости включают, но не ограничиваются только ими, газовую хроматографию, где путем анализа определяют концентрацию указанного растворителя в воде с использованием образца, полученного путем смешивания указанного растворителя с водой в равных количествах при комнатной

5 температуре (например, равной от 15 до 40°C, предпочтительно от 20 до 30°C).

При использовании в настоящем изобретении растворитель, обладающий высоким значением коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$), предпочтительно обладает значением коэффициента, равным более 0 (нуль) и менее 5. Значение коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$) можно определить по любой методике, известной в данной области

10 техники или описанной в настоящем изобретении. Растворители, обладающие высокими значениями коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$), также включают растворители, обладающие высокими теоретическими значениями коэффициента распределения в системе вода/октанол, которые

15 независимо от проведения точного измерения, можно определить по методикам, известным в данной области техники, например, но не ограничиваясь только ими, поиск в базе данных или поиск в литературе.

В некоторых вариантах осуществления несмешивающимся с водой растворителем является ТГФ, 2-Ме-ТГФ, МТГП, диметилкарбонат, AcOEt, IPAc, анизол; предпочтительно ТГФ или 2-Ме-ТГФ и более предпочтительно 2-Ме-

20 ТГФ. Смешиваемость растворителей с водой описана в публикации Merck Index 14th Edition. Так, например, в этой публикации указано, что ДМСО растворим в воде и ацетонитрил смешивается с водой. В отличие от этого, в этой публикации указано, что гептан нерастворим в воде. 2-Ме-ТГФ не смешивается с водой (Org.

25 Process Res. Dev. 2007, 11(1): 156-159.). Определение смешиваемости растворителя с водой является обычной практикой и его можно провести по любой методике, известной в данной области техники или описанной в настоящем изобретении. Так, например, на несмешивающийся с водой

30 растворитель может указывать то, что, если растворитель смешивают с водой в равных количествах при температуре, равной примерно комнатной температуре (например, от 15 до 40°C, предпочтительно от 20 до 30°C), то смесь растворителя и воды разделяется на две фазы. Исследование смешиваемости растворителя с водой можно провести путем смешивания равных количеств растворителя и воды в сосуде, таком как делительная воронка, сосуд для

проведения реакции или реактор, при температуре, равной примерно комнатной температуре (например, от 15 до 40°C, предпочтительно от 20 до 30°C), и последующего определения, например путем визуального осмотра или анализа (например, с помощью ГХ) верхней части и нижней части находящейся в сосуде смеси, разделяется ли смесь воды и растворителя на две фазы; если смесь воды и растворителя на две фазы, то растворитель может быть охарактеризован, как несмешивающийся с водой.

Смешиваемость растворителя с водой может зависеть от растворимости растворителя в воде. Несмешивающиеся с водой растворители включают растворители, обладающие низкой растворимостью в воде. Хотя растворимость в воде может меняться в зависимости от температуры, в настоящем изобретении растворимость означает растворимость при температуре, равной примерно комнатной температуре, например, от 20 до 30°C. Растворимость растворителей в воде можно определить путем проведения фактического измерения (неограничивающие типичные методики приведены в настоящем изобретении, например, выше в настоящем изобретении), однако она указана в каталогах коммерческих поставщиков или в публикации Merck Index 14th Edition. В публикации Merck Index 14th Edition указано, что в 1 л воды растворяется 139 г диметилкарбоната, 43 г изопропилацетата и 100 г этилацетата, и что гептан нерастворим в воде. В этой публикации также указано, что в 1 л воды растворяется 140 г 2-Ме-ТГФ (Org. Process Res. Dev. 2007, 11(1): 156-159.) и 139 г диметилкарбоната (J. Mol. Catal. A Chem. 2010, 317: 1-18). Теоретические значения растворимости растворителя в воде можно установить путем поиска в базе данных, такой как SciFinder®. В ней указано, что в 1 л воды растворяется 3,2 г анизола, 20 г изопропилацетата, 39 г этилацетата и 4,7 мг гептана. Для установления растворимости в воде также можно использовать базу данных ChemIDplus Advanced (NIH) (<URL:https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>; поиск в интернете проводили 1 мая 2022 г.). В ней указано, что ацетонитрил, ТГФ и ДМСО, которые смешиваются с водой, обладают растворимостью в воде, составляющей 1000 г/л. Таким образом, несмешивающийся с водой растворитель обладает растворимостью в воде, составляющей 999 г/л или менее, 500 г/л или менее, 250 г/л или менее, предпочтительно 200 г/л или менее и более предпочтительно 150 г/л или менее.

Следует отметить, что растворимость 2-Ме-ТГФ в воде при комнатной температуре (например, при 25°C) составляет 150 г/л. Поэтому, более предпочтительной характеристикой, чем растворимость в воде, составляющая 150 г/л или менее, альтернативно (и эквивалентным образом), может являться характеристика, выраженная, как растворимость в воде при комнатной температуре (например, 25°C), равная растворимости 2-Ме-ТГФ или не превышающая ее. Как описано в настоящем изобретении, в способах, предлагаемых в настоящем изобретении, для синтеза пептидного соединения можно использовать несмешивающиеся с водой растворители, при этом (1) растворитель для проведения реакции можно использовать в качестве растворителя для экстракции при проведении последующей обработки реакционной смеси водой (поскольку он является несмешивающимся с водой), и (2) полученный при экстракции раствор, содержащий пептидное соединение, можно использовать в качестве исходного вещества для проведения следующей стадии/реакции (т. е. раствор, содержащий исходное вещество для проведения на следующей стадии). В некоторых вариантах осуществления это обеспечивает возможность проведения и завершения всей реакции без выделения из начального растворителя для проведения реакции.

Растворители, обладающие низкой растворимостью в воде, включают растворители, обладающие растворимостью в воде, составляющей 999 г/л или менее. Неограничивающие примеры включают 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, этилацетат, изопропилацетат, гептан, анизол, МТБЭ, ЦПМЭ, 4-метилтетрагидропиран и толуол. Для увеличения степени превращения с образованием искомого продукта и предотвращения образования побочных продуктов реакции циклизации предпочтительно использовать 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат или анизол, или растворитель, содержащий один или большее их количество.

Смешиваемость растворителя с водой может зависеть от значения коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$), которое характерно для растворителя, или от теоретического значения коэффициента распределения в системе вода/октанол, как это описано в настоящем изобретении. Значение коэффициента распределения в системе вода/октанол указывает на растворимость соединения в липиде, и известно, что соединения, обладающие более высокой растворимостью в липиде, обладают более высокими

значениями коэффициента. Значение $\log K_{ow}$ можно определить путем проведения фактического измерения, как это известно в данной области техники или описано в настоящем изобретении. Альтернативно, значением $\log K_{ow}$ может являться теоретическое значение, например, указанное в литературе

5 (установленное, например, путем поиска в базе данных, такой как SciFinder®, или поиска в базе данных ChemIDplus Advanced (NIH) (<URL:https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>; поиск в интернете проводили 1 мая 2022 г.). Примерами значений $\log K_{ow}$ или теоретических значений $\log K_{ow}$ для несмешивающихся с водой растворителей являются следующие: 1,35 для 2-Ме-ТГФ, 0,23 для диметилкарбоната, 2,11 для анизол, 1,02 для изопропилацетата, 10 0,73 для этилацетата и 4,66 для гептана, все они являются положительными значениями. В отличие от этого, значения $\log K_{ow}$ или теоретические значения $\log K_{ow}$ для смешивающихся с водой растворителей являются следующими: -0,34 для ацетонитрила и -0,31 для ДМСО, все они являются отрицательными

15 значениями. Таким образом, несмешивающиеся с водой растворители обладают положительными значениями $\log K_{ow}$ или теоретическими значениями $\log K_{ow}$, которые предпочтительно равны больше 0 и меньше 5.

В соответствии со способами, описанными в настоящем изобретении, растворители, обладающие высокими значениями коэффициента распределения

20 в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$) или высокими теоретическими значениями коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$), включают, но не ограничиваются только ими, 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, этилацетат, изопропилацетат, гептан, анизол, МТБЭ, ЦПМЭ и 4-метилтетрагидропиран.

Несмешивающиеся с водой растворители включают растворители,

25 обладающие низкой растворимостью в воде, или растворители, обладающие положительными значениями коэффициента распределения в системе вода/октанол ($\log K_{ow}$).

Растворимые в воде алкилнитрилы включают ацетонитрил и пропионитрил.

30 Растворимые в воде простые эфиры включают ТГФ, 1,4-диоксан и диметоксиэтан.

В одном варианте осуществления растворитель А может включать один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: несмешивающиеся с водой растворители, растворимые в воде

алкилнитрилы и растворимые в воде простые эфиры. Так, например, в одном варианте осуществления растворитель А может включать один или большее количество следующих: 2-Ме-ТГФ, ТГФ, МТГП, диметилкарбонат, АсОEt, IPAc, анизол, MeCN, ДХМ (дихлорметан) и толуол. Растворитель А может состоять только из одного или большего количества несмешивающихся с водой растворителей, только из одного или большего количества растворимых в воде алкилнитрилов или только из одного или большего количества растворимых в воде простых эфиров. Альтернативно, растворитель А может включать растворители, выбранные из двух или большего количества следующих групп: несмешивающийся с водой растворитель (растворители), растворимый в воде алкилнитрил (алкилнитрилы) и растворимый в воде простой эфир (простые эфиры). Как это раскрыто в настоящем изобретении, если растворитель А включает несмешивающийся с водой растворитель (растворители), то растворитель А может включать один или большее количество таких растворителей. Аналогичным образом, если растворитель А включает растворимый в воде алкилнитрил (алкилнитрилы), то растворитель А может включать один или большее количество таких растворителей; и если растворитель А включает растворимый в воде простой эфир (простые эфиры), то растворитель А может включать один или большее количество таких растворителей.

В одном варианте осуществления растворитель А в дополнение к несмешивающимся с водой растворителям может включать растворимые в воде алкилнитрилы и растворимые в воде простые эфиры, растворитель (растворители), не относящийся ни к одной категории этих растворителей, такой как ДМФ и ацетон.

В одном варианте осуществления растворитель А может не включать растворители, выбранные из числа протонных растворителей, таких как спирты (MeOH, EtOH, n-PrOH, iPrOH, nBuOH, iBuOH, tBuOH), первичные амины (nPrNH₂, iPrNH₂, nBuNH₂, tBuNH₂), вторичные амины (Et₂NH, nPr₂NH, iPr₂NH, nBu₂NH, tBu₂NH) и карбоновые кислоты (AcOH, EtCO₂H, nPrCO₂H), которые могут обладать способностью вступать в реакцию с пептидом или циклическими пептидными соединениями, описанными в настоящем изобретении.

Если растворитель А включает растворитель (растворители), не относящийся к категориям несмешивающихся с водой растворителей,

растворимых в воде алкилнитрилов и растворимых в воде простых эфиров, то несмешивающийся с водой растворитель (растворители) предпочтительно содержатся в количестве, равном не более 40 мас.%, более предпочтительно не более 30 мас.%, не более 25 мас.%, не более 20 мас.%, не более 15 мас.%, не более 10 мас.% или не более 5 мас.% в пересчете на полное количество растворителя А.

В одном варианте осуществления пептидное соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, может являться линейным пептидным соединением. В другом варианте осуществления пептидное соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, может являться циклическим пептидным соединением. В одном варианте осуществления линейное или циклическое пептидное соединение в качестве частичной структуры может включать циклическую структуру. Циклические структуры, в особенности, включают структуры, в которых боковая цепь аминокислотного остатка связана с боковой цепью другого аминокислотного остатка, структуры, в которых N-заместитель аминокислотного остатка связан с боковой цепью другого аминокислотного остатка, и структуры, в которых боковая N-заместитель аминокислотного остатка связан с N-заместителем другого аминокислотного остатка. Два аминокислотных остатка, участвующих в связывании с образованием циклической структуры, могут являться соседними или между ними может находиться любое количество аминокислотных остатков, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 или 19 аминокислотных остатков. На размер кольца циклической структуры не накладываются особые ограничения, однако примеры включают, но не ограничиваются только ими, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, 15-, 16-, 17-, 18-, 19-, 20-, 21-, 22-, 23-, 24-, 25-, 26-, 27-, 28-, 29-, 30-, 31-, 32-, 33-, 34- или 35-членные кольца. Если пептидное соединение обладает циклической структурой, то на количество циклических структур не накладываются ограничения, однако предпочтительно, если соединение включает 1, 2, 3, 4 или 5 циклических структур.

В настоящем изобретении N-концевой аминокислотный остаток и C-концевой аминокислотный остаток, содержащиеся в пептидном соединении, связаны амидной связью или связью, выбранной из числа следующих: - $(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_m-$, - $(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ или - $(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{O})_2(\text{CH}_2)_m-$, где n и m все независимо равны 1 или 2.

Если N-концевой аминокислотный остаток и C-концевой аминокислотный остаток, содержащиеся в пептидном соединении, связаны амидной связью, то циклическое пептидное соединение или его соль, или его сольват можно получить по реакции конденсации аминогруппы N-концевого аминокислотного остатка и карбоксигруппы C-концевого аминокислотного остатка. Амидная связь может быть образована между аминогруппой, содержащейся в основной цепи N-концевого аминокислотного остатка, и карбоксигруппой, содержащейся в основной цепи C-концевого аминокислотного остатка, она может быть образована между аминогруппой, содержащейся в основной цепи N-концевого аминокислотного остатка, и карбоксигруппой, содержащейся в боковой цепи C-концевого аминокислотного остатка; она может быть образована между аминогруппой, содержащейся в боковой цепи N-концевого аминокислотного остатка, и карбоксигруппой, содержащейся в основной цепи C-концевого аминокислотного остатка; или она может быть образована между аминогруппой, содержащейся в боковой цепи N-концевого аминокислотного остатка, и карбоксигруппой, содержащейся в боковой цепи C-концевого аминокислотного остатка. При проведении реакции конденсации карбоксигруппу можно активировать в системе для проведения реакции с использованием конденсирующего реагента или ее можно заранее превратить в активную сложноэфирную группу. При использовании в настоящем изобретении термин "реакция конденсации аминогруппы и карбоксигруппы" означает связывание аминогруппы и карбоксигруппы амидной связью.

В одном варианте осуществления реакцию конденсации можно провести путем перемешивания реакционной смеси в течение от 10 мин до 48 ч в растворителе А, в присутствии или при отсутствии конденсирующего реагента, при температуре, находящейся в диапазоне от -20°C до равной примерно температуре кипения растворителя, предпочтительно от -20 до 100°C или предпочтительно от -5 до 60°C . Если при проведении реакции конденсации используют конденсирующий реагент, то конденсирующий реагент или раствор, содержащий конденсирующий реагент, можно добавить к раствору, содержащему исходные вещества и необязательно основание, или раствор, содержащий исходные вещества и необязательно основание, можно добавить к раствору, содержащему конденсирующий реагент. В настоящем изобретении

процедура проводимого по каплям добавления раствора, содержащего исходные вещества и необязательно основание, к раствору, содержащему конденсирующий реагент, может называться "проводимым по каплям добавлением в обратном порядке". При использовании проводимого по каплям добавления раствора, содержащего конденсирующий реагент, в обратном порядке в течение длительного периода времени, например, в течение от нескольких часов до нескольких дней, предпочтительно от 1 до 24 ч или более предпочтительно от 1 до 10 ч, можно предотвратить образование побочных продуктов, димеров и тримеров. Если при проведении реакции конденсации не используют конденсирующий реагент, то можно использовать соединение, заранее полученное путем превращения карбоксигруппы в активную сложноэфирную группу.

На конденсирующий реагент и его количество, используемое для реакции конденсации аминогруппы и карбоксигруппы, не налагаются особые ограничения, при условии, что происходит образование амидных связей, и предпочтительно, если используют конденсирующий реагент и его количество, обычно используемые для синтеза пептидов (см., например, публикацию Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup (Chem. Rev. 2011, 111, 6557-6602.)).

Конкретные примеры таких конденсирующих реагентов включают содержащие карбодиимидную группу. Так, например, для проведения реакции конденсации конденсирующий реагент, содержащий карбодиимидную группу, можно использовать в комбинации с гидроксисоединением, которое может образовать активный сложный эфир. Конденсирующие реагенты, содержащие карбодиимидную группу, включают, например, N,N'-дициклогексилкарбодиимид (ДЦК), N,N'-диизопропилкарбодиимид (ДИК) и 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимидгидрохлорид (EDCI) (см, например, каталог WATANABE Chemical, Chemical, Amino acids and chiral building blocks to new medicine).

Гидроксисоединения, которые могут образовывать активные сложные эфиры, включают, например, 1-гидрокси-1H-бензотриазол (HOBT), 1-гидрокси-7-азабензотриазол (HOAt), этил-2-циано-2-(гидроксиимино)ацетат (охума), 3,4-дигидро-3-гидрокси-4-оксо-1,2,3-бензотриазин (HOObt или HODhbt), N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбосимид (HONB), 2,3,4,5,6-пентафторфенол

(HOPfp), N-гидроксисукцинимид (HOSu) и 6-хлор-1-гидрокси-1H-бензотриазол (Cl-HOBt) (см, например, каталог WATANABE Chemical, Chemical, Amino acids and chiral building blocks to new medicine). Также можно использовать соли обладающих такой структурой соединений, такие как K-охума, калиевая соль охума. Из их числа особенно предпочтительными являются HOBt, HOAt, охума и HOObt. В частности, предпочтительным является использование комбинации ДИК и HOAt или комбинации ДИК и охума. Кроме того, фосфониевый конденсирующий реагент или урониевый конденсирующий реагент, такой как любой из следующих: O-(1H-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийгексафторфосфат (HBTU), O-(7-аза-1H-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийгексафторфосфат (GATU), N-[1-(циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминоокси)диметиламино(морфолино)]уронийгексафторфосфат (COMU), O-[(этоксикарбонил)цианометиленамино]-N,N,N',N'-тетраметилуронийгексафторфосфат (HOTU), O-(1H-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийтетрафторборат (TBTU), O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийтетрафторборат (TATU), [ethylcyano(гидроксиимино)ацетато-O²]три-1-пирролидинилфосфонийгексафторфосфат (PyOxim), 2-бром-1-этилпиридинийтетрафторборат (БЭП), 1H-бензотриазол-1-илокситри(пирролидино)фосфонийгексафторфосфат (PyBOP), 1H-бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфонийгексафторфосфат (BOP), бромтри(пирролидино)фосфонийгексафторфосфат (PyBroP), хлортри(пирролидино)фосфонийгексафторфосфат (PyClOP), (7-азабензотриазол-1-илокси)трипирролидинфосфонийгексафторфосфат (PyAOP), бромтрис(диметиламино)фосфонийгексафторфосфат (Brop), 3-(диэтоксифосфорилокси)-1,2,3-бензотриазин-4(3H)-он (DEPBT), N,N,N',N'-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уронийтетрафторборат (TSTU), N,N,N',N'-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уронийгексафторфосфат (HSTU), O-(3,4-дигидро-4-оксо-1,2,3-бензотриазин-3-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийтетрафторборат (TDBTU), тетраметилтриуроний-S-(1-оксидо-2-пиридил)-N,N,N',N'-тетрафторборат (ТОТТ) и O-(2-оксо-1(2H)-пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилуронийтетрафторборат (ТРТУ), можно использовать для проведения реакции конденсации в комбинации с любым из следующих оснований: N,N-диизопропилэтиламин (ДИПЭА), триэтиламин (ТЭА), 2,4,6-

триметилпиридин (2,4,6-коллидин) и 2,6-диметилпиридин (2,6-лутидин). В частности, предпочтительным является использование комбинации ГАТУ и ДИПЭА или использование комбинации СОМУ и ДИПЭА. Также можно использовать другие конденсирующие реагенты, включая N,N'-карбонилдиимдазол (КДИ), 1,1'-карбонилди-(1,2,4-триазол) (КДТ), 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолинийхлорид (ДМТ-ММ) и ангидрид пропилфосфоновой кислоты (ТЗР). В контексте настоящего изобретения для увеличения степени превращения при проведении реакции циклизации и предотвращения образования побочных продуктов предпочтительными конденсирующими реагентами являются ГАТУ, RuVOP и RuOxim. Предпочтительными комбинациями растворитель/конденсирующий реагент являются ГАТУ и анизол, диметилкарбонат или 2-Ме-ТГФ; RuVOP и ацетонитрил, анизол, диметилкарбонат, 2-Ме-ТГФ, 4-метилтетрагидропиран или этилацетат; или RuOxim и ацетонитрил, анизол, диметилкарбонат, 2-Ме-ТГФ или этилацетат. Более предпочтительными комбинациями растворитель/конденсирующий реагент являются анизол и RuVOP, диметилкарбонат и RuVOP, и 2-Ме-ТГФ и RuVOP.

Если N-концевой аминокислотный остаток и C-концевой аминокислотный остаток, содержащиеся в пептидном соединении, связаны связью, выбранной из числа следующих: $-(CH_2)_nS(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_nS(O)(CH_2)_m-$ или $-(CH_2)_nS(O)_2(CH_2)_m-$, то циклическое пептидное соединение или его соль, или его сольват можно получить, например, по реакции галогеналкильной или винильной группы, содержащейся в N-концевом аминокислотном остатке, с тиольной группой, содержащейся в C-концевом аминокислотном остатке, с образованием связи S-S и, при необходимости проводимого путем окисления превращения атома серы в сульфоксид или сульфон.

В одном варианте осуществления циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, содержит от 8 до 20 аминокислотных остатков и предпочтительно от 9 до 15 аминокислотных остатков. Из числа этих аминокислотных остатков не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 аминокислотных остатков могут являться неприродными аминокислотными остатками. В одном варианте

осуществления выраженное в процентах количество неприродных аминокислот, содержащихся в циклическом пептидном соединении, полученном способом, предлагаемым в настоящем изобретении, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в пептидном соединении.

Неприродный аминокислотный остаток, содержащийся в циклическом пептидном соединении, может представлять собой N-замещенный неприродный аминокислотный остаток или не являющийся N-замещенным неприродный аминокислотный остаток. Аминокислотный остаток, в котором аминогруппа, содержащаяся в основной цепи природной аминокислоты, замещена любым атомом или функциональной группой, отличающимися от атома водорода, и аминокислотный остаток, который обладает структурой, отличающейся от структуры природных аминокислот, содержащихся в боковой цепи, и в котором аминогруппа, содержащаяся в основной цепи, замещена любым атомом или функциональной группой, отличающимися от атома водорода, входят в число N-замещенных неприродных аминокислотных остатков. Аминокислотный остаток, в котором аминогруппа, содержащаяся в основной цепи, является незамещенной, но который обладает структурой, отличающейся от структуры природных аминокислот, содержащихся в боковой цепи, входит в число не являющихся N-замещенными неприродных аминокислотных остатков.

В одном варианте осуществления циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, может содержать не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 N-замещенных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество N-замещенных аминокислотных остатков, содержащихся в циклическом пептидном соединении, полученном способом, предлагаемым в настоящем изобретении, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в пептидном соединении. N-замещенные аминокислотные остатки могут представлять собой N-замещенные неприродные аминокислотные остатки.

В одном варианте осуществления циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, может содержать не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 не являющихся N-замещенными неприродных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество незамещенных неприродных аминокислотных остатков, содержащихся в циклическом пептидном соединении, полученном способом, предлагаемым в настоящем изобретении, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в пептидном соединении.

В одном варианте осуществления циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, может содержать не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 α,α -дизамещенных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество α,α -дизамещенных аминокислотных остатков, содержащихся в циклическом пептидном соединении, полученном способом, предлагаемым в настоящем изобретении, составляет, например, 5% или более, 10% или более, 20% или более, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в пептидном соединении.

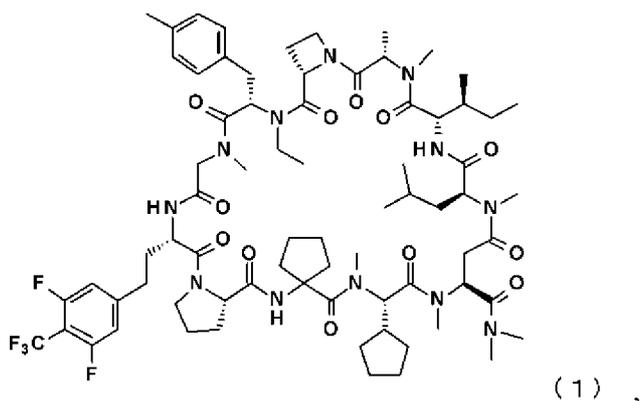
Циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, может состоять из от 9 до 11 аминокислотных остатков, из их числа один или большее количество, два или большее количество, три или большее количество, четыре или большее количество, пять или большее количество, или шесть или большее количество остатков могут представлять собой N-замещенные аминокислотные остатки, и из их числа один или большее количество, или два или большее количество остатков могут представлять собой не являющиеся N-замещенные неприродные аминокислотные остатки. Способ, предлагаемый в настоящем изобретении,

является особенно подходящим для получения циклических пептидных соединений, содержащих такое существенное количество неприродных аминокислотных остатков, в крупном масштабе.

В одном варианте осуществления циклическое пептидное соединение, полученное способом, предлагаемым в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой сольват, более предпочтительно гидрат, сольват гидрата с ДМСО, сольват гидрата с ацетоном или сольват с ДМСО и еще более предпочтительно, если оно представляет собой гидрат.

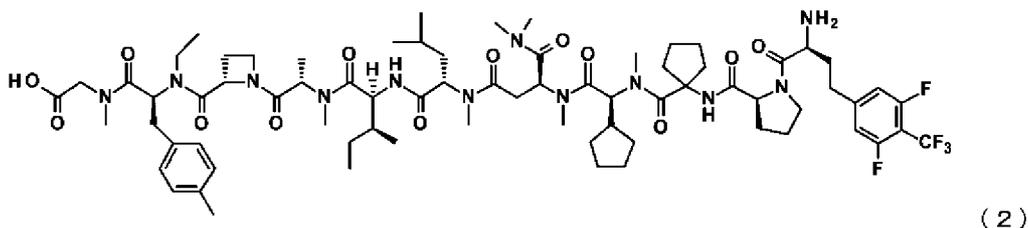
В одном варианте осуществления содержащиеся в линейном пептидном соединении С-концевой аминокислотный остаток или N-концевой аминокислотный остаток, или они оба могут являться аминокислотными остатками, которые не содержат асимметрический атом углерода в положении α -углеродного атома карбоксигруппы. Проведение реакции циклизации такого аминокислотного остатка, не содержащего асимметрический атом углерода, обеспечивает возможность предотвращения рацемизации в ходе реакции циклизации. Аминокислотные остатки, которые не содержат асимметрический атом углерода в положении α -углеродного атома карбоксигруппы, включают содержащие одинаковые заместители α -углеродного атома. Так, например, аминокислотный остаток, в котором α -углеродный атом замещен двумя атомами водорода, т. е. α -углеродный атом представляет собой $-\text{CH}_2-$ (например, в случае глицина и N-замещенного глицина, такого как N-метилглицин), не содержит асимметрический атом углерода. Аминокислотный остаток, содержащий одинаковые заместители α -углеродного атома, например, метильную группу и метильную группу, не содержит асимметрический атом углерода. Кроме того, аминокислотный остаток, в котором α -углеродный атом замещен спироциклической группой, такой как спироциклопропильная группа, спироциклобутильная группа, спироциклопентильная группа и спироциклогексильная группа, другими словами, аминокислота, в которой заместители α -углеродного атома вместе с α -углеродным атомом образуют кольцо (такое как cLeu), также не содержит асимметрический атом углерода в положении α -углеродного атома карбоксигруппы.

В одном варианте осуществления циклическим пептидным соединением, полученным способом, предлагаемым в настоящем изобретении, является циклическое пептидное соединение, описываемое формулой (1):



или его соль, или его сольват. Как описано в WO 2021/090855, циклическое пептидное соединение формулы (1) применимо в качестве ингибитора KRAS и его можно применять для лечения различных заболеваний, связанных с KRAS, таких как рак.

Циклическое пептидное соединение, описываемое формулой (1), можно получить способом, включающим связывание N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка, содержащихся в линейном пептидном соединении, описываемым приведенной ниже формулой (2).



В одном варианте осуществления стадия связывания включает реакцию конденсации N-концевой аминогруппы и C-концевой карбоксигруппы, содержащихся в соединении формулы (2), в растворителе, включающем один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: один или большее количество несмешивающихся с водой растворителей, один или большее количество растворимых в воде алкилнитрилов и один или большее количество растворимых в воде простых эфиров. Для получения этого циклического пептидного соединения предпочтительным является использование растворителя, включающего растворимые в воде алкилнитрилы, такие как ацетонитрил, или несмешивающиеся с водой растворители, такие как анизол, диметилкарбонат, и/или 2-Ме-ТГФ.

В одном варианте осуществления предпочтительно не использовать колоночную хроматографию для выделения и/или очистки циклического

пептидного соединения или его соли, или его сольвата, полученного способом, предлагаемым в настоящем изобретении.

Циклическое пептидное соединение или его соль, или его сольват, полученный способом, предлагаемым в настоящем изобретении, можно выделить и/или очистить с использованием, например, кристаллизации вместо колоночной хроматографии.

Точнее, например, кристалл циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата можно получить путем проводимых после реакции конденсации разделения жидкостей в растворе реакционной смеси; при необходимости концентрирования и/или фильтрования органической фазы и добавления к полученному остатку растворителя, подходящего для кристаллизации, и необязательно затравочных кристаллов, при необходимости с последующим перемешиванием. На растворитель, добавляемый для проведения кристаллизации, не налагаются особые ограничения, при условии, что он обеспечивает образование кристаллов циклических пептидных соединений, однако им предпочтительно является растворитель, который обеспечивает возможность проведения процедуры уменьшения растворимости циклического пептидного соединения в растворе, в котором растворено циклическое пептидное соединение. Так, например, если циклическое пептидное соединение можно кристаллизовать путем уменьшения растворимости циклического пептидного соединения с помощью добавления плохого растворителя или охлаждения раствора, то в качестве примеров включены растворители, которые обеспечивают возможность проведения такой процедуры. Если кристалл циклического пептидного соединения можно получить путем выдерживания неочищенного кристалла циклического пептидного соединения в виде суспензии в течение заданного периода времени при условиях наличия суспензии, то для проведения кристаллизации можно использовать растворители, которые обеспечивают возможность проведения такой процедуры. Конкретные примеры растворителя, добавляемого для проведения кристаллизации, включают ацетон, воду, ДМСО, ацетонитрил или этанол и смеси этих растворителей.

В одном варианте осуществления кристалл циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата, полученного способом, предлагаемым в настоящем изобретении, может представлять собой кристалл несольватированной формы, кристалл сольвата, кристалл соли или кристалл

сольвата соли соединения формулы (1), как это описано ниже. В одном варианте осуществления кристалл несольватированной формы означает, что кристалл не является кристаллом сольвата или гидрата. Кристалл сольвата соединения, описываемого формулой (1), предпочтительно представляет собой кристалл сольвата гидрата с ДМСО (кристалл формы А или кристалл формы В), кристалл гидрата (кристалл формы С) или кристалл сольвата гидрата с ацетоном (кристалл формы Н) и более предпочтительно кристалл гидрата.

Способ получения пептидного соединения

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения пептидного соединения, проводимому по жидкофазной методике. Способ не включает выделение продукта, полученного на каждой стадии, однако он включает приведенные ниже стадии 1 и 2 и необязательно включает многократное повторение стадий 1 и 2:

(стадия 1): связывание/конденсацию защищенной по атому N аминокислоты или защищенного по атому N пептида с защищенной по атому С аминокислотой или защищенным по атому С пептидом; и

(стадия 2): проводимое после стадии 1 удаление защитной группы атома N, с получением таким образом пептидного соединения.

В одном варианте осуществления способ, предлагаемый в настоящем изобретении, может включать один цикл проведения стадий 1 и 2. В одном варианте осуществления в способе, предлагаемом в настоящем изобретении, стадии 1 и 2 можно повторять многократно. Для удлинения пептидной цепи последовательным образом предпочтительно многократное повторение стадий 1 и 2, например, от 2 до 20 раз.

При использовании в настоящем изобретении термин "защищенная по атому С аминокислота" означает природную или неприродную аминокислоту, в которой карбоксигруппа является защищенной, и термин "защищенный по атому С пептид" означает пептид, в котором защищена карбоксигруппа, содержащаяся в С-концевом аминокислотном остатке, является защищенной. Пептид может состоять только из природных аминокислотных остатков или неприродных аминокислотных остатков, или он может состоять из любой комбинации природных и неприродных аминокислотных остатков.

Защищенный по атому С пептид может содержать от 2 до 20 аминокислотных остатков, из их числа не менее 1, не менее 2, не менее 3, не

менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 аминокислотных остатков предпочтительно являются неприродными аминокислотными остатками.

5 Неприродные аминокислотные остатки, содержащиеся в защищенном по атому С пептиде, могут представлять собой N-замещенные аминокислотные остатки или не являющиеся N-замещенными неприродные аминокислотные остатки. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество
10 неприродных аминокислотных остатков, содержащихся в защищенном по атому С пептиде, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в защищенном по атому С пептиде.

Если защищенный по атому С пептид содержит N-замещенные аминокислотные остатки, то защищенный по атому С пептид может содержать
15 не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 N-замещенных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество N-замещенных аминокислотных остатков,
20 содержащихся в защищенном по атому С пептиде, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в защищенном по атому С пептиде. N-замещенные аминокислотные остатки могут представлять собой N-замещенные неприродные аминокислотные остатки.

25 Если защищенный по атому С пептид содержит не являющиеся N-замещенными неприродные аминокислотные остатки, то защищенный по атому С пептид может содержать не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не
30 менее 18 или не менее 19 не являющихся N-замещенными неприродных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество являющихся N-замещенными неприродных аминокислотных остатков, содержащихся в защищенном по атому С пептиде, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или

более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в защищенном по атому С пептиде.

В качестве защитной группы карбоксигруппы, содержащейся в "защищенной по атому С аминокислоте" и "защищенном по атому С пептиде", можно использовать любую защитную группу, известную в данной области техники, при условии, что она не уменьшает растворимость пептида в растворителе. Предпочтительно, если пептид, содержащий защищенную по атому С аминокислоту, обладает растворимостью в используемом для проведения реакции растворителе, составляющей не менее 1% (мас./об.), или более предпочтительно 5% (мас./об.) или более. Такие защитные группы карбоксигруппы, в особенности, включают метильную, этильную группу, группу t-Bu, тритильную и кумильную группу. Из их числа предпочтительной является группа t-Bu.

При использовании в настоящем изобретении термин "защищенная по атому N аминокислота" означает природную или не природную аминокислоту, в которой аминогруппа является защищенной, и термин "защищенный по атому N пептид" означает пептид, в котором защищена аминогруппа, содержащаяся в N-концевом аминокислотном остатке, является защищенной. Пептид может состоять только из природных аминокислотных остатков или не природных аминокислотных остатков, или он может состоять из любой комбинации природных и не природных аминокислотных остатков.

Защищенный по атому N пептид может содержать от 2 до 20 аминокислотных остатков, из их числа не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 аминокислотных остатков предпочтительно являются не природными аминокислотными остатками. Не природные аминокислотные остатки, содержащиеся в защищенном по атому N пептиде, могут представлять собой N-замещенные аминокислотные остатки или не являющиеся N-замещенными не природные аминокислотные остатки. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество не природных аминокислотных остатков, содержащихся в защищенном по атому N пептиде, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более,

60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в защищенном по атому N пептиде.

Если защищенный по атому N пептид содержит N-замещенные аминокислотные остатки, то защищенный по атому N пептид может содержать
5 не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18 или не менее 19 N-замещенных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления
10 выраженное в процентах количество N-замещенных аминокислотных остатков, содержащихся в защищенном по атому N пептиде, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в защищенном по атому N пептиде. N-замещенные аминокислотные остатки могут представлять собой N-замещенные неприродные аминокислотные остатки.

15 Если защищенный по атому N пептид содержит не являющиеся N-замещенные неприродные аминокислотные остатки, то защищенный по атому N пептид может содержать не менее 1, не менее 2, не менее 3, не менее 4, не менее 5, не менее 6, не менее 7, не менее 8, не менее 9, не менее 10, не менее 11, не менее 12, не менее 13, не менее 14, не менее 15, не менее 16, не менее 17, не
20 менее 18 или не менее 19 не являющихся N-замещенными неприродных аминокислотных остатков. В одном варианте осуществления выраженное в процентах количество являющихся N-замещенными неприродных аминокислотных остатков, содержащихся в защищенном по атому N пептиде, составляет, например, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 60% или
25 более, 70% или более, или 80% или более в пересчете на полное количество аминокислот, содержащихся в защищенном по атому N пептиде.

В качестве защитной группы аминогруппы, содержащейся в "защищенной по атому N аминокислоте" и "защищенном по атому N пептиде", можно использовать любую защитную группу, известную в данной области техники,
30 при условии, что она не уменьшает растворимость пептида в растворителе. Такие защитные группы аминогруппы, в особенности, включают Cbz, п-нитробензилкарбонил, 2-нафтилметилоксикарбонил, дифенилметилоксикарбонил, 9-антриметилоксикарбонил, Теос, Вос,

трифторацетил и Алос. Из их числа предпочтительными являются Cbz, Теос или трифторацетил.

5 Как это известно в данной области техники, в случае защищенных и по атому N, и по атому C аминокислот и/или пептидов защитную группу обычно выбирают в зависимости от условий проведения химической реакции и ее можно
выбрать по обычным методикам, известным в данной области техники.

10 Так, например, если в реакции используют несмешивающийся с водой органический растворитель (например, липофильный растворитель), то гидрофильная защитная группа не является подходящей, поскольку такая гидрофильная защитная группа будет уменьшать растворимость содержащего
защитную группу соединения в органическом растворителе. Соответственно, если используют несмешивающийся с водой растворитель (описанный в
настоящем изобретении), то липофильная защитная группа является
15 предпочтительной защитной группой вследствие обеспечения (поддержания) растворимости (например, пептида) в несмешивающемся с водой растворителе.

Выбор защитных групп можно провести по методикам, известным в
данной области техники или описанным в настоящем изобретении, например,
описанным в публикации "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fifth
Edition, 2014".

20 Неограничивающим примером защитной группы атома N, которую можно использовать в соответствии со способами, предлагаемыми в настоящем изобретении, является Cbz. Трифторацетильная группа также является
предпочтительной, если аминокислота содержит стерически затрудненную функциональную группу, такую как спироциклоалкильная группа, в α -
25 положении аминокислотного остатка.

(Реакция конденсации)

Стадия 1 является стадией защищенной по атому N аминокислоты или
защищенного по атому N пептида с защищенной по атому C аминокислотой или
защищенным по атому C пептидом с получением линейного пептидного
30 соединения, в котором N- и C-концы оба являются защищенными.

В одном варианте осуществления на стадии 1 связывание защищенной по атому C аминокислоты или защищенного по атому C пептида и защищенной по атому N аминокислоты или защищенного по атому N пептида проводят путем
реакции конденсации N-концевой аминогруппы, содержащейся в защищенных

по атому С аминокислоте или пептиде, с С-концевой карбоксигруппой
содержащейся в защищенных по атому N аминокислоте или пептиде, в
присутствии или при отсутствии конденсирующего реагента. Если реакцию
проводят в присутствии конденсирующего реагента, то карбоксигруппу можно
5 активировать в системе для проведения реакции. Если реакцию проводят при
отсутствии конденсирующего реагента, то можно использовать защищенные по
атому N аминокислоту или пептид, карбоксигруппа которых заранее
активирована.

На стадии 1 можно использовать методику, описанную в приведенном
10 выше разделе "Способ получения циклических пептидных соединений",
например, условия проведения реакции и реагенты, за исключением
растворителей. Конденсирующие реагенты, предпочтительно используемые
на этой стадии, включают конденсирующий реагент, выбранный из группы,
состоящей из следующих: ТЗР, EDCI, ГАТУ, COMU, БЭП, PyBOP, ДМТ-ММ и
15 PyOxim.

На стадии 1 реакцию и последующую обработку можно провести в одном
или большем количестве растворителей (растворитель В), независимо
выбранных из группы, состоящей из следующих: толуол, ацетон, ДМФ,
ацетонитрил, ТГФ, 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, анизол, изопропилацетат,
20 гептан, этилацетат и 4-метилтетрагидропиран, и последующую реакцию можно
провести без выделения и очистки продукта, т. е. искомого продукта реакции
конденсации. Растворитель В предпочтительно включает 2-Ме-ТГФ, смешанный
растворитель, содержащий 2-Ме-ТГФ и ацетонитрил (состав смеси: 0,5
мас.част., или более, предпочтительно от 0,5 до 20 мас.част., более
25 предпочтительно от 1 до 10 мас.част. и еще более предпочтительно от 1 до 5
мас.част. 2-Ме-ТГФ в пересчете на 1 мас.част. ацетонитрила), 4-
метилтетрагидропиран, диметилкарбонат, этилацетат и/или анизол в количестве,
равном по меньшей мере 1 мас.% или более, по меньшей мере 5 мас.% или
более, по меньшей мере 10 мас.% или более, по меньшей мере 15 мас.% или
30 более, по меньшей мере 20 мас.% или более, по меньшей мере 25 мас.% или
более, по меньшей мере 30 мас.% или более, по меньшей мере 35 мас.% или
более, по меньшей мере 40 мас.% или более, по меньшей мере 45 мас.% или
более, по меньшей мере 50 мас.% или более, по меньшей мере 55 мас.% или
более, по меньшей мере 60 мас.% или более, по меньшей мере 65 мас.% или

более, по меньшей мере 70 мас.% или более, по меньшей мере 75 мас.% или более, по меньшей мере 80 мас.% или более, по меньшей мере 85 мас.% или более, по меньшей мере 90 мас.% или более, или по меньшей мере 95 мас.% или более. Эта тенденция становится исключительной при использовании ГАТУ в качестве конденсирующего реагента. Если стадию 1 повторяют многократно, то растворитель В предпочтительно включает 2-Ме-ТГФ в количестве, равном по меньшей мере 1 мас.% или более, 5 мас.% или более, 10 мас.% или более, 15 мас.% или более, 20 мас.% или более, 25 мас.% или более, 30 мас.% или более, 35 мас.% или более, 40 мас.% или более, 45 мас.% или более, 50 мас.% или более, 55 мас.% или более, 60 мас.% или более, 65 мас.% или более, 70 мас.% или более, 75 мас.% или более, 80 мас.% или более, 85 мас.% или более, 90 мас.% или более, или 95 мас.% или более, при повторении цикла по меньшей мере 1 раз, по меньшей мере 2 раза, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 8 раз, по меньшей мере 7 раз, по меньшей мере 8 раз, по меньшей мере 9 раз или по меньшей мере 10 раз, или, альтернативно, в количестве, равном по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90% при повторении полного количества циклов стадии 1.

20 (Удаление защитной группы)

Стадия 2 является стадией удаления N-концевой защитной группы из пептида, полученного на стадии 1, в котором N- и C-концы оба являются защищенными.

В одном варианте осуществления, если защитной группой атома N является, например, Cbz, п-нитробензилоксикарбонил, 2-нафтилметилоксикарбонил, дифенилметилоксикарбонил или 9-антрилметилоксикарбонил, то стадию 2 можно провести путем каталитического гидрирования. Для проведения каталитического гидрирования можно использовать любой катализатор, известный в данной области техники. Точнее, катализаторы включают, например, Pd/C, Pd(OH)₂/C и PtO₂, и предпочтительным является Pd/C. Для проведения каталитического гидрирования можно использовать водород при нормальном давлении или при повышенном давлении. Если используют повышенное давление, то давление может быть равно не менее 1 атм. (14,7 фунт-сила/дюйм²), предпочтительно не менее 1 атм. (14,7 фунт-

сила/дюйм²) и не более 3 атм. (44,1 фунт-сила/дюйм²), предпочтительно не менее 1 атм. (14,7 фунт-сила/дюйм²) и не более 2 атм. (29,4 фунт-сила/дюйм²), и более предпочтительно не менее 1 атм. (14,7 фунт-сила/дюйм²) и не более 1,8 атм. (26,5 фунт-сила/дюйм²). Если при протекании реакции давление водорода
5 уменьшается, то можно повторно добавить водород. Так, например, если при протекании реакции давление водорода уменьшается до составляющего менее 90% от исходного давления, то для увеличения давления водорода до равного
10 исходному можно добавить водород. При этом водород можно добавлять любое количество раз до обеспечения искомой степени превращения при проведении реакции удаления защитной группы. Реакцию также можно начинать путем продувки водородом сосуда для проведения реакции, содержащего исходные
вещества, или путем продувки водородом сосуда для проведения реакции, не содержащего исходные вещества, и последующего добавления исходных
веществ в сосуд для проведения реакции.

15 В одном варианте осуществления стадию 2 можно провести в присутствии реагента для удаления защитной группы. Можно использовать любой реагент, известный в данной области техники, например, реагенты, описанные в публикации "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fifth Edition, 2014", и его выбор зависит от типа защитной группы атома N. Так, например, если
20 защитной группой атома N является Теос, трифторацетил, Fmoc, Boc и т. п., то предпочтительно использовать ТБАФ, LiBH₄, пиперидин, трифторуксусную кислоту, метансульфоновую кислоту и т. п.

Известно, что, если в качестве защитной группы атома азота, содержащегося в неприродных аминокислоте или пептиде, используют
25 трифторацетильную группу, то ее можно удалить с использованием восстановительного реагента - гидрида металла, такого как борогидрид натрия (Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fifth Edition, 2014). Однако, в некоторых случаях такие восстановительные реагенты не обеспечивают полное удаление защитной группы или их использование приводит к образованию
30 побочных продуктов. Авторы настоящего изобретения неожиданно столкнулись с затруднением, когда обработка производного cLeu, содержащего трифторацетильную защитную группу (Tfa-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)NMe₂), борогидридом натрия в дополнение к получению искомого соединения с удаленной защитной группой приводила к образованию

MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)NMe₂, побочного продукта, образующегося в результате расщепления амидной связи. Затем авторы настоящего изобретения обнаружили, что протекание побочной реакции можно предотвратить путем использования борогидрида лития. Авторы настоящего изобретения также

5 обнаружили, что, если после проведения реакции в качестве реагента для остановки реакции используют водный раствор хлорида аммония, то образуются продукты, подвергшиеся дальнейшему восстановлению. Поэтому авторы настоящего изобретения исследовали условия проведения реакции и

10 обнаружили, что образование побочных продуктов можно предотвратить, если до добавления водного раствора хлорида аммония, используемого в качестве реагента для остановки реакции, к раствору реакционной смеси при -20 - -10°C добавляют трифторэтанол, температуру реакционной смеси в течение 1 ч

устанавливают равной 0°C и смесь перемешивают в течение 1 ч и затем добавляют водный раствор хлорида аммония и проводят разделение жидкостей.

15 Авторы настоящего изобретения дополнительно обнаружили, что, поскольку атом бора связан с атомами азота соединения с удаленной защитной группой, полученного после разделения жидкостей, искомым пептид, в котором обеспечено расщепление связи бор-азот, можно получить путем проводимого при 10-30°C добавления трифторуксусной кислоты, перемешивания при 25°C,

20 смешивания с водным раствором гидроксида натрия и последующего проведения в смеси разделения жидкостей. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что при проведении этой реакции для предотвращения повторного связывания атома бора с атомом азота необходимо проводимое при 10-30°C в течение 50-90 мин по каплям добавление раствора, обработанного

25 трифторуксусной кислотой, как это описано выше, к водному раствору гидроксида натрия.

Соответственно, настоящее изобретение также относится к способам использования трифторацетильных групп в качестве защитных групп, дополнительно включающим (1) использование борогидрида лития в качестве

30 восстановительного реагента и/или (2) использование трифторэтанол до добавления водного раствора аммиака, используемого в качестве реагента для остановки реакции. Если трифторацетильные группы используют в качестве защитных групп, то предпочтительно, если способ включает и (1) использование

борогидрида лития в качестве восстановительного реагента; и (2) использование трифторэтанола до добавления водного раствора аммиака, использующегося в качестве реагента для остановки реакции.

5 Так же, как и на стадии 1, на стадии 2 реакцию и последующую обработку можно провести в одном или большем количестве растворителей (растворитель В), независимо выбранных из группы, состоящей из следующих: толуол, ацетон, ДМФ, ацетонитрил, ТГФ, 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, анизол, изопропилацетат, гептан, этилацетат и 4-метилтетрагидропиран, и последующую реакцию можно провести без выделения и очистки продукта, т. е. искомого
10 продукта с удаленной защитной группой. Растворитель В предпочтительно включает 2-Ме-ТГФ.

В одном варианте осуществления стадию 2 можно провести путем перемешивания реакционной смеси при температуре, от равной -40°C до равной примерно температуре кипения растворителя, предпочтительно при
15 температуре, равной от -30 до 100°C , и более предпочтительно при температуре, равной от -5 до 40°C , в течение от 15 мин до 48 ч.

Типичные параметры и условия проведения реакции приведены ниже. В одном варианте осуществления способ включает удаление защитной группы С-концевой аминокислоты, содержащейся в пептидном соединении, где защитной группой защищенного по атому С пептида, является t-Bu; реагентом для
20 удаления защитной группы является комбинация ГМДС и TMSOTf; растворитель, использующийся на стадии удаления защитной группы, включает IPAc или 2-Ме-ТГФ; и защищенный по атому С пептид состоит из от 2 до 13 аминокислотных остатков.

25 В родственных или отдельных вариантах осуществления способы включают удаление защитной группы из N-концевой аминокислоты, содержащейся в пептидном соединении, где защитной группой защищенного по атому N пептида является Cbz; условиями проведения удаления защитной группы является каталитическое гидрирование; катализатором реакции
30 гидрирования является Pd/C; давление H_2 при проведении реакции гидрирования равно не менее 1 атм. ($14,7$ фунт-сила/дюйм²) и не более 3 атм. ($44,1$ фунт-сила/дюйм²); растворитель, использующийся на стадии удаления защитной

группы, включает 2-Ме-ТГФ или ТГФ; и защищенный по атому N пептид состоит из от 2 до 13 аминокислотных остатков.

В родственных или отдельных вариантах осуществления способы включают удаление защитной группы из N-концевой аминокислоты, содержащейся в пептидном соединении, где защитной группой защищенного по атому N пептида является Теос; реагент для удаления защитной группы способен образовывать фторидный анион; реагентом для удаления защитной группы является ТБАФ; растворитель, использующийся на стадии удаления защитной группы, включает 2-Ме-ТГФ, изопропилацетат, диметилкарбонат или анизол; и защищенный по атому N пептид состоит из от 2 до 13 аминокислотных остатков.

В родственных или отдельных вариантах осуществления способы включают удаление защитной группы из N-концевой аминокислоты, содержащейся в пептидном соединении, где защитной группой защищенного по атому N пептида является трифторацетил (Tfa); реагентом для удаления защитной группы является восстановительный реагент; реагентом для удаления защитной группы является борогидрид лития; растворитель, использующийся на стадии удаления защитной группы, включает 2-Ме-ТГФ или метанол; и защищенный по атому N пептид состоит из от 2 до 13 аминокислотных остатков.

Известно, что в некоторых случаях удаление защитной группы атома азота N-концевого аминокислотного остатка, содержащегося в пептиде, не приводит к получению искомого пептида с удаленной защитной группой вследствие образования дикетопиперазина (*J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1987, 1155-1156.).

