

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 034601

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.02.25

(51) Int. Cl. C07F 5/02 (2006.01)

(21) Номер заявки
201791835

(22) Дата подачи заявки
2007.08.06

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БОРОНОВЫХ КИСЛОТ

(43) 2018.05.31

(56) WO-A2-2005021558
US-A1-20020173488
WO-A1-2002059131
EA-A1-200601795

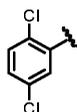
(62) 201070247; 2007.08.06

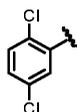
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
МИЛЛЕННИУМ
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

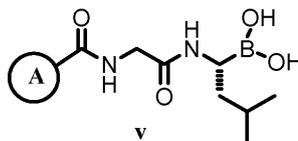
(72) Изобретатель:
Олхава Эдвард Дж., Данка Михаела Д.
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении предложены новые способы получения бороновых кислот формулы (v), где кольцо



А представляет собой . Бороновые кислоты являются подходящими для применения в качестве ингибиторов протеасом.



034601 B1

034601 B1

034601

B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к новому способу получения бороновых кислот, подходящим для применения в качестве ингибиторов протеасом.

Уровень техники

Бороновые кислоты проявляют целый ряд фармацевтически полезных видов биологической активности. В патенте США 4499082 (1985), Шенви (Shenvi) с соавторами, показано, что пептидные бороновые кислоты являются ингибиторами некоторых протеолитических ферментов. Кеттнером (Kettner) и Шенви (Shenvi) в патентах США номер 5187157 (1993), 5242904 (1993) и 5250720 (1993) предложен класс пептидных бороновых кислот, которые ингибируют трипсин-подобные протеазы. Климаном (Kleeman) с соавторами в патенте США номер 5169841 (1992) предложены модифицированные по N-концу пептидные бороновые кислоты, ингибирующие действие ренина. Киндером (Kinder) с соавторами в патенте США номер 5106948 (1992) указано, что некоторые соединения бороновых кислот ингибируют рост раковых клеток. Баховчиным (Bachovchin) с соавторами в публикации международной заявки WO 07/0005991 описаны соединения пептидных бороновых кислот, ингибирующие активирующий фибробласты белок.

Бороновые кислоты являются многообещающими ингибиторами протеасомы, которая представляет собой мультикаталитическую протеазу, ответственную за большую часть процессов внутриклеточного обновления белков. Адамсом (Adams) с соавторами в патенте США номер 5780454 (1998) описаны пептидные бороновые эфиры и кислоты, подходящие для применения в качестве ингибиторов протеасом. В этой работе также описано применение бороновых эфиров и кислот для уменьшения скорости распада мышечных белков, уменьшения активности NF-κB в клетке, уменьшения скорости распада белка p53 в клетке, подавления распада циклинов в клетке, подавления роста раковых клеток и ингибирования NF-κB-зависимой клеточной адгезии. Фуретом (Furet) с соавторами в публикации WO 02/096933, Четэржи (Chatterjee) с соавторами в публикации WO 05/016859 и Бернадина (Bernadini) с соавторами в публикациях WO 05/021558 и WO 06/08660 предложены дополнительные бороновые эфиры и кислоты, которые, как сообщалось, обладают ингибиторной активностью по отношению к протеасомам.

В работе Кишановера (Ciechanover), Cell, 79: 13-21 (1994), указано, что протеасома представляет собой протеолитический компонент убиквитин-протеасомного пути, в котором белки соединяются с множеством молекул убиквитина, что приводит к последующему разложению указанных белков. Кишановером также указано, что убиквитин-протеасомный путь играет ключевую роль в целом ряде важных физиологических процессов. В работе Риветта (Rivett) с соавторами, Biochem. J. 291:1 (1993), указано, что протеасома проявляет трипсиновую, химотрипсиновую и пептидил-глутамилпептидазную активность. Каталитическое ядро протеасомы 26S составляет протеасома 20S. МакКормаком (McCormack) с соавторами, Biochemistry 37:7792 (1998), описан целый ряд пептидных субстратов, включая Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC, Z-Leu-Leu-Arg-AMC и Z-Leu-Leu-Glu-2NA, где Suc представляет собой N-сукцинил, AMC представляет собой 7-амино-4-метилкумарин, а 2NA представляет собой 2-нафтиламин, которые расщепляются протеасомой 20S.