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что, если проводят реакцию гидрогенолиза производного Cbz-Ile-MeAla-Aze для удаления группы Cbz, которая является защитной группой N-концевого атома азота, содержащегося в этом производном, то в ходе реакции происходит образование дикетопиперазина и это препятствует последующему удлинению пептида.

Поэтому авторы настоящего изобретения исследовали условия проведения реакций удаления группы Cbz и удлинения пептида и обнаружили, что удлинение пептида можно провести эффективным образом путем проведения реакции гидрогенолиза содержащего группу Cbz соединения для удаления Cbz в присутствии активного эфира аминокислоты. В публикации *J. Chem. Soc., Chem.*

Commun., 1987, 1155-6 описаны примеры удлинения пептида путем проведения реакции гидрогенолиза содержащих группу Cbz соединений в присутствии активного эфира аминокислоты. Однако в этой публикации в качестве содержащих группу Cbz соединений описаны только Cbz-Ala-D-Pro-OMe, Cbz-Asu(OBut)-D-Pro-OMe- и Cbz-D-Val-Pro-OMe и не описаны примеры производных Aze. В этой публикации также не раскрыт ни один пример реакции с активными эфирами N-алкиламинокислот. Вследствие стерических затруднений ожидается, что активные эфиры N-алкиламинокислот обладают уменьшенной активностью по сравнению с активными эфирами обычных аминокислот, в которых атом азота не является алкилированным. Поэтому, если удаление группы Cbz происходит раньше, чем реакция с активным эфиром N-алкиламинокислоты, то образуется дикетопиперазин. Поэтому необходимо установить условия, при которых после удаления группы Cbz сразу протекает реакция с активным эфиром N-алкиламинокислоты. В результате исследования условий проведения реакции авторы настоящего изобретения обнаружили, что, если проводят реакцию гидрогенолиза соединения Cbz-Ile-MeAla-Aze-EtPh(4-Me)-MeGly в присутствии активного эфира N-алкиламинокислоты Теос-MeLeu-rFr в атмосфере водорода при давлении, равном от 0,10 до 0,18 МПа (манометрическое давление), в изопропилацетате, к которому добавлены N-метилморфолин и Pd/C, то можно получить соединение Теос-MeLeu-Ile-MeAla-Aze-EtPh(4-Me)-MeGly и при этом избежать образование дикетопиперазина. Авторы настоящего изобретения также обнаружили, что при проведении этой реакции непрореагировавшие пептиды с удаленной защитной группой можно удалить путем проведения этой реакции в присутствии ацетона и проведения разделения жидкостей после проведения реакции. Точнее, было обнаружено, что, если реакцию гидрогенолиза проводят в присутствии 36 эквивалентов ацетона, то происходит изопропилиденирование аминокислотной группы непрореагировавшего пептида с удаленной защитной группой и это препятствует его превращению в дикетопиперазин, и этот изопропилиденированный пептид является основным соединением, которое не амидировано по концевому атому азота, и его можно легко удалить путем промывки кислотой при проведении разделения жидкостей после проведения реакции.

Способ получения пептидного соединения, предлагаемый в настоящем изобретении, может дополнительно включать стадию 3 удаления защитной группы атома С.

Стадию 3 можно провести в кислой среде в присутствии реагента для
5 удаления защитной группы, если защитной группой атома С является, например, t-Бу, тритил, кумил, метил или этил. В качестве реагента для удаления защитной группы можно использовать любой реагент, известный в данной области техники, например, реагенты, описанные в публикации "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, Fifth Edition, 2014". В настоящем изобретении для
10 обеспечения условий кислой среды предпочтительно использовать, например, комбинацию ГМДС с реагентом, выбранным из группы, состоящей из следующих: TMSOTf, TMSI, TMSBr и TMSCl.

Так же, как и на стадиях 1 и 2, на стадии 3 реакцию и обработку можно провести в одном или большем количестве растворителей (растворитель В),
15 независимо выбранных из группы, состоящей из следующих: толуол, ацетон, ДМФ, ацетонитрил, ТГФ, 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, анизол, изопропилацетат, гептан, этилацетат и 4-метилтетрагидропиран, и последующую реакцию можно провести без выделения и очистки продукта, т. е. искомого продукта с удаленной защитной группой. Растворитель В предпочтительно
20 включает 2-Ме-ТГФ.

Стадию 3 можно провести или после стадии 1 (т. е. между стадией 1 и стадией 2), или после стадии 2. Точнее, поскольку в способе, предлагаемом в настоящем изобретении, стадии 1 и 2 могут повторяться многократно, как это описано ниже, стадию 3 можно провести после стадии 1 или стадии 2 при
25 проведении первого цикла, после стадии 1 или стадии 2 при проведении определенного цикла повторения стадий 1 и 2, или после стадии 1 или стадии 2 при проведении заключительного цикла повторения стадий 1 и 2. В одном варианте осуществления стадию 3 предпочтительно проводят после стадии 1 или стадии 2 при проведении заключительного цикла повторения стадий 1 и 2, и
30 более предпочтительно после стадии 1 при проведении заключительного цикла повторения. Если стадию 3 проводят после стадии 1, то можно получить линейное пептидное соединение, только с защищенным N-концом. Если стадию 3 проводят после стадии 2, то можно получить линейное пептидное соединение, с удаленной защитной группой N- и С-концов.

В одном варианте осуществления стадию 3 можно провести путем перемешивания реакционной смеси при температуре, от равной -20°C до равной примерно температуре кипения растворителя, и предпочтительно при температуре, равной от 0 до 180°C , в течение от 15 мин до 48 ч.

5 (Повторение стадий 1 и 2)

В одном варианте осуществления способ получения пептидного соединения, предлагаемый в настоящем изобретении, включает повторение стадий 1 и 2, описанных выше, таким образом можно обеспечить удлинение пептидной цепи. На количество повторений не налагаются ограничения и
10 предпочтительно, если проводят от 2 до 20 повторений и более предпочтительно от 2 до 15 повторений. При повторении стадий 1 и 2 заключительный цикл повторений может не включать стадию 2. В одном варианте осуществления, если заключительный цикл повторений не включает стадию 2, то заключительной стадией способа, предлагаемого в настоящем изобретении, может являться
15 стадия 1. В этом случае полученное линейное пептидное соединение может представлять собой линейное пептидное соединение, в котором защищены оба N- и C-концы. В одном варианте осуществления, если заключительный цикл повторений не включает стадию 2, то заключительной стадией способа, предлагаемого в настоящем изобретении, может являться стадия 3, проводимая
20 после стадии 1. В этом случае полученное линейное пептидное соединение может представлять собой линейное пептидное соединение, в котором защищен только N-конец.

(Обработка)

На стадиях 1-3 после проведения каждой реакции можно провести,
25 обработку, которая обеспечивает возможность проведения последующей реакции без необходимости выделения промежуточного продукта в качестве отдельного продукта. Так, например, обработка может включать одну или множество процедур, выбранных из группы, состоящей из следующих:
30 процедура разделения жидкостей, включая промывку органического и водного слоев, процедура фильтрования и процедура концентрирования. Эти процедуры можно объединить подходящим образом для обеспечения условий, подходящих для проведения следующих стадий. Так, например, если на стадиях 1-3 каждую реакцию проводят с использованием конденсирующего реагента или реагента для удаления защитной группы, то в качестве обработки обычно проводят по

меньшей мере одну или большее количество процедур разделения жидкостей. Если на стадии 2 реакцию проводят путем каталитического гидрирования, то в качестве обработки обычно проводят процедуру фильтрования. В любом случае часть растворителя можно отогнать путем проведения дополнительной

5 процедуры концентрирования, например, для регулирования объема растворителя, используемого в реакции на следующей стадии, или для замены растворителя.

В одном варианте осуществления на стадиях 1-3 после завершения каждой реакции можно провести разделение жидкостей для жидкостно-жидкостной

10 экстракции искомого продукта. Эта процедура может включать промывку органического слоя или водного слоя. Если проводят разделение жидкостей, то в систему добавляют воду и/или водный раствор, и/или органический растворитель в количестве, подходящем для разделения жидкостей, например, соответствующем диапазону объемного отношения органический слой:водный

15 слой, составляющему от 20:80 до 80:20. Водные растворы, добавляемые для разделения жидкостей, включают водный раствор гидросульфата натрия, водный раствор карбоната калия, водный раствор карбоната натрия, водный раствор дикалийгидрофосфата, водный раствор динатрийгидрофосфата, водный раствор дигидрофосфата натрия, водный раствор хлорида натрия, водный раствор

20 цитрата, водный раствор аммиака и водный раствор хлористоводородной кислоты. Органические растворители, добавляемые для разделения жидкостей, включают несмешивающиеся с водой растворители, растворимые в воде алкилнитрилы и растворимые в воде простые эфиры. Несмешивающиеся с водой растворители, добавляемые для разделения жидкостей, в настоящем изобретении

25 иногда называются "растворителем С". Точнее, органические растворители, добавляемые для разделения жидкостей, включают, например, один или множество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: 2-метилтетрагидрофуран (2-Ме-ТГФ), диметилкарбонат, анизол, изопропилацетат, этилацетат, МТБЭ, ЦПМЭ, 4-метилтетрагидропиран, гептан и ацетонитрил. Для

30 проведения разделения жидкостей предпочтительно, если органический слой включает 2-Ме-ТГФ, который обладает стабильностью в щелочной среде и хорошо растворяет соединения.

В одном варианте осуществления, если растворитель В является смешивающимся с водой и на стадиях 1-3 после проведения каждой реакции

водный и органический слои не разделяются соответствующим образом, например, в случаях, когда содержится большое количество ацетонитрила или ТГФ, то водный и органический слои можно разделить путем проводимого до

5 несмешивающегося с водой растворителя (растворитель С). Происходит ли соответствующее разделение водного и органического слоев можно определить по стандартным методикам, например, но не ограничиваясь только этим, путем определения того, происходит ли разделение слоев на 2 слоя после проводимого

10 на стадиях 1-3 после проведения каждой реакции выдерживания в течение от 1 до 30 мин. Примеры растворителя С включают растворитель, обладающий низкой растворимостью в воде, например, растворитель, обладающий растворимостью в воде, составляющей 999 г/л или менее, 500 г/л или менее, 250 г/л или менее, предпочтительно 200 г/л или менее, и более предпочтительно 150 г/л или менее. Кроме того, растворители, предпочтительные для использования в

15 качестве растворителя С, включают растворители, обладающие положительными значениями $\log K_{ow}$ или теоретическими значениями $\log K_{ow}$, например, равными больше 0 и меньше 5. Конкретные примеры включают 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, этилацетат, изопропилацетат, гептан, анизол, МТБЭ, ЦПМЭ и 4-метилтетрагидропиран. Для обеспечения эффективной экстракции продуктов

20 реакции органическим растворителем предпочтительно использовать 2-Ме-ТГФ, этилацетат, изопропилацетат или гептан, или включающий их растворитель.

Растворитель С предпочтительно добавляют в количестве, которое обеспечивает разделение водного и органического слоев; например, его можно

25 добавить в систему в количестве, равном примерно от 50 до 100 мас.% в пересчете на полное количество органического слоя. Наличие разделения можно определить по стандартным методикам, например, но не ограничиваясь только этим, путем проводимого после добавления растворителя С выдерживания смеси в течение от 1 до 30 мин и наблюдения за разделением на 2 фазы .

В одном варианте осуществления процедура разделения жидкостей может

30 включать промывку органического слоя или водного слоя. При разделении жидкостей промывку можно провести для удаления из раствора, который содержит искомый продукт, веществ, которые могут являться примесями, отличающимися от искомого продукта, с использованием раствора, который не содержит искомый продукт. Искомый продукт обычно содержится в

органическом слое, в этих случаях вещества, которые могут являться примесями, можно экстрагировать в водный слой и удалить путем промывки органического слоя водным раствором. При этом в случаях, когда искомый продукт обычно содержится в водном слое вследствие, например, временного переноса искомого продукта из органического слоя в водный слой во время проведения процедуры разделения жидкостей, водный слой промывают.

Для промывки органического слоя можно использовать нейтральный, щелочной или кислый водный раствор. Точнее, водные растворы, которые можно использовать для промывки органических слоев, включают водные растворы, такие как водный раствор гидросульфата натрия, водный раствор гидросульфата калия, водный раствор карбоната калия, водный раствор карбоната натрия, водный раствор дикалийгидрофосфата, водный раствор динатрийгидрофосфата, водный раствор дигидрофосфата натрия, водный раствор хлорида натрия, водный раствор цитрата, водный раствор аммиака и водный раствор хлористоводородной кислоты. В одном варианте осуществления для удаления непрореагировавших аминокислот или пептидов, содержащихся в системе, в достаточной степени предпочтительно промывать органический слой водным раствором карбоната натрия, водным раствором гидросульфата натрия и/или водным раствором карбоната натрия в указанном порядке. Если все же невозможно обеспечить удаление аминокислот или пептидов в достаточной степени, то их можно эффективным образом удалить путем промывки органического слоя водным раствором, содержащим цитрат и дикалийгидрофосфат. Кроме того, в одном варианте осуществления для удаления аминокислот и пептидов, которые являются чрезвычайно липофильными, эффективной является промывка органического слоя смесью ацетонитрила и водного раствора карбоната калия.

Для промывки водных слоев можно использовать несмешивающиеся с водой органические растворители и подходящим является использование таких органических растворителей, как 2-Ме-ТГФ, гептан, МТБЭ и изопропилацетат.

Настоящее изобретение относится к способу удаления БМФ (2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол), содержащегося в растворителе в качестве стабилизирующего агента. Точнее, способ включает использование при проведении процедуры разделения жидкостей в качестве органического слоя растворителя, включающего ацетонитрил, пропионитрил, 2-Ме-ТГФ и гептан,

например, при проведении процедуры разделения жидкостей после каждой из стадий, предлагаемых в настоящем изобретении, обеспечивая при этом эффективное удаление БМФ. В соответствии с этим способом, количество БМФ, оставшегося в органическом слое, определенное, как выраженное в % значение площади пика, полученное путем анализа с помощью ВЭЖХ с УФ-детектированием при 210 нм, может составлять 2,0% или менее, 1,9% или менее, 1,8% или менее, 1,7% или менее, 1,6% или менее, 1,5% или менее, 1,4% или менее, 1,3% или менее, 1,2% или менее, 1,1% или менее, 1,0% или менее, 0,9% или менее, 0,8% или менее, 0,7% или менее, 0,6% или менее, 0,5% или менее, 0,4% или менее, 0,3% или менее, 0,2% или менее, 0,1% или менее, или 0,05% или менее в пересчете на количество искомого продукта. БМФ можно удалить с использованием в качестве органического слоя конкретного растворителя после растворения искомого продукта в водном слое, содержащем воду и растворимый в воде алкилнитрилы. В этом случае растворимым в воде алкилнитрилом предпочтительно является ацетонитрил. Органический слой, который можно использовать для удаления БМФ, предпочтительно содержит несмешивающийся с водой растворитель. Можно использовать комбинации множества несмешивающихся с водой растворителей и предпочтительной является комбинация 2-Ме-ТГФ и гептана или МТБЭ и гептана. В отношении предпочтительного отношения количества растворителя к количеству растворимого в воде алкилнитрила предпочтительно использовать 100 мас.% или более несмешивающегося с водой растворителя и более предпочтительно использовать количество, находящееся в диапазоне от 100 мас.% или более до 400 мас.% или менее, и еще более предпочтительно использовать количество, находящееся в диапазоне от 100 мас.% или более до 300 мас.% или менее, при этом обеспечивается эффективное удаление БМФ. Если объединяют и используют 2-Ме-ТГФ и гептан или МТБЭ и гептан, то эффективное удаление БМФ возможно при использовании 2-Ме-ТГФ или МТБЭ в количестве, находящемся в диапазоне от 10 мас.% или более до 100 мас.% или менее, предпочтительно 10 мас.% или более до 80 мас.% или менее в пересчете на количество гептана.

Имеющиеся в продаже ТГФ и 2-Ме-ТГФ иногда содержат примерно от 150 до 400 част./млн БМФ, используемого в качестве стабилизирующего агента. Если такой ТГФ или 2-Ме-ТГФ используют в больших количествах, то

количество оставшегося БМФ может достигать, например, 4%, если количество стадий равно 20 или более, и невозможно не учитывать его неблагоприятное воздействие на протекание реакции. С использованием способа, предлагаемого в настоящем изобретении, процедура предварительного удаления БМФ из растворителя или процедуры выделения (например, с помощью колоночной хроматографии), проводимая для удаления БМФ, накопившегося во время проведения способа, становится ненужной. Поэтому при использовании способа в крупном масштабе, жидкофазный синтез пептидов, который включает множество стадий, можно провести последующее удлинение пептидных цепей и эффективным образом получить искомое пептидное соединение.

Для проведения фильтрования и концентрирования в настоящем изобретении можно использовать любые процедуры фильтрования и концентрирования, известные в настоящее время в данной области техники.

В одном варианте осуществления растворитель, например, растворитель, использующийся для промывки сосуда для проведения реакции, такого как реакционный бак, можно добавить в систему до или после проведения одной или множества процедур, выбранных из группы, состоящей из следующих: процедура разделения жидкостей, процедура фильтрования и процедура концентрирования, проводимые после каждой стадии в качестве последующих обработок, или до начала реакции, проводимой на следующей стадии. Точнее, в систему можно добавить один или множество растворителей, независимо выбранных из группы, состоящей из следующих: толуол, ацетон, ДМФ, ацетонитрил, ТГФ, 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, анизол, изопропилацетат, гептан, этилацетат и 4-метилтетрагидропиран. В настоящем изобретении процедура добавления растворителя включена в процедуру обработки.

Способ получения пептидного соединения, предлагаемый в настоящем изобретении, не включает процедуру выделения образовавшихся соединений в виде отдельных продуктов. Таким образом, растворитель, полученный после обработки, проводимой на стадии 2 первого цикла, или растворитель, полученный после обработки, проводимой на стадии 2 цикла, который включает повторение стадий 1 и 2, можно использовать в качестве растворителя для проведения реакции (растворитель В) на стадии 1 следующего цикла. Аналогичным образом, растворитель, полученный после обработки, проводимой на стадии 1 первого цикла, или растворитель, полученный после обработки,

проводимой на стадии 1 цикла, который включает повторение стадий 1 и 2, можно использовать в качестве растворителя для проведения реакции (растворитель В) на стадии 2 этого цикла. Это означает, что, поскольку проводят повторение стадий 1 и 2, состав растворителя В может меняться, однако компоненты растворителя, из которого состоит растворитель В, могут являться такими же, как использовавшиеся для проведения реакции на стадиях 1 и 2 и проводимой на них процедуры обработки.

В одном варианте осуществления растворители (растворитель А), использующиеся в способе получения пептидного соединения, предлагаемом в настоящем изобретении, включают растворитель, полученный после получения линейного пептидного соединения способом, предлагаемым в настоящем изобретении (растворитель Х). В одном варианте осуществления растворитель Х можно непосредственно использовать в качестве растворителя А для проведения реакции циклизации. В другом варианте осуществления растворитель А можно получить путем дополнительного добавления к растворителю Х одного или большего количества растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: один или большее количество несмешивающихся с водой растворителей, один или большее количество растворимых в воде алкилнитрилов и один или большее количество растворимых в воде простых эфиров. Если растворитель А получают путем дополнительного добавления растворителей к растворителю Х, то добавляемые растворители предпочтительно включают 2-Ме-ТГФ, диметилкарбонат, этилацетат, изопропилацетат, анизол, ацетонитрил, ТГФ, 4-МеТНР, хлорбензол, 1,3-диметоксибензол, МТБЭ и ЦПМЭ, и особенно предпочтительными являются ацетонитрил, 2-Ме-ТГФ, анизол и диметилкарбонат. Так, например, если растворитель А получают путем добавления растворителя, например, ацетонитрила, 2-Ме-ТГФ, анизола или диметилкарбоната к растворителю Х, то растворитель предпочтительно добавляют в количестве, в 20-80 превышающем массу растворителя Х.

Хотя, как это описано выше, в способе получения пептидного соединения, предлагаемом в настоящем изобретении, стадии 1 и 2 можно повторять, предпочтительно, если защищенный по атому С пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба, использующиеся на стадии 1 заключительного цикла повторений, содержит 4 или большее количество N-замещенных

аминокислотных остатков или 2 или большее количество N-замещенных аминокислотных остатков, и содержит один или большее количество α,α -дизамещенных аминокислотных остатков. N-замещенные аминокислотные остатки предпочтительно представляют собой N-алкиламинокислотные остатки, такие как N-метил- или N-этиламинокислотные остатки, или N-замещенные циклические аминокислотные остатки, такие как пролин или Aze(2). α,α -Дизамещенные аминокислотные остатки предпочтительно представляют собой α,α -диалкиламинокислотные остатки, такие как α,α -диметиламинокислотные остатки, и α,α -дизамещенные циклические аминокислотные остатки, такие как cLeu, в котором две группы, содержащиеся в α -положении, связаны с образованием алициклического кольца.

Кроме того, в одном варианте осуществления предпочтительно, если защищенный по атому С пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба, используемые на стадии 1 заключительного цикла повторений, состоят из 5 аминокислотных остатков, из числа которых 4 являются неприродными аминокислотными остатками.

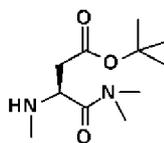
В другом варианте осуществления предпочтительно, если защищенный по атому С пептид или защищенный по атому N пептид, или они оба, используемые на стадии 1 заключительного цикла повторений, состоят из 6 аминокислотных остатков, из числа которых 5 являются неприродными аминокислотными остатками.

В одном варианте осуществления способ получения пептидного соединения, предлагаемый в настоящем изобретении, можно применять для получения линейного пептидного соединения, предназначенного для использования в качестве исходного вещества в способе получения циклического пептидного соединения, предлагаемом в настоящем изобретении. Так, например, если циклическое пептидное соединение формулы 1, приведенной выше, получают в соответствии со способом получения циклического пептидного соединения, предлагаемым в настоящем изобретении, то для получения линейного пептидного соединения, которое используют в качестве исходного вещества для получения, в качестве защищенного по атому С пептида, используемого на стадии 1 заключительного цикла повторений, можно использовать MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGly, защищенный по атому С, и в качестве защищенного по атому N пептида на стадии 1 пептида,

используемого на стадии 1 заключительного цикла повторений, можно использовать Hph(4-CF₃-35F2)-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp-NMe₂, защищенный по атому N.

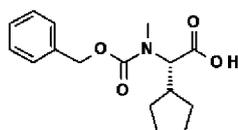
5 В одном варианте осуществления способ получения пептидного соединения, предлагаемый в настоящем изобретении, можно применять для получения линейного пептидного соединения формулы (2), приведенной выше, которое можно использовать в качестве исходного вещества для получения циклического пептидного соединения формулы (1), приведенной выше.

10 Точнее, например, при проведении первой реакции в качестве защищенной по атому С аминокислоты можно использовать



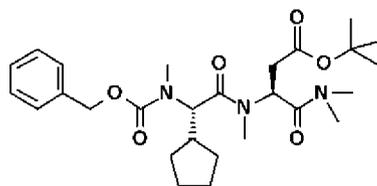
(MeAsp(OtBu)-NMe₂),

и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



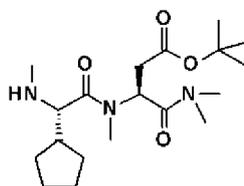
15 (Z-MeGly(cPent)),

и на стадии 1 можно получить



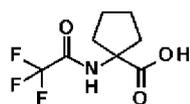
(Z-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe₂),

и затем на стадии 2 можно получить



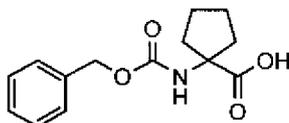
20 (MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe₂).

Затем это соединение можно использовать в качестве защищенной по атому С аминокислоты и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



(Tfa-cLeu)

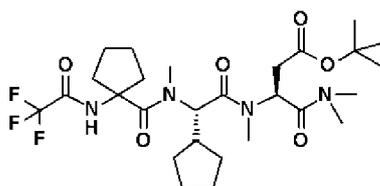
или



(Cbz-cLeu),

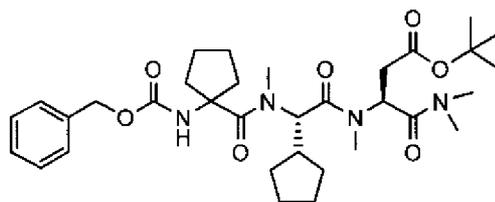
5

и на стадии 1 можно получить



(Tfa-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe₂)

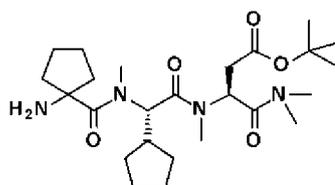
или



(Cbz-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe₂),

10

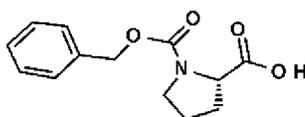
и затем на стадии 2 можно получить



(cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe₂).

15

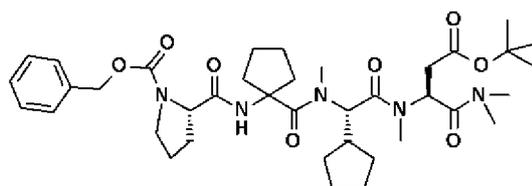
Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



(Z-Pro),

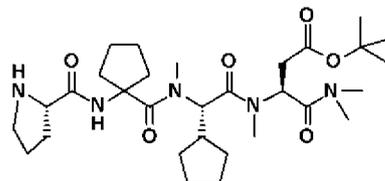
20

и на стадии 1 можно получить



(Z-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe2),

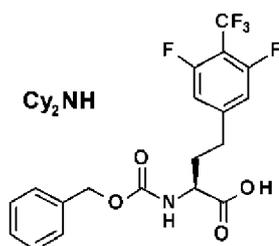
и затем на стадии 2 можно получить



5

(Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe2).

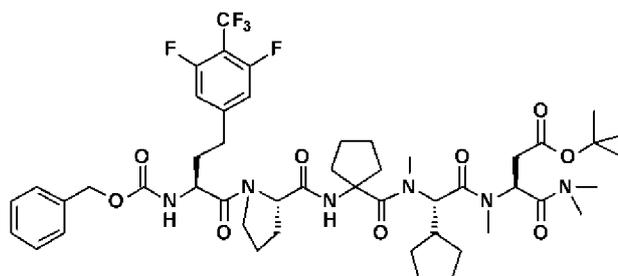
Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



10

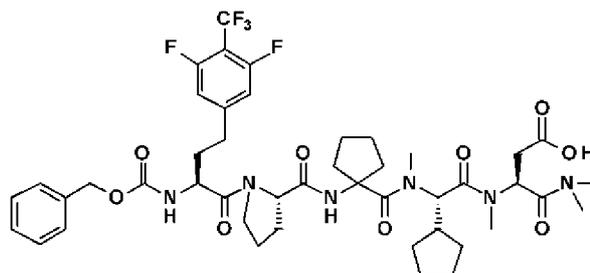
(Z-Hph(4-CF3-35F2) Cy2NH),

и на стадии 1 можно получить



(Z-Hph(4-CF3-35F2)-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp(OtBu)-NMe2),

и затем на стадии 3 можно получить



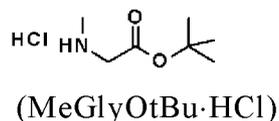
15

(Z-Hph(4-CF3-35F2)-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp-NMe2)

который при проведении этой реакции является искомым продуктом.

Эта реакция представляет собой случай, когда включена стадия 3, проводимая после стадии 1, и заключительный цикл повторений стадий 1 и 2 не включает стадию 2.

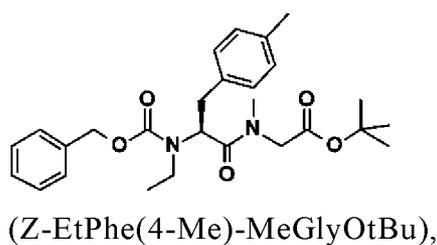
5 Затем при проведении второй реакции в качестве защищенной по атому С аминокислоты можно использовать



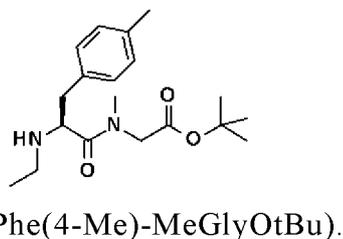
и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



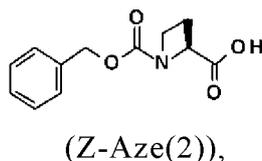
и на стадии 1 можно получить



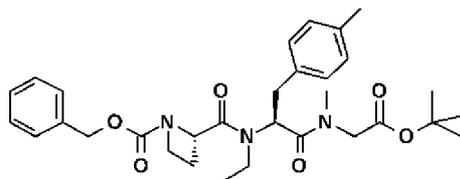
15 и затем на стадии 2 можно получить



20 Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать

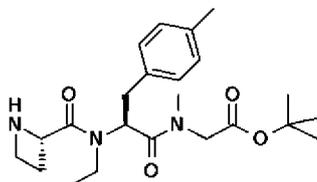


и на стадии 1 можно получить



(Z-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu),

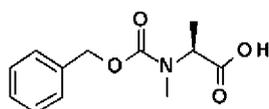
и затем на стадии 2 можно получить



5

(Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu).

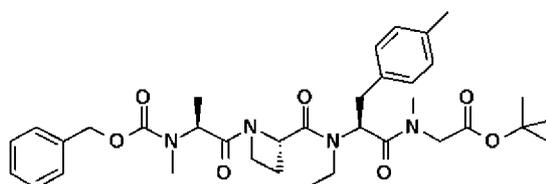
Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



10

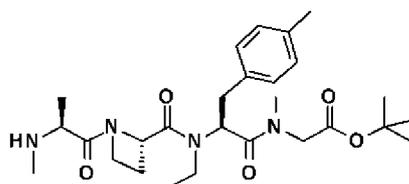
(Z-MeAla),

и на стадии 1 можно получить



(Z-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu)

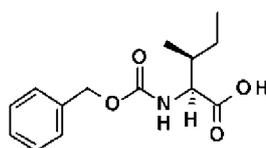
и затем на стадии 2 можно получить



15

(MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu).

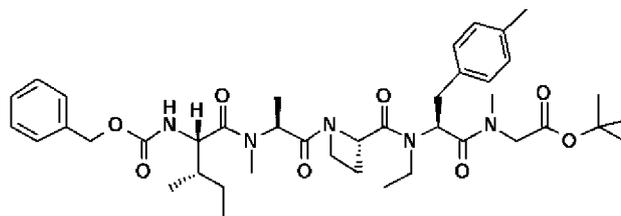
Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать



20

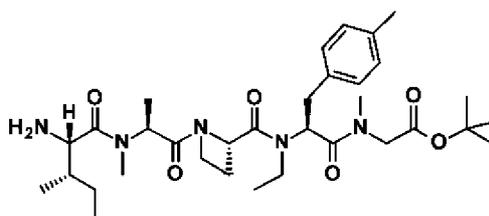
(Z-Ile),

и на стадии 1 можно получить



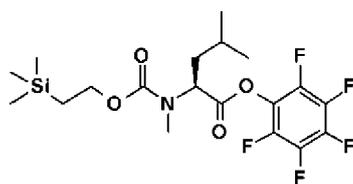
(Z-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu),

5 и затем на стадии 2 можно получить



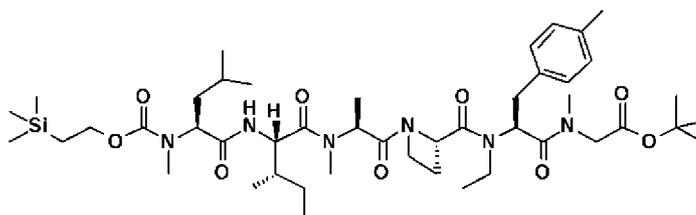
(Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu).

Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по
атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно
10 использовать



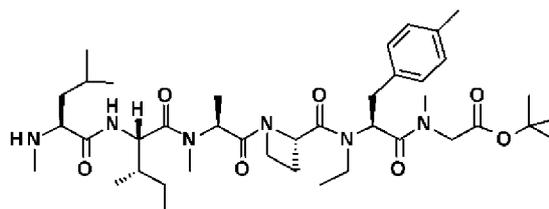
(Teos-MeLeu-Opfp),

и на стадии 1 можно получить



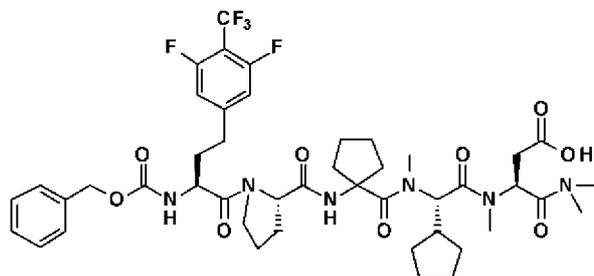
15 (Teos-MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu),

и затем на стадии 2 можно получить

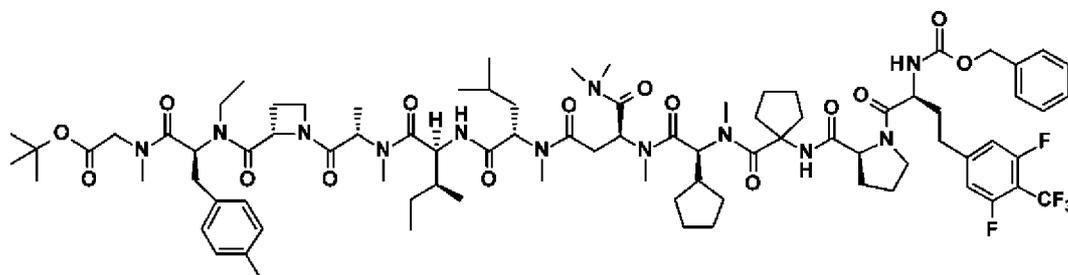


(MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu).

Затем это соединение можно использовать в качестве защищенного по атому С пептида и в качестве защищенной по атому N аминокислоты можно использовать

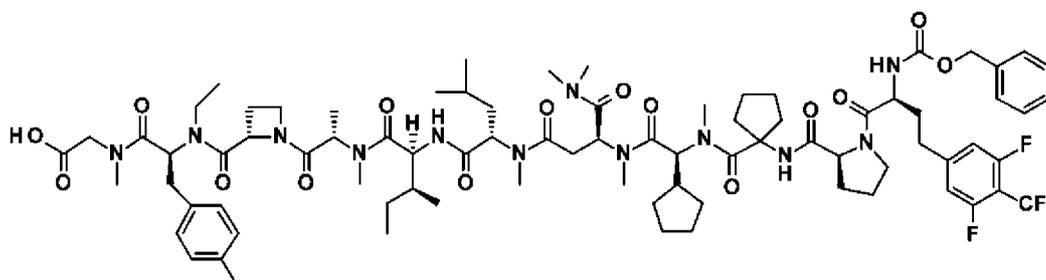


5 которая была получена при проведении первой реакции, и на стадии 1 можно получить



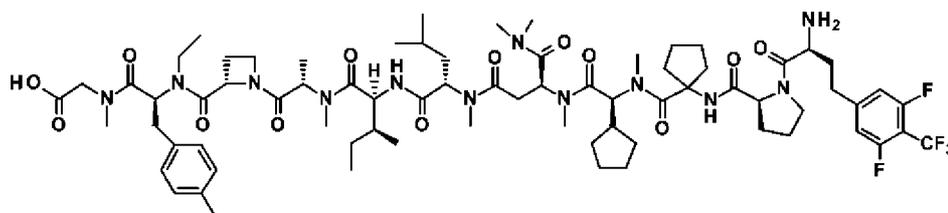
Z-Hph(4-CF₃-35F₂)-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp-NMe₂-MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGlyOtBu),

10 и на стадии 3 можно получить



Z-Hph(4-CF₃-35F₂)-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp-NMe₂-MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGly)

и затем на стадии 2 можно получить соединение (2):



15 (2) ,

Hph(4-CF₃-35F₂)-Pro-cLeu-MeGly(cPent)-MeAsp-NMe₂-MeLeu-Ile-MeAla-Aze(2)-EtPhe(4-Me)-MeGly)

которое при проведении этой реакции является искомым продуктом.

Эта реакция представляет собой случай, когда в заключительный цикл повторений стадий 1 и 2 включена стадия 3, проводимая после стадии 1.

Соединение 2, полученное при проведении этой реакции, можно
5 использовать в качестве исходного вещества в способе получения циклического пептидного соединения, предлагаемом в настоящем изобретении, без проведения выделения или очистки.

Поскольку искомое линейное пептидное соединение можно получить
10 эффективным образом без необходимости проведения выделения или очистки промежуточных продуктов при проведении любой из описанных выше реакций, в которых применяют способ, предлагаемый в настоящем изобретении, способ предлагаемый в настоящем изобретении, является чрезвычайно подходящим для синтеза пептидов в крупном масштабе.

В одном варианте осуществления способ получения пептидного
15 соединения, предлагаемый в настоящем изобретении, может дополнительно включать стадию связывания N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка, содержащихся в пептидном соединении, путем проведения этой стадии можно получить циклическое пептидное
20 соединение. В одном варианте осуществления связывание N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка проводят путем связывания N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка, содержащихся в линейном пептидном соединении, полученным путем многократного повторения стадий 1 и 2. В одном варианте
25 осуществления на этой стадии можно использовать методику, описанную в приведенном выше разделе "Способ получения циклических пептидных соединений", например, условия проведения реакции и реагенты.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к
30 соли, сольвату или сольвату соли циклического пептидного соединения формулы (1), приведенной выше. Сольватом соединения предпочтительно является гидрат или сольват гидрата с ДМСО.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к
кристаллу циклического пептидного соединения формулы (1) приведенной
выше, или его соли, или его сольвата. Кристаллы соединения, в особенности
включают кристалл несольватированной формы или кристалл сольвата

соединения, или кристалл несольватированной формы или кристалл сольвата соли соединения. Кристалл сольвата предпочтительно включает кристалл гидрата, кристалл сольвата гидрата с ДМСО или кристалл сольвата гидрата с ацетоном.

5 На порошковой рентгенограмме углом дифракции 2θ является угол дифракции, определенный с использованием излучения $\text{CuK}\alpha$ или $\text{CuK}\alpha 1$. Кристалл, где кристалл сольвата дополнительно точно определен с помощью угла дифракции 2θ на порошковой рентгенограмме, может называться, например, "кристаллом формы С" приведенного ниже гидрата или просто
10 "формой С".

В одном варианте осуществления, если кристалл соединения формулы (1) представляет собой кристалл гидрата, то кристаллом является кристалл формы С, обладающий порошковой рентгенограммой, характеризующейся наличием по
15 меньшей мере одного пика (например, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12 или всех пиков) при угле дифракции 2θ на порошковой рентгенограмме, выбранном из числа следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ$ (\pm
20 $0,2^\circ$).

При описании углов дифракции 2θ термин " $\pm 0,2^\circ$ ", указанный в конце перечисленных углов дифракции 2θ , означает, что для всех перечисленных углов дифракции 2θ диапазон отклонения, составляющий $\pm 0,2^\circ$, является приемлемым.

25 В одном варианте осуществления кристалл формы С обладает порошковой рентгенограммой, которая является в основном такой же, как представленная на фиг. 1. В одном варианте осуществления кристалл формы С обладает полученной с помощью ДСК (дифференциальная сканирующая калориметрия) и ТГ (термогравиметрия) термограммой, в основном такой же, как представленная
30 на фиг. 8.

В одном варианте осуществления, если кристалл соединения формулы (1) представляет собой кристалл несольватированной формы, то кристаллом является кристалл формы F, который обладает порошковой рентгенограммой,

характеризующейся наличием по меньшей мере одного пика при угле дифракции 2θ на порошковой рентгенограмме, выбранном из числа следующих: $5,370^\circ$, $6,934^\circ$, $8,940^\circ$, $9,838^\circ$, $10,771^\circ$, $12,181^\circ$, $13,525^\circ$, $15,179^\circ$, $16,202^\circ$ и $17,554^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

5 В одном варианте осуществления кристалл формы F обладает порошковой рентгенограммой, которая является в основном такой же, как представленная на фиг. 2.

10 В одном варианте осуществления, если кристалл соединения формулы (1) представляет собой кристалл сольвата, то кристаллом является кристалл сольвата гидрата с ДМСО формы А, который обладает порошковой рентгенограммой, характеризующейся наличием по меньшей мере одного пика при угле дифракции 2θ на порошковой рентгенограмме, выбранном из числа следующих: $8,006^\circ$, $9,002^\circ$, $9,943^\circ$, $11,501^\circ$, $13,067^\circ$, $14,854^\circ$, $16,320^\circ$, $17,275^\circ$, $19,261^\circ$ и $20,324^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

15 В одном варианте осуществления кристалл формы А обладает порошковой рентгенограммой, которая является в основном такой же, как представленная на фиг. 3.

20 В одном варианте осуществления, если кристалл соединения формулы (1) представляет собой кристалл сольвата, то кристаллом является кристалл сольвата гидрата с ДМСО формы В, который обладает порошковой рентгенограммой, характеризующейся наличием по меньшей мере одного пика при угле дифракции 2θ на порошковой рентгенограмме, выбранном из числа следующих: $8,223^\circ$, $9,594^\circ$, $9,976^\circ$, $11,879^\circ$, $13,841^\circ$, $14,572^\circ$, $15,934^\circ$, $16,350^\circ$, $19,805^\circ$ и $20,480^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

25 В одном варианте осуществления кристалл формы В обладает порошковой рентгенограммой, которая является в основном такой же, как представленная на фиг. 4. В одном варианте осуществления кристалл формы В обладает полученной с помощью ДТА (дифференциальный термический анализ) термограммой, которая является в основном такой же, как представленная на
30 фиг. 5.

В одном варианте осуществления, если кристалл соединения формулы (1) представляет собой кристалл сольвата, то кристаллом является кристалл сольвата гидрата с ацетоном формы Н, который обладает порошковой

рентгенограммой, характеризующейся наличием по меньшей мере одного пика при угле дифракции 2θ на порошковой рентгенограмме, выбранном из числа следующих: $7,942^\circ$, $8,283^\circ$, $8,861^\circ$, $10,097^\circ$, $10,491^\circ$, $11,805^\circ$, $12,673^\circ$, $12,830^\circ$, $13,514^\circ$, $13,855^\circ$, $15,853^\circ$, $16,405^\circ$, $16,642^\circ$ и $17,772^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

5 В одном варианте осуществления кристалл формы Н обладает порошковой рентгенограммой, которая является в основном такой же, как представленная на фиг. 13.

В одном варианте осуществления кристаллы соединения формулы (1), находящиеся в любой форме, в основном не содержат примеси. Так, например, кристаллы соединения формулы (1) могут обладать чистотой, составляющей не менее примерно 90%. В одном варианте осуществления кристаллы соединения формулы (1) обладают чистотой, составляющей не менее примерно 95%. В одном варианте осуществления кристаллы соединения формулы (1) обладают чистотой, составляющей не менее примерно 98%. Так, например, кристаллы соединения формулы (1) могут обладать чистотой, составляющей не менее 98,5%, 98,6%, 98,7%, 98,8%, 98,9%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% или 99,9%. В одном варианте осуществления кристаллы соединения, описывающегося формулой (1), в основном не содержат другие формы.

20 В одном варианте осуществления форма С в основном не содержит другие формы соединения, описывающегося формулой (1).

В одном варианте осуществления форма F в основном не содержит другие формы соединения, описывающегося формулой (1).

25 В одном варианте осуществления форма А в основном не содержит другие формы соединения, описывающегося формулой (1).

В одном варианте осуществления форма В в основном не содержит другие формы соединения, описывающегося формулой (1).

В одном варианте осуществления форма Н в основном не содержит другие формы соединения, описывающегося формулой (1).

30 В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения кристалла гидрата циклического пептидного соединения, описывающегося формулой (1), приведенной выше. Способ включает следующие стадии:

стадия А: растворение циклического пептидного соединения в полярном органическом растворителе, используемом в количестве, достаточном для растворения циклического пептидного соединения, с получением раствора;

стадия В: концентрирование раствора с получением остатка, содержащего циклическое пептидное соединение; и

стадия С: добавление к остатку смеси воды и полярного органического растворителя с получением кристалла гидрата циклического пептидного соединения.

В одном варианте осуществления в качестве полярного органического растворителя, используемого на стадии А, можно использовать растворитель, который способен растворять циклическое пептидное соединение формулы (1), например, циклическое пептидное соединение в частично очищенном виде.

Точнее, предпочтительными примерами являются ДМСО, ДМФ, ДМА, NMP, ацетон, метанол, этанол и ацетонитрил, и более предпочтительными примерами являются ацетон, ДМСО и этанол. Количества, достаточные для обеспечения растворения включают находящиеся в диапазоне от 3 до 10 мас./об. и предпочтительно в диапазоне от 3 до 7 мас./об. в пересчете на количество циклического пептидного соединения формулы (1).

В одном варианте осуществления концентрирование, проводимое на стадии В, включает лиофилизацию. В одном варианте осуществления остаток, полученный на стадии В, может являться аморфным, маслообразным или твердым веществом. В одном варианте осуществления остаток, полученный на стадии В, может являться лиофилизатом.

В одном варианте осуществления полярным органическим растворителем, используемым на стадии С, может являться такой же растворитель, как полярный органический растворитель, используемый на стадии А. В смеси, используемой на стадии С, отношение количества воды к количеству полярного органического растворителя может составлять от 0,5 до 10 мас.част. воды, предпочтительно от 1 до 7 мас.част. воды и более предпочтительно от 1 до 5 мас.част. воды в пересчете на 1 мас.част. полярного органического растворителя. Полярным органическим растворителем, используемым на стадии С, предпочтительно является ацетонитрил, этанол или ацетон.

Настоящее изобретение относится к способу получения кристалла циклического пептидного соединения, описываемого формулой (1), приведенной выше. Способ включает стадии:
растворения циклического пептидного соединения, находящегося в аморфном состоянии, в ДМСО с получением раствора;
лиофилизации раствора с получением лиофилизата, содержащего циклическое пептидное соединение; и
добавления к лиофилизату смеси воды и ацетонитрила с получением кристалла гидрата циклического пептидного соединения.

Все документы предшествующего уровня техники, цитированные в настоящем описании, включены в настоящее изобретение в качестве ссылки.

[Примеры]

Содержание настоящего изобретения дополнительно описано со ссылкой на приведенные ниже примеры, однако настоящее изобретение не ограничивается ими. Если специально не описано иное, исходные вещества, исходные материалы, растворители и реагенты приобретали у коммерческих поставщиков или синтезировали по общеизвестным методикам. Соединение 2 и соединение 30 получали по методике, описанной в WO 2020/189540.

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) являлись следующими:

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ - методика 1

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class

Колонка: Ascentis Express 90A C18 (Sigma-Aldrich), 2,1 мм (ВД (внутренний диаметр))×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК (трифторуксусная кислота)/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (5 мин) → 5% (5,1 мин) → 5% (7 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ (детектор с фотодиодной матрицей))

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ - методика 2

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class

Колонка: Ascentis Express 90A C18 (Sigma-Aldrich), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (6 мин) → 5% (6,1 мин) → 5% (8 мин)

5 Скорость потока: 0,5 мл/мин

Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ - методика 3

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class

10 Колонка: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (5 мин) → 5% (5,1 мин) → 5% (7 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

15 Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ - методика 4

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class

Колонка: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2,1 мм (ВД)×100 мм, 1,7 мкм

20 Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 20% (0 мин) → 100% (10 мин) → 100% (13,5 мин) → 20% (13,6 мин) → 20% (18,0 мин)

Скорость потока: 0,3 мл/мин

Температура колонки: 50°C

25 Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ - методика 5

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class

Колонка: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2,1 мм (ВД)×150 мм, 1,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

30 Методика элюирования: В) 20% (0 мин) → 100% (24 мин) → 100% (29 мин) → 20% (29,1 мин) → 20% (34 мин)

Скорость потока: 0,3 мл/мин

Температура колонки: 50°C

Длина волны детектирования: 220 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ - методика 6

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class

Колонка: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

5 Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5%(0 мин) → 100% (10 мин) → 5% (10,1 мин) → 5% (12 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

Температура колонки: 35°C

10 Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

[Таблица 1]

Пример № (соединение №)	Условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ	Время удерживания (мин)
Пример 1 (соединение 4)	методика 1	4,500
Пример 2 (соединение 5)	методика 1	2,389
Пример 3 (соединение 7)	методика 1	4,065
Пример 4 (соединение 8)	методика 1	2,538
Пример 5 (соединение 10)	методика 1	4,004
Пример 6 (соединение 11)	методика 1	2,510
Пример 7 (соединение 13)	методика 1	4,235
Пример 8 (соединение 15)	методика 2	6,175
Пример 9 (соединение 16)	методика 2	5,964
Пример 10 (соединение 17)	методика 1	3,057
Пример 11 (соединение 19)	методика 3	3,510
Пример 12 (соединение 20)	методика 3	1,560
Пример 13 (соединение 22)	методика 3	4,356
Пример 14 (соединение 23)	методика 3	2,297
Пример 15 (соединение 25)	методика 3	6,166
Пример 15-1 (соединение 25а)	методика 6	6,712
Пример 16 (соединение 26)	методика 3	2,725
Пример 17 (соединение 28)	методика 3	4,189
Пример 18 (соединение 29)	методика 3	2,846
Пример 19 (соединение 31)	методика 3	4,978
Пример 20 (соединение 32)	методика 3	4,220
Пример 21 (соединение 33)	методика 4	10,272
Пример 22 (соединение 34)	методика 4	9,215
Пример 23 (соединение 35)	методика 4	6,480
Пример 24 (соединение 1)	методика 5	18,008

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС (жидкостная хроматография/масс-спектрометрия) являлись следующими:

15 Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 1

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

Колонка: Ascentis Express 90A C18 (Sigma-Aldrich), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (5 мин) → 5% (5,1 мин) → 5% (7 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 2

10 Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

Колонка: Ascentis Express 90A C18 (Sigma-Aldrich), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (6 мин) → 5% (6,1 мин) → 5% (8 мин)

15 Скорость потока: 0,5 мл/мин

Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 3

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

20 Колонка: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (5 мин) → 5% (5,1 мин) → 5% (7 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

25 Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 4

Прибор: Waters SQD2

Колонка: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2,1 мм (ВД)×100 мм, 1,7 мкм

30 Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 20% (0 мин) → 100% (10 мин) → 100% (13,5 мин) → 20% (13,6 мин) → 20% (18,0 мин)

Скорость потока: 0,3 мл/мин

Температура колонки: 50°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 5

Прибор: Waters SQD2

5 Колонка: ACQUITY UPLC CSH C18 (Waters), 2,1 мм (ВД)×150 мм, 1,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 20% (0 мин) → 100% (24 мин) → 100% (29 мин) → 20% (29,1 мин) → 20% (34 мин)

Скорость потока: 0,3 мл/мин

10 Температура колонки: 50°C

Длина волны детектирования: 220 нм (ДФМ)

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 6

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

Колонка: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2,1 мм (ВД) ×50 мм, 2,7 мкм

15 Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (10 мин) → 5% (10,1 мин) → 5% (12 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

Температура колонки: 35°C

20 Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

[Таблица 2]

Пример № (соединение №)	Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС	Время удерживания (мин)	МС, найдено (m/z)	МС, полярность
Пример 1 (соединение 4)	методика 1	4,507	469	[M+H] ⁺
Пример 2 (соединение 5)	методика 1	2,411	335	[M+H] ⁺
Пример 3 (соединение 7)	методика 1	4,083	574	[M+Na] ⁺
Пример 4 (соединение 8)	методика 1	2,578	418	[M+H] ⁺
Пример 5 (соединение 10)	методика 1	4,011	659	[M+Na] ⁺
Пример 6 (соединение 11)	методика 1	2,536	503	[M+H] ⁺
Пример 7 (соединение 13)	методика 1	4,260	772	[M+Na] ⁺
Пример 8	методика 2	5,791	428	[M-

Пример № (соединение №)	Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС	Время удерживания (мин)	МС, найдено (m/z)	МС, полярность
(соединение 15)				$\text{CH}_2=\text{CH}_2+\text{H}$ ⁺
Пример 9 (соединение 16)	методика 2	5,950	910	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 10 (соединение 17)	методика 1	2,978	743	$[\text{M}+\text{H}]^+$
Пример 11 (соединение 19)	методика 3	3,496	387	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 12 (соединение 20)	методика 3	1,532	231	$[\text{M}+\text{H}]^+$
Пример 13 (соединение 22)	методика 3	4,329	526	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 14 (соединение 23)	методика 3	2,229	370	$[\text{M}+\text{H}]^+$
Пример 15 (соединение 25)	методика 3	6,181	599	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 15-1 (соединение 25а)	методика 6	6,696	637	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 16 (соединение 26)	методика 3	2,749	503	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 17 (соединение 28)	методика 3	4,206	735	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 18 (соединение 29)	методика 3	2,839	578	$[\text{M}+\text{H}]^+$
Пример 19 (соединение 31)	методика 3	4,827	1000	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 20 (соединение 32)	методика 3	4,133	943	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 21 (соединение 33)	методика 4	10,53	1669	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 22 (соединение 34)	методика 4	9,47	1613	$[\text{M}+\text{Na}]^+$
Пример 23 (соединение 35)	методика 4	6,71	1457	$[\text{M}+\text{H}]^+$
Пример 24 (соединение 1)	методика 5	18,36	1439	$[\text{M}+\text{H}]^+$

Спектры ¹H-ЯМР снимали с использованием прибора для исследований с помощью ядерного магнитного резонанса ECX500II (выпускается фирмой JEOL Ltd.), химический сдвиг Me₄Si, использовавшегося в качестве внутреннего стандарта, устанавливал равным 0 част./млн и для сравнения использовали сигнал дейтерия, содержащегося в растворителе для образца. Растворы образцов получали с использованием имеющегося в продаже дейтерированного

растворителя, подходящего для использования в качестве растворителя для образца при проведении исследования, и путем смешивания растворителя с исследуемым соединением. Интегральные значения для пиков рассчитывали на основании отношений интенсивностей пиков соответствующих сигналов.

5 Исследования с помощью кЯМР (количественный ЯМР) проводили путем растворения остатка, содержащего исследуемое соединение, и внутреннего стандарта в ДМСО-d₆ и использования приведенных ниже условий проведения анализа. Выход рассчитывали с помощью приведенного ниже уравнения с использованием значения для содержания исследуемого продукта в остатке, 10 определенном с помощью кЯМР, и значения для чистоты содержащегося в остатке исследуемого продукта, определенного путем анализа с помощью ВЭЖХ.

$$\text{Выход (\%)} = \frac{\text{масса остатка (мг)} \times \text{содержание (\%)} \times \text{чистота (\%)}}{\text{теоретический выход (мг)}} \times 100$$

15 Измерительный прибор: JNM-ECZ500R

Внутренний стандарт: 3,5-бис(трифторметил)бензойная кислота

Условия проведения анализа (¹H-ЯМР): ДМСО-d₆, 24,3°C, угол импульса: 90°, цифровое разрешение: 0,25 Гц, время релаксации: 60 с, отсутствие вращения, суммарное количество измерений: 8 раз

20 Условия проведения анализа (¹⁹F-ЯМР): ДМСО-d₆, 24,3°C, угол импульса: 90°, цифровое разрешение: 0,22 Гц, время релаксации: 60 с, отсутствие вращения, суммарное количество измерений: 8 раз

Исследования с помощью порошковой рентгенографии (ПРРГ) проводили при приведенных ниже условиях и рассчитывали значения 2θ в диапазоне 25 сканирования. На рентгенограммах по горизонтальной оси указан угол дифракции (значение 2θ) и по вертикальной оси указана интенсивность дифракции.

(Методика измерения 1)

Измерительный прибор: SmartLab System (выпускается фирмой Rigaku

30 Corporation)

Источник излучения: CuKα1

Напряжение на трубке: 45 кВ

Сила тока на трубке: 200 мА

Диапазон сканирования: 3-35°

Размер шага: 0,02°

5 (Методика измерения 2)

Измерительный прибор: SmartLab System, детектор D/Tex Ultra (выпускается фирмой Rigaku Corporation)

Источник излучения: CuK α 1

Напряжение на трубке: 45 кВ

10 Сила тока на трубке: 200 мА

Диапазон сканирования: 5-30°

Скорость сканирования: 5°/мин

Размер шага: 0,02°

(Методика измерения 3)

15 Измерительный прибор: D8 Discover, твердотельный детектор 2D VANTEC-500 (выпускается фирмой Bruker)

Источник излучения: CuK α

Напряжение на трубке, сила тока на трубке: 40 кВ, 40 мА; или 50 кВ, 1000 мкА (если использовали микрофокусный источник рентгеновского излучения I μ S)

20 Диапазон сканирования: 5-31°

Продолжительность воздействия: 100 с или 600 с (если использовали микрофокусный источник рентгеновского излучения I μ S)

(Методика измерения 4)

Измерительный прибор: X'pert-pro MPD (выпускается фирмой PANalytical)

25 Источник излучения: CuK α

Напряжение на трубке: 45 кВ

Сила тока на трубке: 40 мА

Диапазон сканирования: 3-40°

Скорость сканирования: 4,2°/мин

30 Размер шага: 0,017°

(Методика измерения 4)

Измерительный прибор: X'pert-pro MPD (выпускается фирмой PANalytical)

Источник излучения: Cu

Напряжение на трубке: 45 кВ

Сила тока на трубке: 40 мА

Диапазон сканирования: 3-25°

Скорость сканирования: 0,33°/с

5 Размер шага: 0,026°

Исследование: в капилляры для рентгеноструктурного анализа помещали образцы суспензии и проводили измерения.

Исследования с помощью термического анализа проводили при приведенных ниже условиях.

10 (Методика измерения 1)

Измерительный прибор: EXSTAR TG/DTA6200R (выпускается фирмой Seiko Instruments (в настоящее время название фирмы: Hitachi High-Tech Science))

Диапазон измерений: 30-350°С

Скорость нагревания: 10°С/мин

15 Атмосфера: азот

(Методика измерения 2)

Измерительный прибор: SmartLab System, снабженный прибором для ДСК (выпускается фирмой Rigaku Corporation)

Диапазон измерений: 35-270°С

20 Атмосфера: азот

Условия проведения ДСК приведены в таблице 3

[Таблица 3]

Температура (°С)	Скорость нагревания (°С/мин)	Время удерживания (мин)
35,0	5,0	0
270,0	5,0	5
35,0	20,0	5

(Методика измерения 3)

25 Измерительный прибор: STA7200RV+AS-3T (выпускается фирмой Hitachi High-Tech Science)

Диапазон измерений: 30-350°С

Скорость нагревания: 10°С/мин

Атмосфера: азот

30 (Методика измерения 4)

Измерительный прибор: TGA/DSC 3+ (выпускается фирмой Mettler Toledo)

Диапазон измерений: 25-350°C

Скорость нагревания: 10°C/мин

Атмосфера: сухой азот

5 С использованием смешанного раствора, содержащего исследуемое соединение, проводили приготовление образца по любой из приведенных ниже методик и проводили исследование с помощью ВЭЖХ с использованием описанных выше условий проведения анализа.

10 Методика 1 приготовления образца: смешанный раствор, содержащий исследуемое соединение, разбавляли ацетонитрилом.

Методика 2 приготовления образца: смешанный раствор, содержащий исследуемое соединение, разбавляли смешанным раствором, полученным путем смешивания ацетонитрила и пропиламина при отношении количеств, составляющем 9:1.

15 Методика 3 приготовления образца: смешанный раствор, содержащий исследуемое соединение, разбавляли метанолом.

Методика 4 приготовления образца: смешанный раствор, содержащий исследуемое соединение, разбавляли смешанным раствором, полученным путем смешивания метанола и воды при отношении количеств, составляющем 4:1.

20 Степень превращения при проведении реакции рассчитывали с помощью любого из приведенных ниже уравнений с использованием значения площади пика для исходного вещества и значения площади пика для исследуемого продукта или с использованием значения площади пика для исходного вещества, значения площади пика для пропиламида исходного вещества и значения площади пика для исследуемого продукта; или значения площади пика для исходного вещества до проведения реакции и значения площади пика для исходного вещества после проведения реакции, которые определяли путем анализа с помощью ВЭЖХ.

30 Уравнение 1: Степень превращения при проведении реакции (%) = значение площади пика для исследуемого продукта / (значение площади пика для исходного вещества + значение площади пика для исследуемого продукта) × 100

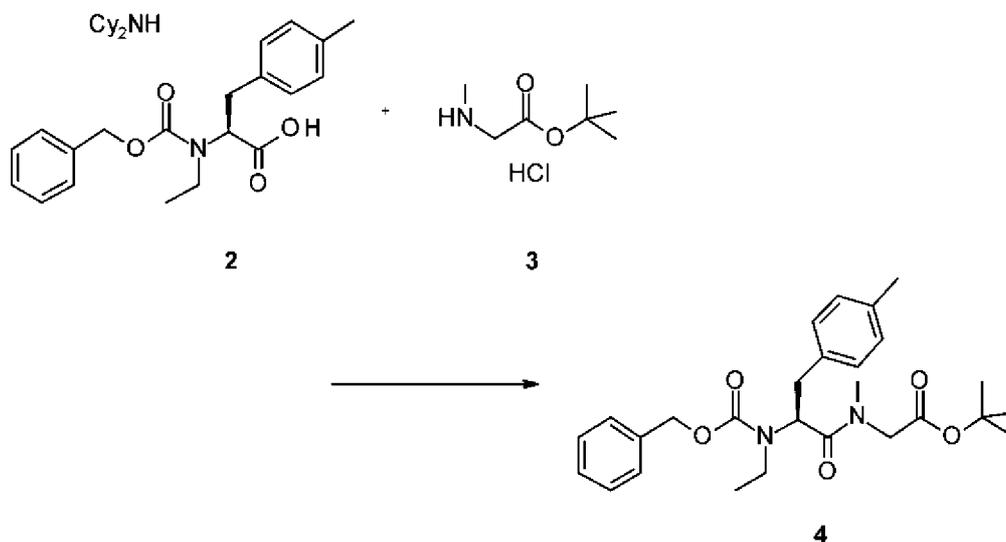
Уравнение 2: Степень превращения при проведении реакции (%) = значение площади пика для исследуемого продукта / (значение площади пика для

исходного вещества + значение площади пика для пропиламида исходного вещества + значение площади пика для исследуемого продукта)×100

Уравнение 3: Степень превращения при проведении реакции (%) = 100 -
5 ((значение площади пика для исходного вещества после проведения
реакции/значение площади пика для исходного вещества до проведения
реакции)×100)

Пример 1

Соединение 4: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-
[бензилоксикарбонил(этил)амино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата



10

15

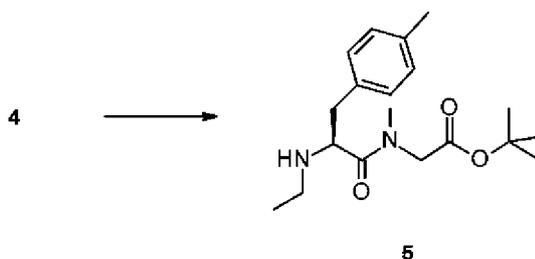
20

В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре добавляли соединение 2 (4,60 кг) и соединение 3 (1,92 кг), затем добавляли 2-
Me-ТГФ (22,8 кг) и эту смесь перемешивали. Внешнюю температуру
реакционного бака устанавливали равной 10°C и добавляли ДИПЭА (6,15 кг),
затем по каплям добавляли ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Me-ТГФ, 13,45 кг).
Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и смесь
перемешивали в течение 5 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили
приготовление образца (методика 2 приготовления образца) и путем анализа с
помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении
реакции составляла 99,6% (для расчета степени превращения при проведении
реакции использовали уравнение 2). Внешнюю температуру реакционного бака
устанавливали равной 10°C и при перемешивании по каплям добавляли 5%
водный раствор карбоната натрия (26,6 кг) и затем добавляли воду (6,9 кг).
Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после

перемешивания смеси в течение 20 мин водный слой удаляли из реакционного бака. Аналогичным образом, при внешней температуре, равной 25°C, полученный органический слой промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (34,5 кг×3) и 5% водным раствором карбоната натрия (34,5 кг). Полученный органический слой помещали в контейнер для хранения и его объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (25,6 кг), и получали рабочий раствор и его помещали в контейнер для хранения. Рабочий раствор добавляли в реакционный бак, продуваемый азотом, промывая контейнер для хранения с помощью 2-Ме-ТГФ (1,7 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 50°C и смесь концентрировали при пониженном давлении до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. Полученный остаток помещали в контейнер для хранения и его объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг), и получали раствор соединения 4 в 2-Ме-ТГФ (17,8 кг).
Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,500 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 2

Соединение 5: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-(этиламино)-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

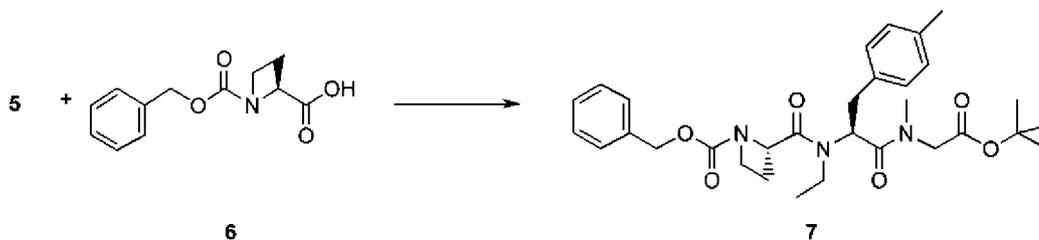


В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли раствор соединения 4 в 2-Ме-ТГФ (16,9 кг), полученный в примере 1, и 2-Ме-ТГФ (8,6 кг) и затем добавляли 5% Pd/C (1,78 кг, содержание воды: 50%). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). Через 1 ч после подтверждения отсутствия изменения внутреннего давления проводили продувку азотом, затем повторно устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь перемешивали в течение 1 ч. Отбирали

образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10,8 кг) и затем фильтрат и промывочный раствор помещали в контейнер для хранения для использования в качестве рабочего раствора. Полученные фильтрат и промывочный раствор концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 5 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг), и получали раствор соединения 5 в 2-Ме-ТГФ (12,4 кг).
Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,389 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 3

Соединение 7: Синтез бензил-(2S)-2-[[[(1S)-2-[(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)метиламино]-2-оксо-1-(п-толилметил)этил]этилкарбамоил]азетидин-1-карбоксилата



В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли раствор соединения 5 в 2-Ме-ТГФ (12,3 кг), полученный в примере 2, и при перемешивании добавляли раствор соединения 6 (2,92 кг) в 2-Ме-ТГФ (3,87 кг) и их промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (8,0 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C, при перемешивании добавляли ДИПЭА (5,35 кг) и затем по каплям добавляли ТЗР (1,6 М раствор в 2-Ме-ТГФ, 15,53 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении

реакции составляла 99,6% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и к реакционной смеси при перемешивании добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (25,2 кг). Внешнюю

5 температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Органический слой дважды промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (33,2 кг) и затем промывали 5% водным раствором карбоната натрия (33,2 кг). Органический

10 слой помещали в контейнер для хранения, его объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (25,6 кг), и помещали в контейнер для хранения для использования в качестве рабочего раствора. В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли рабочий раствор, промывая контейнер для хранения с помощью 2-Ме-ТГФ (1,7 кг).

15 Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 50°C и при перемешивании смесь концентрировали при пониженном давлении до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. Полученный остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг), и получали раствор

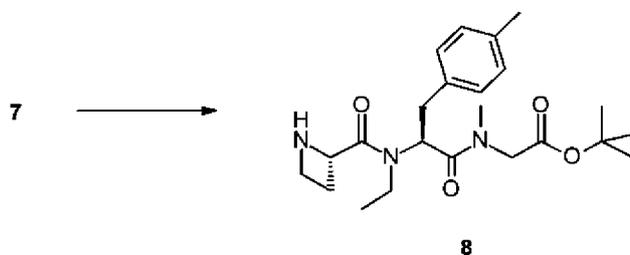
20 соединения 7 в 2-Ме-ТГФ (18,9 кг).

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,065 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 4

Соединение 8: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

25



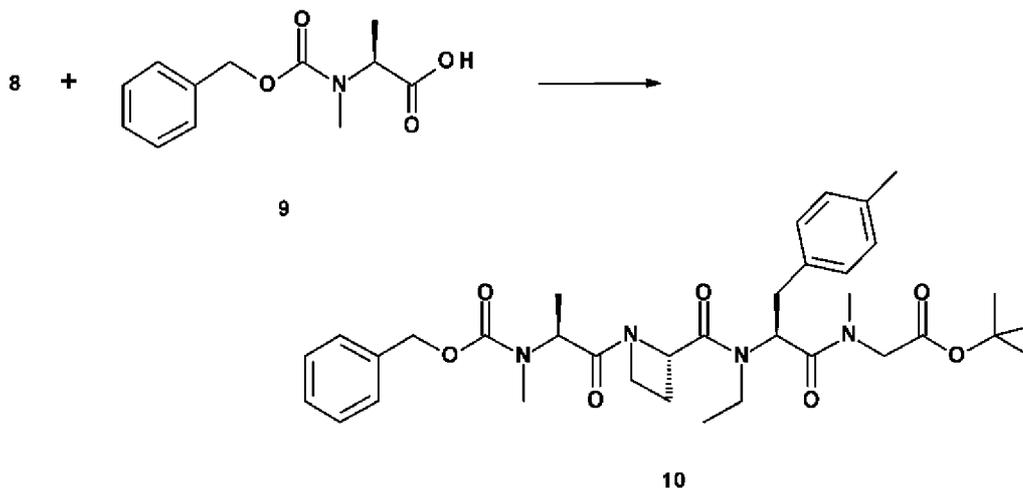
В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли раствор соединения 7 в 2-Ме-ТГФ (18,7 кг), полученный в примере 3, промывая контейнер для хранения с помощью 2-Ме-ТГФ (6,9 кг). В реакционный бак добавляли 5% Pd/C (1,74 кг, содержание воды: 50%). Внешнюю температуру реакционного бака

30

устанавливали равной 25°C и в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). После перемешивания смеси в течение 50 мин подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем проводили продувку азотом, затем повторно устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление) и смесь перемешивали в течение 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10,6 кг) и затем фильтрат и промывочный раствор помещали в контейнер для хранения для использования в качестве рабочего раствора. Полученные фильтрат и промывочный раствор концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 6 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг), и получали раствор соединения 8 в 2-Ме-ТГФ (14,0 кг).
20
Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,538 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 5

Соединение 10: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[бензилоксикарбонил(метил)амино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

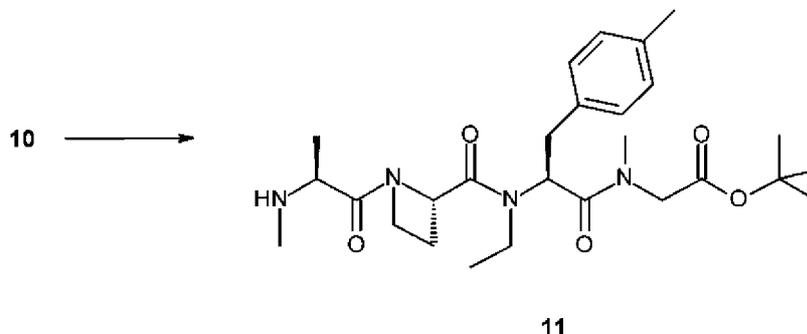


В реакционный бак, продуваемый азотом, раствор последовательно добавляли раствор соединения 8 в 2-Ме-ТГФ (13,9 кг), полученный в примере 4, соединение 9 (2,31 кг) и 2-Ме-ТГФ (10,4 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C, при перемешивании добавляли ДИПЭА (4,61 кг) и затем по каплям добавляли ТЗР (1,6 М раствор в 2-Ме-ТГФ, 12,15 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 96,8% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и к реакционной смеси при перемешивании добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (24,3 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания в течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Органический слой дважды промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (32,4 кг) и затем промывали 5% водным раствором карбоната натрия (32,4 кг). К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (25,6 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 50°C и при перемешивании смесь концентрировали при пониженном давлении до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л, и затем остаток помещали в контейнер для хранения. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг), и получали раствор (19,0 кг), содержащий соединение 10.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,004 мин (условия проведения анализа: методика 1)

Пример 6

Соединение 11: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[этил-[(2S)-1-[(2S)-2-(метиламино)пропаноил]азетидин-2-карбонил]амино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата



5

В реакционный бак, продуваемый азотом, последовательно добавляли раствор (18,8 кг), содержащий соединение 10, полученный в примере 5, и 2-Ме-ТГФ (7,0 кг). В реакционный бак добавляли 5% Pd/C (1,70 кг, содержание воды: 50%). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). Через 1 ч и 40 мин подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и после продувки азотом устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление) и смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10,3 кг) и затем фильтрат и промывочный раствор извлекали для использования в качестве рабочего раствора. Полученные фильтрат и промывочный раствор концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 7 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака толуолом (10,4 кг), и получали раствор, содержащий соединение 11 (16,7 кг).

10

15

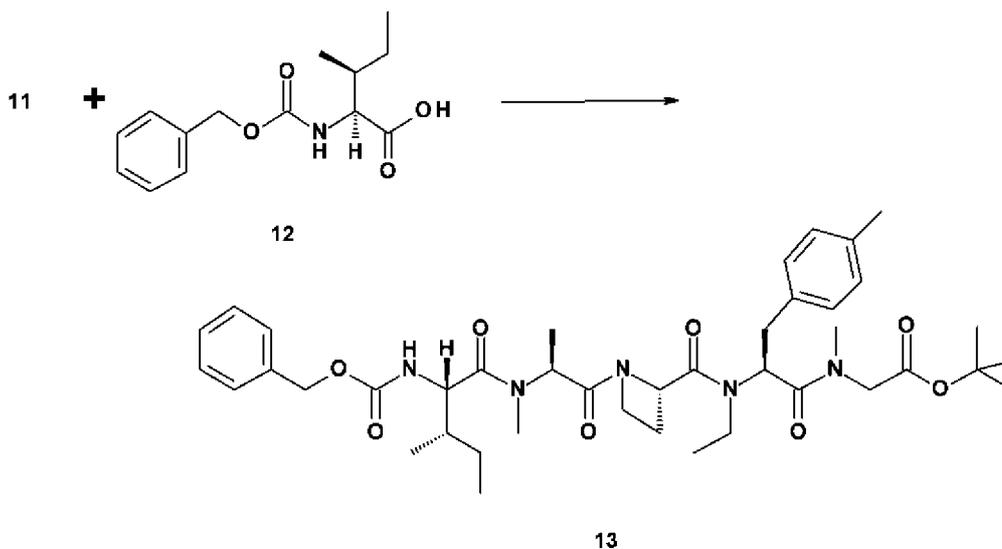
20

25

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,510 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 7

Соединение 13: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

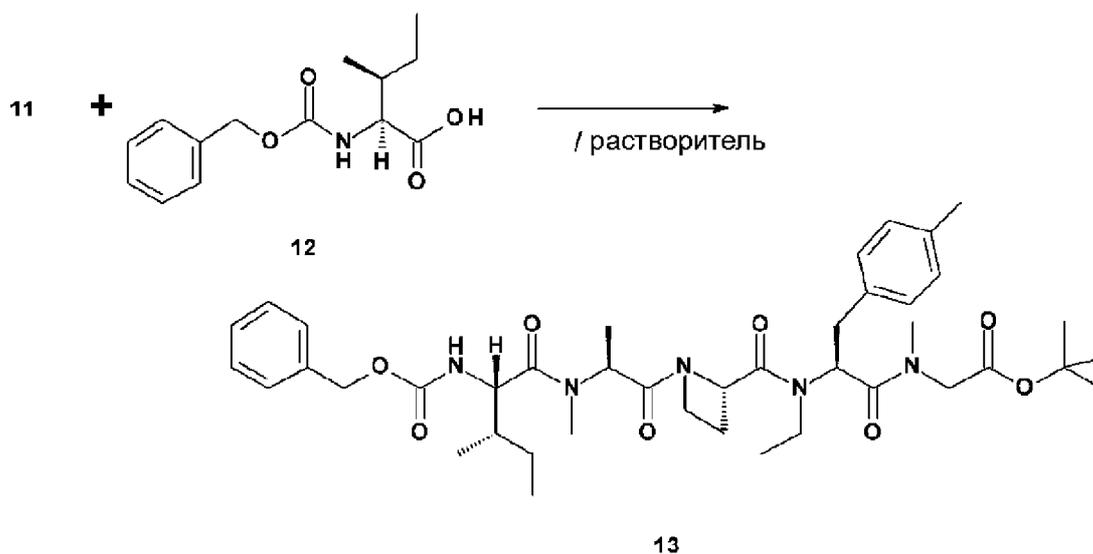


В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (16,5 кг), содержащий соединение 11 полученный в примере 6, и 2-Ме-ТГФ (2,12 кг). Затем в реакционный бак при комнатной температуре последовательно добавляли раствор соединения 12 (2,52 кг) в 2-Ме-ТГФ (8,1 кг), 2-Ме-ТГФ (8,1 кг) и ацетонитрил (3,1 кг). При перемешивании при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (4,51 кг) и затем внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после последовательного добавления ГАТУ (4,52 кг) и 2-Ме-ТГФ (0,3 л) эту смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). В реакционный бак добавляли N-метилимидазол (0,65 кг) и затем при перемешивании добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (23,9 кг), затем смесь перемешивали в течение 1 ч. Затем добавляли 2,5% водный раствор

аммиака (23,9 кг) и после перемешивания в течение 30 мин водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 2,5% водным раствором аммиака (31,9 кг), 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (31,9 кг×2) и 3% водным раствором гидрофосфата калия (31,9 кг). К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (25,6 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 50°C и при перемешивании смесь концентрировали при пониженном давлении до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака ацетоном (7,9 кг), и получали раствор (18,2 кг), содержащий соединение 13. Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,235 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Реакция конденсации соединения 11 с соединением 12 (исследование условий проведения реакции, использовавшихся в примере 7)

Исследовали растворители, использовавшиеся для проведения реакции конденсации соединения 11 с соединением 12. За протеканием реакции конденсации следили с помощью ВЭЖХ. Выход рассчитывали на основании выраженной в процентах площади пика (площадь пика, %), определенной путем анализа с помощью ВЭЖХ.



Пример 7-1

Соединение 13: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-

(бензилоксикарбониламино)-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-

5 толил)пропаноил]метиламино]ацетата (исследование растворителей)

В сосуд для проведения реакции добавляли раствор (72,62 мг), содержащий соединение 11 (50,69 мг (0,100 ммоль)), полученный в примере 6, и смесь концентрировали досуха при пониженном давлении при внешней

температуре, равной 60°C. Затем в сосуд для проведения реакции добавляли

10 соединение 12 (32,50 мг (0,122 ммоль)) и при комнатной температуре добавляли

2-Ме-ТГФ (0,35 мл). При перемешивании при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (58,3 мг (0,451 ммоль)), затем внешнюю температуру сосуда для

проведения реакции устанавливали равной 25°C, добавляли ГАТУ (58,37 мг (0,154 ммоль)) и затем смесь перемешивали при 25°C в течение 4 ч. В сосуд для

15 проведения реакции добавляли N-метилимидазол (8,17 мг (0,099 ммоль)) и при перемешивании дополнительно добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (300 мкл), затем смесь перемешивали в течение 2 ч и 30 мин. Затем

нерастворимые вещества удаляли фильтрованием через слой ваты и затем

водный слой удаляли. К полученному органическому слою добавляли 2,5%

20 водный раствор аммиака (300 мкл) и после перемешивания смеси в течение 5

мин водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 2,5%

водным раствором аммиака (320 мкл), 10% водным раствором моногидрата

гидросульфата натрия (320 мкл×2) и 3% водным раствором гидрофосфата калия

(320 мкл). Полученный органический слой концентрировали досуха при

25 пониженном давлении при внешней температуре, равной 60°C. Полученный

остаток анализировали с помощью ВЭЖХ. По данным анализа образца с

помощью ВЭЖХ получали соединение 13 в количестве, равном 56,77 мг (выход 75,1%).

ЖХМС (ИЭР(ионизация электрораспылением)) соединения 13: время

30 удерживания: 4,012 мин, $m/z = 750 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 1)

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,261 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

В приведенной ниже таблице представлены результаты, полученные с использованием в описанной выше методике синтеза соединения 13 в качестве растворителя 4-метилтетрагидропирана, диметилкарбоната, этилацетата или анизола вместо 2-Ме-ТГФ (исследование растворителей).

5 [Таблица 4]

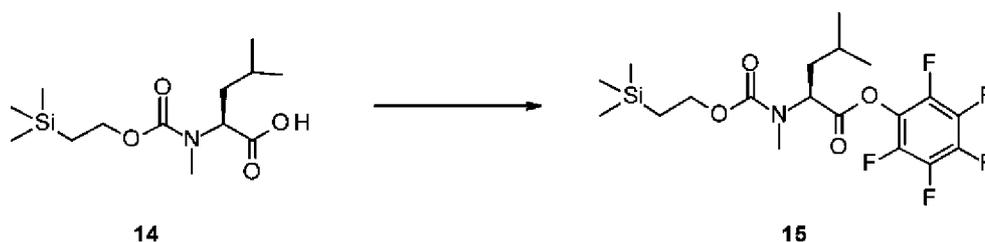
Получение соединения 13

Пример №	Растворитель	Выход (%)
Пример 7-1	2-Ме-ТГФ	75
Пример 7-2	4-метилтетрагидропиран	63
Пример 7-3	диметилкарбонат	66
Пример 7-4	этилацетат	62
Пример 7-5	анизол	60

Эти результаты показывают, что в дополнение к 2-Ме-ТГФ подходящим растворителем для проведения реакции конденсации с использованием ГАТУ является 4-метилтетрагидропиран, диметилкарбонат, этилацетат или анизол. Результаты также показывают, что в дополнение к 2-Ме-ТГФ подходящим растворителем для получения соединения 13 путем реакции конденсации соединений 11 и 12 является 4-метилтетрагидропиран, диметилкарбонат, этилацетат или анизол. В частности, показано, что 2-Ме-ТГФ является подходящим растворителем для обеспечения подходящего выхода искомого продукта.

Пример 8

Соединение 15: Синтез (2,3,4,5,6-пентафторфенил)(2S)-4-метил-2-[метил(2-триметилсилилэтоксикарбонил)амино]пентаноата



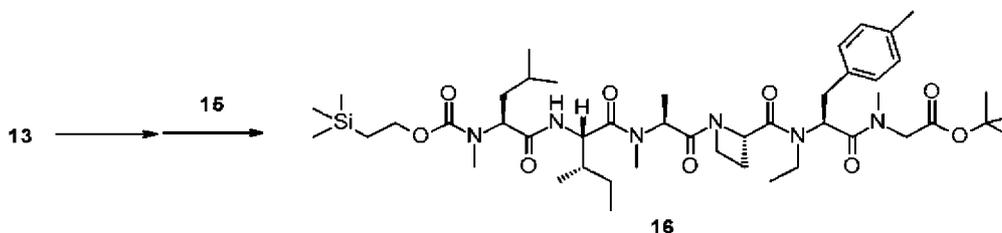
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли соединение 14 (3,0 кг), изопропилацетат (13,7 кг) и ДМФ (18,3 кг). При перемешивании смеси при комнатной температуре последовательно добавляли раствор пентафторфенола (2,38 кг) в изопропилацетате (2,8 кг) и изопропилацетат (0,6 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 0°C и в реакционный бак добавляли 1-

(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимидгидрохлорид (2,48 кг). После проводимого в течение 1 ч повышения внешней температуры реакционного бака до равной 25°C смесь перемешивали при внешней температуре, равной 25°C, в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и анализ с помощью ВЭЖХ указывал на отсутствие соединения 14, использовавшегося в качестве исходного вещества (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 3). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 0°C и добавляли 0,5 М водный раствор хлористоводородной кислоты (19,4 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C, затем смесь перемешивали в течение 10 мин, перемешивание прекращали и затем водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 0,5 М водным раствором хлористоводородной кислоты (27,5 кг). К полученному органическому слою добавляли 5% водный раствор карбоната калия (27,5 кг×2) и затем ДМФ (2,8 кг). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, перемешивание прекращали и затем водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 5% водным раствором карбоната калия (27,5 кг) и затем 10% водным раствором хлорида натрия (27,5 кг). К смеси добавляли изопропилацетат (27,6 кг) и затем смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 8 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака ацетоном (8,7 кг), и получали раствор (16,2 кг), содержащий соединение 15.

25 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 6,175 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 2)

Пример 9

Соединение 16: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[этил-[(2S)-1-[(2S)-2-[метил-
[(2S,3S)-3-метил-2-[[[(2S)-4-метил-2-[метил(2-
триметилсилилэтоксикарбонил)амино]пентаноил]амино]пентаноил]амино]пропа
ноил]азетидин-2-карбонил]амино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата



В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре
последовательно добавляли раствор (7,4 кг), содержащий соединение 15,
полученный в примере 8, раствор (9,0 кг), содержащий соединение 13,
полученный в примере 7, изопропилацетат (4,0 кг) и N-метилморфолин (2,38 кг).
В реакционный бак добавляли 5% Pd/C (0,83 кг, содержание воды: 50%) и затем
внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и в
реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18
МПа (манометрическое давление). Через 1 ч подтверждали отсутствие
изменения внутреннего давления и затем в реакционном баке устанавливали
внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и
смесь дополнительно перемешивали в течение 1 ч. Отбирали образец
реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1
приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что
степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для
расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение
1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали
под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с
помощью 2-Ме-ТГФ (10,0 кг×2) и затем фильтрат промывочный раствор
объединяли и получали рабочий раствор (первая порция).

В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре
последовательно добавляли раствор (7,4 кг), содержащий соединение 15,
полученный в примере 8, раствор (9,0 кг), содержащий соединение 13,
полученный в примере 7, изопропилацетат (4,0 кг) и N-метилморфолин (2,38 кг).
В реакционный бак добавляли 5% Pd/C (0,83 кг, содержание воды: 50%) и затем

внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). Через 1 ч подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь дополнительно перемешивали в течение 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10,0 кг×2) и затем фильтрат и промывочный раствор объединяли и получали рабочий раствор (вторая порция).

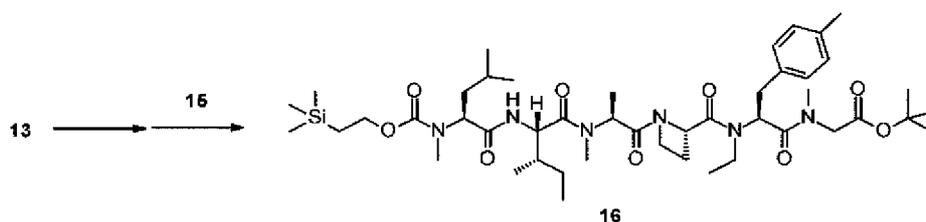
В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли все полученные выше рабочие растворы и 2-Ме-ТГФ (1,8 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 20 л. Полученный после концентрирования остаток фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг×2) и затем фильтрат и промывочный раствор объединяли и помещали в контейнер для хранения для использования в качестве рабочего раствора. Рабочий раствор и 2-Ме-ТГФ (3,1 кг) добавляли в реакционный бак, продуваемый азотом. Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и при перемешивании последовательно добавляли 5% водный раствор карбоната калия (25,9 кг) и 4-диметиламинопиридин (0,96 кг). Через 30 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Органический слой дважды промывали 5% водным раствором гидросульфата калия (34,1 кг×2) и 5% водным раствором карбоната калия (34,1 кг). Добавляли 2-Ме-ТГФ (26,5 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 50°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. Полученный остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке

реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (8,5 кг), и получали раствор (19,0 кг), содержащий соединение 16.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 5,964 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 2)

5 Пример 9-1 (использование 2-Ме-ТГФ вместо изопропилацетата, который использовали в примере 9)

Синтез соединения 16 (трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[этил-[(2S)-1-[(2S)-2-[метил-
10 [(2S,3S)-3-метил-2-[[[(2S)-4-метил-2-[метил(2-
триметилсилилэтоксикарбонил)амино]пентаноил]амино]пентаноил]амино]пропа
ноил]азетидин-2-карбонил]амино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетат)



В сосуд для проведения реакции добавляли рабочий раствор (482,7 мг), содержащий соединение 13, полученный в примере 7, и смесь концентрировали при пониженном давлении и получали остаток, содержащий соединение 13. В
15 сосуд для проведения реакции при комнатной температуре последовательно добавляли остаток, содержащий соединение 15 (91,2 мг, 81,2 мас.%), и 2-Ме-ТГФ (1000 мкл). После добавления в сосуд для проведения реакции 5% Pd/C (29,8 мг, содержание воды: 50%) внешнюю температуру устанавливали равной 25°C и смесь дегазировали и продували водородом и перемешивали в течение 1
20 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционную смесь фильтровали и остаток
25 промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (400 мкл×2). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции, содержащего фильтрат, устанавливали равной 25°C и при перемешивании последовательно добавляли 5% водный раствор карбоната калия (440 мкл) и 4-диметиламинопиридин (16,6 мг). Через 30 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли. Органический слой
30 промывали 5% водным раствором гидросульфата калия (440 мкл×2) и 5%

водным раствором карбоната калия (440 мкл×2). Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (113,3 мг), содержащий соединение 16. Полученный остаток разбавляли ацетонитрилом и анализировали с помощью ЖХМС (методика 2: время удерживания соединения 16: 5,573 мин, $m/z = 910 [M+Na]^+$). Полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР (выход: 58%).

Пример 9-2 (использование диметилкарбоната вместо изопропилацетата, который использовали в примере 9)

Синтез соединения 16 (трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[этил-[(2S)-1-[(2S)-2-[метил-[(2S,3S)-3-метил-2-[[[(2S)-4-метил-2-[метил(2-триметилсилилэтоксикарбонил)амино]пентаноил]амино]пентаноил]амино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]амино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетат)

В сосуд для проведения реакции добавляли рабочий раствор (477,4 мг), содержащий соединение 13, полученный в примере 7, и смесь концентрировали при пониженном давлении и получали остаток, содержащий соединение 13. В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре последовательно добавляли остаток, содержащий соединение 15 (92,0 мг, 81,2 мас.%), и диметилкарбонат (1000 мкл). После добавления в сосуд для проведения реакции 5% Pd/C (29,7 мг, содержание воды: 50%) внешнюю температуру устанавливали равной 25°C и смесь дегазировали и продували водородом и перемешивали в течение 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционную смесь фильтровали, и остаток промывали диметилкарбонатом (400 мкл×2). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции, содержащего фильтрат, устанавливали равной 25°C и при перемешивании последовательно добавляли 5% водный раствор карбоната калия (880 мкл) и 4-диметиламинопиридин (17,1 мг). Через 30 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли. Органический слой промывали 5% водным раствором гидросульфата калия (880 мкл×2) и 5% водным раствором карбоната калия (880 мкл×2). Концентрирование полученного органического слоя при

пониженном давлении давало остаток (107,3 мг), содержащий соединение 16. Полученный остаток разбавляли ацетонитрилом и анализировали с помощью ЖХМС (методика 2: время удерживания соединения 16: 5,579 мин, $m/z = 910$ $[M+Na]^+$). Полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР (выход: 62%).

Пример 9-3 (использование анизола вместо изопропилацетата, который использовали в примере 9)

В приведенной ниже таблице представлены результаты, полученные с использованием в описанной выше методике синтеза соединения 16 в качестве растворителя диметилкарбоната или анизола вместо 2-Ме-ТГФ.

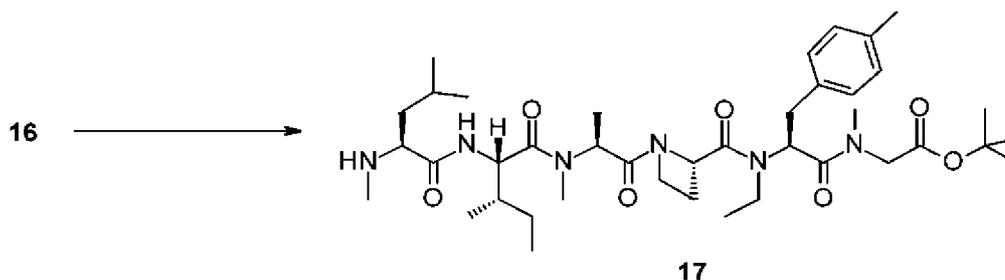
[Таблица 5]

Получение соединения 16

Пример №	Растворитель	Выход (%)
Пример 9-1	2-Ме-ТГФ	58
Пример 9-2	диметилкарбонат	62
Пример 9-3	анизол	78

Пример 10

Соединение 17: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[этил-[(2S)-1-[(2S)-2-[метил-[(2S,3S)-3-метил-2-[[[(2S)-4-метил-2-(метиламино)пентаноил]амино]пентаноил]амино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]амино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата



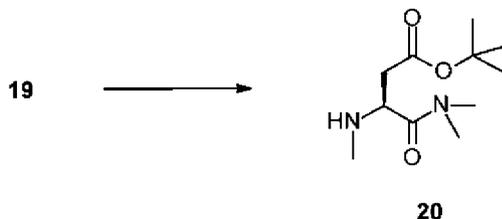
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (18,8 кг), содержащий соединение 16, полученный в примере 9, и 2-Ме-ТГФ (5,8 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 47°C и в течение 1 ч добавляли тетрабутиламмонийфторид (1 М раствор в ТГФ, 17,6 кг). Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и анализ с помощью ВЭЖХ указывал на отсутствие соединения 16, использовавшегося в качестве исходного вещества (для расчета

степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и к реакционной смеси добавляли 10% водный раствор моногидрата лимонной кислоты (28,7 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 10% водным раствором моногидрата лимонной кислоты (28,7 кг×2) и 5% водным раствором карбоната натрия (28,7 кг×3). К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (26,0 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 60°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 7 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,8 кг×2), и получали раствор (19,8 кг), содержащий соединение 19.

15 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 3,510 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 12

Соединение 20: Синтез трет-бутил-(3S)-4-(диметиламино)-3-(метиламино)-4-оксобутаноата



В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли 5% Pd/C (1,31 кг, содержание воды: 50%), раствор (19,8 кг), содержащий соединение 19, полученный в примере 11, и 2-Ме-ТГФ (6,0 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). После перемешивания смеси в течение 2 ч подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь перемешивали в течение еще 1,5 ч.

30 Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца

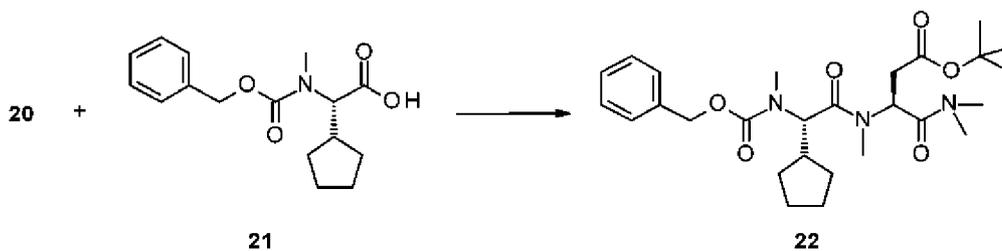
(методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 100% (исходное вещество не обнаружено) (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (11,3 кг×3) и затем фильтрат и промывочный раствор помещали в контейнер для хранения для использования в качестве рабочего раствора. В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли рабочий раствор и 2-Ме-ТГФ (0,4 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 4 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,8 кг), и получали раствор (10,4 кг), содержащий соединение 20.

15
20
25
30

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 1,560 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 13

Соединение 22: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[бензилоксикарбонил(метил)амино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



В реакционный бак добавляли раствор (10,3 кг), содержащий соединение 20, полученный в примере 12, и его концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 10 л. К смеси при комнатной температуре добавляли соединение 21 (61 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 4,97 кг), 2-Ме-ТГФ (1,0 л) и ацетонитрил (2,8 кг). Внешнюю температуру понижали до 10°C, последовательно добавляли ДИПЭА (4,93 кг) и ГАТУ (4,95 кг) и затем внешнюю температуру повышали до 25°C. После перемешивания реакционной смеси при 25°C в течение 4 ч отбирали образец реакционной смеси, проводили

приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,3% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). В реакционный бак последовательно добавляли ЦПМЭ (4,0 кг), 5% водный раствор карбоната калия (3,5 кг) и N-метилимидазол (712 г) и смесь перемешивали в течение 30 мин. Затем добавляли 2,5% водный раствор аммиака (14,1 кг) и 2-Ме-ТГФ (3,9 кг) и после перемешивания смеси в течение 10 мин водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 2,5% водным раствором аммиака (17,6 кг), 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (17,6 кг×3) и 5% водным раствором карбоната калия (17,6 кг). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 9 л. Промывочные растворы, полученные путем промывки с помощью 2-Ме-ТГФ (13,6 кг), объединяли и добавляли и получали раствор (21,6 кг), содержащий соединение 22.

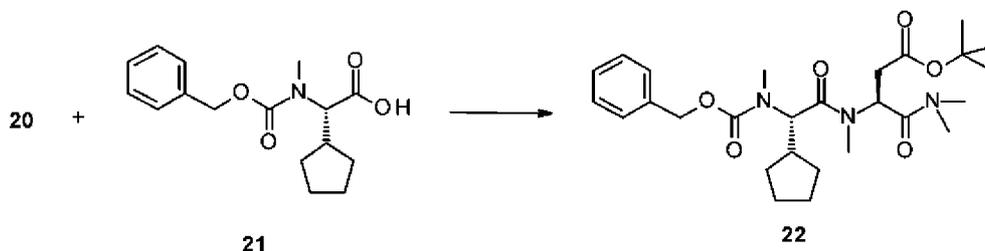
Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,356 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Реакция конденсации соединения 20 с соединением 21 (исследование условий проведения реакции, использовавшихся в примере 13)

Исследовали растворители, использовавшиеся для проведения реакции конденсации соединения 20 с соединением 21. За протеканием реакции конденсации следили с помощью ВЭЖХ. Выход рассчитывали на основании выраженной в процентах площади пика (площадь пика, %), определенной путем анализа с помощью ВЭЖХ, и значений, полученных с помощью КЯМР.

Пример 13-1 (использование анизола вместо 2-Ме-ТГФ и ацетонитрила, которые использовали в примере 13)

Соединение 22: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[бензилоксикарбонил(метил)амино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



В сосуд для проведения реакции последовательно добавляли раствор (590,9 мг), содержащий соединение 20, полученный в примере 12, и соединение 21 (61 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 252,7 мг) и смесь концентрировали при пониженном давлении и получали остаток, содержащий соединения 20 и 21. Для растворения остатка в сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли анизол (800 мкл). Внешнюю температуру понижали до 10°C, к реакционной смеси последовательно добавляли ДИПЭА (334 мкл) и ГАТУ (248,2 мг) и затем внешнюю температуру повышали до 25°C. После перемешивания реакционной смеси при 25°C в течение 5 ч отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 97,0% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру устанавливали равной 10°C, в сосуд для проведения реакции последовательно добавляли N-метилимидазол (34,6 мкл) и 5% водный раствор карбоната калия (200 мкл), затем внешнюю температуру устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 30 мин. Затем добавляли 2,5% водный раствор аммиака (800 мкл) и анизол (260 мкл) и после перемешивания смеси в течение 10 мин водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 2,5% водным раствором аммиака (1000 мкл) и 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (1000 мкл×3). К полученному органическому слою добавляли растворитель (анизол (260 мкл)) и смесь промывали 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (1000 мкл×1) и 5% водным раствором карбоната калия (1000 мкл×2). Полученный

органический слой концентрировали при пониженном давлении и получали остаток, содержащий соединение 22 (175,7 мг, выход 82%).

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 4,269 мин, $m/z = 526 [M+Na]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 3)

5 Выход: 82% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР)

В приведенной ниже таблице представлены результаты, полученные с использованием в методике синтеза соединения 22, описанной в примере 13-1 (исследование растворителей), в качестве растворителя диметилкарбоната, этилацетата или 2-Ме-ТГФ вместо анизола

[Таблица 6]

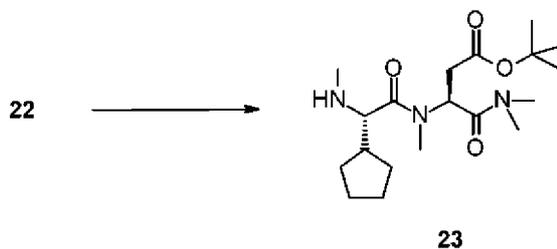
Получение соединения 22

Пример №	Растворитель	Выход (%)
Пример 13-1	анизол	82
Пример 13-2	диметилкарбонат	67
Пример 13-3	этилацетат	81
Пример 13-4	2-Ме-ТГФ	64

Эти результаты показывают, что для получения соединения 22 кроме ацетонитрила, подходящими для использования в качестве растворителя являются анизол, диметилкарбонат, этилацетат и 2-Ме-ТГФ. В частности, показано, что анизол или этилацетат являются подходящими растворителями для обеспечения подходящего выхода искомого продукта.

Пример 14

20 Соединение 23: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-циклопентил-2-(метиламино)ацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



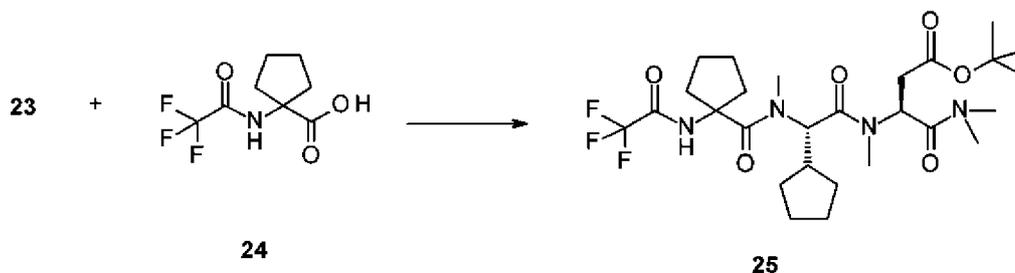
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли 5% Pd/C (1,26 кг, содержание воды: 50%), раствор (21,0 кг), содержащий соединение 22, полученный в примере 13, и 2-Ме-ТГФ (5,1 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и

в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). После перемешивания в течение 40 мин подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь перемешивали в течение еще 4 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 100% (исходное вещество не обнаружено) (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10,9 кг×4, 5,4 кг) и затем фильтрат и промывочный раствор извлекали для использования в качестве рабочего раствора. Полученные фильтрат и промывочный раствор концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 60°C, до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 6 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,8 кг), и получали раствор (11,8 кг), содержащий соединение 23.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,297 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 15

Соединение 25: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-циклопентил-2-[метил-[1-[(2,2,2-трифторацетил)амино]циклопентанкарбонил]амино]ацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре добавляли соединение 24 (3,76 кг) и 2-Ме-ТГФ (13,0 кг). Внешнюю температуру

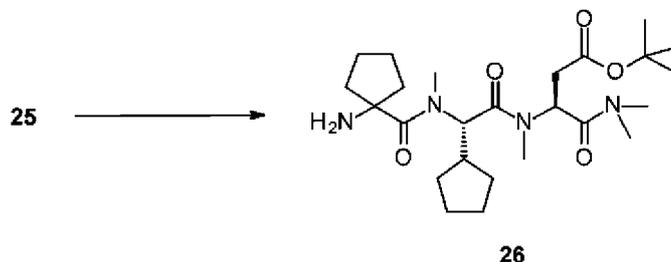
реакционного бака устанавливали равной 10°C и последовательно добавляли ДИПЭА (5,39 кг), раствор (11,7 кг), содержащий соединение 23, полученный в примере 14, ТЗР (50% раствор в 2-Ме-ТГФ, 14,1 кг) и ДМАП (2,04 кг).

5 Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 50°C, и смесь перемешивали в течение 4 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили
приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с
помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении
реакции составляла 99,0% (для расчета степени превращения при проведении
реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака
10 устанавливали равной 10°C и добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (25,3 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C
и после перемешивания смеси в течение 30 мин перемешивание прекращали и
водный слой удаляли из реакционного бака. Затем внешнюю температуру
реакционного бака устанавливали равной 15°C и добавляли 5% водный раствор
15 моногидрата гидросульфата натрия (25,3 кг). Внешнюю температуру
реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в
течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из
реакционного бака. Полученный органический слой промывали 5% водным
раствором моногидрата гидросульфата натрия (25,3 кг) и 5% водным раствором
20 карбоната натрия (25,3 кг). Добавляли 2-Ме-ТГФ (26,0 кг) и смесь
концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной
60°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 10 л. Остаток
объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке
реакционного бака смешанным раствором, полученным из 2-Ме-ТГФ (4,5 кг) и
25 МеОН (2,1 кг), и промывочным раствором полученным при промывке
реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,8 кг), и получали раствор (22,6 кг),
содержащий соединение 25.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 6,166 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 16

Соединение 26: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[(1-аминоциклопентанкарбонил)метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



5
10
15
20
25

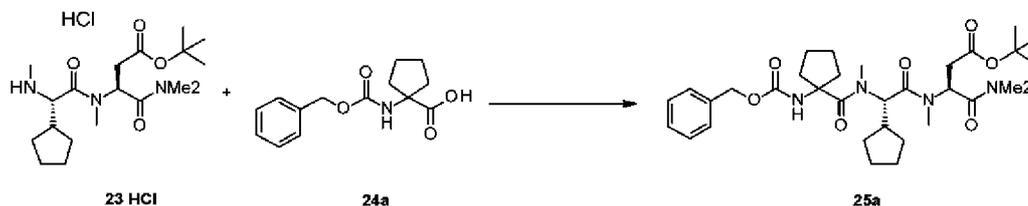
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (22,4 кг), содержащий соединение 25, полученный в примере 15, и 2-Ме-ТГФ (0,76 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной -20°C и при перемешивании добавляли LiBH₄ (10 мас./мас.% раствор в ТГФ, 3,67 кг) и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 100% (исходное вещество не обнаружено) (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). В реакционный бак при внешней температуре, равной от -20 до -30°C, в течение 3 ч по каплям добавляли 2,2,2-трифторэтанол (16,5 кг). Затем внешнюю температуру реакционного бака в течение 1 ч повышали до 0°C и затем смесь перемешивали в течение еще 1 ч при внешней температуре, равной 0°C. В реакционный бак добавляли 20% водный раствор хлорида аммония (14,3 кг) и после перемешивания в течение 13 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и добавляли трифторуксусную кислоту (1,88 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 1 ч. Полученную реакционную смесь объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,7 кг), и смесь помещали в контейнер для хранения. В другой реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре добавляли 2 М водный раствор гидроксида натрия (61,9 кг) и внешнюю температуру реакционного бака

устанавливали равной 10°C. К этому раствору в течение 70 мин по каплям добавляли реакционную смесь, находящуюся в описанном выше контейнере для хранения, затем добавляли 2-Ме-ТГФ (0,6 кг) и внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C. После перемешивания этой смеси в течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 2 М водным раствором гидроксида натрия (47,6 кг×2) и 10% водным раствором гидрофосфата калия (23,8 кг). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 40 л. К полученному после концентрирования раствору добавляли 2-Ме-ТГФ (30,5 кг) и затем органический слой промывали 2,5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (34 кг) и водой (34 кг) для экстракции искомого продукта в водный слой. Объединенные водные слои дважды промывали смешанным раствором, содержащим 2-Ме-ТГФ (48,9 кг) и гептан (3,9 кг), затем добавляли 2-Ме-ТГФ (53,8 кг) и при перемешивании добавляли 15% водный раствор карбоната натрия (15,2 кг). После удаления водного слоя органический слой промывали 5% водным раствором гидрофосфата калия (31,5 кг). К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (25,9 кг) и затем смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 8 л. К полученному остатку добавляли 2-Ме-ТГФ (9,8 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 8 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака ацетонитрилом (6,2 кг×2), и получали раствор (19,3 кг), содержащий соединение 26.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,725 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 15-1

Соединение 25а: Синтез трет-бутил-N²-{(2S)-2-[(1-
5 {[(бензилокси)карбонил]амино}циклопентан-1-карбонил)(метил)амино]-2-
циклопентилацетил}-N,N,N²-триметил-L-α-аспарагината



В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре
последовательно добавляли соль соединения 23 с HCl (1,00 г) и ацетонитрил
(10,01 мл). Затем при перемешивании при комнатной температуре добавляли
ДИПЭА (2,72 мл), затем добавляли соединение 24а (1,74 г) и ГАТУ (2,75 г) и
10 смесь перемешивали при 50°C в течение 6 ч. Отбирали образец реакционной
смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и
путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при
проведении реакции составляла 99,7% (для расчета степени превращения при
проведении реакции использовали уравнение 1). В сосуд для проведения
15 реакции добавляли N-метилимидазол (0,78 мл) и воду (3,99 мл) и затем смесь
перемешивали в течение 1 ч. Затем после охлаждения до 25°C смесь
перемешивали в течение 14 ч. Реакционную смесь фильтровали и остаток
промывали смесью ацетонитрил/вода (8:3 (об./об.), 5,33 мл). Отфильтрованное
твердое вещество сушили при пониженном давлении и получали соединение 25а
20 (1,27 г).

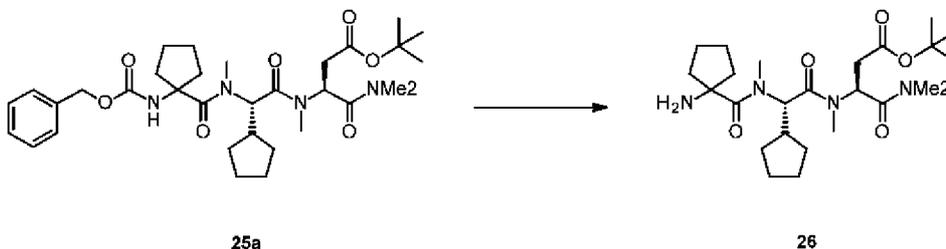
Полученные твердые вещества разбавляли ацетонитрилом и
анализировали с помощью ВЭЖХ (методика 6, время удерживания соединения
25а: 6,712 мин).

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 6,696 мин, m/z = 637,29 [M+Na]⁺ (условия
25 проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 6)

Выход: 84%

Пример 16-1

Соединение 26: Синтез трет-бутил-N²-{(2S)-2-[(1-аминоциклопентан-1-карбонил)(метил)амино]-2-циклопентилацетил}-N,N,N²-триметил-L-α-аспарагината



5

10

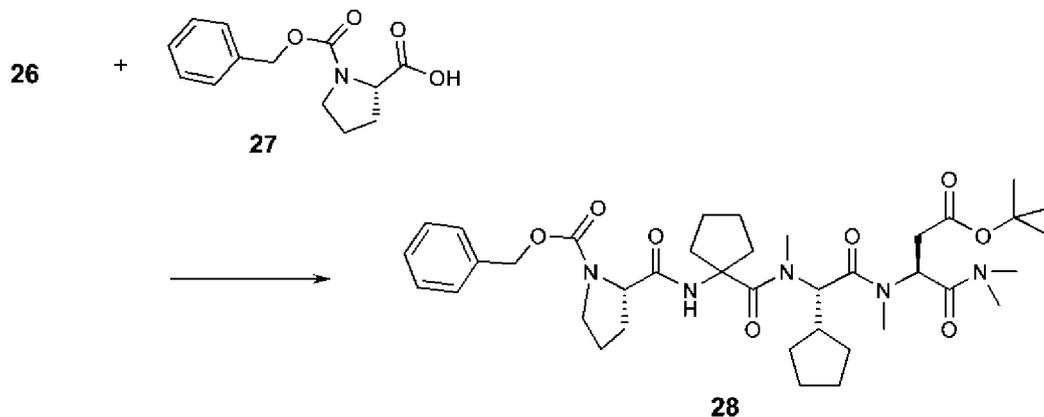
15

20

В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли 5% Pd/C (0,85 г, содержание воды: 50%) и ТГФ (14,04 мл) и затем внешнюю температуру устанавливали равной 25°C. Затем в сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли соединение 25a (3,51 г) растворяли в ТГФ (42,12 мл), затем внешнюю температуру устанавливали равной 25°C и смесь дегазировали и продували водородом и перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционную смесь фильтровали и остаток промывали с помощью ТГФ (14,04 мл×2). Концентрирование полученного раствора при пониженном давлении давало остаток (7,37 г), содержащий соединение 26. Полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью кЯМР (выход: 93%). ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 2,421 мин, m/z = 503,19 [M+Na]⁺ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 3)

Пример 17

Соединение 28: Синтез бензил-(2S)-2-[[1-[[[(1S)-2-[[[(1S)-3-трет-бутокси-1-(диметилкарбамоил)-3-оксопропил]метиламино]-1-циклопентил-2-оксоэтил]метилкарбамоил]циклопентил]карбамоил]пирролидин-1-карбоксилата



5

В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли соединение 27 (2,65 кг) и ацетонитрил (2,9 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и последовательно добавляли раствор (19,1 кг), содержащий соединение 26, полученный в примере 16, ДИПЭА (3,17 кг) и 2-бром-1-этилпиридинийтетрафторборат (3,36 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,3% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и последовательно добавляли ЦПМЭ (34,1 кг), 5% водный раствор карбоната натрия (23,6 кг) и N-метилимидазол (0,67 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в течение 40 мин водный слой удаляли из реакционного бака. Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и добавляли 5% водный раствор моногидрата гидросульфата натрия (23,6 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в течение 10 мин водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (23,6 кг×2) и 5% водным раствором

10

15

20

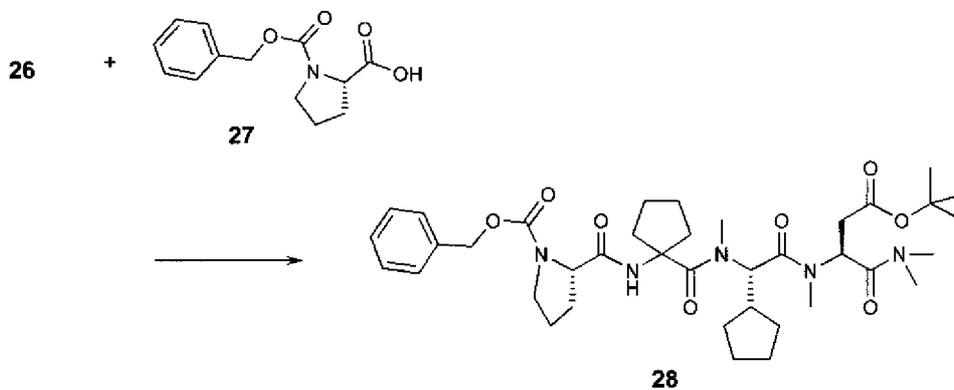
25

карбоната натрия (23,6 кг×2) и затем добавляли 2-Ме-ТГФ (26,0 кг). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. К полученному остатку добавляли ТГФ (19,7 кг) и затем смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 20°C и затем в реакционный бак добавляли ЦПМЭ (9,0 кг). Эту смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. В реакционный бак добавляли ЦПМЭ (10,0 кг) и эту смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 12 л. Перемешивание прекращали и затем в реакционный бак добавляли ТГФ (14,1 кг). Полученный остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью ТГФ (5,2 кг), и получали раствор (28,8 кг), содержащий соединение 28.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,189 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 17-1 (с использованием 2-Ме-ТГФ вместо ацетонитрила, который использовали в методике примера 17)

Соединение 28: Синтез бензил-(2S)-2-[[1-[[[(1S)-2-[[[(1S)-3-трет-бутокси-1-(диметилкарбамоил)-3-оксопропил]метиламино]-1-циклопентил-2-оксоэтил]метилкарбамоил]циклопентил]карбамоил]пирролидин-1-карбоксилата



В сосуд для проведения реакции при внешней температуре, равной 40°C, добавляли рабочий раствор (1,29 г), содержащий соединение 26, и смесь

концентрировали досуха при пониженном давлении. Затем в сосуд для проведения реакции добавляли 2-Ме-ТГФ (0,91 мл) и соединение 27 (126,90 мг). При перемешивании при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (0,37 мл), затем добавляли ГАТУ (338,30 мг) и смесь перемешивали при комнатной

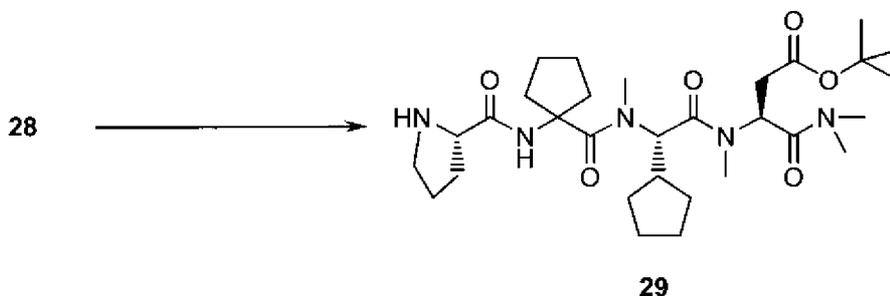
5 температуре в течение 3 ч. В сосуд для проведения реакции добавляли 2-Ме-ТГФ (1,84 мл) и 5% водный раствор карбоната натрия (1,09 мл) и дополнительно добавляли N-метилимидазол (30,30 мкл) и затем смесь перемешивали в течение 30 мин. После удаления водного слоя полученный органический слой промывали 2,5% водным раствором аммиака (1,09 мл), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (1,09 мл×2), 5% водным раствором карбоната натрия (1,09

10 мл×2), 2,5% водным раствором аммиака (1,09 мл×3), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (1,09 мл×2) и 5% водным раствором карбоната натрия (1,09 мл×2). Полученный органический слой концентрировали досуха при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, и

15 получали остаток, содержащий соединение 28 (0,19 г, выход 50,9%).
ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 4,178 мин, m/z = 735 [M+Na]⁺ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 3)
Выход: 50,9% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью КЯМР).

20 **Пример 18**

Соединение 29: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-циклопентил-2-[метил-[1-[[[(2S)-пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]амино]ацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



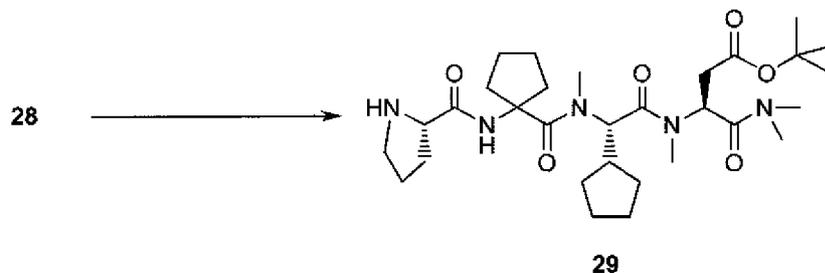
25 В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли 5% Pd/C (1,16 кг, содержание воды: 50%), раствор (27,4 кг), содержащий соединение 28, полученный в примере 17, и ТГФ (0,4 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и в

реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). Через 2 ч и 30 мин подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем проводили продувку азотом, затем в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь перемешивали в течение еще 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,6% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом и затем реакционную смесь фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10,0 кг×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 9 л. К полученному остатку добавляли 2-Ме-ТГФ (6,9 кг) и смесь повторно концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 9 л. К полученному остатку повторно добавляли 2-Ме-ТГФ (4,3 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 9 л, и получали концентрированный раствор реакционной смеси, содержащий соединение 29.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,846 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 18-1 (использованием 2-Ме-ТГФ вместо смеси ТГФ/2-Ме-ТГФ, которую использовали в методике примера 18)

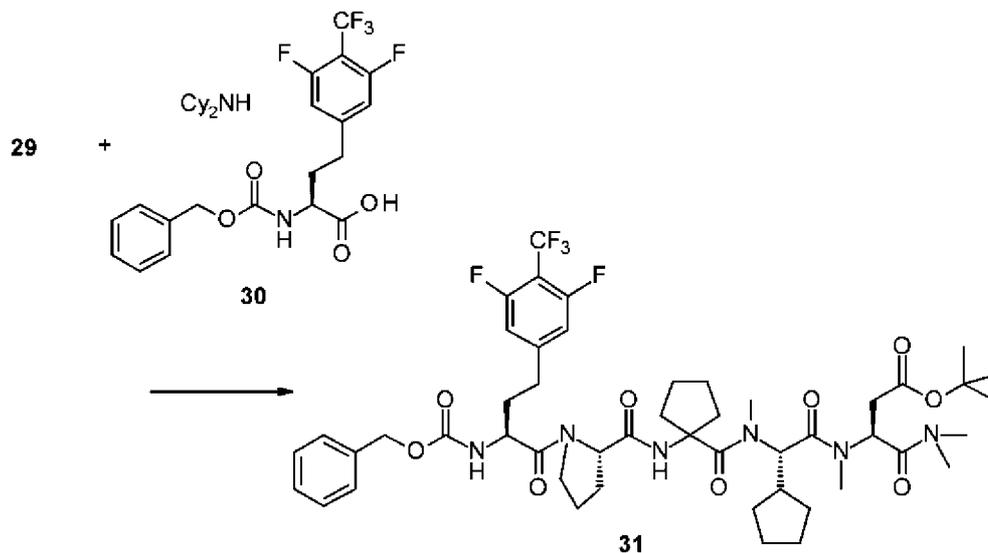
Соединение 29: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-циклопентил-2-[метил-
[1-[[[(2S)-пирролидин-2-
5 карбонил]амино]циклопентанкарбонил]амино]ацетил]метиламино]-4-
(диметиламино)-4-оксобутаноата



В сосуд для проведения реакции добавляли раствор (1014,92 мг),
содержащий соединение 28 (121,49 мг), полученный в примере 17, и смесь
10 концентрировали досуха при пониженном давлении при внешней температуре,
равной 60°C. Затем сосуд для проведения реакции продували азотом, при
комнатной температуре последовательно добавляли 2-Ме-ТГФ (2081 мг) и 5%
Pd/C (25,89 мг, содержание воды: 50%). Внешнюю температуру сосуда для
проведения реакции устанавливали равной 25°C и в сосуде для проведения
15 реакции устанавливали внутреннее водорода, равное 0,18 МПа
(манометрическое давление). Через 7 ч отбирали образец реакционной смеси,
проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем
анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при
проведении реакции составляла 99,9% (для расчета степени превращения при
20 проведении реакции использовали уравнение 1). Сосуд для проведения реакции
продували азотом, затем реакционную смесь фильтровали при пониженном
давлении. Сосуд для проведения реакции, воронку Кириями и фильтр промывали
с помощью 2-Ме-ТГФ (1041 мг×3). Полученный раствор анализировали с
помощью ВЭЖХ. Результаты анализа с помощью ВЭЖХ с использованием
25 стандарта показали, что получено 91,00 мг (выход 92,3%) соединения 29.
ЖХМС (ИЭР) соединения 29: время удерживания: 2,826 мин, m/z = 578 [M+H]⁺
(условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 3)

Пример 19

Соединение 31: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-
(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-
(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-
5 карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-
циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноата



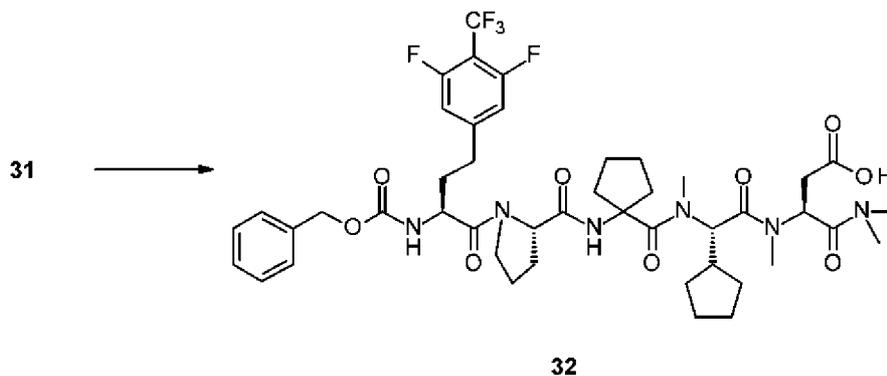
В реакционный бак, содержащий концентрированный раствор
реакционной смеси, содержащий соединение 29, полученный в примере 18,
10 который продували азотом, при комнатной температуре последовательно
добавляли 2-Ме-ТГФ (5,0 кг) и соединение 30 (3,08 кг). Внешнюю температуру
реакционного бака устанавливали равной 10°C и при перемешивании
последовательно добавляли ДИПЭА (2,44 кг), ТЗР (50 мас.% раствор в 2-Ме-
ТГФ (6,56 кг)) и 2-Ме-ТГФ (0,4 кг). Внешнюю температуру реакционного бака
15 устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 1 ч. Отбирали
образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1
приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что
степень превращения при проведении реакции составляла 99,3% (для расчета
степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1).
20 Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 15°C и при
перемешивании 5 добавляли % водный раствор карбоната калия (15,9 кг) и N-
метилимидазол (352,4 г). Внешнюю температуру реакционного бака
устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в течение 3 ч и 30 мин
водный слой удаляли из реакционного бака. Внешнюю температуру

реакционного бака устанавливали равной 20°C и добавляли 10% водный раствор моногидрата гидросульфата натрия (14,9 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания смеси в течение 15 мин водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (14,9 кг) и затем к полученному органическому слою при внешней температуре, равной 25°C, последовательно добавляли ацетонитрил (4,5 кг), МТБЭ (4,4 кг), гептан (6,2 кг) и 2,5% водный раствор карбоната калия (14,1 кг). После перемешивания смеси в течение 10 мин перемешивание прекращали и затем водный слой удаляли из реакционного бака. К полученному органическому слою добавляли 2,5% водный раствор карбоната калия (21,3 кг), ацетонитрил (6,6 кг) и 2-Ме-ТГФ (2,1 кг), смесь перемешивали в течение 10 мин, перемешивание прекращали и затем водный слой удаляли из реакционного бака. К полученному органическому слою добавляли 2,5% водный раствор карбоната калия (21,3 кг) и ацетонитрил (6,6 кг), смесь перемешивали в течение 10 мин, перемешивание прекращали и затем водный слой удаляли из реакционного бака. К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (26,0 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 9 л. Процедуру добавления к полученному остатку изопропилацетата (15,1 кг) и концентрирования смеси при пониженном давлении до обеспечения объема жидкой реакционной смеси, равного примерно 9 л, повторяли дважды. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака изопропилацетатом (7,0 кг), и получали раствор (16,5 кг), содержащий соединение 31.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,978 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 20

Соединение 32: Синтез (3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутановой кислоты



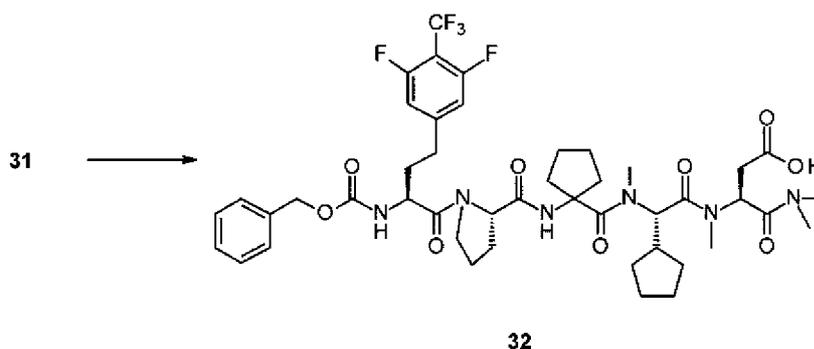
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (16,3 кг), содержащий соединение 31, полученный в примере 19, изопропилацетат (5,7 кг) и гексаметилдисилазан (1,69 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и при перемешивании добавляли триметилсилилтрифторметансульфонат (1,87 кг). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, поддерживая внешнюю температуру равной от 20 до 30°C. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 0°C и в реакционный бак последовательно добавляли 2-Ме-ТГФ (17,6 кг) и 5% водный раствор гидрофосфата калия (41,1 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания реакционной смеси в течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из реакционного бака. Затем органический слой промывали 5% водным раствором дигидрофосфата натрия (41,1 кг). К полученному органическому слою при перемешивании добавляли ДИПЭА (2,39 кг) и 2-Ме-ТГФ (26,0 кг) и затем смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной

от 30 до 33°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 8 л. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,8 кг×2), и получали раствор (14,7 кг), содержащий соединение 32.

- 5 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,220 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

 Пример 20-1 (с использованием 2-Ме-ТГФ вместо изопропилацетата, который использовали в методике примера 20)

- Соединение 32: Синтез (3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-
10 (бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-
(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-
карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-
циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутановой кислоты



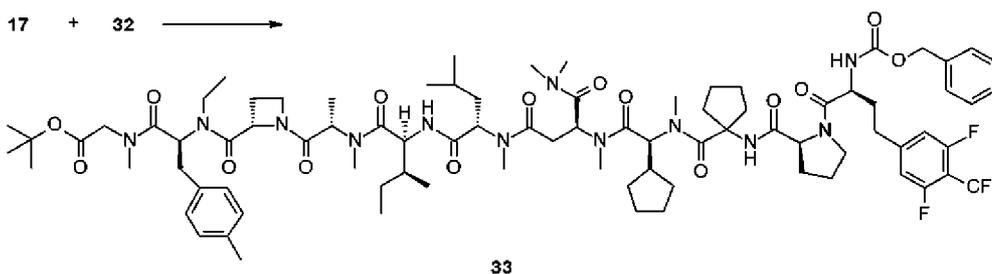
- 15 В сосуд для проведения реакции добавляли раствор (401,94 мг), содержащий соединение 31 (93,45 мг), полученный в примере 19, и его концентрировали досуха при пониженном давлении при внешней температуре, равной 60°C. При комнатной температуре последовательно добавляли 2-Ме-ТГФ (402 мг) и гексаметилдисилазан (38,6 мг). Внешнюю температуру сосуда для
20 проведения реакции устанавливали равной 0°C и при перемешивании добавляли триметилсилилтрифторметансульфонат (43,4 мг). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 25°C и реакцию смесь перемешивали в течение 1 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили
25 приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 0°C и в сосуд для проведения

реакции последовательно добавляли 2-Ме-ТГФ (402 мг) и 5% водный раствор гидрофосфата калия (0,93 мл). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной комнатной температуре и после перемешивания реакционной смеси в течение 10 мин перемешивание прекращали и водный слой удаляли из сосуда для проведения реакции. Затем органический слой промывали 5% водным раствором дигидрофосфата натрия (0,93 мл). К полученному органическому слою при перемешивании добавляли ДИПЭА (54,4 мг). Полученный раствор анализировали с помощью ВЭЖХ. Результаты анализа с помощью ВЭЖХ с использованием стандарта показали, что получено 81,01 мг (выход 92,0%) соединения 32.

ЖХМС (ИЭР) соединения 32: время удерживания: 4,132 мин, $m/z = 921 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 3)

Пример 21

Соединение 33: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата



В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (11,9 кг), содержащий соединение 17, полученный в примере 10, раствор (12,84 кг), содержащий соединение 32, полученный в примере 20, и 2-Ме-ТГФ (3,1 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 10°C и к реакционной смеси добавляли ДМФ (6,4 кг), ДИПЭА (1,6 кг) и ГАТУ (2,78 кг). Смесь перемешивали в течение 3 ч, поддерживая внутреннюю температуру равной 20°C. Отбирали образец

реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,6% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). При 5 внешней температуре, равной 10°C, добавляли 2,5% водный раствор аммиака (19,9 кг) и затем внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 10 мин. Перемешивание прекращали, водный слой удаляли из реакционного бака, затем при внешней 10 температуре, равной 20°C, к полученному органическому слою добавляли 10% водный раствор моногидрата гидросульфата натрия (19,9 кг), затем внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 10 мин. Перемешивание прекращали, водный слой удаляли из реакционного бака и затем полученный органический слой промывали 5% водным раствором карбоната натрия (19,9 кг). Полученный 15 органический слой концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 10 л. Процедуру добавления к реакционной смеси 2-Ме-ТГФ (17,0 кг) и концентрирования смеси при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема 20 жидкости, равного примерно 10 л, повторяли дважды. Остаток объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью 2-Ме-ТГФ (6,8 кг), и помещали в контейнер для хранения для использования в виде раствора (23,9 кг), содержащего соединение 33. Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 10,272 мин (условия 25 проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 4)

Реакция конденсации соединения 17 с соединением 32 (исследование условий проведения реакции, использовавшихся в примере 21)

Исследовали растворители, использовавшиеся для проведения реакции конденсации соединения 17 с соединением 32. За протеканием реакции 30 конденсации следили с помощью ВЭЖХ. Выход рассчитывали на основании выраженной в процентах площади пика (площадь пика, %), определенной путем анализа с помощью ВЭЖХ, и значений, полученных с помощью кЯМР.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 10,35 мин, $m/z = 1669 [M+Na]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 4)

Выход: 83% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР).

5 Пример 21-2 (использование 2-Ме-ТГФ вместо 2-Ме-ТГФ и ДМФ, которые использовали в методике примера 21)

Соединение 33: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

15 В колбу при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (4062,5 мг), содержащий соединение 17, полученный в примере 10, раствор (4534,0 мг), содержащий соединение 32, полученный в примере 20, и 2-Ме-ТГФ (1254 мкл) и получали раствор содержащий соединение 17 и соединение 32. В сосуд для проведения реакции добавляли раствор (969,5 мг), содержащий

20 соединение 17 и соединение 32, и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, и получали остаток, содержащий соединения 17 и 32. Для растворения остатка в сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли 2-Ме-ТГФ (1140 мкл). Внешнюю температуру понижали до 10°C и к реакционной смеси

25 добавляли ДИПЭА (106 мкл) и ГАТУ (94,9 мг) и затем внешнюю температуру повышали до 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч и затем отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ

30 устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,8% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру устанавливали равной 10°C, добавляли 2,5% водный раствор аммиака (680 мкл), затем внешнюю температуру устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 10 мин и затем

водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (680 мкл) и 5% водным раствором карбоната натрия (680 мкл). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (262,3 мг), содержащий

5 соединение 33.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 10,49 мин, $m/z = 1669 [M+Na]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 4)

Выход: 85% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР)

10 Пример 21-3 (с использованием анизола вместо 2-Ме-ТГФ и ДМФ, которые использовали в методике примера 21)

Соединение 33: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

20 В колбу при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (4062,5 мг), содержащий соединение 17, полученный в примере 10, раствор (4534,0 мг), содержащий соединение 32, полученный в примере 20, и 2-Ме-ТГФ (1254 мкл) и получали раствор содержащий соединение 17 и соединение 32. В сосуд для проведения реакции добавляли раствор (969,8 мг), содержащий

25 соединение 17 и соединение 32, и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, и получали остаток, содержащий соединения 17 и 32. Для растворения остатка в сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли анизол (1140 мкл). Внешнюю температуру понижали до 10°C и к реакционной смеси добавляли

30 ДИПЭА (106 мкл) и ГАТУ (97,7 мг) и затем внешнюю температуру повышали до 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч и затем отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ

устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру устанавливали равной 10°C, добавляли 2,5% водный раствор аммиака (680 мкл), затем внешнюю температуру

5 устанавливали равной 25°C и эту смесь перемешивали в течение 10 мин. В сосуд для проведения реакции добавляли анизол (570 мкл) и 2,5% водный раствор аммиака (340 мкл), смесь перемешивали в течение 10 мин и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (920 мкл) и 5% водным раствором карбоната

10 натрия (920 мкл). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (207,3 мг), содержащий соединение 33.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 10,38 мин, $m/z = 1669 [M+Na]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 4)

15 Выход: 68% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью КЯМР)

Пример 21-4 (с использованием диметилкарбоната вместо 2-Ме-ТГФ и ДМФ, которые использовали в методике примера 21)

Соединение 33: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-

25 метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетата

В колбу при комнатной температуре последовательно добавляли раствор содержащий соединение 17, полученный в примере 10 (4062,5 мг), раствор содержащий соединение 32, полученный в примере 20 (4534,0 мг), и 2-Ме-ТГФ (1254 мкл) и получали раствор содержащий соединение 17 и соединение 32. В

30 сосуд для проведения реакции добавляли раствор (968,4 мг), содержащий соединение 17 и соединение 32, и смесь концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C, и получали остаток,

содержащий соединения 17 и 32. Для растворения остатка в сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли диметилкарбонат (1140 мкл). Внешнюю температуру понижали до 10°C и к реакционной смеси добавляли ДИПЭА (106 мкл) и ГАТУ (95,2 мг) и затем внешнюю температуру повышали до 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 3 ч и затем отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру устанавливали равной 10°C, добавляли 2,5% водный раствор аммиака (680 мкл), затем внешнюю температуру устанавливали равной 25°C и смесь перемешивали в течение 10 мин. В сосуд для проведения реакции добавляли диметилкарбонат (1140 мкл) и 2,5% водный раствор аммиака (680 мкл), смесь перемешивали в течение 10 мин и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (1360 мкл) и 5% водным раствором карбоната натрия (1360 мкл). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (264,6 мг), содержащий соединение 33.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 10,35 мин, $m/z = 1669 [M+Na]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 4)
Выход: 84% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР)

Пример 21-5 и пример 21-6

С использованием этилацетата (пример 21-5) или изопропилацетата (пример 21-6) вместо смеси 2-Ме-ТГФ/ацетонитрил соединение 33 синтезировали при условиях, аналогичных использовавшимся в примере 21-1. Выход соединения 33 составлял 76% в примере 21-5 и 75% в примере 21-6.

Результаты, полученные в примерах 21-1 - 21-6, представлены в приведенной ниже таблице.

[Таблица 7]

Получение соединения 33

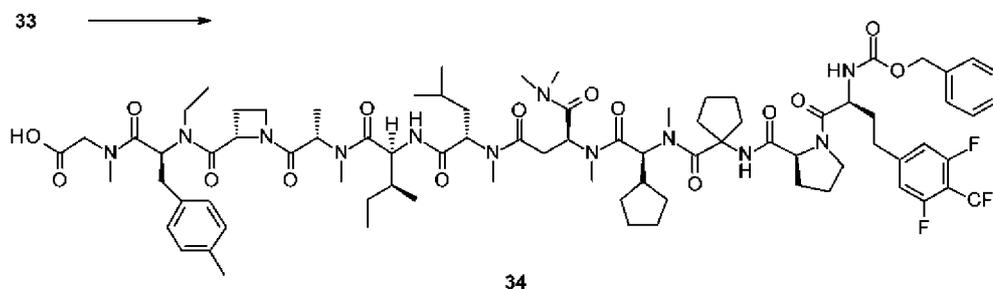
Пример №	Растворитель	Выход (%)
Пример 21-1	2-Ме-ТГФ/ацетонитрил	83

Пример №	Растворитель	Выход (%)
Пример 21-2	2-Ме-ТГФ	85
Пример 21-3	анизол	68
Пример 21-4	диметилкарбонат	84
Пример 21-5	этилацетат	76
Пример 21-6	изопропилацетат	75

В соответствии с этими результатами, использование смешанного растворителя, полученного из 2-Ме-ТГФ и ацетонитрила, 2-Ме-ТГФ, анизола, диметилкарбоната, этилацетата или изопропилацетата, вместо смешанного
 5 растворителя, полученного из 2-Ме-ТГФ и ДМФ, использовавшегося в примере 21, обеспечивает получение соединения 33 с высоким выходом.

Пример 22

Соединение 34: Синтез 2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-
 10 [[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-[3,5-дифтор-
 4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-
 карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-
 циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-
 оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-
 метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-
 15 толил)пропаноил]метиламино]уксусной кислоты



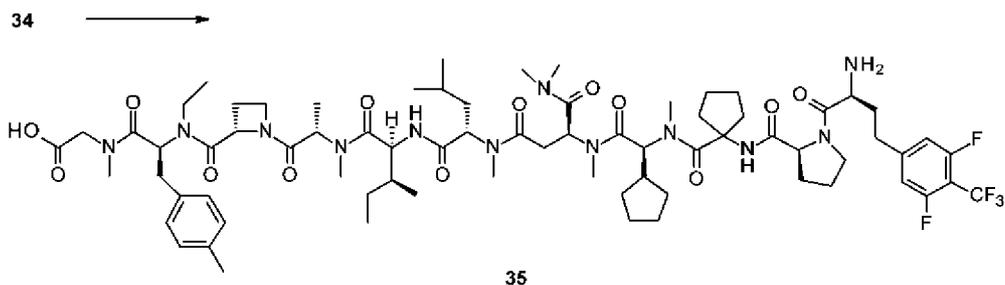
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре последовательно добавляли раствор (23,7 кг), содержащий соединение 33, полученный в примере 21, 2-Ме-ТГФ (32,0 кг) и гексаметилдисилазан (3,46 кг).
 20 Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 0°C и при перемешивании добавляли триметилсилiltrифторметансульфонат (3,99 кг). Эту смесь перемешивали в течение 3 ч, поддерживая внешнюю температуру равной от 20 до 30°C. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ
 25 устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла

99,6% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 0°C и к реакционной смеси добавляли 5% водный раствор гидрофосфата калия (23,8 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и после перемешивания этой смеси в течение 10 мин водный слой удаляли из реакционного бака. Полученный органический слой промывали водным раствором (23,3 кг×4), содержащим моногидрат лимонной кислоты (0,57 кг) и гидрофосфат калия (0,88 кг), и затем дополнительно промывали 5% водным раствором карбоната натрия (23,8 кг). К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (26,0 кг) и затем смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 10 л. К полученному остатку добавляли ТГФ (13,6 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 10 л. Затем добавляли 2-Ме-ТГФ (8,5 кг) и эту смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C, до обеспечения объема жидкости, равного примерно 10 л. Раствор, полученный путем добавления к полученному остатку ТГФ (6,8 кг), объединяли с промывочным раствором, полученным при промывке реакционного бака с помощью ТГФ (6,6 кг) и 2-Ме-ТГФ (7,1 кг), и получали раствор (29,0 кг), содержащий соединение 34.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 9,215 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 4)

Пример 23

Соединение 35: Синтез 2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-амино-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]уксусной кислоты



В примере 23 использовали раствор (14,5 кг), содержащий соединение 34, полученный в примере 22, и проводили приведенную ниже двухстадийную методику.

5 В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли 5% Pd/C (756,6 г, содержание воды: 50%) и затем добавляли ТГФ (7,5 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C. Последовательно добавляли раствор (14,5 кг), содержащий соединение 34, полученный в примере 22, и ТГФ (0,7 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и при перемешивании этой смеси в реакционном баке устанавливали внутреннее 10 давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). Через 2,5 ч подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь перемешивали в течение еще 1 ч. 15 Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,6% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь 20 фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (4,9 кг×2) и затем фильтрат и промывочный раствор объединяли и получали рабочий раствор, содержащий соединение 34 (первая порция).

В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли 5% Pd/C (756,6 г, 25 содержание воды: 50%) и затем добавляли ТГФ (7,5 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C. Последовательно добавляли раствор (14,5 кг), содержащий соединение 34, полученный в примере 22, и ТГФ (0,7 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и при перемешивании в реакционном баке устанавливали внутреннее давление

водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление). Через 1 ч подтверждали отсутствие изменения внутреннего давления и затем в реакционном баке устанавливали внутреннее давление водорода, равное 0,18 МПа (манометрическое давление), и смесь перемешивали в течение еще 1 ч.

5 Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,6% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционный бак продували азотом, затем реакционную смесь
10 фильтровали под давлением. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (4,9 кг×3) и затем фильтрат, промывочный раствор и первую порцию рабочего раствора, полученную выше, объединяли и получали рабочий раствор (60,5 кг), содержащий соединение 34.

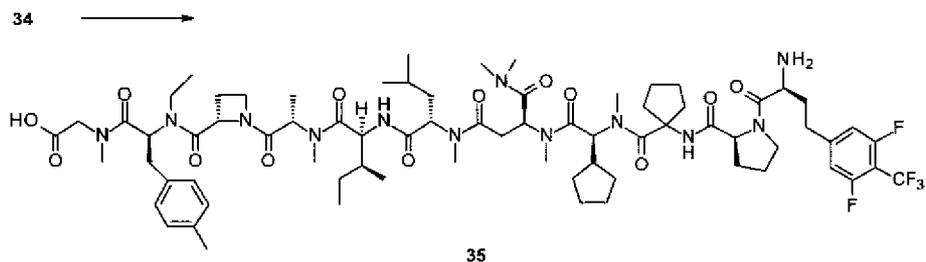
В реакционный бак, продуваемый азотом, при комнатной температуре
15 последовательно добавляли полученный выше рабочий раствор (60,5 кг), содержащий соединение 34, и 2-Ме-ТГФ (0,4 кг). Эту смесь концентрировали при пониженном давлении при перемешивании при внешней температуре, равной 40°C до обеспечения объема жидкости, равного 7,3 л, и затем внешнюю температуру устанавливали равной 25°C. К полученному остатку добавляли
20 ацетонитрил (20,3 кг), 2-Ме-ТГФ (6,3 кг) и гептан (35,4 кг) и смесь перемешивали в течение 30 мин. Перемешивание прекращали и затем нижний слой помещали в контейнер для хранения. К полученному нижнему органическому слою добавляли ацетонитрил (52,7 кг) и ДИПЭА (1,6 кг) и получали раствор (83,6 кг), содержащий соединение 35.

25 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 6,480 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 4)

Пример 23-1 (с использованием 2-Ме-ТГФ вместо ТГФ, который использовали в методике примера 23)

30 Соединение 35: Синтез 2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-амино-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]бутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-

оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]уксусной кислоты



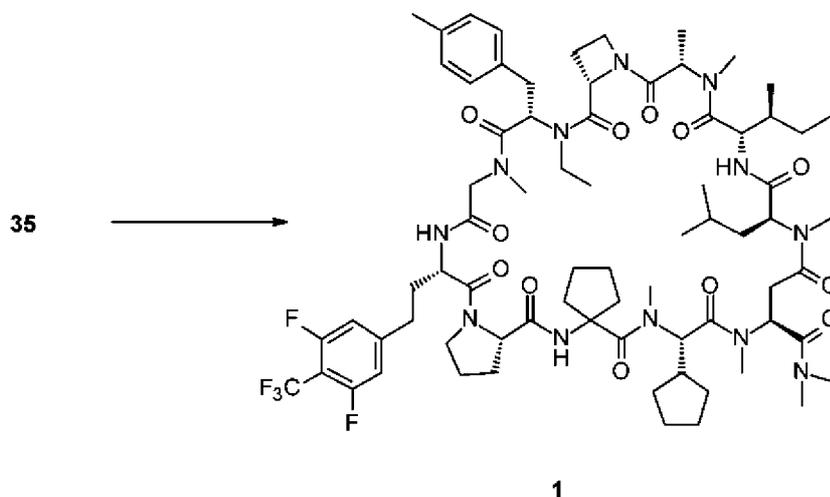
5 В сосуд для проведения реакции добавляли раствор (2447,7 мг), содержащий соединение 34, полученный в примере 22, смесь концентрировали при пониженном давлении и получали остаток, содержащий соединение 34. В сосуд для проведения реакции добавляли 2-Ме-ТГФ (2040 мкл) и 5% Pd/C (96,8 мг, содержание воды: 50%) и затем смесь дегазировали и продували водородом и
10 перемешивали в течение 4 ч. В сосуд для проведения реакции добавляли 2-Ме-ТГФ (460 мкл) и 5% Pd/C (47,3 мг, содержание воды: 50%) и затем смесь дегазировали и продували водородом и перемешивали в течение 4 ч. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что
15 степень превращения при проведении реакции составляла 99,7% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционную смесь фильтровали и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (690 мкл×2). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (670,1 мг), содержащий соединение 35.
20 Полученный остаток разбавляли ацетонитрилом и анализировали с помощью ЖХМС (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 4, время удерживания для соединения 35: 6,94 мин, $m/z = 1457 [M+H]^+$). Полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР (выход: 95%).

25 Пример 24

Соединение 1: Синтез (5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетраконтагидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-и]пирроло[2,1-

30

i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетратриаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамид



В реакционный бак, продуваемый азотом, добавляли ацетонитрил (21,4 кг) и ГАТУ (3,86 кг) и дополнительно добавляли ацетонитрил (55,0 кг). Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и к реакционной смеси по каплям добавляли раствор (82,8 кг), содержащий соединение 35, полученный в примере 23, при скорости, равной от 0,3 кг/мин до 0,4 кг/мин. Этот раствор промывали ацетонитрилом (6,1 кг), добавляли промывочный раствор и эту смесь перемешивали в течение 30 мин. Отбирали образец реакционной смеси, проводили приготовление образца (методика 1 приготовления образца) и путем анализа с помощью ВЭЖХ устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1).

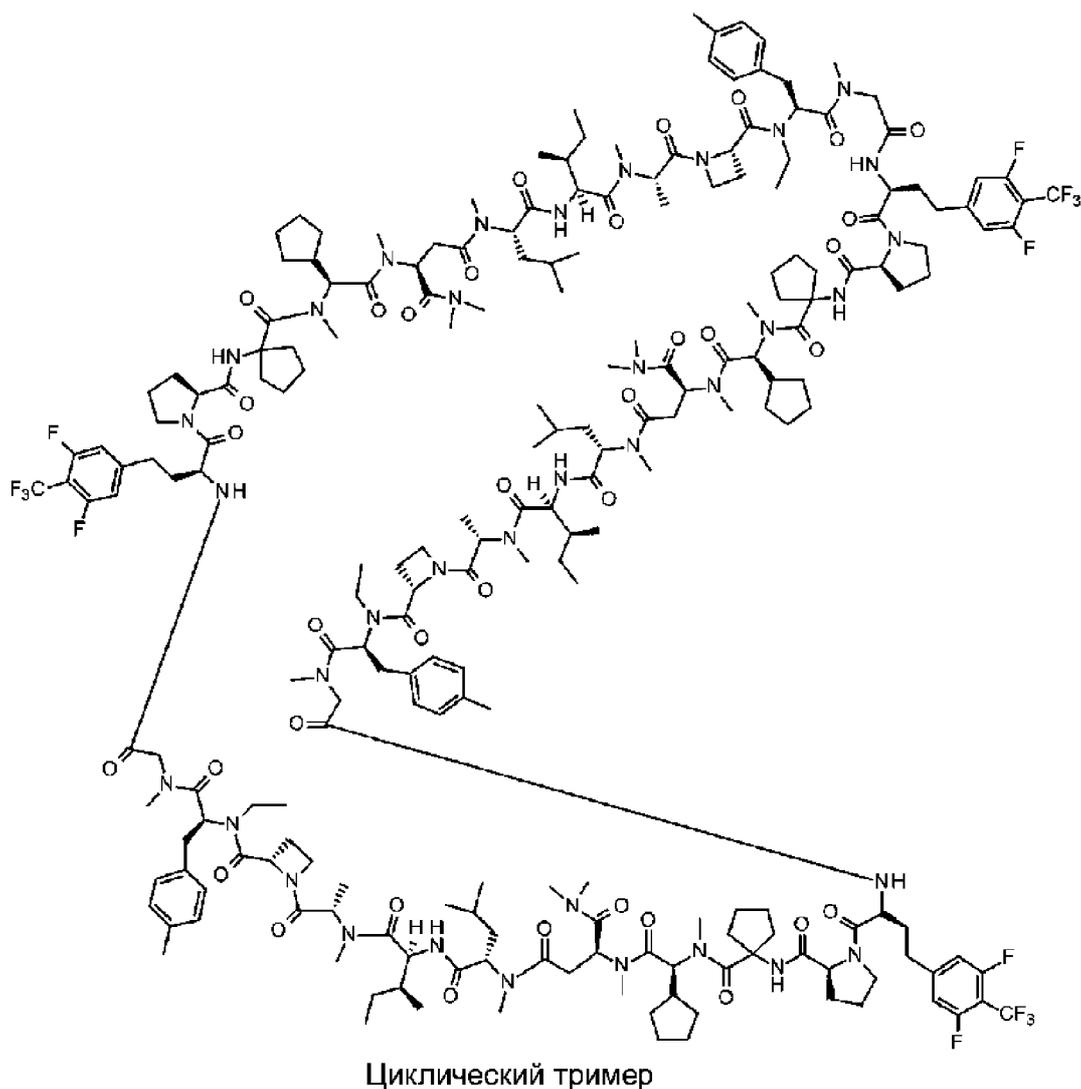
Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 30°C и при перемешивании смесь концентрировали при пониженном давлении до обеспечения объема жидкости, равного примерно 27 л. Внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 25°C и к полученному остатку добавляли этилацетат (104,7 кг). При перемешивании при внешней температуре, равной 25°C, добавляли 2,5% водный раствор аммиака (77,8 кг) и эту смесь перемешивали в течение 85 мин. Водный слой удаляли из реакционного бака и затем к полученному органическому слою при перемешивании при внешней температуре, равной 20°C, добавляли 5% водный раствор моногидрата гидросульфат калия (89,8 кг). При внешней температуре, равной 25°C, эту смесь перемешивали в течение 12 мин. После удаления из реакционного бака водного

слоя полученный органический слой при внешней температуре, равной 25°C, промывали 5% водным раствором динатрийгидрофосфата (89,8 кг), 5% водным раствором хлорида натрия (89,8 кг) и 0,5% водным раствором хлорида натрия (89,8 кг×2). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении при перемешивании до обеспечения объема жидкости, равного примерно 19 л, при установлении внешней температуры реакционного бака, равной 40°C. Полученный остаток фильтровали под давлением и после промывки реакционного бака и устройства для фильтрования этилацетатом (17,4 кг) фильтрат и промывочный раствор промывали этилацетатом (17,4 кг) и получали раствор (63,1 кг), содержащий соединение 1. К рабочему раствору (63,1 кг), содержащему полученное выше соединение 1, добавляли ацетон (15,3 кг) и смесь концентрировали при пониженном давлении до обеспечения объема жидкости, равного примерно от 8 до 12 л, и эту процедуру повторяли 7 раз. Полученный остаток фильтровали под давлением и полученный раствор извлекали для использования в качестве рабочего раствора. Реакционный бак и устройство для фильтрования промывали ацетоном (15,3 кг×2), затем этот содержащий ацетон промывочный раствор фильтровали под давлением, этот промывочный раствор объединяли с рабочим раствором и эту смесь помещали в контейнер для хранения для использования в виде раствора (51,4 кг), содержащего соединение 1.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 18,008 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 5)

Реакция циклизации соединения 35 (исследование условий проведения реакции, использовавшихся в примере 24)

Исследовали конденсирующие реагенты и растворители, использовавшиеся для проведения реакции циклизации, в которой в качестве исходного вещества использовали соединение 35 и получали соединение 1. За протеканием реакции циклизации следили с помощью ВЭЖХ. Выход рассчитывали на основании выраженной в % площади пика, определенной путем анализа с помощью ВЭЖХ с использованием метилбензоата в качестве внутреннего стандарта.



Пример 24-1

Соединение 1: Синтез (5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-
бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-
5 изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-
4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетра триаконтагидро-2H,4H-
спиро[азето[2,1-и]пирроло[2,1-
i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетра триаконтин-21,1'-
циклопентан]-15-карбоксамид (с использованием ГАТУ в качестве
10 конденсирующего реагента и с использованием ацетонитрила в качестве
растворителя)

В сосуд для проведения реакции отвешивали соединение 35 (10,44 мг
(7,17 мкмоль)) и внутренний стандарт (метилбензоат, 3,60 мг (26,44 мкмоль)) и
их растворяли в растворителе (ацетонитрил, 2 мл (200 об./мас.)). При

перемешивании смеси при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (5,74 мкл (32,9 мкмоль)). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 25°C, добавляли конденсирующий реагент (ГАТУ, 10,39 мг (27,3 мкмоль)) и смесь перемешивали в течение 30 мин. Для получения раствора для анализа с помощью ВЖЖХ раствор реакционной смеси (50 мкл) разбавляли смесью растворителей MeCN/пропиламин (9:1) (100 мкл). По данным анализа с помощью ВЭЖХ с использованием метилбензоата в качестве внутреннего стандарта выход составлял 76% (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 5).

- 10 ЖХМС (ИЭР) соединения 1: время удерживания: 18,08 мин, $m/z = 1439 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5)
ЖХМС (ИЭР) пропиламида соединения 35: время удерживания: 13,39 мин, $m/z = 1498 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5)
ЖХМС (ИЭР) циклического димера (ц-димер): время удерживания: 23,18 мин,
15 $m/z = 2898 [M+Na]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5)
ЖХМС (ИЭР) циклического тримера (ц-тример): время удерживания: 25,74 мин, $m/z = 2157 [M+2H]^{2+}$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5)

- 20 Результаты, полученные при синтезе соединения 1 с использованием различных конденсирующих реагентов и растворителей, приведены в таблице 7. Использовали экспериментальную методику, в которой использовали ГАТУ в качестве конденсирующего реагента и ацетонитрил в качестве растворителя (пример 24-1). В таблице ИВ (исходные вещества) означает сумму оставшихся
25 количеств соединения 35 и пропиламида соединения 35 (площадь пика, %, по данным ВЭЖХ). Кроме того, в таблице ИС означает искомое соединение (соединение 1) и ц-димер и ц-тример означают побочные продукты, которыми являются циклический димер и циклический тример соответственно. Количества полученных побочных продуктов указаны, как значения площади пика, %, получены с помощью ВЭЖХ (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ:
30 методика 5). Выходы рассчитывали путем анализа с помощью ВЭЖХ с использованием метилбензоата в качестве внутреннего стандарта.

[Таблица 8]

Конденсирующий реагент	Пример №	Растворитель	Содержания ИВ, ИС, ц-димера и ц-тримера (%)				Выход (%)
			ИВ	ИС	ц-димер	ц-тример	
ГАТУ	пример 24-1	CH ₃ CN	0,0	83,0	13,9	3,0	76
	пример 24-2	CH ₂ Cl ₂	0,0	90,3	7,9	1,7	90
	пример 24-3	толуол	89,2	10,4	0,4	0,0	12
	пример 24-4	анизол	0,0	87,0	11,9	1,1	74
	пример 24-5	диметилкарбонат	0,0	86,8	11,3	1,9	71
	пример 24-6	2-Ме-ТГФ	21,8	64,8	11,9	1,5	54
	пример 24-7	МТГП	72,0	25,0	3,0	0,0	23
	пример 24-8	AcOEt	0,1	82,1	14,1	3,6	59
	пример 24-9	ДМФ	0,1	77,7	17,8	4,4	52
	пример 24-10	NMP	0,0	75,8	19,4	4,8	69
РуВОР	пример 24-11	CH ₃ CN	0,2	88,0	10,1	1,8	79
	пример 24-12	CH ₂ Cl ₂	0,3	92,9	5,6	1,2	89
	пример 24-13	толуол	0,0	86,7	11,7	1,5	57
	пример 24-14	анизол	0,0	91,5	7,6	0,8	86
	пример 24-15	диметилкарбонат	0,1	92,3	6,8	0,8	87
	пример 24-16	2-Ме-ТГФ	0,1	89,6	9,1	1,2	82
	пример 24-17	МТГП	0,4	88,3	9,8	1,5	81
	пример 24-18	AcOEt	0,4	90,5	7,6	1,5	78
	пример 24-19	ДМФ	0,4	86,1	11,3	2,2	73
	пример 24-20	NMP	0,1	86,4	11,8	1,7	78
ДМТ-ММ	пример 24-21	CH ₃ CN	0,1	83,7	13,7	2,6	78
	пример 24-22	толуол	40,8	47,7	9,2	2,3	32
	пример 24-23	анизол	0,0	87,2	11,2	1,6	71
	пример 24-24	диметилкарбонат	0,1	89,1	9,4	1,5	78
	пример 24-25	2-Ме-ТГФ	3,0	80,6	13,9	2,6	82
	пример 24-26	МТГП	23,4	62,4	11,4	2,9	53
	пример 24-27	AcOEt	0,0	87,1	11,0	1,9	72
	пример 24-28	ДМФ	0,0	80,8	15,8	3,4	68
	пример 24-29	NMP	0,0	80,0	16,4	3,6	70
РуOxim	пример 24-30	CH ₃ CN	0,4	80,0	15,3	4,3	74
	пример 24-31	толуол	66,7	32,3	1,0	ДН*	16
	пример 24-32	анизол	0,1	92,7	6,6	0,6	70
	пример 24-33	диметилкарбонат	0,3	90,8	7,6	1,4	82
	пример 24-34	2-Ме-ТГФ	3,6	87,0	8,5	1,0	77
	пример 24-35	МТГП	14,8	76,8	7,4	1,0	68
	пример 24-36	EtOAc	0,2	90,8	7,8	1,2	81
	пример 24-37	ДМФ	0,8	76,4	17,7	5,0	68
	пример 24-38	NMP	0,0	80,4	15,7	3,9	71

*ДН - данных нет

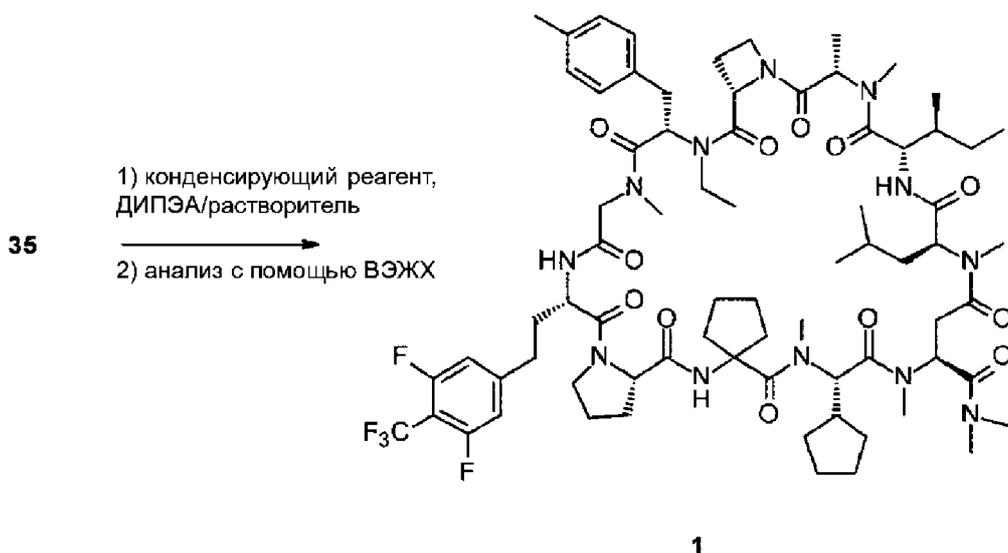
5 На основании этих результатов, принимая во внимание высокую степень превращения в искомое соединение и образование небольшого количества побочных продуктов, а также экологические соображения, установлено, что предпочтительными растворителями являются анизол, диметилкарбонат и 2-Ме-ТГФ. Установлено, что предпочтительными конденсирующими реагентами являются ГАТУ, РуВОР и РуOxim. Предпочтительными комбинациями

растворитель/конденсирующий реагент являются анизол и РуВОР, диметилкарбонат и РуВОР, и 2-метилтетрагидрофуран и РуВОР.

Реакции, использовавшиеся в примере 24-15 и пример 24-16, проводили в увеличенном масштабе и использовали процедуры, аналогичные использовавшимся для синтеза соединения 1 (с использованием РуВОР в качестве конденсирующего реагента, и с использованием 2-Ме-ТГФ или диметилкарбоната в качестве растворителя).

Пример 24-39

Соединение 1: Синтез (3S,9S,12S,17S,20S,23S,27S,30S,36S)-30-циклопентил-3-[2-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]этил]-10-этил-23-изобутил-N,N,7,17,18,24,28,31-октаметил-20-[(1S)-1-метилпропил]-2,5,8,11,16,19,22,25,29,32,35-ундекаоксо-9-(п-толилметил)спиро[1,4,7,10,15,18,21,24,28,31,34-ундеказатрицикло[34.3.0.0^{12,15}]нонатриаконтан-33,1'-циклопентан]-27-карбоксамид



В сосуд добавляли раствор (2152,63 мг), содержащий соединение 35 (100,16 мг (0,069 ммоль)), полученный в примере 23, и его концентрировали досуха при пониженном давлении при внешней температуре, равной 40°C. К полученному после концентрирования остатку добавляли 2-Ме-ТГФ (2150 мг) и ДИПЭА (42,2 мг) и получали раствор содержащий соединение 35. В сосуд для проведения реакции, продуваемый азотом, добавляли РуВОР (141,10 мг) и 2-Ме-ТГФ (2150 мг). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 25°C и к реакционной смеси в течение 4 ч по каплям

добавляли раствор содержащий соединение 35. Для промывки использовали 2-
 Ме-ТГФ (172 мг), добавляли промывочный раствор и смесь перемешивали в
 течение 2 ч. При перемешивании при внешней температуре, равной 25°C,
 добавляли 2,5% водный раствор аммиака (2 мл), и смесь перемешивали в
 течение 90 мин. Реакционную смесь фильтровали при пониженном давлении.
 Сосуд для проведения реакции и воронку Кирияма промывали с помощью 2-Ме-
 ТГФ (172 мг). После удаления водного слоя при перемешивании при внешней
 температуре, равной 25°C, к полученному органическому слою добавляли 5%
 водный раствор моногидрата гидросульфата калия (2 мл). Смесь перемешивали
 при внешней температуре, равной 25°C в течение 4 мин. После удаления водного
 слоя при внешней температуре, равной 25°C, полученный органический слой
 промывали 5% водным раствором динатрийгидрофосфата (2 мл), 5% водным
 раствором хлорида натрия (2 мл) и 0,5% водным раствором хлорида натрия (2
 мл×2). Полученный органический слой анализировали с помощью ВЭЖХ.
 Результаты анализа с помощью ВЭЖХ с использованием образца показали, что
 получено 78,38 мг (выход 79,2%) соединения 1.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 17,992 мин (условия
 проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 5)

В приведенной ниже таблице представлены результаты, полученные при
 использовании в качестве растворителя диметилкарбоната вместо 2-Ме-ТГФ,
 который использовали в описанной выше методике синтеза соединения 1, в
 которой в качестве конденсирующего реагента использовали RuBOP.

[Таблица 9]

Конденсиру- ющий реагент	Пример №	Растворитель	Содержания ИВ, ИС, ц-димера и ц-тримера (%)				Выход (%)
			ИВ	ИС	ц-димер	ц-тример	
RuBOP	пример 24-39	2-Ме-ТГФ	0,4	98,3	1,6	<0,1	79
	пример 24-40	диметилкарбон ат	4,4	94,1	1,5	<0,1	79

Пример 25

Кристаллизация соединения 1: Синтез кристаллов гидрата
 (5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-
 (3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-
 октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-
 ундекаоксотетраэриконтагидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-u]пирроло[2,1-

i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетратриаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамида (форма С)

Реакционный бак, содержащий раствор, содержащий соединение 1, продували азотом, внешнюю температуру реакционного бака устанавливали равной 40°C и в него добавляли очищенную профильтрованную воду (10,9 кг). К смешанному раствору ацетон (59,2 г)/вода (61,2 г) добавляли затравочные кристаллы соединения 1 (10,2 г), полученные по таким же методикам, как описанные в примере 25-1, и полученную суспензию добавляли в реакционный бак. Сосуд, в котором находилась суспензия, промывали смешанным раствором ацетон (59,2 г)/вода (61,2 г), промывочный раствор добавляли в реакционный бак и затем эту смесь перемешивали в течение 2 ч и 1 мин. Добавляли очищенную профильтрованную воду (2,7 кг) и эту смесь перемешивали в течение 7 ч и 10 мин. Затем к смешанному раствору ацетон (59,2 г)/вода (61,2 г) добавляли затравочные кристаллы соединения 1 (10,2 г), полученные по таким же методикам, как описанные в примере 25-1, и полученную суспензию добавляли в реакционный бак. Сосуд, в котором находилась суспензия, промывали смешанным раствором ацетон (59,2 г)/вода (61,2 г), промывочный раствор добавляли в реакционный бак и затем эту смесь перемешивали в течение 12 ч и 40 мин. Добавляли очищенную профильтрованную воду (2,7 кг) и эту смесь перемешивали в течение 2 ч. Внешнюю температуру реакционного бака в течение 1 ч понижали от равной 40°C до равной 25°C и затем реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч и 44 мин. Кристаллы получали путем фильтрования этой смеси под давлением и путем промывки реакционного бака и устройства для фильтрования смешанным раствором, содержащим ацетон (7,5 кг) и очищенную профильтрованную воду (7,5 кг), и кристаллы промывали. Полученные кристаллы промывали очищенной профильтрованной водой (17,0 кг×2). Внешнюю температуру устройства для фильтрования устанавливали равной 70°C и кристаллы сушили при пониженном давлении в течение 17 ч. Затем кристаллы сушили при внешней температуре устройства для фильтрования, находящейся в диапазоне от комнатной температуры до 30°C, и при пониженном давлении в течение 27 ч. Высушенный порошок извлекали из устройства для фильтрования и получали белое порошкообразное вещество (2,6 кг).

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 18,199 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 5)

При проведении анализа с помощью порошковой рентгенографии (методика измерения 4) с использованием прибора для ПРРГ в качестве
5 основных пиков наблюдали пики при значениях 2θ , равных $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$, $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ (\pm 0,2^\circ)$. Результаты анализа представлены на фиг. 1.

Пример 25-1: Пример получения затравочных кристаллов, использовавшихся в примере 25

10 Соединение 1 (122,3 мг), находящееся в аморфном состоянии, полученное в примере получения 1, растворяли в ДМСО (0,612 мл) и этот раствор (0,015 мл) сушили вымораживанием при -20°C в течение 2 дней. К полученному высушенному вымораживанием веществу добавляли смешанный раствор, содержащий воду и ацетонитрил (3:1, 0,015 мл), и эту смесь перемешивали при
15 встряхивании при комнатной температуре в течение 7 дней и получали кристаллы гидрата соединения 1 (форма С).

Исследование кристаллизации соединения 1

Пример 25-2

20 Синтез кристаллов несольватированной формы (форма F) соединения 1 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетратриаконтагидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-u]пирроло[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31] ундекаазациклотетратриаконтин-21,1'-
25 циклопентан]-15-карбоксамид)

Кристаллы гидрата соединения 1 (форма С), полученные по такой же методике, как описанная в примере 24, помещали в алюминиевый контейнер для образца размером 7 мм×7 мм×0,25 мм и уплотняли и проводили одновременный анализ с помощью рентгенографии и ДСК при следующих условиях:
30 исследование с помощью порошковой рентгенографии (ПРРГ): методика измерения 2; и термический анализ: методика измерения 2, кристаллы несольватированной формы соединения 1 (форма F) получали в виде образца, полученного после проведения исследования.

При проведении анализа с помощью порошковой рентгенографии (методика измерения 2) с использованием прибора для ПРРГ в качестве основных пиков наблюдали пики при значениях 2θ , равных $5,370^\circ$, $6,934^\circ$, $8,940^\circ$, $9,838^\circ$, $10,771^\circ$, $12,181^\circ$, $13,525^\circ$, $15,179^\circ$, $16,202^\circ$ и $17,554^\circ (\pm 0,2^\circ)$.

5 Результаты анализа представлены на фиг. 2.

Пример 25-3

[Синтез кристаллов сольвата гидрата с ДМСО (форма А и форма В) соединения 1 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-10 N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетра триаконтагидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-и]пирроло[2,1-и][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетра триаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамид)

ДМСО (0,52 мл) добавляли к кристаллам гидрата соединения 1 (форма С, 15 104,3 мг) и эту смесь перемешивали при 100 об/мин при встряхивании при комнатной температуре в течение 17 ч и получали кристаллы сольвата гидрата с ДМСО искомого соединения (33,8 мг) в виде порошкообразных кристаллов. Порошкообразные кристаллы, полученные непосредственно после 20 фильтрования, определяли, как кристаллы сольвата гидрата с ДМСО - форма А, и порошкообразные кристаллы, которые после фильтрования сушили при пониженном давлении при комнатной температуре в течение 8 ч, определяли, как кристаллы сольвата гидрата с ДМСО - форма В.

Кристаллы сольвата гидрата с ДМСО соединения 1 (кристаллы сольвата гидрата с ДМСО (форма А) и кристаллы сольвата гидрата с ДМСО (форма В)) по 25 отдельности исследовали с помощью порошковой рентгенографии (методика измерения 3). Результаты приведены ниже.

В случае кристаллов сольвата гидрата с ДМСО (форма А) в качестве основных пиков наблюдали пики при значениях 2θ , равных $8,006^\circ$, $9,002^\circ$, $9,943^\circ$, $11,501^\circ$, $13,067^\circ$, $14,854^\circ$, $16,320^\circ$, $17,275^\circ$, $19,261^\circ$ и $20,324^\circ (\pm 0,2^\circ)$.

30 Результаты анализа представлены на фиг. 3.

В случае кристаллов сольвата гидрата с ДМСО (форма В) в качестве основных пиков наблюдали пики при значениях 2θ , равных $8,223^\circ$, $9,594^\circ$,

9,976°, 11,879°, 13,841°, 14,572°, 15,934°, 16,350°, 19,805° и 20,480° ($\pm 0,2^\circ$).

Результаты анализа представлены на фиг. 4.

Термогравиметрия/дифференциальный термический анализ

5 Крystalлы сольвата гидрата с ДМСО соединения 1, полученные в примере 25-3 (кристаллы сольвата гидрата с ДМСО (форма В)) исследовали с помощью термического анализа (методика измерения 3). Результаты представлены на фиг. 5.

Исследование с помощью ^1H -ЯМР

10 Крystalлы сольвата гидрата с ДМСО соединения 1, полученные в примере 25-3 (кристаллы сольвата гидрата с ДМСО (форма В)) исследовали с помощью ^1H -ЯМР. Результаты представлены на фиг. 6.

15 На основании результатов изменения массы, полученных с помощью термогравиметрии/дифференциального термического анализа, и отношения интегральных значений площадей пиков соединения 1 и ДМСО, полученных с помощью ^1H -ЯМР, установлено, что кристаллы сольвата гидрата с ДМСО (форма В) представляют собой кристаллы сольвата гидрата с ДМСО, содержащие 2,5 экв. ДМСО в пересчете на количество соединения 1.

Пример 25-4

Синтез кристаллов гидрата (форма С) соединения 1

20 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетраатриаконтагидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-*u*]пирроло[2,1-*i*][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31] ундекаазациклотетраатриаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамид)

30 Соединение 1, находящееся в аморфном состоянии (293,2 мг), при комнатной температуре растворяли в этаноле (0,586 мл). К этому раствору добавляли воду (0,147 мл) и затравочные кристаллы гидрата соединения 1 (форма С), полученные по такой же методике, как описанная в примере 25-1, и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин.

Дополнительно добавляли воду (0,147 мл), затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Дополнительно добавляли воду (0,147 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем добавляли воду (0,147 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и

после фильтрования и сбора осадков эти осадки промывали водой и сушили при пониженном давлении и получали кристаллы гидрата соединения 1 (форма С, 256,0 мг) в виде порошкообразных кристаллов.

Пример 26

5 Исследование физико-химических характеристик кристаллов гидрата соединения 1 (форма С)

С использованием кристаллов гидрата соединения 1 (форма С), полученных по такой же методике, как описанная в примере 25, проводили исследование с помощью порошковой рентгенографии, термогравиметрии/дифференциального термического анализа, исследование содержания воды и рентгеноструктурный анализ монокристаллов.

(1) Исследование с помощью порошковой рентгенографии

Исследование кристаллов гидрата соединения 1 (форма С), полученных в примере 26, с помощью порошковой рентгенографии проводили при разной влажности по приведенной ниже методике.

Измерительный прибор: SmartLab System, детектор D/Tex Ultra, генератор влажности HUM-SL (выпускается фирмой Rigaku Corporation)

Противокатод: Cu

Напряжение на трубке: 45 кВ

20 Сила тока на трубке: 200 мА

Диапазон сканирования: 5-30°

Скорость сканирования: 0,7°/мин

Размер шага: 0,02°

Условия разной влажности:

25 [Таблица 10]

Температура (°С)	Относительная влажность (%)	Время удерживания (мин)
35,0	75	120
35,0	70	120
35,0	60	120
35,0	50	120
35,0	40	120
35,0	30	120
35,0	20	120
35,0	10	120
35,0	0	120

С использованием среды, обладающей относительной влажностью, равной от 75% до 0%, установлено, что смещение значений 2θ находится в диапазоне значений 2θ для кристаллов гидрата (форма С), полученных в примере 25, $\pm 0,2^\circ$. Результаты представлены на фиг. 7.

5 Значения 2θ для кристаллов гидрата (форма С) при влажности, равной 75%: дифракционный пики содержались при $7,904^\circ$, $8,277^\circ$, $8,833^\circ$, $9,937^\circ$, $10,416^\circ$, $11,711^\circ$, $12,683^\circ$, $13,533^\circ$, $13,885^\circ$, $15,887^\circ$, $16,627^\circ$ и $17,799^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

 Значения 2θ для кристаллов гидрата (форма С) при влажности, равной 30%: дифракционный пики содержались при $7,892^\circ$, $8,286^\circ$, $8,839^\circ$, $9,921^\circ$,
10 $10,424^\circ$, $11,703^\circ$, $12,710^\circ$, $13,556^\circ$, $13,903^\circ$, $15,891^\circ$, $16,664^\circ$ и $17,846^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

 Значения 2θ для кристаллов гидрата (форма С) при влажности, равной 0%: дифракционный пики содержались при $7,883^\circ$, $8,306^\circ$, $8,845^\circ$, $9,923^\circ$, $10,446^\circ$, $11,702^\circ$, $12,767^\circ$, $13,546^\circ$, $13,896^\circ$, $15,875^\circ$, $16,694^\circ$ и $17,935^\circ$ ($\pm 0,2^\circ$).

(2) Термогравиметрия/дифференциальный термический анализ

15 Термогравиметрию/дифференциальный термический анализ кристаллов гидрата соединения 1 (форма С), полученных в примере 26, проводили по методике измерения 4, описанной для термического анализа. Результаты представлены на фиг. 8.

(3) Определение содержания воды

20 Содержание воды в кристаллах гидрата соединения 1 (форма С), полученного в примере 26, определяли по методике титрования по Карлу Фишеру. Исследование проводили с использованием устройства СА-310 (выпускается фирмой Nittoseiko Analytech Co., Ltd.) после кондиционирования образцов в лабораторных условиях. В результате исследования получено
25 содержание воды в кристаллах гидрата соединения 1 (форма С), составляющее 6,50 мас.%.

(4) Рентгеноструктурный анализ монокристаллов

 Проводили рентгеноструктурный анализ монокристаллов для кристаллов гидрата соединения 1 (форма С), полученных в примере 26, по приведенной
30 ниже методике.

Измерительный прибор: Rigaku R-AXIS RAPID-II, снабженный дифрактометром VariMax Cu (выпускается фирмой Rigaku Corporation)

Противокатод: Cu

Напряжение на трубке: 40 кВ

Сила тока на трубке: 30 мА

Температура: -180°C

Исследование: исследования проводили с использованием стратегии и
5 продолжительности облучения, для которых полагали, что они являются
подходящими для получения достаточных для структурного анализа
дифракционных картин.

Структурный анализ: начальное определение структуры проводили по прямым
10 методикам (SIR2004, CrystalStructure, Rigaku) и уточнение структуры проводили
по полноматричной методике наименьших квадратов (SHELXL-2017/1, APEX3,
Bruker). Параметры всех атомов, не являющихся атомами водорода, уточняли с
использованием анизотропных температурных коэффициентов. Атомы водорода,
содержащиеся в молекулах воды, помещали в соответствующие положения
путем закрепления и их параметры уточняли с использованием изотропного
15 температурного коэффициента, равного 1,5×размер присоединенного атома
кислорода. Другие атомы водорода помещали в соответствующие положения с
использованием модели "скачущих атомов" и их параметры уточняли с
использованием изотропного температурного коэффициента, равного 1,2×размер
присоединенного атома не являющегося атомом водорода. Результаты
20 представлены на фиг. 9.

На основании результатов, полученных с помощью порошковой
рентгенографии, термогравиметрии/дифференциального термического анализа,
определения содержания воды и рентгеноструктурного анализа монокристаллов,
установлено, что кристаллы гидрата соединения 1 (форма С), полученные в
25 примере 26, представляют собой истинные кристаллы гидрата, содержащие в
кристаллической структуре молекулы воды.

Проводили исследование динамической сорбции паров кристаллов гидрата
соединения 1 (форма С), полученного в примере 25, по приведенной ниже
методике. Результаты представлены на фиг. 10.

30 Измерительный прибор: DVS Intrinsic (выпускается фирмой Surface Measurement
Systems)

Температура: 25°C

Значения относительной влажности (%) в моменты измерений:

Цикл 1: 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 0 (%)

Цикл 2: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 0 (%)

Пороговое значение: 0,001 dm/dt (%/мин)

5 Минимальное время адсорбции: 10 мин

Максимальное время адсорбции: 1440 мин

В результате исследования установлено, что при относительной влажности, находящейся в диапазоне от 0% до 95%, при изменении числа гидратации кристаллов гидрата соединения 1 (форма С) масса может изменяться на 3,3% по сравнению с массой при относительной влажности, равной 0%.

Пример 26-1

Рентгеноструктурный анализ монокристаллов для кристаллов сольвата гидрата с ДМСО соединения 1 (форма А)

Синтез кристаллов сольвата гидрата с ДМСО (форма А) соединения 1 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетраэтриаконтригидро-2H,4H-спиро[азето[2,1-u]пирроло[2,1-i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетраэтриаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамид)

Кристаллы гидрата соединения 1 (форма С) (54,9 мг) при комнатной температуре растворяли в ДМСО (0,784 мл). При встряхивании этого раствора при комнатной температуре в течение 110 мин получали кристаллы сольвата гидрата с ДМСО соединения 1 (форма А) в ДМСО.

25 Рентгеноструктурный анализ монокристаллов

Проводили рентгеноструктурный анализ монокристаллов для кристаллов сольвата гидрата с ДМСО соединения 1 (форма А), полученных в примере в примере 26-1, по приведенной ниже методике.

Измерительный прибор: Rigaku XtaLAB Synergy Custom, снабженный дифрактометром VariMax Cu (выпускается фирмой Rigaku Corporation)

Противокатод: Cu

Напряжение на трубке: 40 кВ

Сила тока на трубке: 30 мА

Температура: -180°C

Исследование: исследования проводили с использованием стратегии и продолжительности облучения, для которых полагали, что они являются подходящими для получения достаточных для структурного анализа дифракционных картин.

5 Структурный анализ: начальное определение структуры проводили по прямым методикам (SHELXT-2018/2, CrysAlisPro, Rigaku) и уточнение структуры проводили по полноматричной методике наименьших квадратов (SHELXL-2017/1, APEX3, Bruker). Параметры всех атомов, не являющихся атомами водорода, в основном уточняли с использованием анизотропных температурных
10 коэффициентов, однако разупорядоченные атомы, не являющихся атомами водорода, уточняли с использованием изотропных температурных коэффициентов. Атомы водорода, содержащиеся в молекулах воды, помещали в соответствующие положения путем закрепления и их параметры уточняли с использованием изотропного температурного коэффициента, равного 1,5×размер
15 присоединенного атома кислорода. Другие атомы водорода помещали в соответствующие положения с использованием модели "скачущих атомов" и их параметры уточняли с использованием изотропного температурного коэффициента, равного 1,2× или 1,5×размер присоединенного атома, не являющегося атомом водорода. Результаты представлены на фиг. 11.

20 Пример 26-2

Исследование физико-химических характеристик кристаллов сольвата гидрата с ацетоном соединения 1 (форма Н)

(1) Рентгеноструктурный анализ монокристаллов

Синтез кристаллов сольвата гидрата с ацетоном (форма Н, для
25 рентгеноструктурного анализа монокристаллов) соединения 1 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетра триаконтагидро-2Н,4Н-спиро[азето[2,1-и]пирроло[2,1-
30 i][1,4,7,10,13,16,19,22, 25,28,31] ундекааза циклотетра триаконтин-21,1'-циклопентан]-15-карбоксамид)

В сосуд объемом 9 мл добавляли ацетон (0,8 мл) и воду (0,2 мл), смесь перемешивали и затем в сосуд помещали сосуд объемом 0,3 мл, содержащий находящееся в аморфном состоянии твердое соединение 1 (примерно 1 мг),

сосуд объемом 9 мл закрывали и через 3 ч вследствие диффузии паров растворителя получали кристаллы.

Проводили рентгеноструктурный анализ монокристаллов для кристаллов сольвата гидрата с ацетоном соединения 1 (форма H, для рентгеноструктурного анализа монокристаллов), полученных выше, по приведенной ниже методике.

Измерительный прибор: Rigaku XtaLAB Synergy Custom, снабженный дифрактометром VariMax Cu (выпускается фирмой Rigaku Corporation)

Противокатод: Cu

Напряжение на трубке: 40 кВ

Сила тока на трубке: 30 мА

Температура: -180°C

Исследование: исследования проводили с использованием стратегии и продолжительности облучения, для которых полагали, что они являются подходящими для получения достаточных для структурного анализа

дифракционных картин.

Структурный анализ: начальное определение структуры проводили по прямым методикам (SHELXT-2018/2, CrysAlisPro, Rigaku) и уточнение структуры проводили по полноматричной методике наименьших квадратов (SHELXL-2018/3, Olex2, OlexSys). Параметры всех атомов, не являющихся атомами водорода, в основном уточняли с использованием анизотропных температурных коэффициентов. Атомы водорода, содержащиеся в молекулах воды, помещали в соответствующие положения путем закрепления и их параметры уточняли с использованием изотропного температурного коэффициента, равного 1,5×размер присоединенного атома кислорода. Другие атомы водорода помещали в соответствующие положения с использованием модели "скачущих атомов" и их параметры уточняли с использованием изотропного температурного коэффициента, равного 1,2× или 1,5×размер присоединенного атома, не являющегося атомом водорода. Результаты представлены на фиг. 12.

(2) Исследование с помощью порошковой рентгенографии

Синтез кристаллов сольвата гидрата с ацетоном (форма H, для исследования помощью порошковой рентгенографии и определения содержания растворителя) соединения 1 ((5S,8S,11S,15S,18S,23aS,29S,35S,37aS)-8-((S)-втор-бутил)-18-циклопентил-29-(3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенетил)-36-этил-11-

изобутил-N,N,5,6,12,16,19,33-октаметил-35-(4-метилбензил)-
4,7,10,13,17,20,23,28,31,34,37-ундекаоксотетратриаконтагидро-2H,4H-
спиро[азето[2,1-и]пирроло[2,1-
i][1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31]ундекаазациклотетратриаконтин-21,1'-
5 циклопентан]-15-карбоксамид)

В сосуд для проведения реакции добавляли кристаллы гидрата соединения
1 (форма С) (2,1 г) и ацетон (16 мл). Внешнюю температуру устанавливали
равной 40°C и при перемешивании добавляли воду (6,4 мл). В стеклянный сосуд
добавляли кристаллы гидрата соединения 1 (6 мг), размолотые в ступке, их
10 суспендировали в смеси ацетон/вода (80 мкл, 5/4 об./об.) и затем суспензию
добавляли в сосуд для проведения реакции. Затем в стеклянный сосуд добавляли
смесь ацетон/вода (80 мкл, 5/4 об./об.) и суспензию добавляли в сосуд для
проведения реакции. Раствор для кристаллизации перемешивали в течение 2 ч. В
течение 10 мин добавляли воду (1,6 мл) и затем суспензию перемешивали в
15 течение 3 ч. В течение 10 мин добавляли воду (1,6 мл) и затем суспензию
перемешивали в течение 2 ч. Суспензию в течение 1 ч охлаждали до
обеспечения внешней температуры, равной 25°C. Суспензию выдерживали в
течение ночи. На следующий день эту суспензию перемешивали при внешней
температуре, равной 25°C, затем отбирали порцию суспензию и без проведения
20 дополнительной обработки проводили исследование суспензии с помощью
порошковой рентгенографии (методика измерения 4). Суспензию фильтровали с
использованием воронки Кирияма и затем кристаллы промывали смесью
ацетон/вода (5,6 мл, 4,4 мл). Затем кристаллы дважды промывали водой (10 мл).
Полученные влажные кристаллы использовали для определения содержания
25 растворителя.

Кристаллы сольвата с ацетоном гидрата соединения 1 (форма Н, для
исследования помощью порошковой рентгенографии), полученные выше,
исследовали с помощью порошковой рентгенографии (методика измерения 4) по
приведенной ниже методике. Результаты приведены ниже.

30 В случае кристаллов сольвата гидрата с ацетоном (форма Н) в качестве
основных пиков наблюдали пики при значениях 2θ , равных 7,942°, 8,283°,
8,861°, 10,097°, 10,491°, 11,805°, 12,673°, 12,830°, 13,514°, 13,855°, 15,853°,
16,405°, 16,642° и 17,772° ($\pm 0,2^\circ$). Результаты анализа представлены на фиг. 13.

Соединение 1

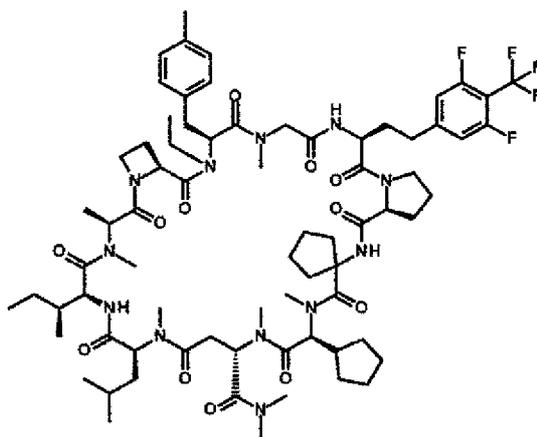
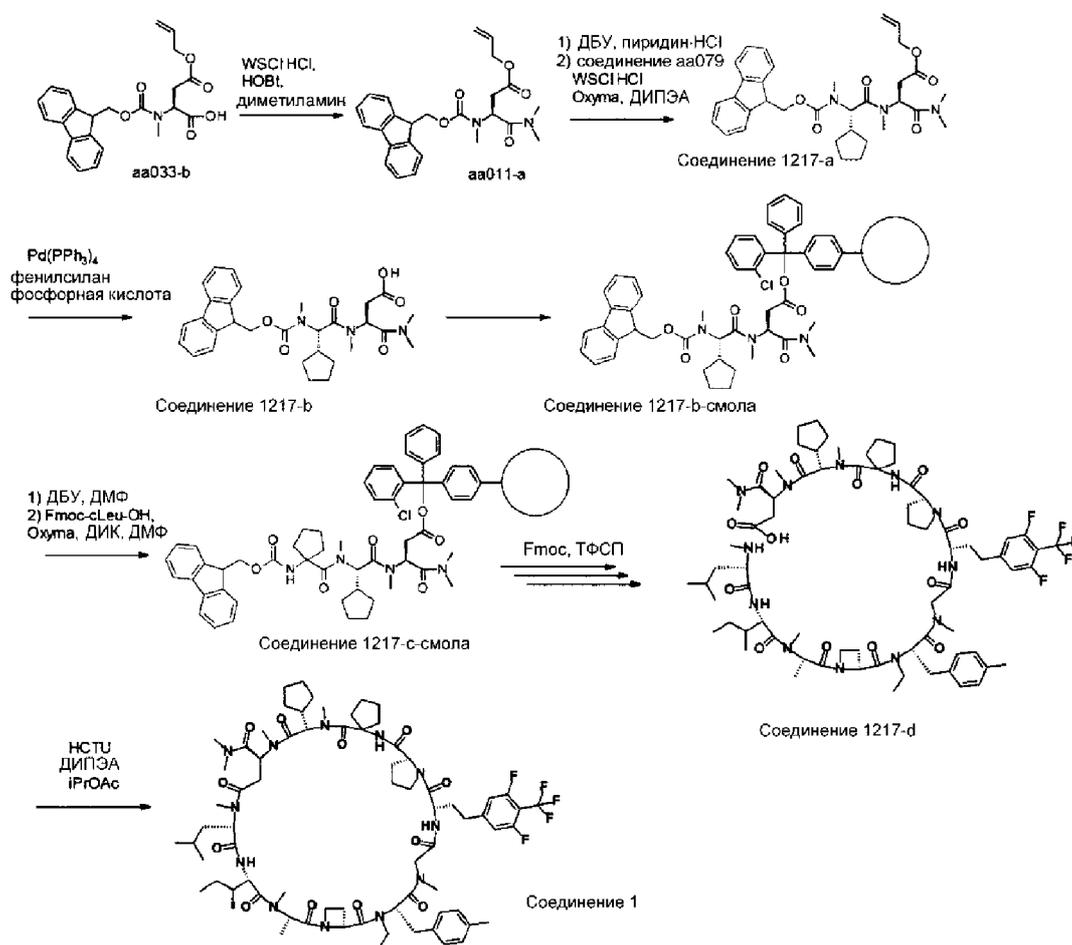
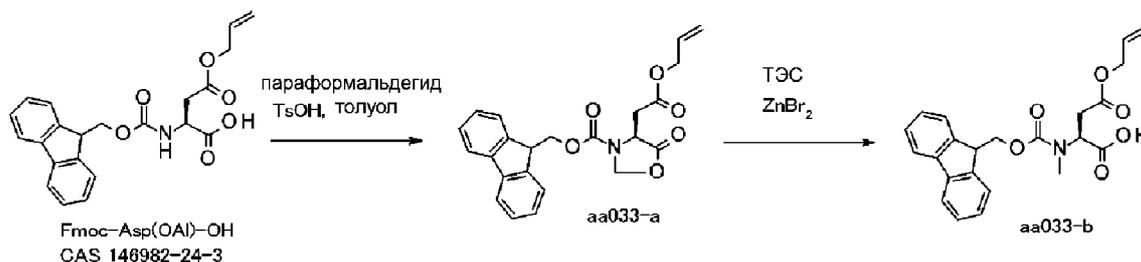


Схема 1



5 ТФСП = твердофазный синтез пептидов

Синтез соединения aa033-b ((2S)-2-[9H-флуорен-9-илметоксикарбонил(метил)амино]-4-оксо-4-проп-2-еноксипропановая кислота)



Fmoc-Asp(OAl)-OH ((2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-оксо-4-проп-2-еноксипропановая кислота, регистрационный № CAS: 146982-24-3) (200 г, 506 ммоль), п-толуолсульфоновую кислоту (5,7 г, 0,05 экв.) и параформальдегид (45,6 г, 3 экв.) смешивали с толуолом и смесь перемешивали при 110°C в течение 16 ч. Растворитель отгоняли из раствора реакционной смеси при пониженном давлении и остаток растворяли в этилацетате и дважды промывали водным раствором гидрокарбоната натрия. Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и затем растворитель отгоняли при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/петролейный эфир, от 0/100 до 30/70) и получали соединение aa033-a (9H-флуорен-9-илметил-(4S)-5-оксо-4-(2-оксо-2-проп-2-еноксиэтил)-1,3-оксазолидин-3-карбоксилат) (175 г, 85%). Его смешивали с другой порцией, синтезированной таким же образом, и использовали в следующей реакции.

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 408 (M+H)^+$

Время удерживания: 1,407 мин (условия проведения анализа: SMDmethod_20).

Смешанный раствор соединения aa033-a (100 г, 245 ммоль), бромида цинка (ZnBr₂) (110 г, 496 ммоль) и триэтилсилана (ТЭС) (56 г, 481,6 ммоль) в дихлорметане (ДХМ) (1 л) перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 48 ч. Четыре порции раствора реакционной смеси, содержащей такие же количества, смешивали и растворитель отгоняли при пониженном давлении. Остаток растворяли в МТБЭ и 10 раз экстрагировали с помощью 0,5 М фосфатного буфера (рН = примерно 7,5). Водные слои объединяли, значение рН устанавливали равным 2 с помощью 5 М водного раствора хлористоводородной кислоты и дважды экстрагировали изопропилацетатом (ИПАЦ). Органические слои объединяли и сушили над

безводным сульфатом натрия и затем растворитель отгоняли при пониженном давлении. Для удаления ИПАЦ к полученному остатку добавляли МТБЭ и растворитель отгоняли при пониженном давлении. Эту процедуру повторяли 6 раз и получали соединение aa033-b ((2S)-2-[9H-флуорен-9-илметоксикарбонил(метил)амино]-4-оксо-4-проп-2-еноксипутановая кислота) (270 г, 54%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 410 (M+H)^+$

Время удерживания: 1,956 мин (условия проведения анализа: SMDmethod_05).

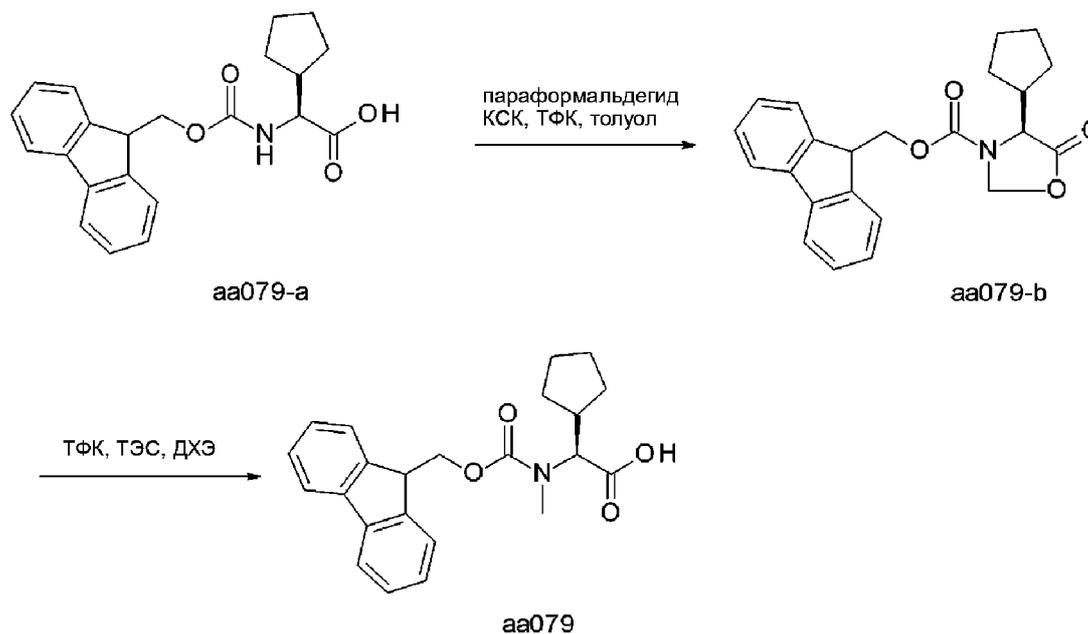
Синтез соединения aa011-a

В атмосфере азота при охлаждении льдом к раствору WSCI·HCl (27,4 г, 143 ммоль) в ДМФ (217 мл) добавляли HOBt (17,72 г, 131 ммоль), добавляли соединение aa033b (48,8 г, 119 ммоль) в виде смешанного раствора в ДХМ (90 мл) и ДМФ (90 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. К смеси по каплям добавляли раствор диметиламина в ТГФ (2 моль/л, 65,6 мл, 131 ммоль) и смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Раствор реакционной смеси разбавляли этилацетатом (488 мл) и органический слой дважды промывали хлористоводородной кислотой (1 моль/л, 390 мл), затем промывали водой, дважды промывали смешанным раствором, содержащим водный раствор гидрокарбоната натрия и воду (1:1, 488 мл), и один раз промывали смешанным раствором, содержащим рассол и воду (1:1, 488 мл). Полученный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении и получали соединение aa011-a (51,16 г, выход: 98%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 437,0 (M+H)^+$

Время удерживания: 1,262 мин (условия проведения анализа: SMDFA05)

Синтез соединения aa079 ((2S)-2-циклопентил-2-[9H-флуорен-9-илметоксикарбонил(метил)амино]уксусная кислота (Fmoc-MeGly(cPent)-OH))



К смешанному раствору соединения aa079-a ((2S)-2-циклопентил-2-[9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино]уксусная кислота, Fmoc-Gly(cPent)-OH) (регистрационный № CAS: 220497-61-0) (30,0 г, 82 ммоль), параформальдегида (7,39 г, 246 ммоль) и КСК (0,954 г, 4,10 ммоль) в толуоле (160 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (ТФК) (9,0 мл) и затем смесь перемешивали при 60°C в течение 4 ч. Раствор реакционной смеси охлаждали до комнатной температуры и затем твердое вещество удаляли фильтрованием. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, разбавляли этилацетатом (220 мл) и затем последовательно промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и насыщенным рассолом. Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и затем концентрировали при пониженном давлении и получали соединение aa079-b в виде неочищенного продукта. Следующую реакцию проводили без проведения дополнительной очистки. ЖХМС (ИЭР): $m/z = 378 (M+H)^+$

Время удерживания: 1,01 мин (условия проведения анализа: SQDFA05)

К смешанному раствору триэтилсилана (ТЭС) (65,5 мл, 410 ммоль) и соединения aa079-b при использовании полного количества соединения aa079-b, полученного выше, в дихлорэтано (ДХЭ) (90 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (ТФК) (76 мл, 984 ммоль) и смесь перемешивали при 60°C в течение 16

ч. Раствор реакционной смеси охлаждали до комнатной температуры и затем концентрировали при пониженном давлении и полученное твердое вещество промывали смесью н-гексан/этилацетат (95/5) и сушили при пониженном давлении и получали соединение aa079 ((2S)-2-циклопентил-2-[9H-флуорен-9-илметоксикарбонил(метил)амино]уксусная кислота, Fmoc-MeGly(cPent)-OH) (29,1 г, 93% за две стадии).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 380 (M+H)^+$

Время удерживания: 0,92 мин (условия проведения анализа: SQDFA05)

Синтез соединения 1217-а

К раствору соединения aa079 (42,2 г, 111 ммоль) и охума (19,99 г, 141 ммоль) в ДМФ (391 мл) при комнатной температуре добавляли WSCI·HCl (31,5 г, 164 ммоль) и смесь перемешивали в течение 30 мин и получали раствор А.

К раствору соединения aa011-а (51,16 г, 117 ммоль) в ДМФ (391 мл) в атмосфере азота при комнатной температуре по каплям добавляли ДБУ (17,49 мл, 117 ммоль) и смесь перемешивали в течение 5 мин. К смеси добавляли пиридингидрохлорид (14,9 г, 129 ммоль) и смесь перемешивали в течение 10 мин. К полученному реакционному раствору добавляли раствор А и ДИПЭА (22,46 мл, 129 ммоль) и смесь перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 7 ч. Раствор реакционной смеси разбавляли этилацетатом (422 мл), дважды промывали хлористоводородной кислотой (1 моль/л, 422 мл) и полученный водный слой дважды экстрагировали этилацетатом (422 мл). Все органические слои объединяли и последовательно промывали водой (422 мл), смешанным раствором, содержащим водный раствор гидрокарбоната натрия и воду (1:1, 422 мл), и смешанным раствором, содержащим насыщенный рассол и воду (1:1, 422 мл), затем полученный органический слой сушили над сульфатом натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении. К полученному остатку добавляли ДХМ (512 мл) и смесь перемешивали в течение 0,5 ч. К смеси добавляли сульфат магния (30 г), смесь перемешивали в течение 30 мин и затем твердые вещества удаляли фильтрованием. Полученный раствор очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (гексан/этилацетат) и получали соединение 1217-а (55,55 г, выход: 87%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 598,2 (M+Na)^+$

Время удерживания: 1,320 мин (условия проведения анализа: SMDAM05)

Синтез соединения 1217-b

В атмосфере азота при комнатной температуре к раствору соединения 1217-a (55,55 г, 96 ммоль) в ДХМ (193 мл) добавляли тетраакис(трифенилфосфин)палладий(0) (1,115 г, 0,965 ммоль), затем по каплям добавляли фенилсилан (8,31 мл, 67,5 ммоль) и затем перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь разбавляли с помощью МТБЭ (556 мл) и смесь экстрагировали смешанным раствором, содержащим насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и воду (1:1, 556 мл). Полученный органический слой экстрагировали водой (278 мл). Водные слои объединяли и добавляли ДХМ (556 мл). К этой смеси по каплям добавляли фосфорную кислоту (56,7 г, 579 ммоль) для установления значения рН равным от 2 до 3 и после отделения органического слоя водный слой экстрагировали с помощью ДХМ (556 мл). Полученные органические слои объединяли и промывали смешанным раствором, содержащим насыщенный рассол и воду (1:1, 556 мл), и сушили над сульфатом натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении и получали соединение 1217-b (48,87 г, выход: 95%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 536 (M+H)^+$

Время удерживания: 1,138 мин (условия проведения анализа: SMDAM05) [1208]

Синтез соединения 1217-b-смола

В сосуд для проведения реакции, снабженный фильтром, помещали 2-хлортритилхлоридную смолу (приобретали у фирмы Sunresin New Materials Co., Ltd., 1,36 ммоль/г, 114 г, 155 ммоль), добавляли ДХМ (1140 мл) и после перемешивания смеси при 25°C в течение 45 мин растворитель удаляли путем пропускания через фильтр. В сосуд для проведения реакции добавляли раствор соединения 1217-b (48,87 г, 91 ммоль), метанола (29,6 мл, 730 ммоль) и ДИПЭА (76 мл, 438 ммоль) в ДХМ (798 мл), смесь перемешивали при 25°C в течение 60 мин и раствор удаляли путем пропускания через фильтр. Затем в сосуд для проведения реакции добавляли раствор метанола (111 мл, 2737 ммоль) и ДИПЭА (76 мл, 438 ммоль) в ДХМ (684 мл), смесь перемешивали при 25°C в течение 90 мин и раствор удаляли путем пропускания через фильтр. В сосуд для проведения реакции добавляли ДХМ (570 мл), затем смесь перемешивали в течение 5 мин и раствор удаляли путем пропускания через фильтр. Процедуру

промывки этой смолы повторяли еще 4 раза и полученную смолу сушили при пониженном давлении и получали соединение 1217-b-смола (140,5 г).

Загруженное количество, определенное по методике количественного определения содержания смолы, описанной в этом примере, составляло 0,482 ммоль/г.

Синтез соединения 1217-c-смола

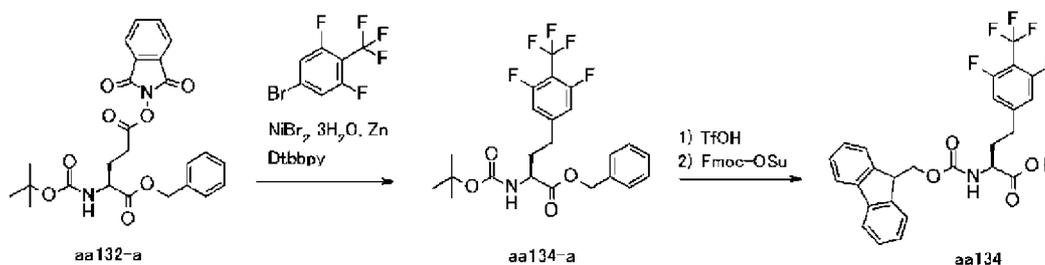
Полученную выше смолу (0,482 ммоль/г, 60 г, 28,92 ммоль) помещали в пластмассовый сосуд для проведения твердофазной реакции. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции при комнатной температуре добавляли ДХМ (600 мл) и после встряхивания в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (420 мл) и после встряхивания в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще один раз. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, 420 мл) и проводили удаление защитной группы Fmoc. После встряхивания в течение 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (420 мл) и после встряхивания в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли раствор триэтиламингидрохлорида (7,96 г, 57,8 ммоль) в ДХМ (420 мл) и после встряхивания в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (420 мл) и после встряхивания в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (420 мл) и после встряхивания в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще один раз.

Смешивали раствор Fmoc-cLeu-OH (40,7 г, 116 ммоль, регистрационный № CAS: 117322-30-2) и охута (10,3 г, 72,3 ммоль) в ДМФ (180 мл) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10%, 216 мл) и через 2 мин смесь добавляли в сосуд для проведения твердофазной реакции, описанный выше. Этот сосуд для проведения твердофазной реакции встряхивали при 50°C в течение 24 ч и затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот

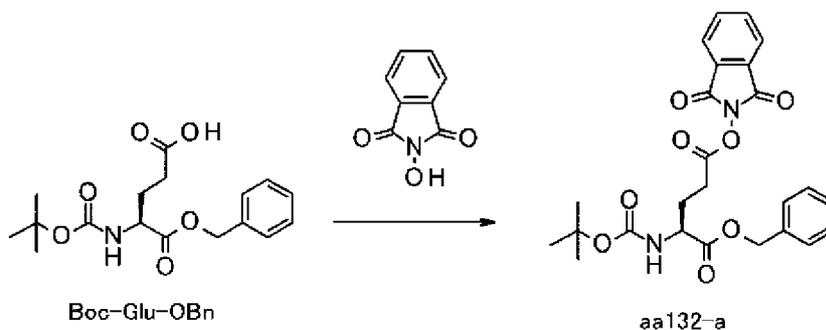
сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (420 мл) и после встряхивания при комнатной температуре в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 4 раза. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (420 мл) и после встряхивания при комнатной температуре в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДХМ повторяли еще 5 раз. Полученную смолу сушили при пониженном давлении и получали соединение 1217-с-смола (62,5 г).

Синтез соединения aa134

10 Синтез соединения aa134, (2S)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)бутановой кислоты (Fmoc-Nph(4-CF₃-3,5-F₂)-OH)



15 Синтез соединения aa132-a (1-О-бензил-5-О-(1,3-диоксоизоиндоил-2-ил)(2S)-2[(2-метилпропан-2-ил)оксикарбониламино]пентандиоат)



20 К раствору (4S)-4-[(2-метилпропан-2-ил)оксикарбониламино]-5-оксо-5-фенилметоксипентановой кислоты (Boc-Glu-OBn, регистрационный № CAS: 30924-93-7) (200 г, 592,82 ммоль), N-гидроксифталимида (106 г, 649,78 ммоль, 1,10 экв.) и ДМАП (3,6 г, 29,47 ммоль, 0,05 экв.) в ТГФ (2 л) в атмосфере азота при 0°C по каплям добавляли ДИК (138 мл, 1,54 экв.). Раствор реакционной смеси перемешивали при 25°C в течение 16 ч, твердые вещества удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали при пониженном давлении для отгонки растворителя. Остаток разбавляли толуолом, полученные твердые

вещества удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали при пониженном давлении для отгонки растворителя. Остаток очищали путем перекристаллизации (ацетон/гептан) и получали соединение аа132-а (1-О-бензил-5-О-(1,3-диоксоизоиндоил-2-ил) (2S)-2-[(2-метилпропан-2-ил)оксикарбониламино]пентандиоат) (230 г, 80%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 505,2$ ($M+Na$)⁺

Время удерживания: 0,992 мин (условия проведения анализа: SMDmethod_16)

Для получения содержащего Ni раствора тригидрат бромида никеля (NiBr₂·3H₂O) (13,5 г, 49,7 ммоль, 0,3 экв.) и 4,4'-ди-трет-бутил-2,2'-бипиридил (dtbbpy, регистрационный № CAS: 72914-19-3) (13,3 г, 49,7 ммоль, 0,3 экв.) добавляли к ДМА (400 мл) и смесь перемешивали в атмосфере азота при 50°C в течение 3 ч.

Смешанный раствор соединения аа132-а (1-О-бензил-5-О-(1,3-диоксоизоиндоил-2-ил) (2S)-2-[(2-метилпропан-2-ил)оксикарбониламино]пентандиоат) (80 г, 166 ммоль), порошкообразного цинка (54,2 г, 829 ммоль, 5 экв.) и 4-бром-1,3-дифтор-2-(трифторметил)бензола (регистрационный № CAS: 156243-64-0, 86,6 г, 332 ммоль, 2 экв.) в ДМА (400 мл) перемешивали в атмосфере азота при комнатной температуре в течение 1 ч, к смеси добавляли полученный выше содержащий Ni раствор и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. К раствору реакционной смеси добавляли водный раствор ЭДТК·2Na (800 мл, 10%) и твердые вещества удаляли фильтрованием. Фильтрат экстрагировали этилацетатом, затем объединенные органические слои промывали насыщенным рассолом, затем сушили над безводным сульфатом натрия и растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/петролейный эфир) и получали соединение аа134-а (57,2 г, 69%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 496$ ($M+Na$)⁺

Время удерживания: 1,544 мин (условия проведения анализа: SMDmethod_15)

Смешанный раствор соединения аа134-а (57,2 г, 121 ммоль) в толуоле (690 мл) охлаждали до 0°C и по каплям добавляли трифторметансульфоновую кислоту (TfOH) (54,4 г, 362 ммоль, 3 экв.). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч добавляли воду (58 мл). Этот смешанный раствор

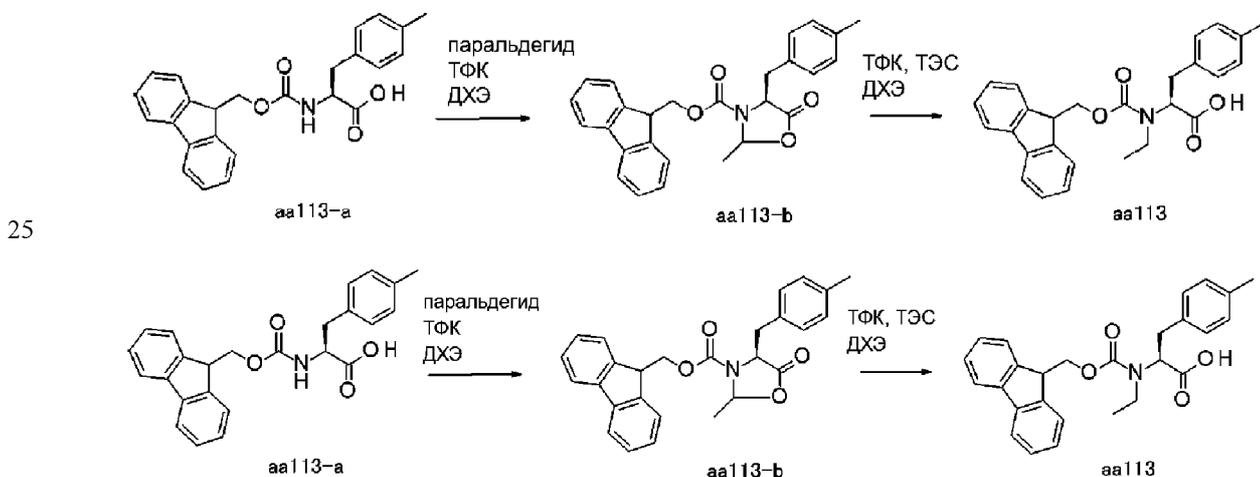
экстрагировали водой и объединенные водные слои экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали водой и сушили над безводным сульфатом натрия и затем растворитель выпаривали при пониженном давлении и получали 60 г остатка. К остатку добавляли смесь ацетонитрил/вода (400/400 мл) и значение рН устанавливали равным 7 с помощью водного раствора гидроксида натрия (48%). К раствору добавляли Fmoc-OSu (36,6 г, 108,6 ммоль, 0,9 экв.) и значение рН устанавливали равным 8,0 с помощью водного раствора гидроксида натрия (48%) и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Для удаления твердого компонента раствор реакционной смеси фильтровали, промывая смесь ацетонитрил/вода (1/1), фильтрат разбавляли ацетонитрилом и для осаждения твердого вещества подкисляли водным раствором хлористоводородной кислоты, обладающим концентрацией 6 моль/л, и полученные твердые вещества собирали фильтрованием и получали соединение aa134 ((2S)-4-[3,5-дифтор-4-(трифторметил)фенил]-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)бутановая кислота, Fmoc-Nph(4-CF3-35-F2)-OH) (52 г, 83%).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 528,45 (M+Na)^+$

Время удерживания: 3,538 мин (условия проведения анализа: SMDmethod_14)

1H -ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,69 (s, 1H), 7,90 (d, $J=7,5$ Гц, 2H), 7,78-7,54 (m, 3H), 7,48-7,20 (m, 6H), 4,33 (d, $J=6,3$ Гц, 2H), 4,24 (t, $J=6,9$ Гц, 1H), 3,97-3,84 (m, 1H), 2,79-2,65 (m, 2H), 2,15-2,00 (m, 1H), 2,00-1,83 (m, 1H).

Синтез соединения aa113 ((2S)-2-[этил(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)амино]-3-(4-метилфенил)пропановая кислота (Fmoc-EtPhe(4-Me)-OH))



Соединение aa113-a ((2S)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-3-(4-метилфенил)пропановая кислота, Fmoc-Phe(4-Me)-OH) (5,62 г, 14,0 ммоль, регистрационный № CAS: 199006-54-7) в атмосфере азота суспендировали в дихлорэтаноле (ДХЭ) (17,5 мл), добавляли паральдегид (5,61 мл, 42,0 ммоль) и

5 трифторуксусную кислоту (ТФК) (9,65 мл, 126 ммоль) и смесь перемешивали при 60°C в течение 6 ч. Полученную реакционную смесь, содержащую соединение aa113-b, использовали на следующей стадии без обработки.

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 428 (M+H)^+$

Время удерживания: 1,03 мин (условия проведения анализа: SQDFA05)

10 К полученному реакционному раствору, содержащему соединение aa113-b, добавляли дихлорэтан (ДХЭ) (17,5 мл), трифторуксусную кислоту (ТФК) (19,3 мл, 252 ммоль) и триэтилсилан (ТЭС) (20,1 мл, 126 ммоль) и смесь перемешивали при 60°C в течение 17 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении, затем полученный

15 остаток растворяли в этилацетате (40 мл). Органический слой промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (40 мл) и насыщенным рассолом (40 мл) и сушили над безводным сульфатом натрия и затем растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в ацетонитриле (30 мл) и раствор дважды промывали гексаном (15

20 мл) и растворитель отгоняли при пониженном давлении. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с обращенной фазой (ацетонитрил с добавлением 0,1% муравьиной кислоты/дистиллированная вода с добавлением 0,1% муравьиной кислоты) и получали соединение aa113 ((2S)-2-[этил(9H-флуорен-9-илметоксикарбонил)амино]-3-(4-метилфенил)пропановая

25 кислота, Fmoc-EtPhe(4-Me)-OH) (4,4 г, 73% за две стадии).

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 430 (M+H)^+$

Время удерживания: 0,95 мин (условия проведения анализа: SQDFA05)

30 Последующее удлинение Fmoc-Pro-OH (регистрационный № CAS: 71989-31-6), Fmoc-Hph(4-CF₃-35-F₂)-OH (соединение aa134), Fmoc-MeGly-OH (регистрационный № CAS: 77128-70-2), Fmoc-EtPhe(4-Me)-OH (соединение aa113), Fmoc-Aze(2)-OH (регистрационный № CAS: 136552-06-2), Fmoc-MeAla-OH (регистрационный № CAS: 84000-07-7) и Fmoc-Pe-OH (регистрационный № CAS: 71989-23-6) проводили по методике твердофазного синтеза с использованием Fmoc с использованием синтезатора пептидов (MultiPept RSi),

выпускающегося фирмой Intavis Inc. Конкретные процедуры проводили в соответствии с инструкцией, прилагаемой к синтезатору.

В 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли соединение 1217-с-смола (по 200 мг в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции), полученное так, как описано выше, и сосуды помещали в синтезатор пептидов. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли дихлорметан (ДХМ) и проводили набухание смолы путем выдерживания в течение 1 ч. Затем растворитель удаляли путем пропускания через фритту.

Удлинение Fmoc-Pro-OH

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции), нагревали при 30°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-Pro-OH (регистрационный № CAS: 71989-31-6) (0,6 моль/л) и HOAt (0,375 моль/л) в NMP (0,6 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуды выдерживали при 40°C в течение 4 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза.

Удлинение Fmoc-Nph(4-CF3-35-F2)-OH (соединение aa134)

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции, содержащие смолу, полученную выше, добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и сосуды нагревали при 35°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной

реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-Nph(4-CF₃-35-F₂)-ОН (соединение aa134) (0,45 моль/л) и HOAt (0,375 моль/л) в NMP (0,6 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и затем смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуда выдерживали при 40°C в течение 2,5 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза.

15 Удлинение Fmoc-MeGly-ОН

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции, содержащие смолу, полученную выше, добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и сосуда нагревали при 35°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-MeGly-ОН (0,6 моль/л) и HOAt (0,375 моль/л) в NMP (0,6 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и затем смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуда выдерживали при 40°C в течение 2,5 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли

путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза.

Удлинение Fmoc-EtPhe(4-Me)-OH (соединение aa113)

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции, содержащие смолу, полученную выше, добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и сосуды нагревали при 35°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-EtPhe(4-Me)-OH (0,6 моль/л), полученного так, как описано выше, и HOAt (0,375 моль/л) в NMP (0,6 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и затем смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуды выдерживали при 40°C в течение 2,5 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза.

Удлинение Fmoc-Aze(2)-OH

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции, содержащие смолу, полученную выше, добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и сосуды нагревали при 35°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-Aze(2)-OH (0,6 моль/л) и HOObt (0,375 моль/л) в NMP и ДМСО (7:3) (0,6

мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и затем смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуды выдерживали при 60°C в течение 5 ч. Затем во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, по 0,72 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и выдерживали при 60°C в течение 5 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза.

Удлинение Fmoc-MeAla-OH

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции, содержащие смолу, полученную выше, добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и сосуды нагревали при 35°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-MeAla-OH (0,6 моль/л) и HOAt (0,375 моль/л) в NMP (0,6 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодиимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и затем смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуды выдерживали при 40°C в течение 2,5 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза.

Удлинение Fmoc-Ile-OH

Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции, содержащие смолу, полученную выше, добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и сосуды нагревали при 35°C и через 10 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 3 раза. Затем в находящемся в синтезаторе сосуде для смешивания смешивали раствор Fmoc-Ile-OH (0,6 моль/л) и HOAt (0,375 моль/л) в NMP (0,6 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и раствор N,N'-диизопропилкарбодимида (ДИК) в ДМФ (10 об./об.%, 0,72 мл для каждого сосуда для проведения твердофазной реакции) и затем смесь добавляли во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и сосуды выдерживали при 40°C в течение 10 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. Во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (по 1,4 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 2 раза. Затем во все 30 сосудов для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (по 1,6 мл в каждый сосуд для проведения твердофазной реакции) и растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы повторяли еще 5 раз. Смолы извлекали из всех 30 сосудов для проведения твердофазной реакции и смешивали и затем использовали для проведения последующих процедур.

Удлинение Fmoc-MeLeu-OH (регистрационный № CAS: 103478-62-2)

Смолу, полученную выше, помещали в пластмассовый сосуд для проведения твердофазной реакции объемом 200 мл, в сосуд добавляли ДХМ (60 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин, затем растворитель удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли толуол (50 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы толуолом повторяли еще один раз. В этот сосуд для проведения

твердофазной реакции добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в толуоле (2 об./об.%, 45 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту.

В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли толуол (50
5 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы толуолом повторяли еще один раз. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (50 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с
10 помощью ДХМ повторяли еще один раз. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли раствор Fmoc-MeLeu-OH (4,25 г, 11,57 ммоль), [этилциано(гидроксимино)ацетато-О₂]три-1-пирролидинилфосфонийгексафторфосфорной кислоты (PyOxum) (6,10 г, 11,57 ммоль) и ДИПЭА (3,03 мл, 17,35 ммоль) в ДХМ (45 мл) и сосуд встряхивали при
15 30°C в течение 3 ч. Затем раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (50 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 4 раза. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (50 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин
20 растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДХМ повторяли еще 3 раза. Затем полученную смолу сушили при пониженном давлении.

В сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (60 мл) и
25 после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (50 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще один раз. В этот сосуд для проведения
30 твердофазной реакции добавляли раствор диазабициклоундецена (ДБУ) в ДМФ (2 об./об.%, 45 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 15 мин раствор удаляли путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДМФ (50 мл) и после встряхивания при 30°C в

течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДМФ повторяли еще 4 раза. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли ДХМ (50 мл) и после встряхивания при 30°C в течение 5 мин растворитель удаляли путем пропускания через фритту. Эту стадию промывки смолы с помощью ДХМ повторяли еще 4 раза и получали загруженное на смолу соединение 1217-d.

Синтез соединения 1217-d (отщепление пептида от смолы)

В сосуд для проведения твердофазной реакции, содержащий смолу, полученную выше, добавляли смешанный раствор, содержащий 2,2,2-трифторэтанол (ТФЭ) (60 мл), ДХМ (60 мл) и ДИПЭА (0,909 мл), и сосуд встряхивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем раствор извлекали путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции добавляли смешанный раствор, содержащий 2,2,2-трифторэтанол (ТФЭ) (30 мл) и ДХМ (30 мл), сосуд встряхивали при комнатной температуре в течение 5 мин и раствор извлекали путем пропускания через фритту. В этот сосуд для проведения твердофазной реакции дополнительно добавляли смешанный раствор, содержащий 2,2,2-трифторэтанол (ТФЭ) (30 мл) и ДХМ (30 мл), сосуд встряхивали при комнатной температуре в течение 5 мин и раствор извлекали путем пропускания через фритту. Все извлеченные растворы объединяли и растворитель отгоняли при пониженном давлении и получали соединение 1217-d (3,85 г) в виде неочищенного продукта.

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 1453,9$ (M-H)⁻

Время удерживания: 0,67 мин (условия проведения анализа: SQDAA50)

Синтез соединения 1 (циклизация и очистка пептида)

Соединение 1217-d (3,85 г), полученное так, как описано выше, растворяли в смешанном растворе, содержащем изопропилацетат (529 мл) и ДИПЭА (0,915 мл, 5,24 ммоль). К смеси добавляли НСТU (O-(1H-6-хлорбензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуронийгексафторфосфат, регистрационный № CAS: 330645-87-9) (1,805 г, 4,36 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 21 ч. Затем растворитель выпаривали при пониженном давлении до уменьшения объема раствора, равного половине исходного. К полученному раствору добавляли смешанный раствор, содержащий насыщенный водный раствор хлорида аммония (40 мл) и воду (40 мл), и смесь экстрагировали изопропилацетатом (350 мл). Полученную

органическую фазу последовательно промывали смешанным раствором, содержащим насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия (40 мл) и воду (40 мл), и смешанным раствором, содержащим насыщенный рассол (40 мл) и воду (40 мл), затем сушили над сульфатом натрия и растворитель выпаривали при пониженном давлении и получали 3,36 г остатка. Полученный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с обращенной фазой на силикагеле (Daisogel SP-120-40/60-ODS-RPS, в качестве элюента использовали смесь ацетонитрил (с добавлением 0,1% муравьиной кислоты)/вода (с добавлением 0,1% муравьиной кислоты)) и элюат, содержащий искомое соединение, лиофилизировали и получали соединение 1, находящееся в аморфном состоянии (1,36 г, выход: 34%). Данные масс-спектрометрического анализа и полученное с помощью жидкостной хроматографии время удерживания для полученного соединения 1 приведены ниже.

ЖХМС (ИЭР): $m/z = 1437,7 (M+H)^+$

15 Время удерживания: 7,496 мин (условия проведения анализа: SSC-A-AF-01)

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС (жидкостная хроматография/масс-спектрометрия), использовавшиеся в примере получения 1, приведены в таблице 9.

[Таблица 9]

Условия проведения анализа	Прибор	Колонка (внутренний диаметр×длина) (мм)	Подвижная фаза	Градиентный режим (А/В)	Скорость потока (мл/мин)	Температура колонки (°С)	Длина волны	Примечания
SMDAM05	Nexera/2020	Ascentis Express RP-amide (2,1×50)	А) 0,1% МК, вода В) 0,1% МК, ацетонитрил	95/5 (начальный) => 0/100 (1,5 мин) => 0/100 (0,5 мин)	1,0	35	210-400 нм, ДФМ*, полное сканирование	
SMDFA05	Nexera/2020	Ascentis Express C18 (2,1×50)	А) 0,1% МК, вода В) 0,1% МК, ацетонитрил	95/5 (начальный) => 0/100 (1,5 мин) => 0/100 (0,5 мин)	1,0	35	210-400 нм, ДФМ, полное сканирование	
SQDAA50	Acquity UPLC/SQD или Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2,1×50)	А) 10 мМ AcONH ₄ , вода В) метанол	50/50 (начальный) => 0/100 (0,7 мин) => 0/100 (0,7 мин)	1,0	35	210-400 нм, ДФМ, полное сканирование	
SSC-A-AF-01	Nexera UC/2020	Ascentis Express C18 (2,1×50)	А) 10 мМ NH ₄ НСO ₂ , вода В) метанол	70/30 (начальный) => 0/100 (8,75 мин) => 0/100 (1,25 мин)	0,5	50	210-400 нм, ДФМ, полное сканирование	петлевое инжективное
SQDFA05	Acquity UPLC/SQD или Acquity UPLC/SQD2	Ascentis Express C18 (2,1×50)	А) 0,1% МК, вода В) 0,1% МК, ацетонитрил	95/5 (начальный) => 0/100 (1,0 мин) => 0/100 (0,4 мин)	1,0	35	210-400 нм, ДФМ, полное сканирование	
SMDmethod_05	Shimadzu LCMS-2020	Shim-Пак XR-ODS (3,0×50)	А) 0,05% ТФК, вода В) 0,05% ТФК, ацетонитрил	95/5 (начальный) => 5/95 (2,0 мин) => 5/95 (0,7 мин)	1,2	40	190-400 нм, ДФМ, полное сканирование	
SMDmethod_14	Shimadzu LCMS-2020	Shim-Пак XR-ODS (3,0×50)	А) 0,05% ТФК, вода В) 0,05% ТФК, ацетонитрил	70/30 (начальный) => 20/80 (3,8 мин) => 0/100(0,3 мин) => 0/100 (0,5 мин)	1,2	40	190-400 нм, ДФМ, полное сканирование	

Условия проведения анализа	Прибор	Колонка (внутренний диаметр×длина) (мм)	Подвижная фаза	Градиентный режим (А/В)	Скорость потока (мл/мин)	Температура колонки (°С)	Длина волны	Примечания
SMDmethod_15	Shimadzu LCMS-2020	Shim-Пак XR-ODS (3,0×50)	А) 0,05% ТФК, вода В) 0,05% ТФК, ацетонитрил	95/5 (начальный) => 0/100 (1,1 мин) => 0/100 (0,6 мин)	1,2	40	190-400 нм, ДФМ, полное сканирование	
SMDmethod_16	Shimadzu LCMS 2020	Accucore C18 (2,1×50)	А) 0,1% МК, вода В) 0,1% МК, ацетонитрил	90/10 (начальный) => 0/100 (1,1 мин) => 0/100 (0,5 мин)	1,0	40	190-400 нм, ДФМ, полное сканирование	
SMDmethod_20	Shimadzu LCMS-2020	Ascentis Express C18 (3,0×50)	А) 0,05% ТФК, вода В) 0,05% ТФК, ацетонитрил	95/5 (начальный) => 5/95 (1,1 мин) => 5/95 (0,5 мин)	1,0	40	190-400 нм, ДФМ, полное сканирование	

*ДФМ - детектор с фотодиодной матрицей

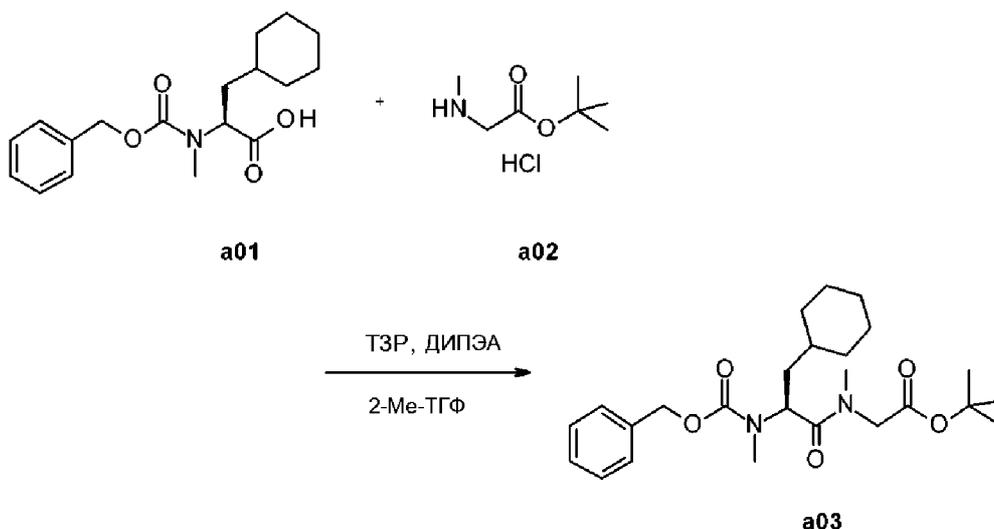
[Таблица 12]

Стадия (соединение №)	Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС	Время удерживания (мин)	МС, найденно (m/z)	МС, полярность
Стадия Н'1 (соединение а03)	методика 3	4,499	447	[M+H] ⁺
Стадия Н'2-1 (соединение а04)	методика 3	2,419	313	[M+H] ⁺
Стадия Н'2-2 (соединение а06)	методика 3	4,458	540	[M+Na] ⁺
Стадия Н'3-1 (соединение а07)	методика 3	2,848	384	[M+H] ⁺
Стадия Н'3-2 (соединение а09)	методика 3	4,055	611	[M+Na] ⁺
Стадия Н'4-1 (соединение а10)	методика 3	2,521	455	[M+H] ⁺
Стадия Н'4-2 (соединение а12)	методика 1	4,006	703	[M+H] ⁺
Стадия Н'5-1 (соединение а13)	методика 1	2,776	569	[M+H] ⁺
Стадия Н'5-2 (соединение а15)	методика 1	4,919	840	[M+H] ⁺
Стадия Н'6 (соединение а16)	методика 1	2,909	696	[M+H] ⁺
Стадия S'0 (соединение а19)	методика 3	3,934	405	[M+H] ⁺
Стадия S'1-1 (соединение а20)	методика 3	2,058	271	[M+H] ⁺
Стадия S'1-2 (соединение а22)	методика 3	4,428	518	[M+H] ⁺
Стадия S'2-1 (соединение а23)	методика 3	2,393	384	[M+H] ⁺
Стадия S'2-2 (соединение а25)	методика 3	4,002	613	[M+Na] ⁺
Стадия S'3-1 (соединение а26)	методика 3	2,868	517	[M+Na] ⁺
Стадия S'3-2 (соединение а28)	методика 3	4,323	748	[M+Na] ⁺
Стадия S'4-1 (соединение а29)	методика 3	2,970	592	[M+H] ⁺
Стадия S'4-2 (соединение а31)	методика 3	4,794	910	[M+Na] ⁺
Стадия 1' (соединение а32)	методика 3	4,001	831	[M+H] ⁺
Стадия 2' (соединение а33)	методика 4	10,65	1531	[M+Na] ⁺
Стадия 3' (соединение а34)	методика 4	9,26	1474	[M+Na] ⁺
Стадия 4'	методика 4	12,39	1319	[M+H] ⁺

Стадия (соединение №)	Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС	Время удерживания (мин)	МС, найденно (m/z)	МС, полярность
(соединение а35)				
Стадия 5' (соединение а36)	методика 5	18,69	1300	[M+H] ⁺

Пример 27, стадия Н' 1

Соединение а03: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-
[бензилоксикарбонил(метил)амино]-3-
5 циклогексилпропаноил]метиламино]ацетата

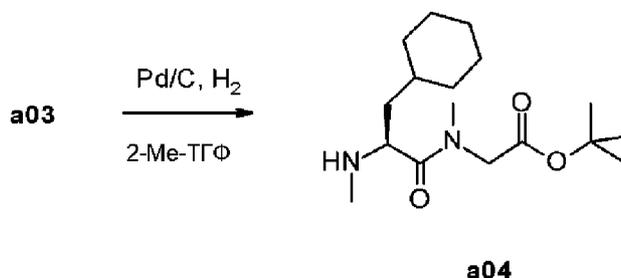


В сосуд для проведения реакции добавляли соединение а01 (2,00 г) и
соединение а02 (1,37 г), затем добавляли 2-Ме-ТГФ (19,0 мл) и смесь
перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (5,5 мл), затем по каплям
10 добавляли ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 11,7 мл), поддерживая
температуру реакционной смеси равной 32°С или ниже, и затем смесь
перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Поддерживая
температуру реакционной смеси равной 36°С или ниже, по каплям добавляли 5%
водный раствор карбоната натрия (12 мл), смесь перемешивали и затем водный
15 слой удаляли. Полученный органический слой промывали 5% водным раствором
карбоната натрия (12 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата
натрия (12 мл×1) и 10% водным раствором хлорида натрия (50 мл×2).
Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении
давало остаток (2,72 г), содержащий соединение а03.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,499 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 28, стадия Н'2-1

Соединение а04: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-3-циклогексил-2-(метиламино)пропаноил]метиламино]ацетата

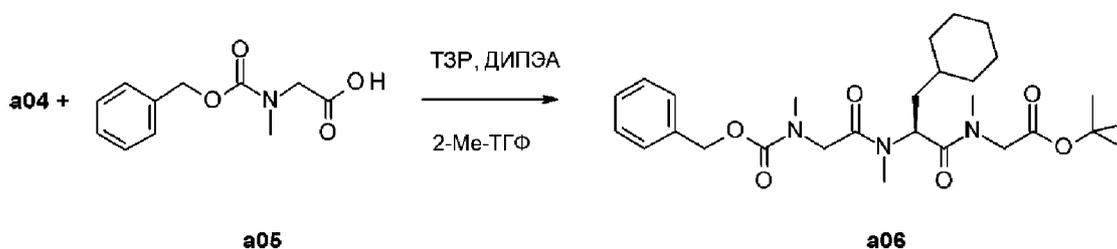


К остатку (2,70 г), содержащему соединение а03, полученному на стадии Н'1, добавляли 2-Ме-ТГФ (18 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (1,27 г, содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (18 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (1,77 г), содержащий соединение а04.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,419 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 29, стадия Н'2-2

Соединение а06: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[2-[бензилоксикарбонил(метил)амино]ацетил]метиламино]-3-циклогексилпропаноил]метиламино]ацетата



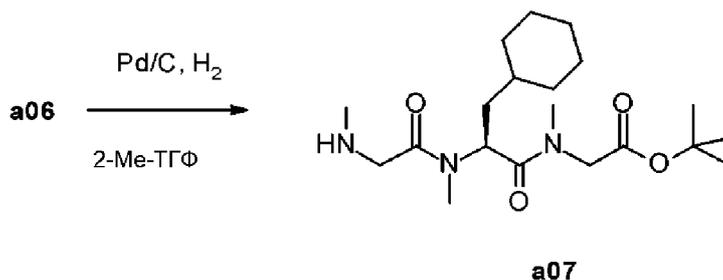
Остаток (1,71 г), содержащий соединение а04, полученный на стадии Н'2-1, и соединение а05 (1,29 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (11,6 мл) и затем перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (3,4 мл), затем по каплям добавляли ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 7,2 мл), поддерживая

температуру реакционной смеси равной 27°C или ниже, и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Поддерживая температуру реакционной смеси равной 29°C или ниже, по каплям добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (7,2 мл), смесь перемешивали и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 5% водным раствором карбоната натрия (7,2 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (7,2 мл×1) и 10% водным раствором хлорида натрия (7,2 мл×2). Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (2,70 г), содержащий соединение а06.

10 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,458 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 30, стадия Н'3-1

Соединение а07: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-3-циклогексил-2-[метил-[2-(метиламино)ацетил]амино]пропаноил]метиламино]ацетата



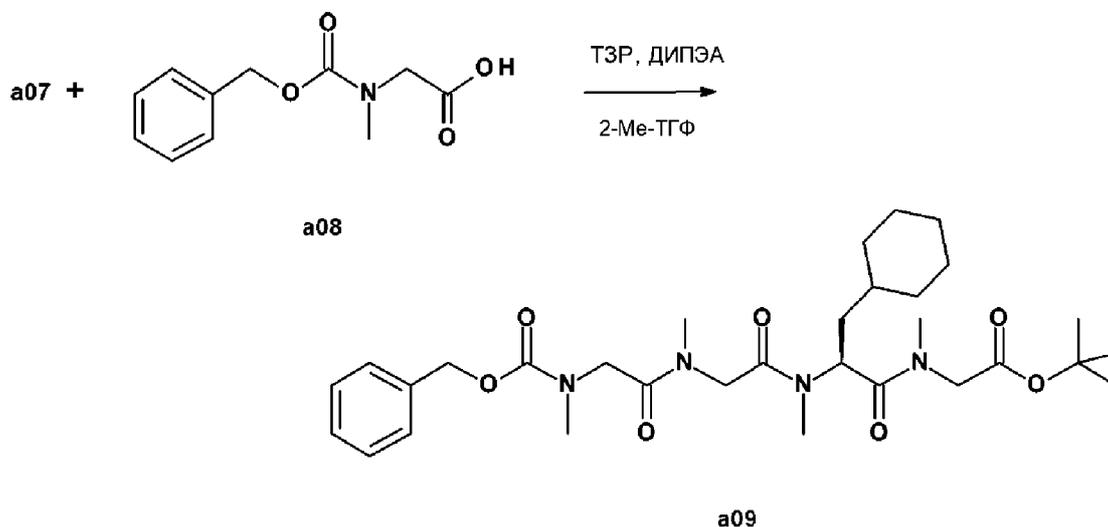
15 К остатку (2,70 г), содержащему соединение а03, полученному на стадии Н'2-2, добавляли 2-Ме-ТГФ (10 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (0,71 г, содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали

20 через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (1,82 г), содержащий соединение а07.

25 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,848 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 31, стадия Н'3-2

Соединение а09: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[2-[[2-[бензилоксикарбонил(метил)амино]ацетил]метиламино]ацетил]метиламино]-3-циклогексилпропаноил]метиламино]ацетата



5

Остаток (1,80 г), содержащий соединение а07, полученный на стадии Н'3-1, и соединение а08 (1,57 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (14,2 мл) и затем перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (4,1 мл), затем по каплям добавляли ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 8,8 мл), поддерживая

10 температуру реакционной смеси равной 30°C или ниже, и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Поддерживая температуру реакционной смеси равной 33°C или ниже, по каплям добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (10,8 мл), смесь перемешивали и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 5% водным раствором

15 карбоната натрия (10,8 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (10,8 мл×1) и 5% водным раствором карбоната натрия (10,8 мл×1).

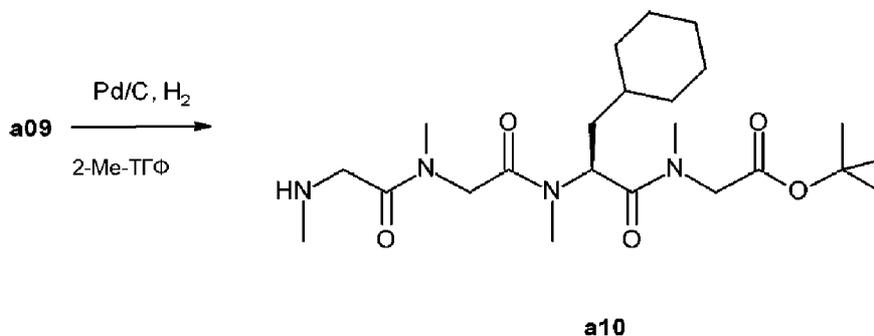
Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (2,61 г), содержащий соединение а09.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,055 мин (условия

20 проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 32, стадия Н'4-1

Соединение а10: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-3-циклогексил-2-[метил-[2-
[метил-[2-
(метиламино)ацетил]амино]ацетил]амино]пропаноил]метиламино]ацетата



5

К остатку (2,40 г), содержащему соединение а09, полученному на стадии Н'3-2, добавляли 2-Ме-ТГФ (12,3 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (0,44 г, содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза и затем смесь перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали

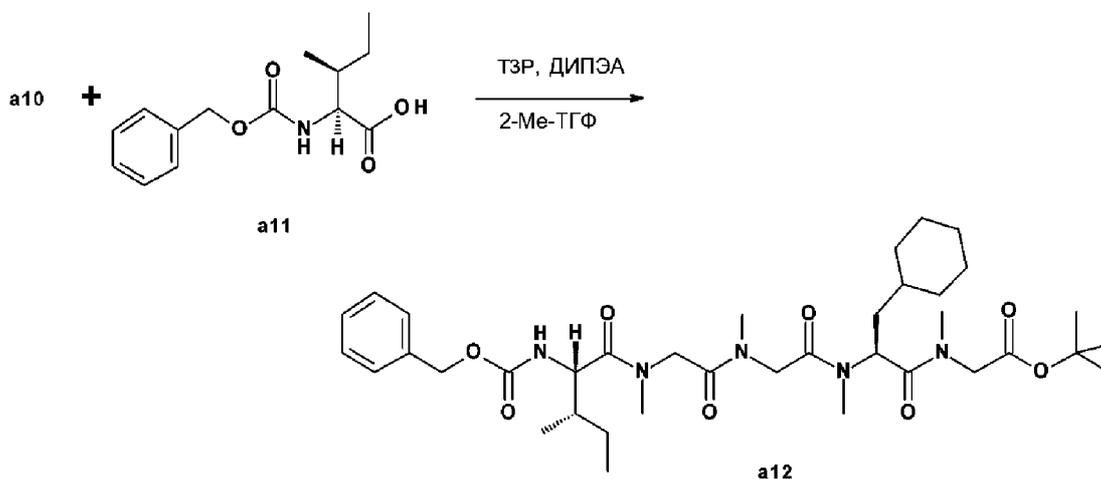
10 через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (12 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (1,97 г), содержащий соединение а10.

15

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,521 мин (условия проведения анализа: методика 3)

Пример 33, стадия Н'4-2

Соединение a12: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[2-[[2-[[[(2S,3S)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-метилпентаноил]метиламино]ацетил]метиламино]ацетил]метиламино]-3-циклогексилпропаноил]метиламино]ацетата



Остаток (1,92 г), содержащий соединение a10, полученный на стадии Н'4-1, и соединение a11 (1,69 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (12,8 мл) и затем перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (3,7 мл), затем по каплям добавляли ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 7,8 мл), поддерживая температуру реакционной смеси равной 29°C или ниже, и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Поддерживая температуру реакционной смеси равной 33°C или ниже, по каплям добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (14,4 мл), смесь перемешивали и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 5% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (14,4 мл×1) и 5% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×1). Полученный органический слой дополнительно 2 раза промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (14,4 мл×1) и 5% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×1). Добавляли 2-Ме-ТГФ (14,4 мл) и смесь промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (14,4 мл×1) и 5% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×1). Смесь дополнительно промывали 1% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×3), 5% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×5), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (14,4 мл×1), 5% водным раствором карбоната

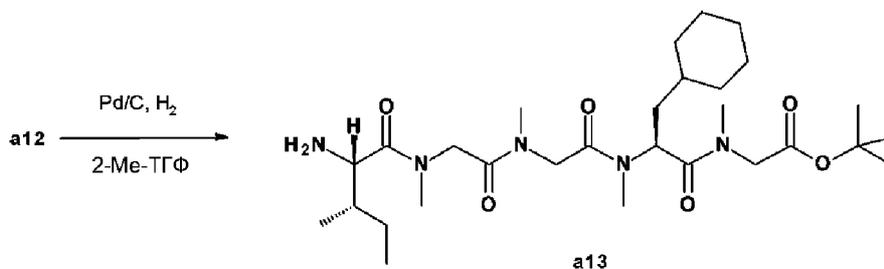
натрия (14,4 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (14,4 мл×1) и 5% водным раствором карбоната натрия (14,4 мл×1, 7,2 мл×10). Смесь дополнительно промывали 2,5% водным раствором аммиака (7,2 мл×3) и 10% водным раствором хлорида натрия (1 мл×1). Концентрирование

5 полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (2,39 г), содержащий соединение a12.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,006 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 34, стадия Н' 5-1

10 Соединение a13: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[2-[[2-[[[(2S,3S)-2-амино-3-метилпентаноил]метиламино]ацетил]метиламино]ацетил]метиламино]-3-циклогексилпропаноил]метиламино]ацетата



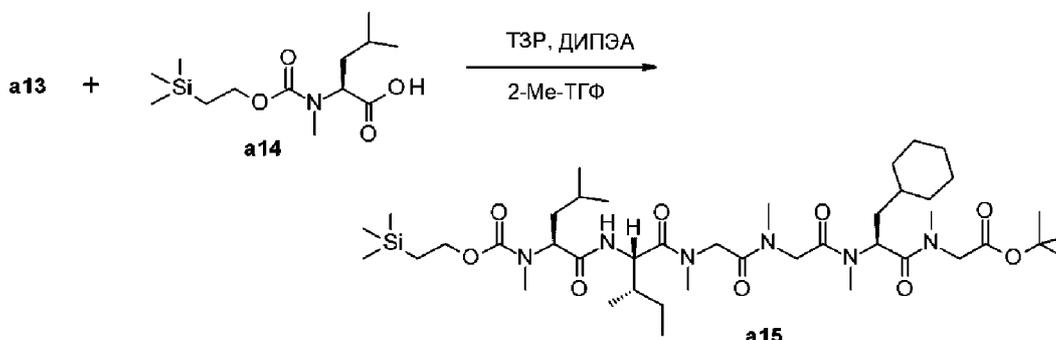
15 К остатку (2,15 г), содержащему соединение a12, полученному на стадии Н' 4-2, добавляли 2-Ме-ТГФ (9,3 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (0,66 г, содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (10 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и

20 концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (1,95 г), содержащий соединение a13.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,776 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 35, стадия Н' 5-2

Соединение a15: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-3-циклогексил-2-[метил-[2-
[метил-[2-[метил-[(2S,3S)-3-метил-2-[[[(2S)-4-метил-2-[метил-(2-
триметилсилилэтоксикарбонил)амино]пентаноил]амино]пентаноил]амино]ацети
л]амино]ацетил]амино]пропаноил]метиламино]ацетата



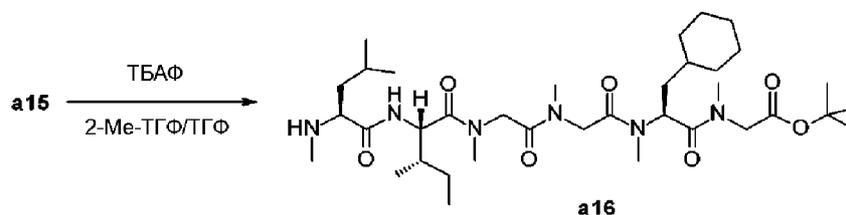
Остаток (1,94 г), содержащий соединение a13, полученный на стадии Н' 5-
1, и соединение a14 (1,49 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (10,3 мл) и затем
перемешивали. Сосуд для проведения реакции охлаждали в бане со льдом и
после добавления ДИПЭА (3,0 мл) по каплям добавляли ТЗР (50 мас./мас.%
раствор в 2-Ме-ТГФ, 6,3 мл), поддерживая температуру реакционной смеси
равной 9°C или ниже, затем баню со льдом удаляли и смесь перемешивали при
комнатной температуре в течение 1 ч. Поддерживая температуру реакционной
смеси равной 22°C или ниже, по каплям добавляли 5% водный раствор
карбоната натрия (12 мл), смесь перемешивали и затем водный слой удаляли.
Полученный органический слой промывали 5% водным раствором карбоната
натрия (12 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (12
мл×1) и 5% водным раствором карбоната натрия (12 мл×1) и полученный
органический слой концентрировали при пониженном давлении. Остаток
повторно растворяли в 2-Ме-ТГФ (20 мл) и промывали 5% водным раствором
моногидрата гидросульфата натрия (12 мл×2) и 5% водным раствором карбоната
натрия (12 мл×2). К органическому слою добавляли N-метилимидазол (0,3 мл) и
5% водный раствор карбоната натрия (12 мл), смесь перемешивали в течение 6,5
ч и затем водный слой удаляли. Смесь промывали 5% водным раствором
карбоната натрия (12 мл×1), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата
натрия (12 мл×2) и 5% водным раствором карбоната натрия (12 мл×2), затем
концентрировали при пониженном давлении. Остаток повторно растворяли в 2-

Me-ТГФ (20 мл), дополнительно добавляли смесь гептан:МТБЭ (1,5:1) (20 мл), смесь промывали 5% водным раствором карбоната натрия (20 мл×2) и концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (2,38 г), содержащий соединение a15.

5 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,919 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 36, стадия Н'6

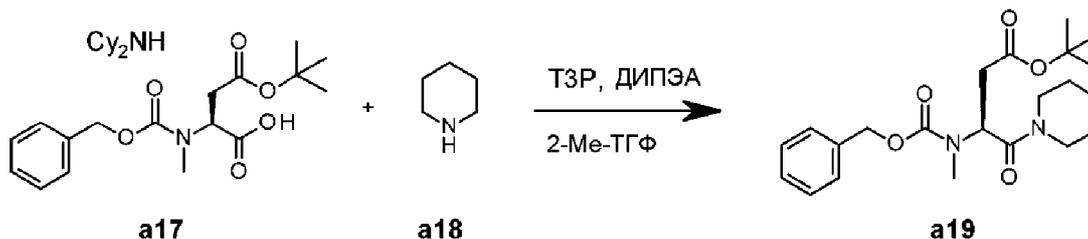
Соединение a16: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-3-циклогексил-2-[метил-[2-[метил-[2-[метил-[(2S,3S)-3-метил-2-[[[(2S)-4-метил-2-(метиламино)пентаноил]амино]пентаноил]амино]ацетил]амино]ацетил]амино]пропаноил]метиламино]ацетата



К остатку (2,35 г), содержащему соединению a15, полученному на стадии Н'5-2, добавляли 2-Ме-ТГФ (14 мл), затем внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 50°C и добавляли тетрабутиламмонийфторид (1 М раствор в ТГФ, 7,0 мл). Раствор реакционной смеси перемешивали в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры добавляли изопропилацетат (7 мл), смесь промывали 5% водным раствором карбоната калия (7 мл×6) и затем смесь концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (1,92 г), содержащий соединение a16. Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,909 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1)

Пример 37, стадия S'0

Соединение a19: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[бензилоксикарбонил(метил)амино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата

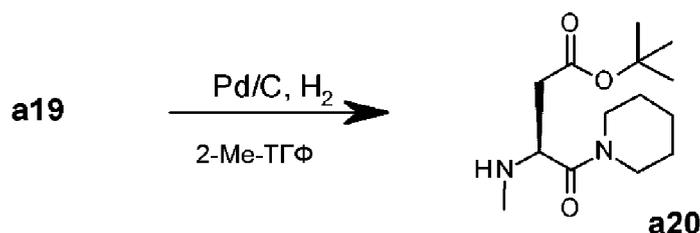


В сосуд для проведения реакции добавляли соединение a17 (2,01 г) и 2-
Me-ТГФ (11,7 мл) и смесь перемешивали. После добавления ДИПЭА (1,8 мл) и
соединения a18 (0,53 мл) при комнатной температуре добавляли ТЗР (50
мас./мас.% раствор в 2-Me-ТГФ, 3,61 мл) и затем смесь перемешивали в течение
5 1 ч. После проводимого при перемешивании добавления 10% водного раствора
лимонной кислоты (12 мл) водный слой удаляли. Полученный органический
слой промывали 10% водным раствором лимонной кислоты (12 мл×1) и 5%
водным раствором карбоната натрия (12 мл×2). Концентрирование полученного
органического слоя при пониженном давлении давало остаток (1,56 г),
10 содержащий соединение a19.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 3,934 мин (условия
проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 38, стадия S'1-1

Соединение a20: Синтез трет-бутил-(3S)-3-(метиламино)-4-оксо-4-(1-
15 пиперидил)бутаноата

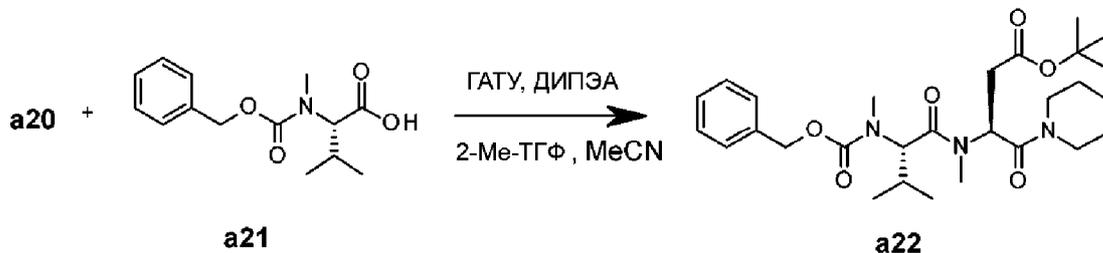


К остатку (3,08 г), содержащему соединение a19, полученному на стадии
S'0, добавляли 2-Me-ТГФ (21,3 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (4,09 г,
содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза
20 и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали
через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Me-
ТГФ (21,3 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и
концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (2,09 г),
содержащий соединение a20.

25 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,058 мин (условия
проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 39, стадия S'1-2

Соединение a22: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[бензилоксикарбонил(метил)амино]-3-метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата



5

10

15

20

25

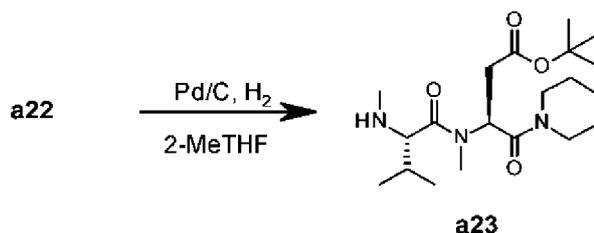
Остаток (2,04 г), содержащий соединение a20, полученный на стадии S'1-1, и соединение a21 (2,14 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (6,3 мл) и затем смесь перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (5,3 мл), затем при комнатной температуре добавляли раствор ГАТУ (3,95 г) в MeCN (4,1 мл) и 2-Ме-ТГФ (5,9 мл) и затем смесь перемешивали при 50°C в течение 5 ч. После проводимого при комнатной температуре добавления ЦПМЭ (5,3 мл) добавляли 5% водный раствор карбоната калия (4,1 мл) и NMI (0,55 мл) и смесь перемешивали в течение 1 ч и 30 мин. При перемешивании добавляли 2,5% водный раствор аммиака (16,3 мл) и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 2,5% водным раствором аммиака (16,3 мл×1), 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (20,4 мл×4), 5% водным раствором карбоната калия (20,4 мл×1), 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (20,4 мл×3) и 5% водным раствором карбоната калия (20,4 мл×1).

Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (3,66 г), содержащий соединение a22.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,428 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 40, стадия S'2-1

Соединение a23: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[метил-[(2S)-3-метил-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата

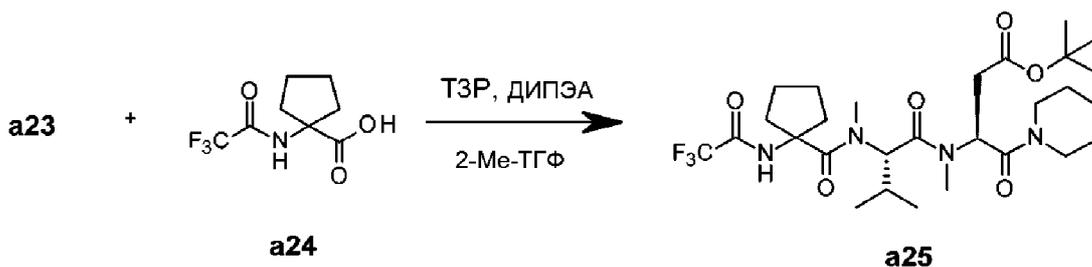


К остатку (3,56 г), содержащему соединение a22, полученному на стадии S'1-2, добавляли 2-Ме-ТГФ (18,3 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (2,10 г, содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза и затем смесь перемешивали в течение 2 ч 30 мин. Реакционную смесь
5 фильтровали через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (18,3 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (2,58 г), содержащий соединение a23.

10 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,393 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 41, стадия S'2-2

Соединение a25: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[метил-[(2S)-3-метил-2-[метил-[1-[(2,2,2-трифторацетил)амино]циклопентанкарбонил]амино]бутаноил]амино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата

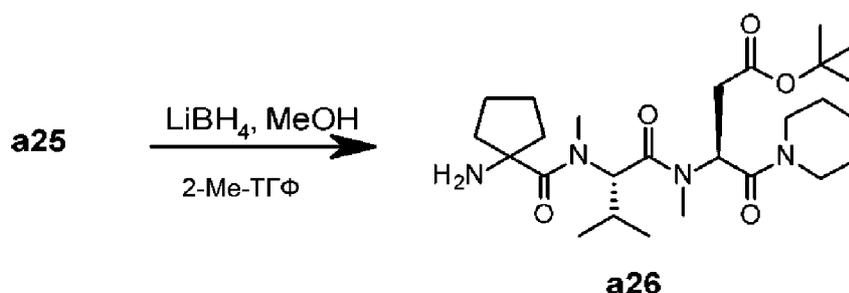


15 Соединение a24 (2,90 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (18,6 мл) и смесь перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (5,4 мл) и остаток (2,50 г), содержащий соединение a23, полученный на стадии S'2-1 затем при комнатной температуре добавляли ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 10,4 мл) и
20 ДМАП (1,59 г) и затем смесь перемешивали в течение 8 ч. Дополнительно добавляли соединение a24 (1,47 г), ДМАП (0,80 г), ТЗР (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 5,5 мл) и ДИПЭА (2,8 мл) и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. При перемешивании добавляли 5% водный раствор карбоната натрия (20,5 мл) и затем водный слой удаляли. Полученный органический слой промывали 5%
25 водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (20,5 мл×4), 5% водным раствором карбоната натрия (20,5 мл×2), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (20,5 мл×2) и 5% водным раствором карбоната натрия (20,5 мл×1). Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (3,45 г), содержащий соединение a25.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,002 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 42, стадия S'3-1

Соединение a26: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[(1-аминоциклопентанкарбоонил)метиламино]-3-метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата

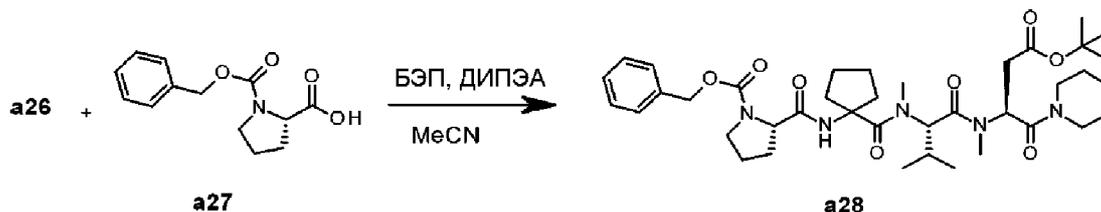


Остаток (3,41 г), содержащий соединение a25, полученный на стадии S'2-2 растворяли в 2-Ме-ТГФ (1362 мл) и MeOH (1,4 мл) и смесь перемешивали. При -
10 20°C по каплям добавляли LiBH_4 (2 М раствор в ТГФ, 4,5 мл) и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. После проводимого по каплям добавления 2,2,2-трифторэтанола (6,4 мл) температуру повышали до 0°C и затем смесь перемешивали в течение 20 мин. По каплям добавляли 20% водный раствор хлорида аммония (10,2 мл) и затем водный слой удаляли. К полученному
15 органическому слою при комнатной температуре добавляли трифторуксусную кислоту (0,69 мл) и затем смесь перемешивали в течение 10 мин. В сосуд для проведения реакции, содержащий 2 М водный раствор гидроксида натрия (44,3 мл), по каплям добавляли раствор реакционной смеси, содержащий соединение a25. После удаления водного слоя смесь промывали 2 М водным раствором
20 гидроксида натрия (34,1 мл×2) и 10% водным раствором гидрофосфата калия (17,0 мл×1). Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (2,90 г), содержащий соединение a26. Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,868 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 43, стадия S'3-2

Соединение a28: Синтез бензил-(2S)-2-[[1-[[[(1S)-1-[[[(1S)-3-трет-бутоксипропил]метилкарбамоил]-2-

метилпропил]метилкарбамоил]циклопентил]карбамоил]пирролидин-1-карбоксилата

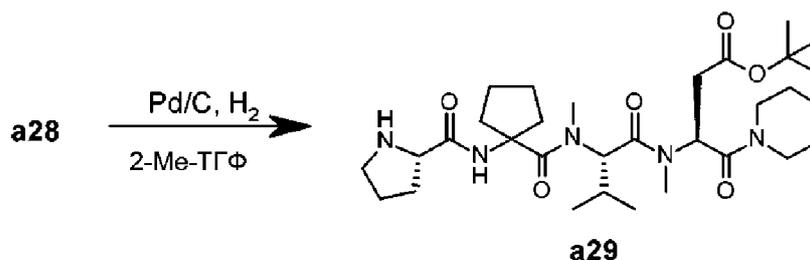


Остаток (2,90 г), содержащий соединение **a26**, полученный на стадии S'3-1, и соединение **a27** (1,66 г) растворяли в MeCN (14,5 мл) и затем смесь перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (2,67 мл), затем при комнатной температуре добавляли БЭП (2,11 г) и затем смесь перемешивали в течение 3 ч. После добавления ЦПМЭ (29,3 мл) добавляли 5% водный раствор карбоната калия (17,4 мл) и N-метилимидазол (0,41 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. После удаления водного слоя полученный органический слой промывали 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (17,4 мл×5), 5% водным раствором карбоната натрия (17,4 мл×2), 5% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (17,4 мл×3) и 5% водным раствором карбоната натрия (17,4 мл×2). Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (3,86 г), содержащий соединение **a28**.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,323 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 44, стадия S'4-1

Соединение **a29**: Синтез трет-бутил-(3S)-3-[метил-[(2S)-3-метил-2-[метил-[1-[[[(2S)-пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]амино]бутаноил]амино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата

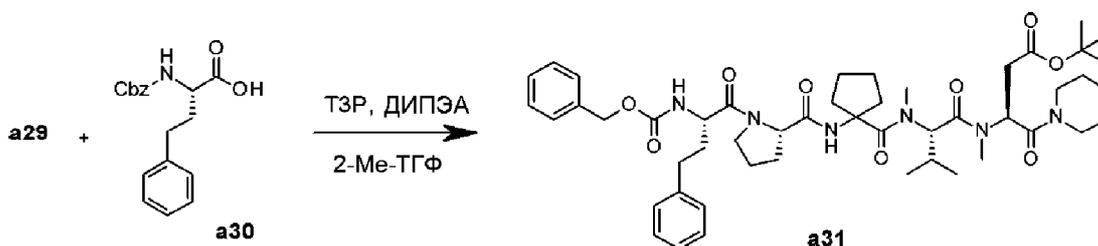


К остатку (3,81 г), содержащему соединение a28, полученному на стадии S'3-2, добавляли ТГФ (16,8 мл) и затем добавляли 5% Pd/C (0,40 г, содержание воды: 50%). Дегазирование и продувку водородом проводили 3 раза и затем смесь перемешивали в течение 4 ч 30 мин. Дополнительно добавляли 5% Pd/C (0,20 г, содержание воды: 50%), затем смесь перемешивания в течение 1 ч и 30 мин. Реакционную смесь фильтровали через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (6,6 мл×3). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (3,12 г), содержащий соединение a29.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 2,970 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 45, стадия S'4-2

Соединение a31: Синтез трет-бутил-((3S)-3-(((2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-фенилбутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-3-метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноата



Остаток (2,06 г), содержащий соединение a29, полученный на стадии S'4-1, и соединение a30 (1,10 г) растворяли в 2-Ме-ТГФ (10,3 мл) и затем смесь перемешивали. Дополнительно добавляли ДИПЭА (2,8 мл), затем при комнатной температуре добавляли Т3Р (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 5,4 мл) и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. Дополнительно добавляли соединение a30 (0,55 г), ДИПЭА (1,1 мл) и Т3Р (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 2,2 мл) и затем смесь перемешивали в течение 5 ч. Дополнительно добавляли соединение a30 (0,57 г), ДИПЭА (1,1 мл) и Т3Р (50 мас./мас.% раствор в 2-Ме-ТГФ, 2,2 мл) и смесь выдерживали в течение ночи и затем на следующий день смесь перемешивали в течение 2 ч. Добавляли 5% водный раствор карбоната калия (12,4 мл) и N-метилимидазол (0,29 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Добавляли N-метилимидазол (0,23 мл) и после

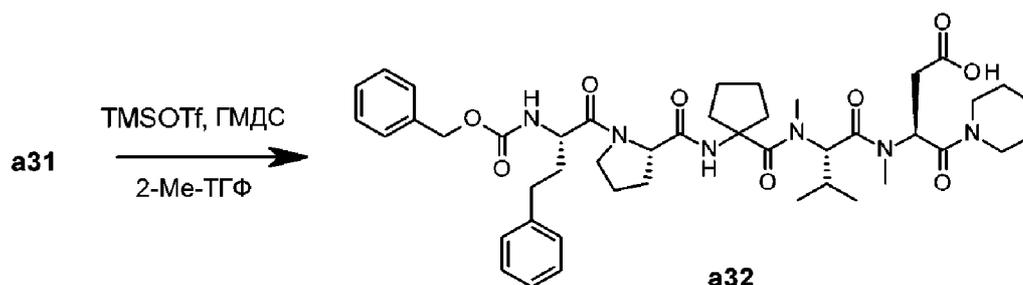
перемешивания смеси в течение 1 ч водный слой удаляли. Добавляли 2-Ме-ТГФ (12,4 мл), N-метилимидазол (0,23 мл) и 5% водный раствор карбоната калия (12,4 мл) и после перемешивания смеси в течение 1 ч водный слой удаляли.

Полученный органический слой промывали 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (12,4 мл×2) и 5% водным раствором карбоната калия (12,4 мл×1). К органическому слою добавляли смешанный раствор, содержащий гептан и МТБЭ (гептан/МТБЭ = 1,5:1, 12,4 мл), и MeCN (4,7 мл) и затем водный слой удаляли. К органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (2,1 мл), затем его 7 раз промывали с помощью MeCN (7,0 мл) и 5% водным раствором карбоната калия (17,7 мл). К органическому слою добавляли изопропилацетат (7,6 мл), затем его концентрировали при пониженном давлении и к полученному остатку добавляли изопропилацетат (7,6 мл) и получали раствор (10,31 г), содержащий соединение а31.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,794 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 46, стадия 1'

Соединение а32: Синтез (3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-фенилбутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-3-метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутановой кислоты



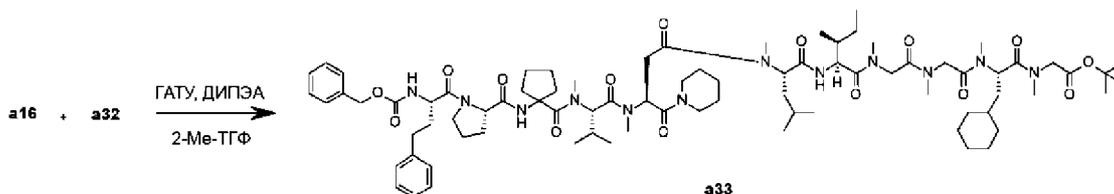
Остаток (10,27 г), содержащий соединение а31, полученный на стадии S'4-2, растворяли в изопропилацетате (51,4 мл) и затем перемешивали. После добавления GMDC (2,1 мл) при 0°C по каплям добавляли TMSOTf (1,4 мл) и затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и 30 мин. При комнатной температуре добавляли 2-Ме-ТГФ (51,4 мл) и 5% водный раствор гидрофосфата калия (102,8 мл) и затем водный слой удаляли. Органический слой промывали 5% водным раствором дигидрофосфата натрия (102,8 мл), затем к полученному органическому слою добавляли ДИПЭА (3,0

мл), смесь концентрировали при пониженном давлении и к остатку добавляли изопропилацетат (7,6 мл) и получали раствор (7,92 г), содержащий соединение а32.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 4,001 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 3)

Пример 47, стадия 2'

Соединение а33: Синтез трет-бутил-2-[[[(2S)-2-[[[2-[[[2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-фенилбутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-3-метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]ацетил]метиламино]ацетил]метиламино]-3-циклогексилпропаноил]метиламино]ацетата



Остаток (7,92 г), содержащий соединение а32, полученный на стадии 2,' и остаток (1,33 г), содержащий соединение а16, полученный на стадии Н'6, растворяли в 2-Ме-ТГФ (4,6 мл) и перемешивали. При комнатной температуре добавляли ДИПЭА (1,6 мл) и ГАТУ (1,43 г) и затем перемешивали в течение 2 ч. Добавляли остаток (примерно 300 мг), содержащий соединение а16, и смесь дополнительно перемешивали в течение 2 ч. Затем дополнительно добавляли остаток (примерно 300 мг), содержащий соединение а16, и смесь перемешивали в течение 1 ч и 30 мин. Добавляли ГАТУ (0,79 г) и затем перемешивали в течение 1 ч. Добавляли ЦПМЭ (3,5 мл), N-метилимидазол (0,13 мл) и 5% водный раствор карбоната калия (2,7 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. После удаления водного слоя смесь промывали 2,5% водным раствором аммиака (9,2 мл×1), 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (9,2 мл×1), 5% водным раствором карбоната натрия (9,2 мл×1), 10% водным раствором моногидрата гидросульфата натрия (9,2 мл×3) и 5% водным раствором гидрокарбоната натрия (9,2 мл×2). К органическому слою

20

25

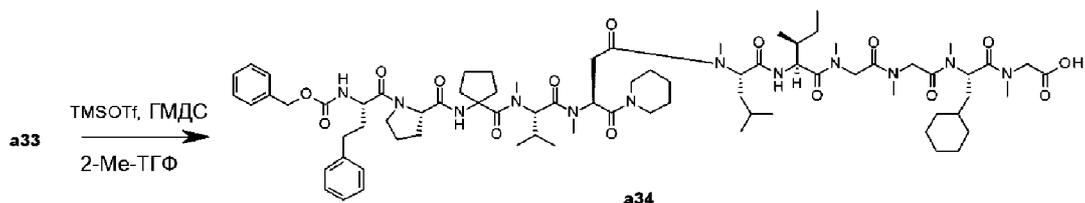
30

добавляли смесь гептан/МТБЭ (1,5:1, 9,2 мл) и затем его промывали 5% водным раствором карбоната натрия. К полученному органическому слою добавляли 2-Ме-ТГФ (9,2 мл) и смесь концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (4,49 г), содержащий соединение а33.

5 Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 10,65 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 4)

Пример 48, стадия 3'

Соединение а34: Синтез 2-[[[(2S)-2-[[2-[[2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-
10 фенилбутаноил]пирролидин-2-карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-3-метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]ацетил]метиламино]ацетил]метиламино]-3-
15 циклогексилпропаноил]метиламино]уксусной кислоты

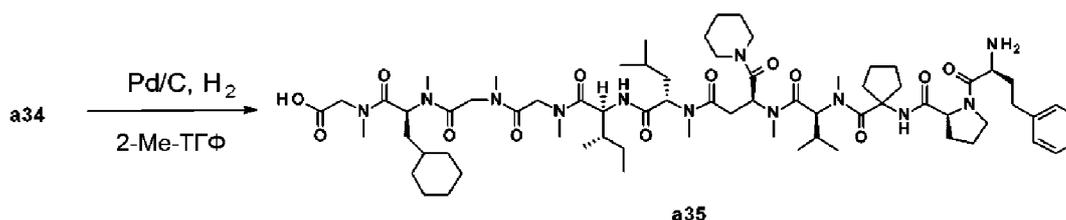


Остаток (4,49 г), содержащий соединение а33, полученный на стадии 2', растворяли в 2-Ме-ТГФ (49,5 мл) и перемешивали. При комнатной температуре добавляли ГМДС (2,9 мл) и TMSOTf (2,1 мл) и затем смесь перемешивали в течение 2 ч. После добавления 5% водного раствора гидрофосфата калия (14,2
20 мл) водный слой удаляли. Полученный органический слой 3 раза промывали смешанным раствором, содержащим 10% водный раствор лимонной кислоты (3,4 мл) и 5% водный раствор гидрофосфата калия (10,5 мл), и один раз 5% водным раствором карбоната натрия. К органическому слою добавляли ТГФ (20,9 мл) и 3
25 раза проводили азеотропную дегидратацию и затем к полученному остатку добавляли ТГФ (5,9 мл) и получали раствор (9,59 г), содержащий соединение а34.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 9,26 мин (условия проведения анализа: методика 4)

Пример 49, стадия 4'

Соединение а35: Синтез 2-[[[(2S)-2-[[2-[[2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-
[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-[(2S)-2-амино-4-фенилбутаноил]пирролидин-2-
карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-3-
метилбутаноил]метиламино]-4-оксо-4-(1-пиперидил)бутаноил]метиламино]-4-
метилпентаноил]амино]-3-
метилпентаноил]метиламино]ацетил]метиламино]ацетил]метиламино]-3-
циклогексилпропаноил]метиламино]уксусной кислоты



10 В сосуд для проведения реакции добавляли 5% Pd/C (0,49 г, содержание
воды: 50%) и его суспендировали в ТГФ (8 мл) и смесь перемешивали в
атмосфере водорода в течение 30 мин. Затем сосуд продували азотом, добавляли
раствор остатка (9,3 г), содержащего соединение а34, полученного на стадии 3,'
в ТГФ (8 мл) и после перемешивания смеси в атмосфере водорода в течение 6 ч
15 степень превращения при проведении реакции составляла 76%. Смесь продували
азотом, затем ее выдерживали в холодильнике в течение ночи и на следующий
день после нагревания смеси до комнатной температуры и перемешивания в
течение 2 ч степень превращения при проведении реакции составляла 87%.
Смесь продували азотом, затем к раствору реакционной смеси добавляли
20 суспензию 5% Pd/C (0,24 г, содержание воды: 50%) в ТГФ (4 мл) и смесь
продували водородом и затем смесь перемешивали в течение 4 ч (степень
превращения при проведении реакции составляла 99,0%). Смесь продували
азотом, затем ее выдерживали в холодильнике в течение ночи и на следующий
день после нагревания смеси до комнатной температуры степень превращения
25 при проведении реакции составляла 99,4%. Реакционную смесь фильтровали
через фильтровальную бумагу в вакууме и остаток промывали с помощью 2-Ме-
ТГФ (6,5 мл×10). Полученные фильтрат и промывочный раствор объединяли и
концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в
ацетонитриле (16,3 мл) и 2-Ме-ТГФ (6,5 мл) и после промывки смеси гептаном
30 (37,1 мл) ее концентрировали. Полученный остаток повторно растворяли в

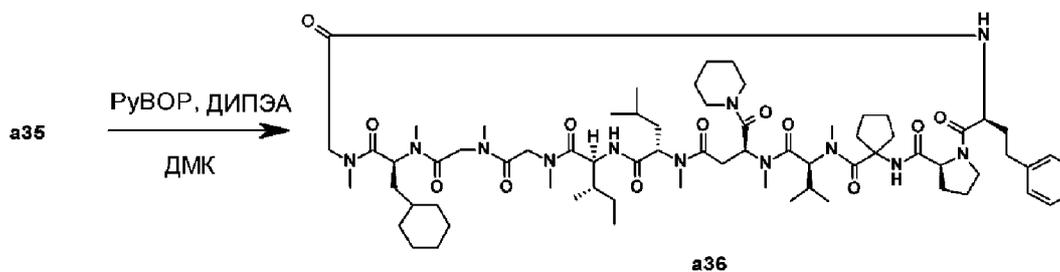
ацетонитриле (16,3 мл) и 2-Ме-ТГФ (6,5 мл) и смесь промывали гептаном (37,1 мл) и затем концентрировали и получали остаток (2,96 г), содержащий соединение а35.

5
Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 12,39 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 4)

Пример 50, стадия 5'

Соединение а36: Синтез (3S,9S,18S,21S,25S,28S,34S)-9-(циклогексилметил)-21-изобутил-28-изопропил-7,10,13,16,22,26,29-гептаметил-18-[(1S)-1-метилпропил]-3-(2-фенилэтил)-25-(пиперидин-1-карбонил)спиро[1,4,7,10,13,16,19,22,26,29,32-ундеказабицикло[32.3.0]гептатриаконтан-31,1'-циклопентан]-2,5,8,11,14,17,20,23,27,30,33-ундекаона

10



Получали раствор остатка (2,90 г), содержащего соединение а35, полученного на предыдущей стадии, и ДИПЭА (1,44 мл) в диметилкарбонате (ДМК, 72,5 мл) и его в течение 3 ч по каплям добавляли к раствору РуВОР (4,34 г) в диметилкарбонате (72,5 мл). Протекание реакции проверяли путем отбора образца смеси через 30 мин после завершения проводимого по каплям добавления, нерастворимые вещества удаляли с помощью вакуумного

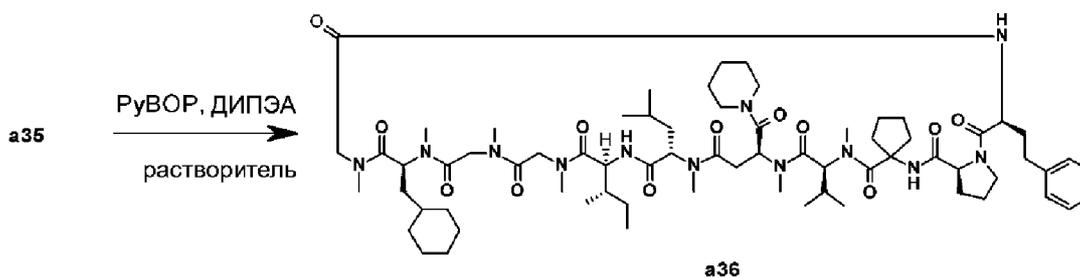
15
20
25

фильтрования с использованием бумажного фильтра и остаток промывали диметилкарбонатом (15 мл). Раствор, полученный путем объединения фильтрата и промывочного раствора, промывали 2,5% водным раствором аммиака (58 мл), 5% водным раствором гидросульфата калия (58 мл), 5% водным раствором динатрийгидрофосфата (58 мл), 5% водным раствором хлорида натрия (58 мл) и 0,5% водным раствором хлорида натрия (58 мл). Концентрирование полученного органического слоя при пониженном давлении давало остаток (2,72 г), содержащий соединение а36.

Время удерживания по данным анализа с помощью ВЭЖХ: 18,69 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 5)

Пример 50-1

Соединение а36: Синтез (3S,9S,18S,21S,25S,28S,34S)-9-(циклогексилметил)-21-изобутил-28-изопропил-7,10,13,16,22,26,29-гептаметил-18-[(1S)-1-метилпропил]-3-(2-фенилэтил)-25-(пиперидин-1-карбонил)спиро[1,4,7,10,13,16,19,22,26,29,32-ундеказабицикло[32.3.0]гептатриаконтан-31,1'-циклопентан]-2,5,8,11,14,17,20,23,27,30,33-ундекаона (с использованием РуВОР в качестве конденсирующего реагента и с использованием диметилкарбоната в качестве растворителя)



В сосуд для проведения реакции отвешивали соединение а35 (9,7 мг) и его растворяли в диметилкарбонате (2 мл). При перемешивании при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (6,1 мкл). К смеси добавляли РуВОР (14,9 мг) и эту смесь перемешивали в течение 30 мин. Раствор реакционной смеси (50 мкл) разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1) (100 мкл) и с использованием этого раствора проводили анализ с помощью ВЭЖХ. Содержания, указанные в выраженной в % площади пика для искомого продукта и циклического димера и чистота искомого продукта по данным ЖХ (%) приведены в таблице 13.

Пример 50-2

Результаты, полученные с использованием в качестве растворителей анизола и 2-метилтетрагидрофурана, также приведены в таблице 13 (экспериментальную методику проводили аналогично описанной в примере 50-1). В каждом случае не наблюдали образование циклического тримера.

Пример 50-3

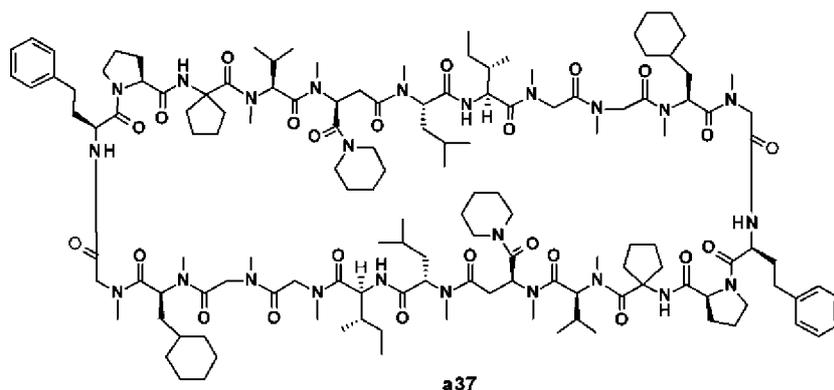
Соединение а36: Синтез (3S,9S,18S,21S,25S,28S,34S)-9-(циклогексилметил)-21-изобутил-28-изопропил-7,10,13,16,22,26,29-гептаметил-18-[(1S)-1-метилпропил]-3-(2-фенилэтил)-25-(пиперидин-1-карбонил)спиро[1,4,7,10,13,16,19,22,26,29,32-ундеказабицикло[32.3.0]гептатриаконтан-31,1'-циклопентан]-

2,5,8,11,14,17,20,23,27,30,33-ундекаона (с использованием РуВОР в качестве конденсирующего реагента и с использованием диметилкарбоната в качестве растворителя; получение при проводимом по каплям добавлении в обратном порядке)

5 В сосуд для проведения реакции отвешивали РуВОР (59,9 мг) и его
 суспендировали в диметилкарбонате (1 мл). В другом сосуде соединение а35
 (39,9 мг) растворяли в диметилкарбонате (1 мл) и к смеси добавляли ДИПЭА
 (24,3 мкл). Раствор этого исходного вещества при комнатной температуре в
 течение 3 ч шприцевым насосом добавляли к суспензии РуВОР. После
 10 завершения добавления раствор исходного вещества, оставшийся в сосуде,
 смывали в сосуд для проведения реакции диметилкарбонатом (0,2 мл) и затем
 смесь перемешивали в течение 30 мин. Раствор реакционной смеси (50 мкл)
 разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1) (100 мкл) и с использованием этого
 раствора проводили анализ с помощью ВЭЖХ. Результаты приведены в таблице
 15 13.

[Таблица 13]

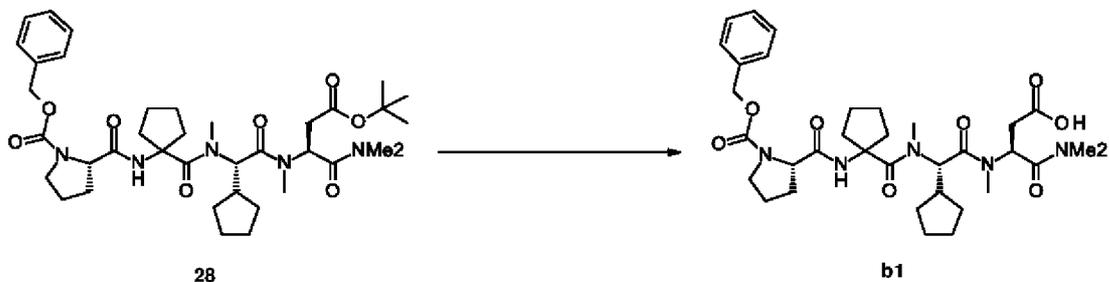
Конденсиру- ющий реагент	Пример №	Растворитель	Проводимо е по каплям добавление	Содержания ИВ, ИС, ц-димера (%)			Чистота по данным ЖХ (%)
				ИВ (а35)	ИС (а36)	ц-димер (а37)	
РуВОР	пример 50	диметилкарбо нат	обычный порядок	0,0	92,7	7,3	77,4
	пример 50-1	анизол	обычный порядок	0,0	92,3	7,7	76,7
	пример 50-2	2- метилтетраги дрофуран	обычный порядок	0,0	90,1	9,9	63,0
	пример 50-3	диметилкарбо нат	обратный порядок	0,0	95,4	4,6	78,7



а37: это производное является ц-димером

Пример 51

Синтез соединения b1: (3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-[[[(2S)-1-
Бензилоксикарбонилпирролидин-2-
карбонил]амино]циклопентанкарбонил]метиламино]-2-
5 циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутановая кислота

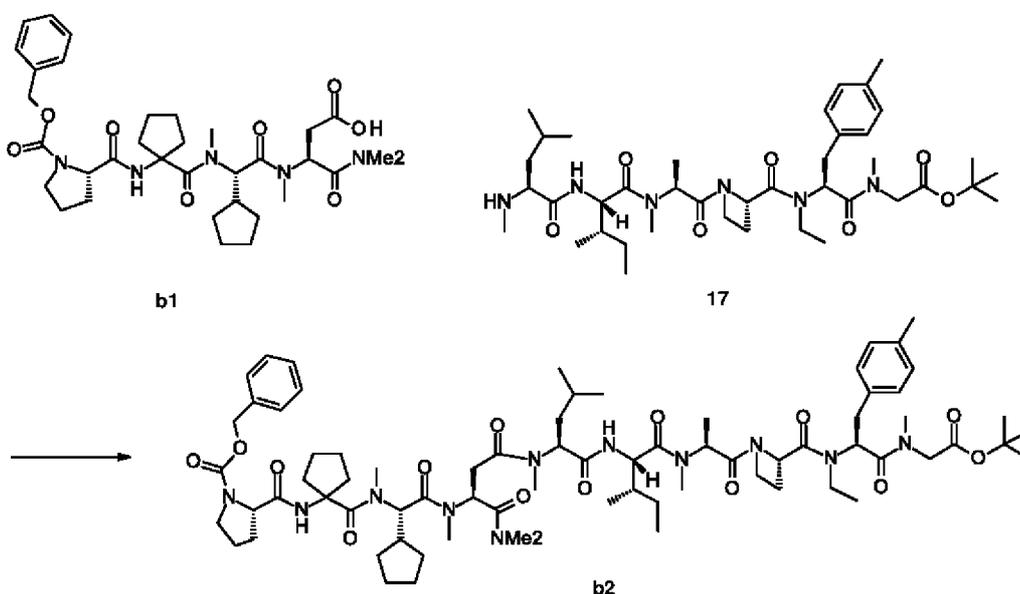


В сосуд для проведения реакции добавляли раствор соединения 28 в 2-Ме-
ТГФ (17,45 г, 11,7 мас.%) и его концентрировали при пониженном давлении и к
полученному остатку добавляли IPAc (10,2 мл). После проводимого при
10 перемешивании при комнатной температуре добавления ГМДС (1,52 мл)
внешнюю температуру понижали до 0°C и по каплям медленно добавляли
TMSOTf (1,04 мл). Температуру повышали до комнатной температуры и смесь
перемешивали в течение 30 мин. Отбирали образец реакционной смеси для
приготовления образца (методика 1 приготовления образца) и проводили анализ
15 с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении
реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при
проведении реакции использовали уравнение 1). Внешнюю температуру
понижали до 0°C и к реакционной смеси по каплям добавляли 5% водный
раствор дикалийгидрофосфата (14,3 мл) и смесь перемешивали при комнатной
20 температуре в течение 10 мин. Органический слой удаляли и к водному слою
добавляли 0,5 М водный раствор хлористоводородной кислоты (11,2 мл) и IPAc
(10,2 мл), затем смесь перемешивали в течение 10 мин. Водный слой удаляли и
после промывки органического слоя 5% водным раствором хлорида натрия (14,3
мл) водный слой удаляли. Полученный органический слой концентрировали при
25 пониженном давлении при внешней температуре, равной 30°C, досуха и
получали остаток (1,88 г, выход 94,1%), содержащий соединение b1.
ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 2,929 мин, m/z = 678,61 [M+Na]⁺ (условия
проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 1).

Выход: 94,1% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью кЯМР).

Пример 52

Синтез соединения b2: Бензил-(2S)-2-[[1-[[[(1S)-2-[[[(1S)-3-[[[(1S)-1-
5 [[(1S,2S)-1-[[[(1S)-2-[(2S)-2-[[[(1S)-2-[(2-трет-бутокси-2-оксоэтил)метиламино]-2-
оксо-1-(п-толилметил)этил]этилкарбамоил]азетидин-1-ил]-1-метил-2-
оксоэтил]метилкарбамоил]-2-метилбутил]карбамоил]-3-
метилбутил]метиламино]-1-(диметилкарбамоил)-3-оксопропил]метиламино]-1-
10 циклопентил-2-оксоэтил]метилкарбамоил]циклопентил]карбамоил]пирролидин-
1-карбоксилат



В сосуд для проведения реакции отвешивали раствор соединения 17 (1,50 г, 55,0 мас.%) и соединения b1 (0,98 г, 78,3 мас.%) в IPAc и добавляли 2-Ме-ТГФ (5,44 мл) и MeCN (0,80 мл). После проводимого при перемешивании при
15 комнатной температуре добавления ДИПЭА (1,05 мл) добавляли ГАТУ (988,4 мг). После перемешивания при комнатной температуре в течение 4 ч отбирали образец реакционной смеси для приготовления образца (методика 2 приготовления образца) и проводили анализ с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более
20 (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 2). Внешнюю температуру понижали до 0°C и к реакционной смеси добавляли N-метилимидазол (86 мкл) и 5% водный раствор карбоната натрия

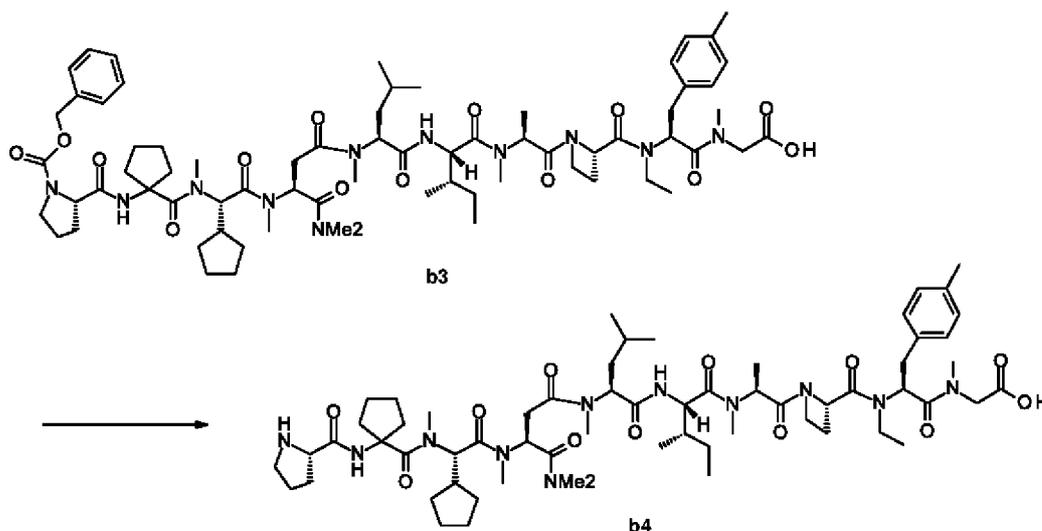
добавления ГМДС (0,50 мл) внешнюю температуру понижали до 0°C и по каплям медленно добавляли TMSOTf (0,340 мл). Температуру повышали до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец
5 реакционной смеси для приготовления образца (методика 1 приготовления
образца) и проводили анализ с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень
превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета
степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). К
реакционной смеси по каплям добавляли 5% водный раствор
10 дикалийгидрофосфата (9,10 мл) и смесь перемешивали при комнатной
температуре в течение 10 мин. Органический слой удаляли и к водному слою
добавляли 0,5 М водный раствор хлористоводородной кислоты (7,41 мл) и 2-Ме-
ТГФ (9,0 мл), затем смесь перемешивали в течение 10 мин. Водный слой удаляли
и после промывки органического слоя 5% водным раствором хлорида натрия
(13,0 мл) водный слой удаляли. Полученный органический слой
15 концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной
35°C, досуха и получали остаток (3,36 г, выход 92,7%), содержащий соединение
b3.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 18,19 мин, $m/z = 1325,02 [M+H]^+$ (условия
проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).

20 Выход: 92,7% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту
растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью КЯМР).

Пример 54

Синтез соединения b4: 2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-
[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-Циклопентил-2-[метил-[1-[[[(2S)-пирролидин-2-
25 карбонил]амино]циклопентан-карбонил]амино]ацетил]метиламино]-4-
(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-
метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-
толил)пропаноил]метиламино]уксусная кислота



В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре последовательно добавляли соединение **b3** (1,01 г, 0,762 ммоль), полученное в примере 53, 2-Ме-ТГФ (2,02 мл) и ТГФ (6,87 мл). После добавления в сосуд для проведения реакции 5% Pd/C (0,162 г, содержание воды: 50%) 3 раза проводили дегазирование и продувку водородом и смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси для приготовления образца (методика 1 приготовления образца) и проводили анализ с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Реакционную смесь фильтровали через фильтровальную бумагу и мембранные фильтры и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (5,0 мл×2). Полученный фильтрат концентрировали при пониженном давлении и получали остаток (1,43 г, выход 96,7%), содержащий соединение **b4**.

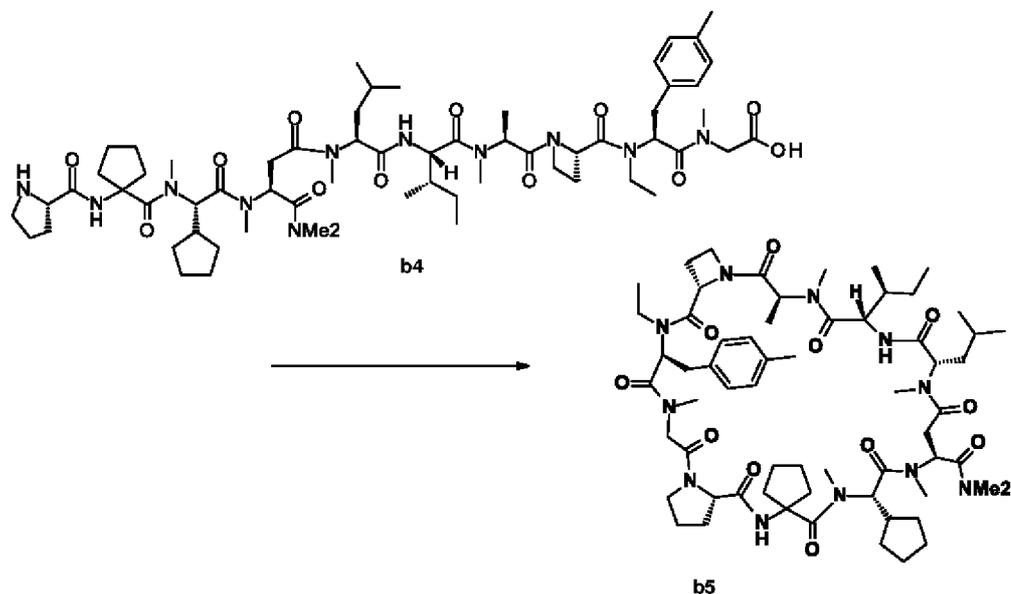
ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 2,921 мин, $m/z = 1191,00 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 1).

Выход: 96,7% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью кЯМР).

Реакция циклизации соединения **b4** (исследование условий проведения реакции, использовавшихся в примере 55)

С использованием соединения **b4** в качестве исходного вещества исследовали конденсирующие реагенты и растворители, использовавшиеся для

проведения реакции циклизации с получением соединения b5. За протеканием реакции циклизации следили с помощью ВЭЖХ.



Пример 55-6

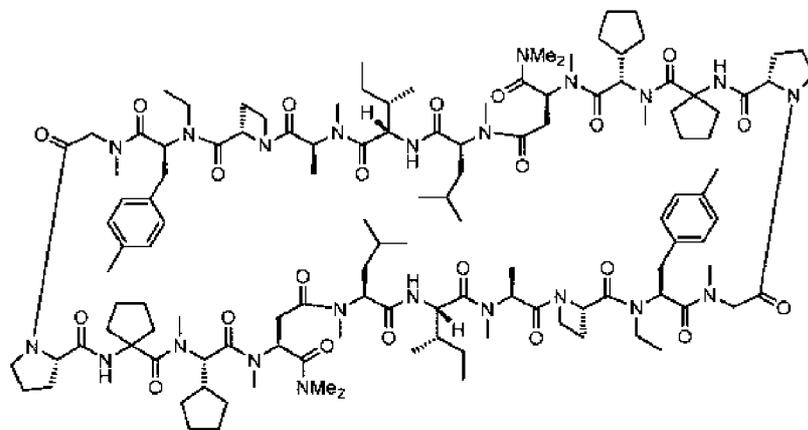
5 Синтез соединения b5: (6S,9S,14S,17S,20S,24S,27S,33S)-27-Циклопентил-7-этил-20-изобутил-N,N,4,14,15,21,25,28-октаметил-17-[(1S)-1-метилпропил]-2,5,8,13,16,19,22,26,29,32-декаоксо-6-(п-толилметил)спиро[1,4,7,12,15,18,21,25,28,31-деказатотрицикло[31.3.0.09,12]гексатриаконтан-30,1'-циклопентан]-24-карбоксамид

В сосуд для проведения реакции отвешивали соединение b4 (9,99 мг (8,39 мкмоль)) и добавляли растворитель (2-Ме-ТГФ, 2,0 мл (200 об./мас.)). При перемешивании при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (6,74 мкл (38,6 мкмоль)). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 25°C, к смеси добавляли конденсирующий реагент (РуАОР, 17,2 мг (33,0 мкмоль)) и полученную смесь перемешивали в течение 30 мин. Для получения раствора для анализа с помощью ВЖЖХ реакционную смесь (50 мкл) разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1) (100 мкл).

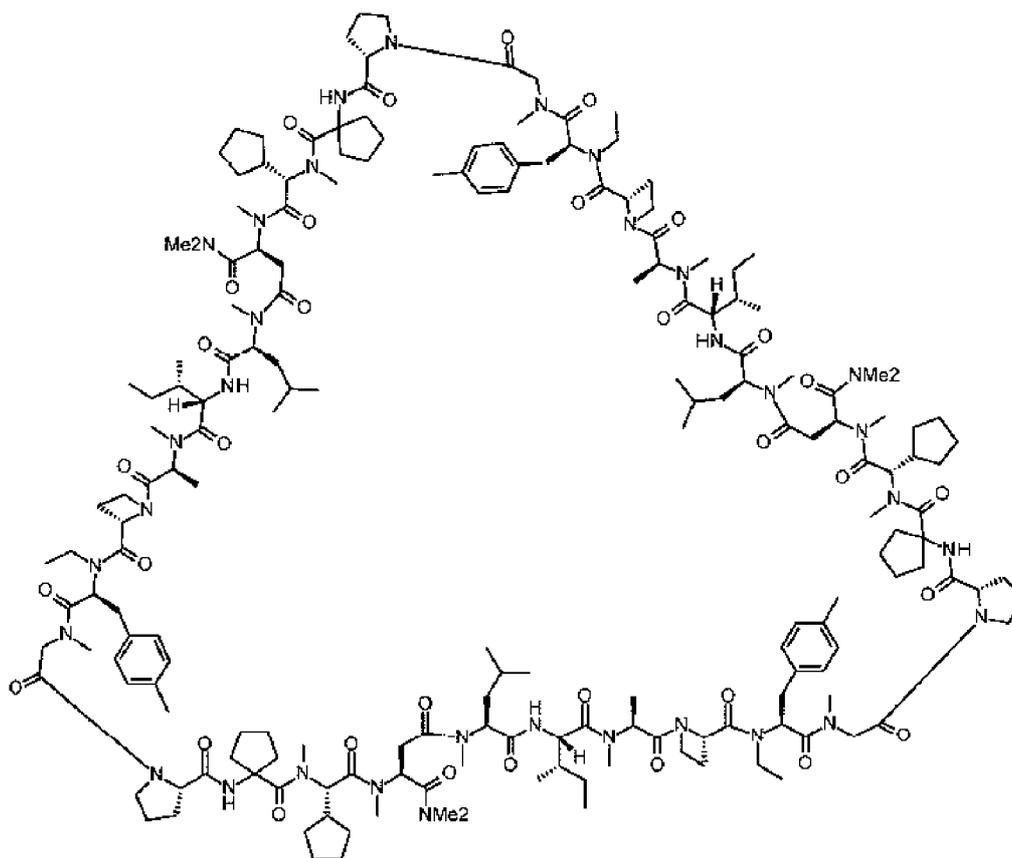
ЖХМС (ИЭР) соединения b5: время удерживания: 16,81 мин, m/z = 1173,51 [M+H]⁺ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).

ЖХМС (ИЭР) циклического димера b6 (ц-димер): время удерживания: 22,36 мин, m/z = 2367,91 [M+Na]⁺ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).

ЖХМС (ИЭР) циклического тримера **b7** (ц-тример): время удерживания: 24,41 мин, $m/z = 1759,26 [M+2H]^{2+}$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).



b6 (циклический димер)



b7 (циклический тример)

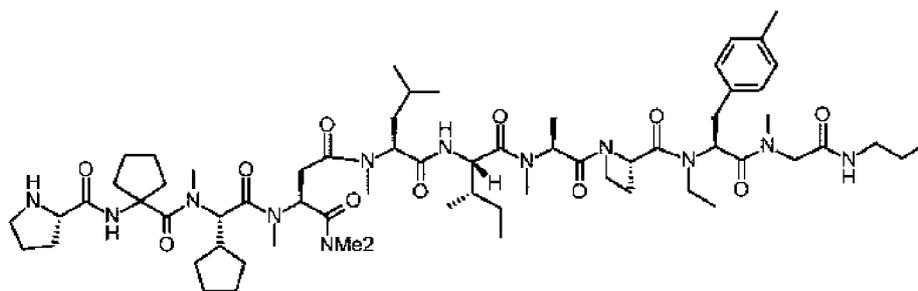
5

С использованием конденсирующих реагентов и растворителей, представленных в приведенной ниже таблице, и путем проведения такой же процедуры, как описанная в эксперименте примера 55-6 (с использованием

РуАОР в качестве конденсирующего реагента и с использованием 2-Ме-ТГФ в качестве растворителя), исследовали расход исходного вещества (ИВ, соединение b5), образование искомого соединения (ИС, соединение b5) и количества образовавшихся побочных продуктов (циклический димер b6 (ц-димер) и циклический тример b7 (ц-тример)) для определения предпочтительных условий проведения реакции. В таблице приведены выраженные в % площади пика для исходного вещества, исходного вещества в форме пропиламида (соединение b8), содержащегося в исходном веществе, искомого соединения, циклического димера и циклического тримера.

10 [Таблица 14]

Конденсирующий реагент	Пример №	Растворитель	Содержания ИВ, ИС, ц-димера и ц-тримера (%)				
			ИВ	ИВ-nPrNH	ИС	ц-димер	ц-тример
ГАТУ	пример 55-1	MeCN	0	0	46	39	15
	пример 55-2	2-Ме-ТГФ	44	26	12	15	3
	пример 55-3	Диметил-карбонат	0	0	35	45	20
	пример 55-4	анизол	51	5	14	24	6
РуАОР	пример 55-5	Диметил-карбонат	0	0	37	44	19
	Пример 55-6	2-Ме-ТГФ	0	0	30	48	23
	пример 55-7	MeCN	0	0	36	47	17
РуOxim	пример 55-8	Диметил-карбонат	0	0	34	46	20
СОМУ	пример 55-9	Диметил-карбонат	0	0	37	46	17
ДМТ-ММ	пример 55-10	Диметил-карбонат	0	0	32	48	21



b8 (пропиламид)

Пример 55-11 (получение путем проводимого по каплям добавления в порядке, обратном использовавшемуся в примере 55-6)

15 В сосуд добавляли соединение b4 (9,89 мг (8,31 мкмоль)) и 2-Ме-ТГФ (0,99 мл (100 об./мас.)) и перемешивали при 50°C в течение 10 мин. После растворения исходного вещества добавляли ДИПЭА (6,67 мкл (38,2 мкмоль)) и реакционную смесь набирали в шприц. В другой сосуд для проведения реакции

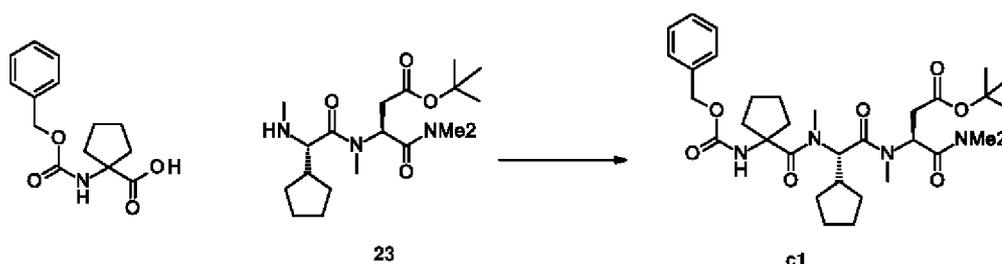
добавляли РуАОР (17,1 мг (32,8 мкмоль)) и 2-Ме-ТГФ (0,99 мл (100 об./мас.)) и при перемешивании при комнатной температуре в течение 3 ч по каплям добавляли содержащийся в шприце раствор. После завершения проводимого по каплям добавления для получения раствора для анализа с помощью ВЖЖХ реакционную смесь (50 мкл) разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1) (100 мкл).

[Таблица 15]

Конденсирующий реагент	Пример №	Растворитель	Содержания ИВ, ИС, ц-димера и ц-тримера (%)				
			ИВ	ИВ-nPrNH	ИС	ц-димер	ц-тример
РуАОР	Пример 55-11	2-Ме-ТГФ	0	0	95	5	0

Пример 56

Синтез соединения c1: трет-Бутил-(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-(бензилоксикарбониламино)циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноат



В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли раствор соединения 23 в 2-Ме-ТГФ (16,006 г, 32,5 мас.%) и его концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в MeCN (10,0 мл) и процедуру концентрирования при пониженном давлении повторяли 3 раза. В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли MeCN (53,9 мл), 1-(((бензилокси)карбонил)амино)циклопентан-1-угольную кислоту (9,604 г) и ДИПЭА (12,7 мл) и перемешивали. Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции устанавливали равной 55°C и к реакционной смеси при перемешивании двумя порциями добавляли ГАТУ (15,257 г) и дополнительно перемешивали в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1), раствор анализировали с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,6% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции

использовали уравнение 2). К реакционной смеси добавляли N-метилимидазол (4,3 мл) и перемешивали в течение 5 мин и после добавления водопроводной воды (27,0 мл) и перемешивания в течение 30 мин внешнюю температуру сосуда для проведения реакции понижали от равной 55°C до равной 25°C и
5 реакцию смесь перемешивали в течение ночи. Раствор реакционной смеси фильтровали через фильтровальную бумагу и остаток промывали смесью MeCN (18,0 мл) и водопроводной воды (9,0 мл). Отфильтрованные кристаллы сушили в вакууме при 40°C в течение 3 ч и получали белое порошкообразное вещество (6,957 г), содержащее соединение с1. Полученные кристаллы растворяли в
10 MeCN и анализировали с помощью ЖХМС (время удерживания соединения с1: 6,914 мин, m/z = 637,30 [M+Na]⁺) при приведенных ниже условиях проведения анализа.

Условия проведения анализа с помощью ЖХ/МС - методика 2

Прибор: Waters ACQUITY UPLC H-Class + ACQUITY QDA

15 Колонка: CAPCELL CORE ADME (OSAKA SODA), 2,1 мм (ВД)×50 мм, 2,7 мкм

Подвижная фаза: 0,05% ТФК/вода (А), 0,05% ТФК/MeCN (В)

Методика элюирования: В) 5% (0 мин) → 100% (10 мин) → 5% (10,1 мин) → 5% (12 мин)

Скорость потока: 0,5 мл/мин

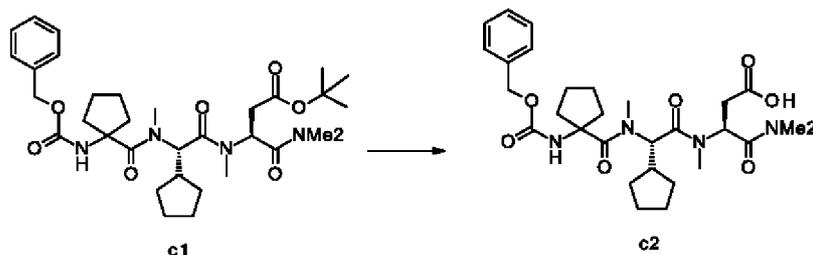
20 Температура колонки: 35°C

Длина волны детектирования: 210 нм (ДФМ)

Полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью КЯМР (выход: 78,32%).

Пример 57

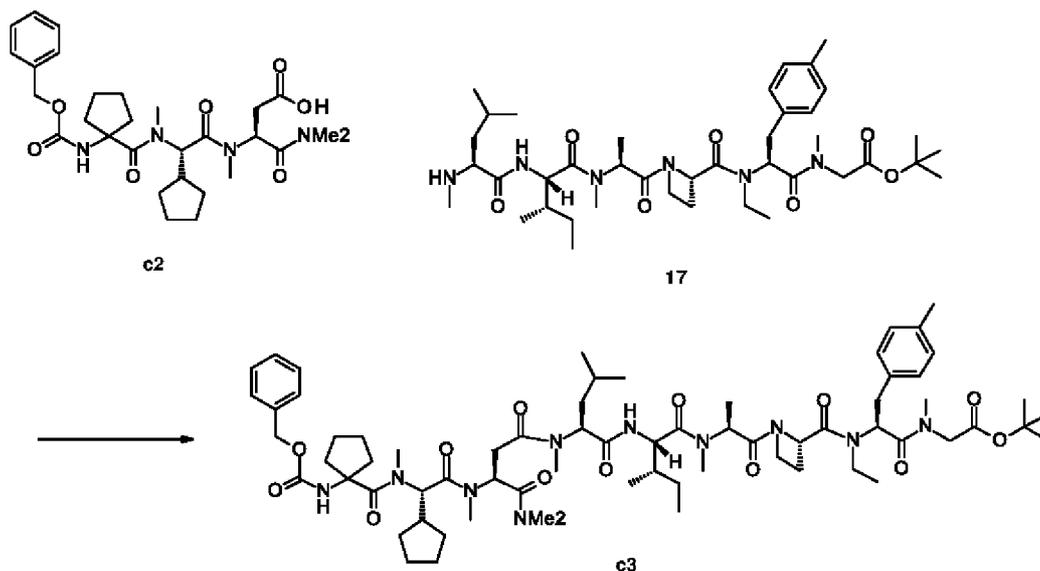
25 Синтез соединения с2: (3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-(Бензилоксикарбониламино)циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутановая кислота



В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре добавляли белое порошкообразное вещество (2,504 г, 95,9 мас.%), содержащее соединение с1, и дихлорметан (12,0 мл), затем добавляли ГМДС (2,07 мл). Сосуд для проведения реакции охлаждали в бане со льдом и при перемешивании добавляли TMSOTf (1,41 мл). Сосуд для проведения реакции извлекали из бани со льдом и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeCN и анализировали с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). Сосуд для проведения реакции охлаждали в бане со льдом, к смеси добавляли дихлорметан (12,0 мл) и 5% водный раствор дикалийгидрофосфата (24,0 мл) и смесь перемешивали в течение 10 мин и органический слой удаляли. После добавления к водному слою 2-Ме-ТГФ (72,0 мл) органический слой промывали 0,5 М водным раствором хлористоводородной кислоты (12,0 мл) и 5% водным раствором хлорида натрия (24,0 мл). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении и получали белое порошкообразное вещество (1,977 г), содержащее соединение с2. Полученное белое порошкообразное вещество растворяли в MeCN и анализировали с помощью ЖХМС (методика 3: время удерживания соединения с2: 3,307 мин, m/z = 581,13 [M+Na]⁺). Полученное белое порошкообразное вещество и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью кЯМР (Выход: 81,51%).

Пример 58

Синтез соединения с3: трет-Бутил-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-(бензилоксикарбониламино)циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]ацетат



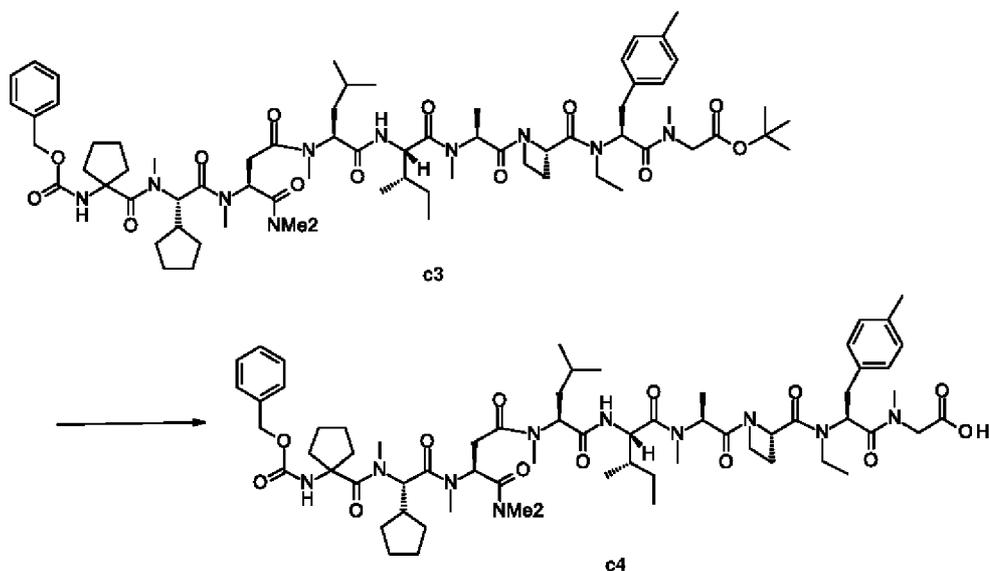
В сосуд для проведения реакции отвешивали соединение **c2** (618,1 мг, 90,0 мас.%) и раствор соединения **17** в 2-Ме-ТГФ (1,22 г, 55,0 мас.%), и добавляли 2-Ме-ТГФ (10,9 мл) и MeCN (1,22 мл). После проводимого при перемешивании при комнатной температуре добавления ДИПЭА (0,885 мл) добавляли ГАТУ (792 мг). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 ч отбирали образец реакционной смеси для приготовления образца (методика 2 приготовления образца) и проводили анализ с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 2). Внешнюю температуру сосуда для проведения реакции понижали до 0°C и к реакционной смеси добавляли N-метилимидазол (72 мкл) и 5% водный раствор карбоната натрия (10 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Водный слой удаляли и органический слой промывали 2,5% водным раствором аммиака (10 мл), 5% водным раствором гидросульфата натрия (10 мл×2) и 5% водным раствором карбоната натрия (10 мл×2). Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 30°C, досуха и получали остаток (выход 1,94 г, 91,2%), содержащий соединение **c3**.

ВЭЖХ: время удерживания: 4,606 мин (условия проведения анализа с помощью ВЭЖХ: методика 1).

Выход: 91,2% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью КЯМР).

Пример 59

Синтез соединения с4: 2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[[1-(Бензилоксикарбониламино)циклопентанкарбонил]метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]уксусная кислота



В сосуд для проведения реакции добавляли остаток (1,41 г, 50,2 мас.%), содержащий соединение с3, который получали в примере 58, и 2-Ме-ТГФ (7,0 мл). После проводимого при перемешивании при комнатной температуре добавления ГМДС (579 мкл) внешнюю температуру понижали до 0°C и по каплям медленно добавляли TMSOTf (394 мкл). Температуру повышали до комнатной температуры и смесь перемешивали в течение 2 ч. Отбирали образец реакционной смеси для приготовления образца (методика 1 приготовления образца) и проводили анализ с помощью ВЭЖХ и устанавливали, что степень превращения при проведении реакции составляла 99,9% или более (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1).

Внешнюю температуру с понижали до 0°C и к реакционной смеси добавляли по каплям 5% водный раствор дикалийгидрофосфата (5,25 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Водный слой удаляли и после проводимой дважды промывки органического слоя дважды 5% водным раствором дикалийгидрофосфата (5,25 мл) и 0,5 М водным раствором

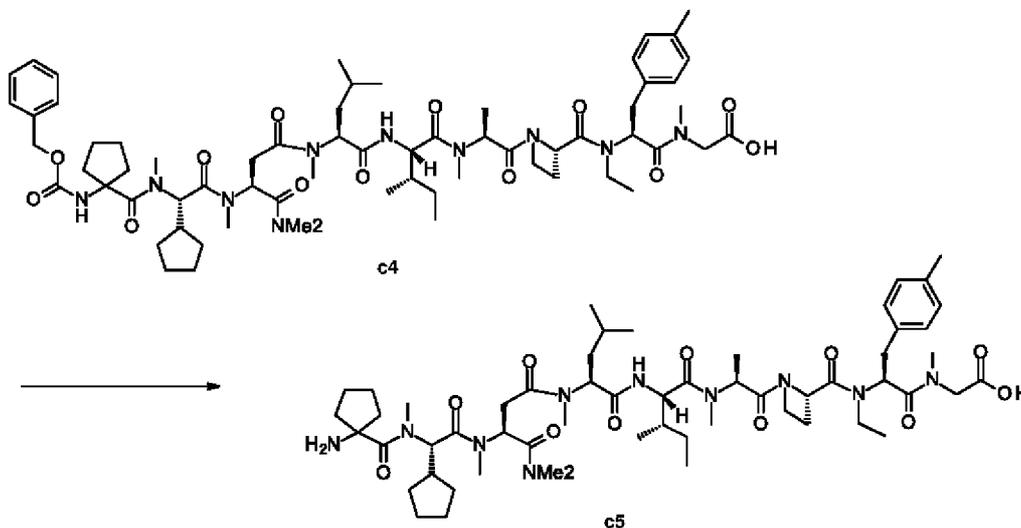
хлористоводородной кислоты (3,5 мл) органический слой дополнительно промывали 5% водным раствором хлорида натрия (7,0 мл) и водный слой удаляли. Полученный органический слой концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре, равной 30°C, досуха и получали остаток (0,85 г, выход 95,2%), содержащий соединение с4.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 3,974 мин, $m/z = 1228,38 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 1).

Выход: 95,2% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО-d₆ и анализировали с помощью КЯМР).

Пример 60

Синтез соединения с5: 2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(2S)-2-[[[(2S,3S)-2-[[[(2S)-2-[[[(3S)-3-[[[(2S)-2-[(1-Аминоциклопентанкарбонил)метиламино]-2-циклопентилацетил]метиламино]-4-(диметиламино)-4-оксобутаноил]метиламино]-4-метилпентаноил]амино]-3-метилпентаноил]метиламино]пропаноил]азетидин-2-карбонил]этиламино]-3-(п-толил)пропаноил]метиламино]уксусная кислота



В сосуд для проведения реакции при комнатной температуре последовательно добавляли соединение с4 (462 мг, 53,5 мас.%), полученное в примере 59, и 2-Ме-ТГФ (2,47 мл). После добавления в сосуд для проведения реакции 5% Pd/C (74,7 мг, содержание воды: 50%), 3 раза проводили дегазирование и продувку водородом и смесь перемешивали в течение 8 ч. Отбирали образец реакционной смеси для приготовления образца (методика 1 приготовления образца) и проводили анализ с помощью ВЭЖХ и устанавливали,

что степень превращения при проведении реакции составляла 99,7% (для расчета степени превращения при проведении реакции использовали уравнение 1). После добавления к реакционной смеси 2-Ме-ТГФ (10 мл) реакционную смесь фильтровали через фильтровальную бумагу и мембранные фильтры и остаток промывали с помощью 2-Ме-ТГФ (5,0 мл×2). Полученный фильтрат

5

концентрировали при пониженном давлении и получали раствор (1,16 г, выход 91,0%), содержащий соединение с5.

ЖХМС (ИЭР): время удерживания: 2,920 мин, $m/z = 1093,88 [M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 1).

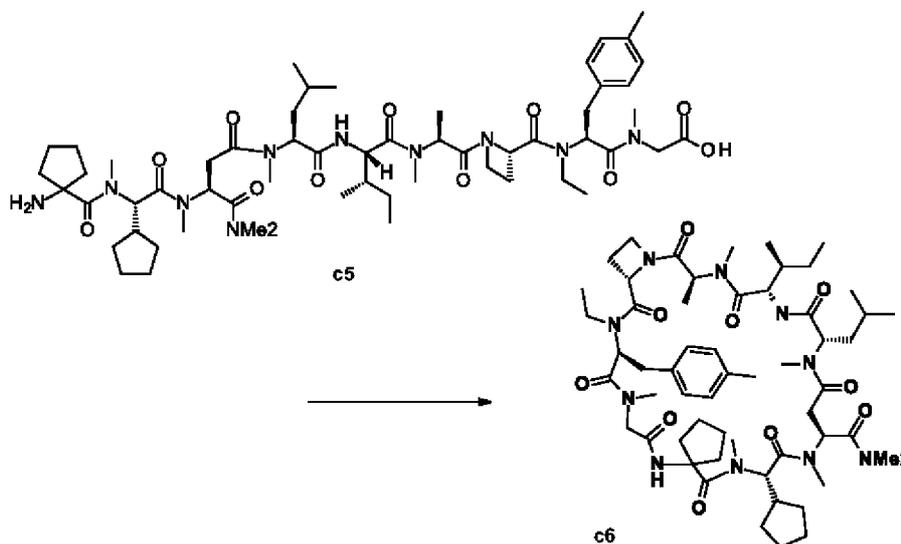
10

Выход: 91,0% (полученный остаток и 3,5-бис(трифторметил)бензойную кислоту растворяли в ДМСО- d_6 и анализировали с помощью КЯМР).

Реакция циклизации соединения с5 (исследование условий проведения реакции, использовавшихся в примере 61)

С использованием соединения с5 в качестве исходного вещества, исследовали конденсирующие реагенты и растворители, использовавшиеся для проведения реакции циклизации с получением соединения с6. За протеканием реакции циклизации следили с помощью ВЭЖХ.

15



Пример 61-1

20

Синтез соединения с6: (3S,6S,9S,13S,16S,25S,28S)-16-Циклопентил-26-этил-9-изобутил-N,N,3,4,10,14,17,23-октаметил-6-[(1S)-1-метилпропил]-2,5,8,11,15,18,21,24,27-нопаохо-25-(п-толилметил)спиро[1,4,7,10,14,17,20,23,26-ноназабицикло[26.2.0]триаконтан-19,1'-циклопентан]-13-карбоксамид

В сосуд для проведения реакции отвешивали соединение с5 (44,19 мг, 21,8 мас.% (8,81 мкмоль)) и после концентрирования досуха добавляли растворитель (MeCN, 1,9 мл (200 об./мас.)). При перемешивании при комнатной температуре добавляли ДИПЭА (7,19 мкл (41,2 мкмоль)). Добавляли конденсирующий
5 реагент (ГАТУ, 12,84 мг, (33,8 мкмоль)) и полученную смесь перемешивали в течение 30 мин. Для получения раствора для анализа с помощью ВЖЖХ реакционную смесь (50 мкл) разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1) (100 мкл),.

ЖХМС (ИЭР) соединения с6: время удерживания: 17,22 мин, $m/z = 1076,38$

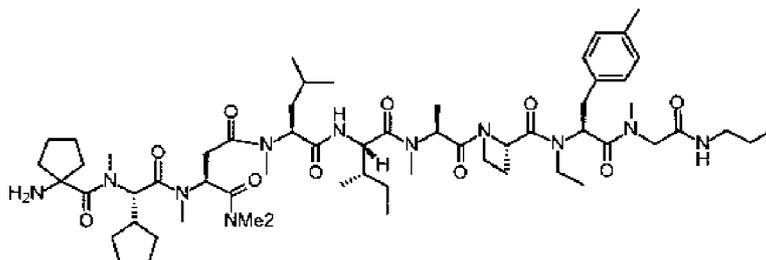
10 $[M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).

ЖХМС (ИЭР) циклического димера с7 (ц-димер): время удерживания: 21,85 мин, $m/z = 2151,42$ $[M+H]^+$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).

ЖХМС (ИЭР) циклического тримера с8: время удерживания: 24,50 мин, $m/z =$
15 $1614,13$ $[M+2H]^{2+}$ (условия проведения анализа с помощью ЖХМС: методика 5).

[Таблица 16]

Конденсирующий реагент	Пример №	Растворитель	Содержания ИВ, ИС, ц-димера и ц-тримера (%)				
			ИВ	ИВ-nPrNH	ИС	ц-димер	ц-тример
ГАТУ	пример 61-1	MeCN	0	0	38	49	14
	пример 61-2	2-Ме-ТГФ	34	35	17	13	2
	пример 61-3	Диметил-карбонат	0	0	38	47	15
РуАОР	пример 61-4	2-Ме-ТГФ	0	0	39	47	15



c9 (пропиламид)

Пример 61-5 (получение путем проводимого по каплям добавления в
5 порядке, обратном использовавшемуся в примере 61-4)

В сосуд отвешивали соединение c5 (45,0 мг, 21,8 мас.% (8,97 мкмоль)) и
после концентрирования досуха добавляли 2-Ме-ТГФ (0,98 мл (100 об./мас.)) и
смесь перемешивали при 50°C в течение 10 мин. После растворения исходного
10 вещества добавляли ДИПЭА (7,21 мкл (41,2 мкмоль)) и реакционную смесь
набирали в шприц. В другой сосуд для проведения реакции добавляли РуАОР
(17,8 мг (34,1 мкмоль)) и 2-Ме-ТГФ (0,98 мл (100 об./мас.)) и при
перемешивании при комнатной температуре в течение 3 ч по каплям добавляли
содержащийся в шприце раствор. После завершения проводимого по каплям
добавления для получения раствора для анализа с помощью ВЖЖХ
15 реакционную смесь (50 мкл) разбавляли смесью MeCN/пропиламин (9:1) (100
мкл).

[Таблица 17]

Конденсирующий реагент	Пример №	Растворитель	Содержания ИВ, ИС, ц-димера и ц-тримера (%)				
			ИВ	ИВ-nPrNH	ИС	ц-димер	ц-тример
РуАОР	Пример 61-5	2-Ме-ТГФ	0	0	89	11	0

[Применение в промышленности]

Настоящее изобретение относится к способам получения фармацевтически полезных циклических пептидных соединений или солей, или сольватов этих соединений и к способам получения пептидных соединений, которые
5 используют для получения циклических пептидных соединений или солей, или сольватов этих циклических соединений.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения циклического пептидного соединения или его соли, или его сольвата, проводимый по жидкофазной методике, включающий
5 связывание N-концевого аминокислотного остатка и C-концевого аминокислотного остатка, содержащихся в пептидном соединении, в растворителе (растворитель А), который включает один или большее количество растворителей, выбранных из группы, состоящей из следующих: один или большее количество несмешивающихся с водой растворителей, один или
10 большее количество растворимых в воде алкилнитрилов и один или большее количество растворимых в воде простых эфиров.

2. Способ по п. 1, где N-концевой аминокислотный остаток и C-концевой аминокислотный остаток связаны амидной связью или связью, выбранной из
15 числа следующих: $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{CH}_2)_m-$, $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{O})(\text{CH}_2)_m-$ или $-(\text{CH}_2)_n\text{S}(\text{O})_2(\text{CH}_2)_m-$, где n и m все независимо равны 1 или 2.

3. Способ по п. 1 или 2, где циклическое пептидное соединение содержит от 8 до 20 аминокислотных остатков и где по меньшей мере один из
20 аминокислотных остатков является неприродным аминокислотным остатком.

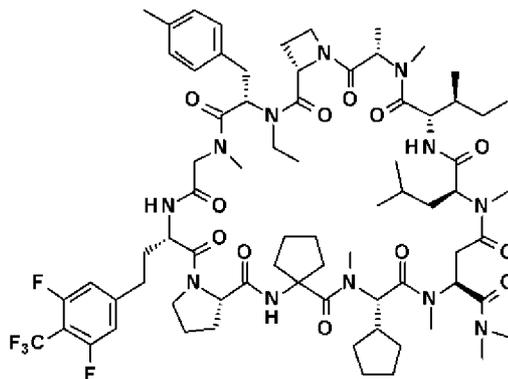
4. Способ по любому из п.п. 1-3, где циклическое пептидное соединение содержит по меньшей мере один N-замещенный неприродный аминокислотный остаток.
25

5. Способ по любому из п.п. 1-4, где циклическое пептидное соединение содержит по меньшей мере один не являющийся N-замещенным неприродный аминокислотный остаток.

30 6. Способ по любому из п.п. 1-5, где C-концевой аминокислотный остаток или N-концевой аминокислотный остаток, или они оба являются аминокислотными остатками, которые не содержат асимметрический атом углерода в положении α -углеродного атома карбоксигруппы.

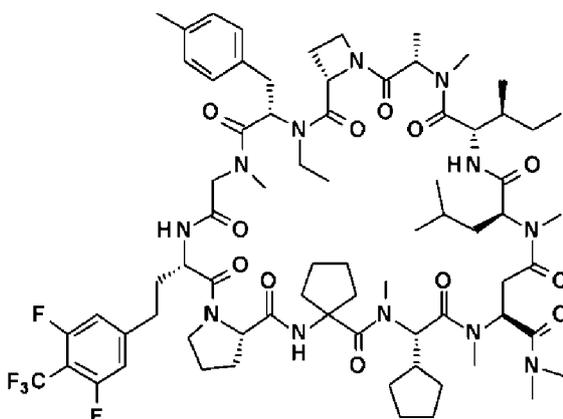
7. Способ по любому из п.п. 1-6, где циклическое пептидное соединение или его соль, или его сольват представляет собой сольват циклического пептидного соединения.

5 8. Способ по любому из п.п. 1-7, где циклическое пептидное соединение описывается приведенной ниже формулой:



9. Способ по любому из п.п. 1-8, дополнительно включающий выделение и/или очистку циклического пептидного соединения путем кристаллизации с получением кристалла циклического пептидного соединения.

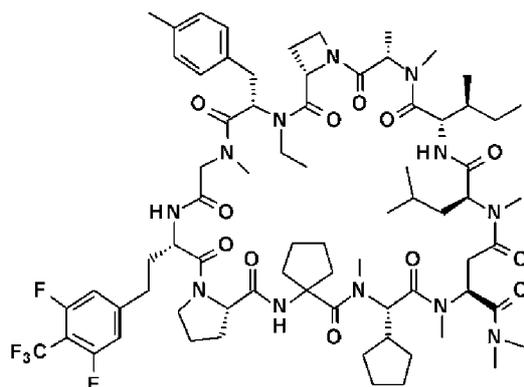
10. Способ по п. 9, где кристалл циклического пептидного соединения представляет собой кристалл несольватированной формы или кристалл сольвата циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



11. Способ по п. 10, где кристалл сольвата циклического пептидного соединения представляет собой кристалл гидрата.

12. Способ по п. 11, где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 7 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$,
5 $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ (\pm 0,2^\circ)$.

13. Кристалл циклического пептидного соединения, описывающегося приведенной ниже формулой:



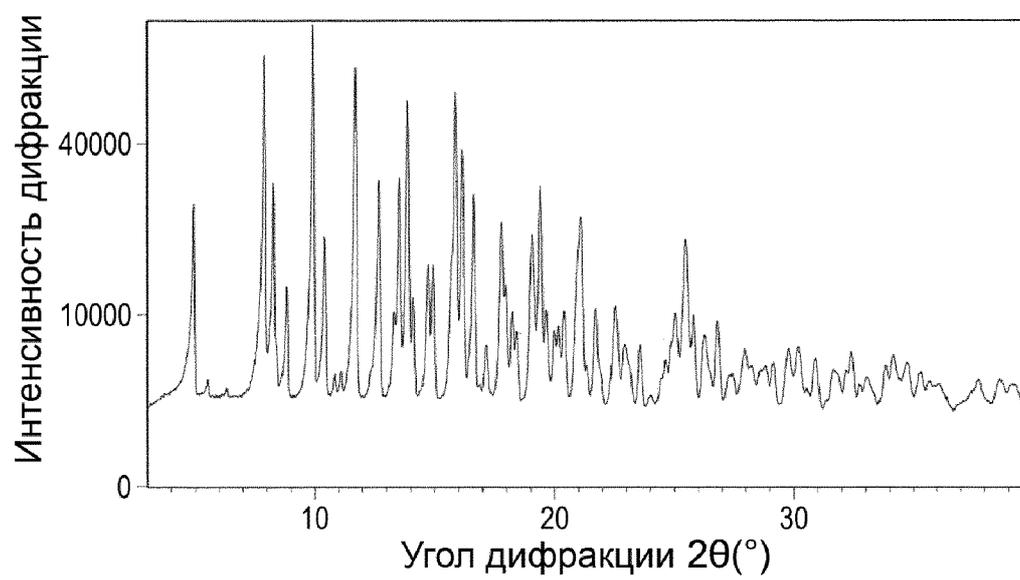
10 или его соли, или его сольвата.

14. Кристалл по п. 13, где кристалл выбран из группы, состоящей из следующих: кристалл несольватированной формы, кристалл сольвата, кристалл соли и кристалл сольвата соли.

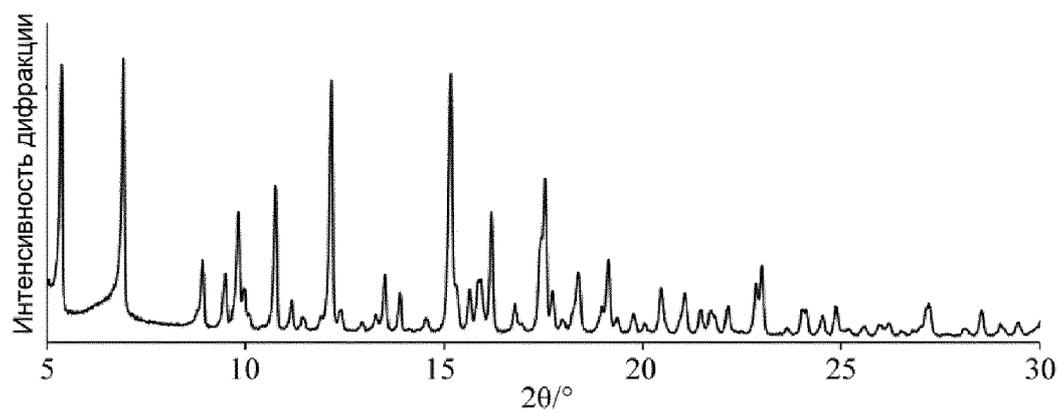
15

15. Кристалл по п. 14, где кристаллом сольвата является кристалл гидрата.

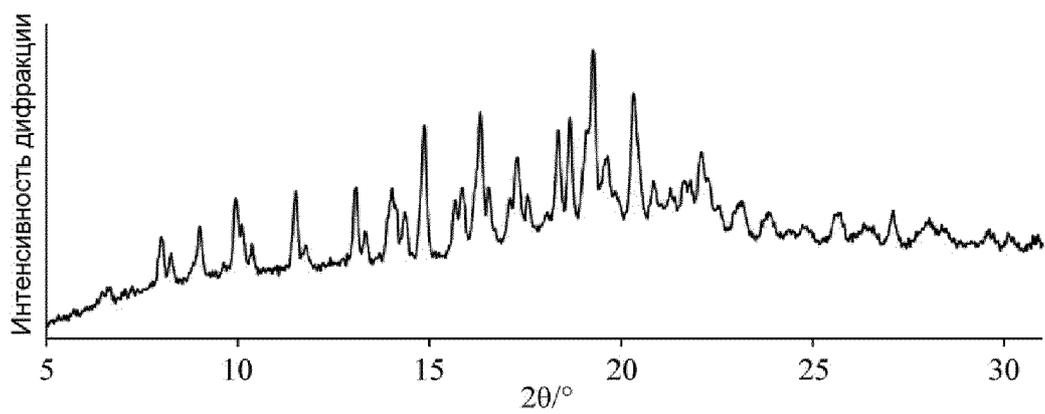
16. Кристалл по п. 15, где кристаллом гидрата является кристалл формы С, характеризующийся пиками на порошковой рентгенограмме, включающими 7
20 пиков при углах дифракции (значениях 2θ), выбранных из группы, состоящей из следующих: $4,964^\circ$, $7,921^\circ$, $8,296^\circ$, $8,855^\circ$, $9,956^\circ$, $10,435^\circ$, $11,729^\circ$, $12,704^\circ$,
 $13,552^\circ$, $13,901^\circ$, $15,895^\circ$, $16,643^\circ$ и $17,813^\circ (\pm 0,2^\circ)$.



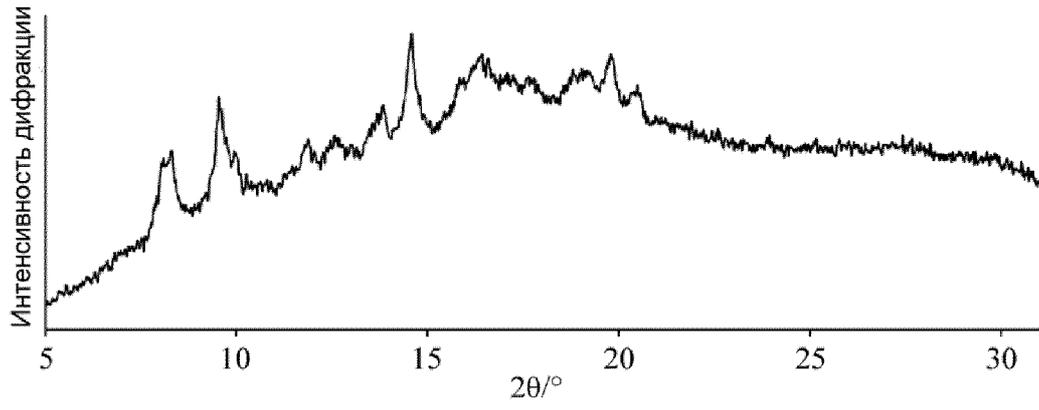
Фиг. 1



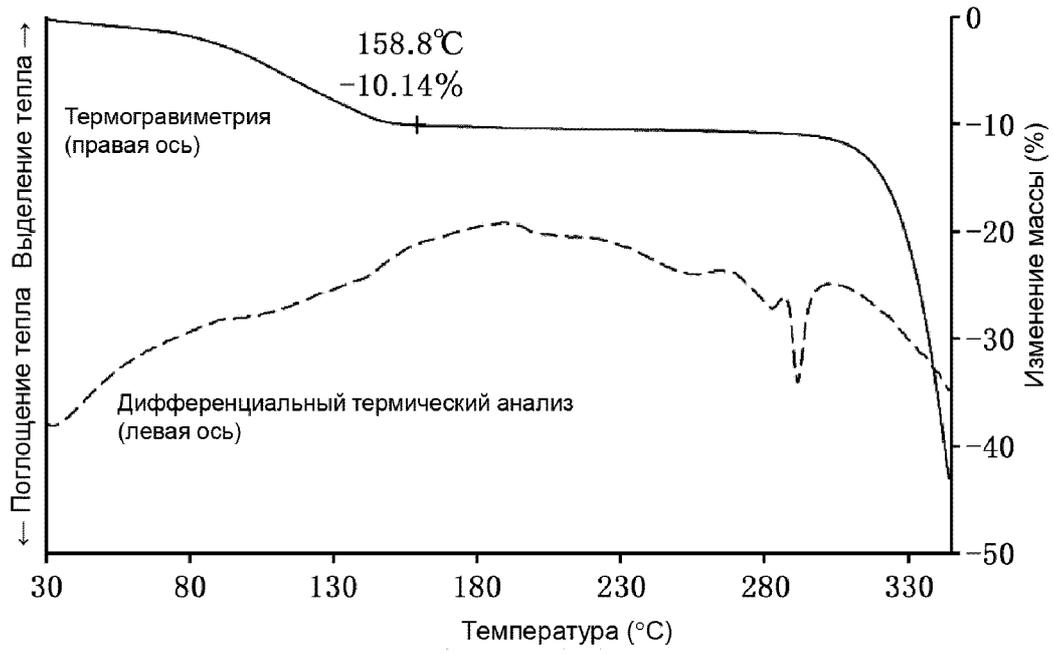
Фиг. 2



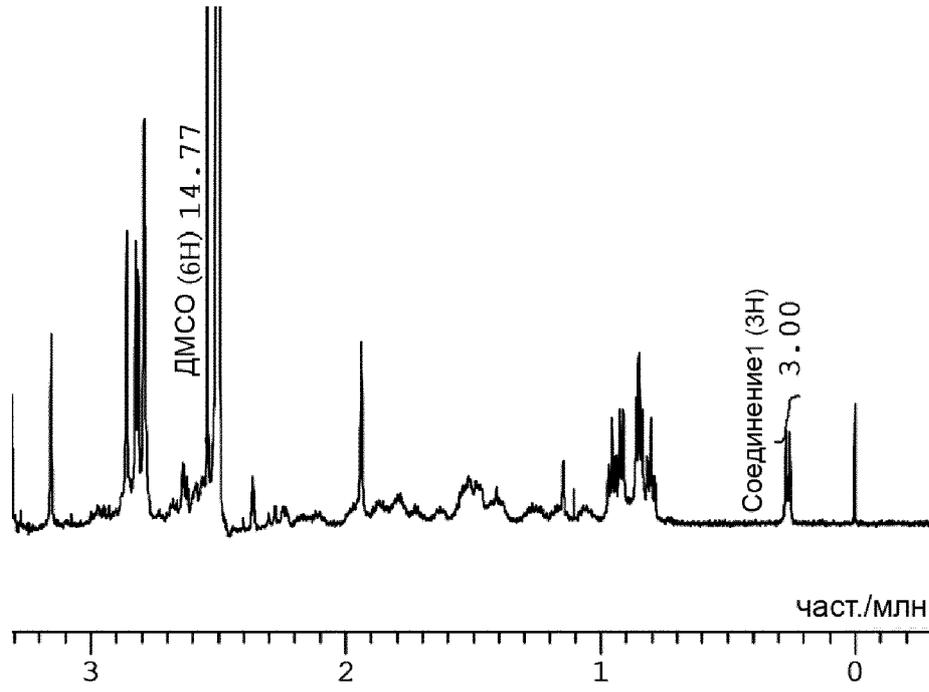
Фиг. 3



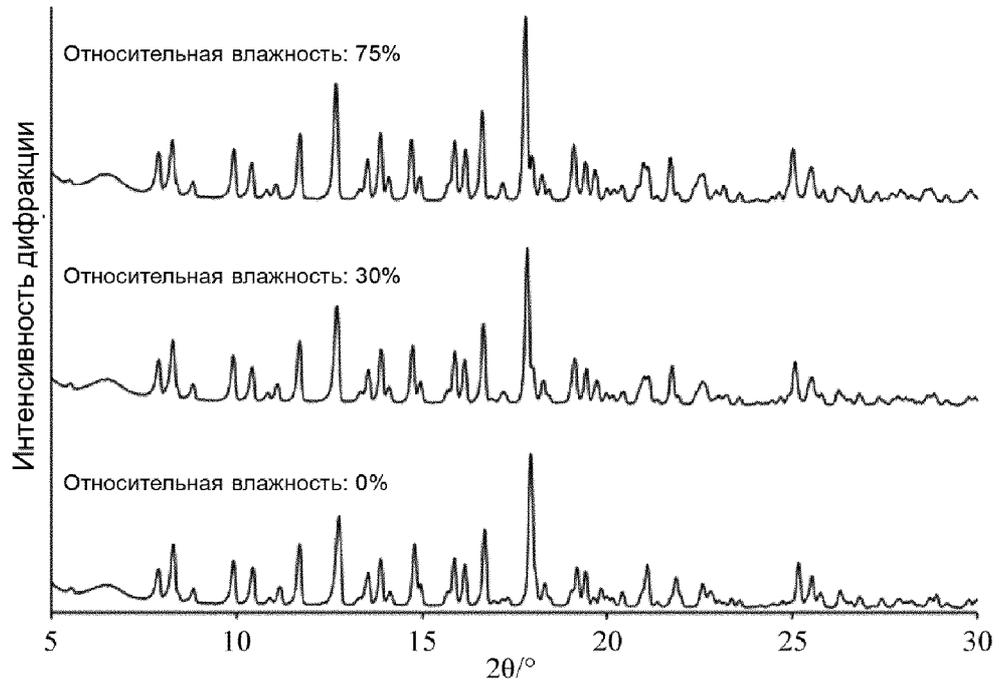
Фиг. 4



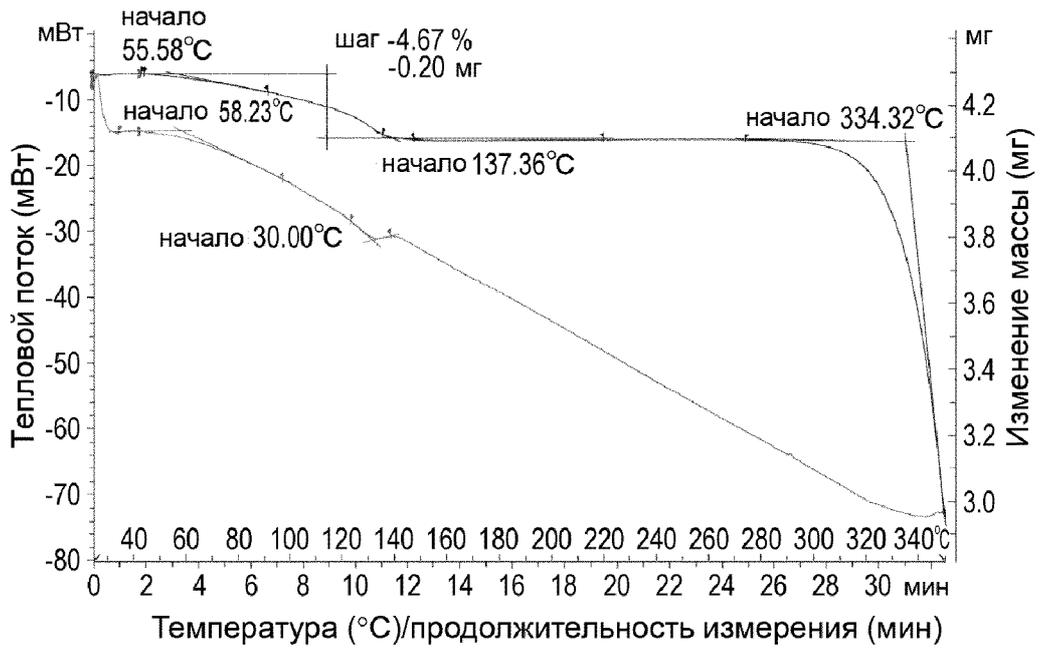
Фиг. 5



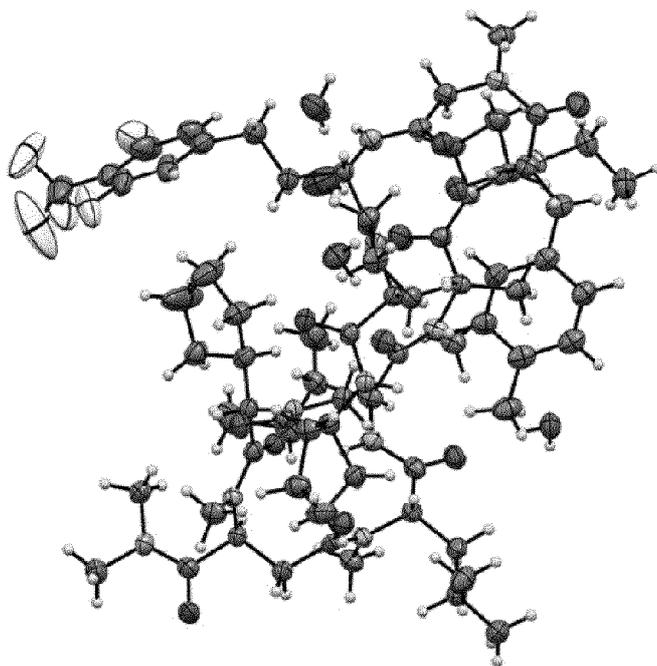
Фиг. 6



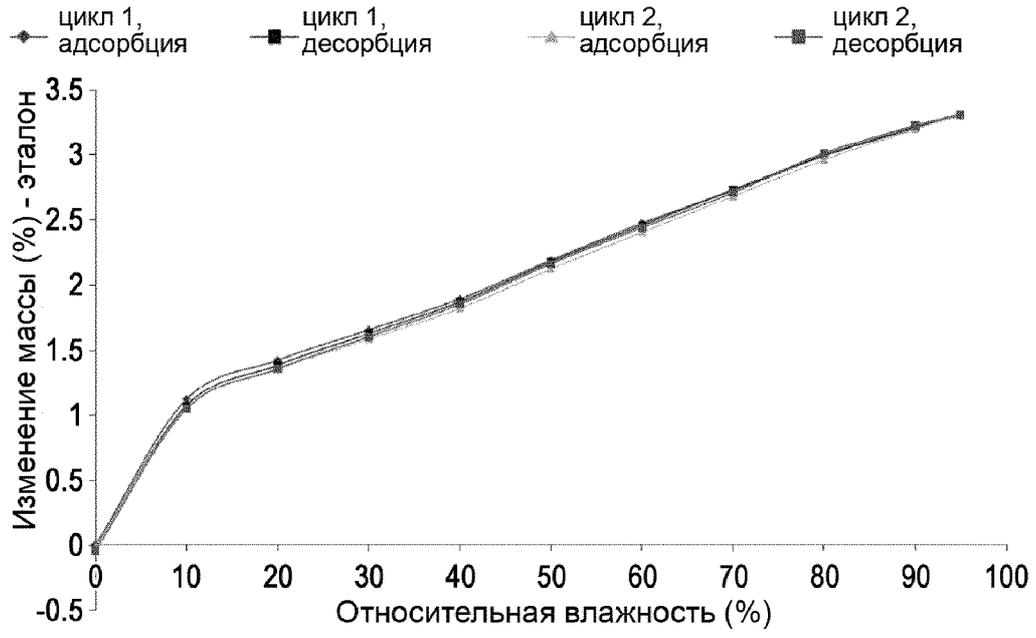
Фиг. 7



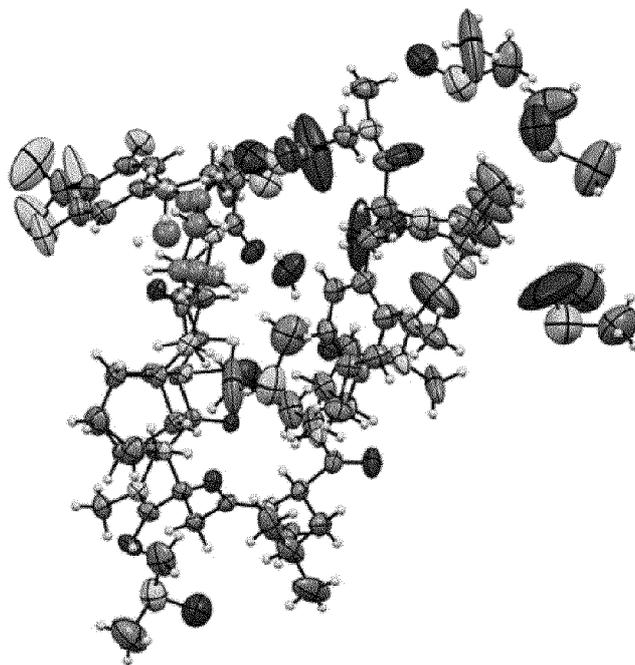
Фиг. 8



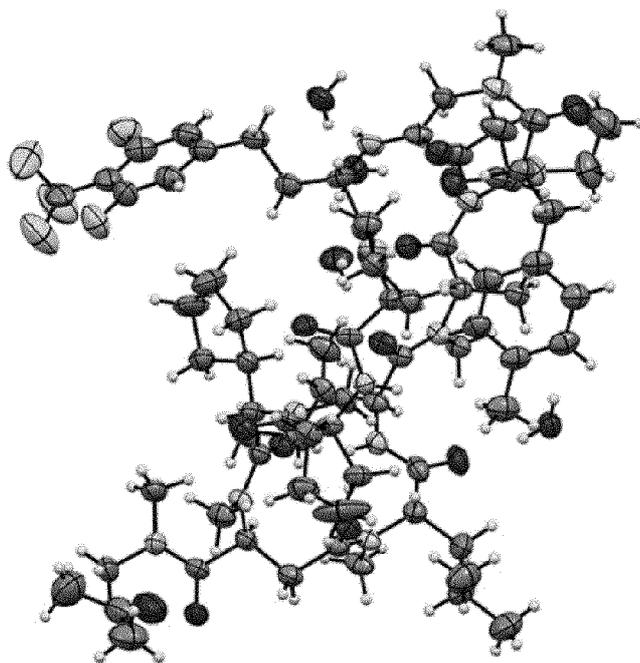
Фиг. 9



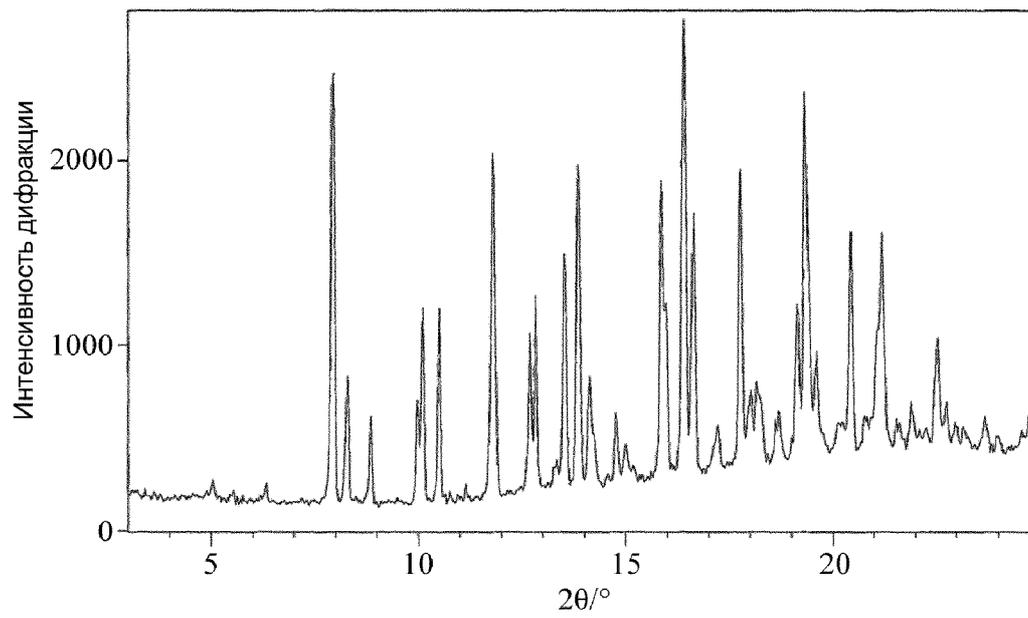
Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13