Ингибирование протеасом представляет собой важную новую стратегию лечения рака. Кингом (King) с соавторами, Science 274:1652-1659 (1996), показано, что убиквитин-протеасомный путь играет важную роль в регуляции клеточного кольца, росте новообразований и метастазировании. Авторами было показано, что ряд ключевых регуляторных белков, включая циклины и циклин-зависимые киназы p21 и p27^{KSP1}, непрерывно разлагается в ходе протекания клеточного кольца по убиквитин-протеасомному пути. Своевременное разложение этих белков требуется для продвижения клетки по клеточному кольцу и ее митотического деления.

Кроме того, убиквитин-протеасомный путь необходим для регуляции транскрипции. В работе Паломбеллы (Palombella) с соавторами, Cell, 78:773 (1994), показано, что активация транскрипционного фактора NF-κB регулируется опосредованным протеасомами разложением ингибиторного белка IκB. В свою очередь, NF-κB играет центральную роль в регуляции генов, участвующих в иммунных и воспалительных ответах. В работе Рида (Read) с соавторами, Immunity 2:493-506 (1995), показано, что убиквитин-протеасомный путь необходим для экспрессии молекул клеточной адгезии, таких как E-селектин, ICAM-I и VCAM-I. В работе Цеттера (Zetter), Seminars in Cancer Biology 4:219-229 (1993), показано, что молекулы клеточной адгезии участвуют в метастазировании опухолей и ангиогенезе in vivo, направляя адгезию и экстравазацию опухолевых клеток в сосудистую систему и из нее к удаленным тканям внутри организма. Кроме того, Бегом (Beg) и Балтимором (Baltimore), Science 274:782 (1996), показано, что NF-κB представляет собой противоапоптотический контролирующий фактор, и ингибирование активации NF-κB делает клетки более чувствительными к воздействиям окружающей среды и действию цитотоксических агентов.

Ингибитор протеасом VELCADE® (бортезомиб; N-2-пиразинкарбонил-L-фенилаланин-L-лейцинбороновая кислота) представляет собой первый ингибитор протеасом, официально разрешенный к применению. В работе Митсиадез (Mitsiades) с соавторами, Current Drug Targets, 7:1341 (2006), приведен обзор клинических исследований, в результате которых было получено разрешение на применение бор-

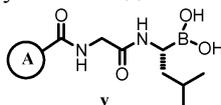
тезомеба для лечения пациентов со множественной миеломой, которые получали по меньшей мере один известный ранее лекарственный препарат. Фишером (Fisher) с соавторами, *J. Clin. Oncol.*, 30:4867, описано международное многоцентровое клиническое исследование II фазы, подтверждающее активность бортезомиба у пациентов с рецидивирующей или рефракторной лимфомой из клеток мантийной зоны. В работах Ишии (Ishii) с соавторами, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 7:359 (2007), и Роккаро (Rossaro) с соавторами, *Curr. Pharm. Biotech.*, 7:1341 (2006), обсуждается ряд молекулярных механизмов, которые могут вносить вклад в противоопухолевую активность бортезомиба.

Как видно из приведенных выше источников, протеасома представляет собой важную мишень для терапевтического вмешательства. Следовательно, в настоящее время по-прежнему существует необходимость в создании новых и/или улучшенных ингибиторов протеасом.

Описание изобретения

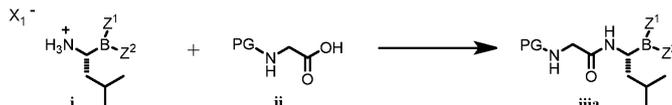
В настоящем изобретении предложены способы получения бороновых кислот, являющиеся эффективными ингибиторами протеасомы. Указанные соединения подходят для подавления активности протеасом *in vitro* и *in vivo* и являются особенно подходящими для лечения различных заболеваний, связанных с пролиферацией клеток.

Изобретение относится к способу получения соединения формулы (v)



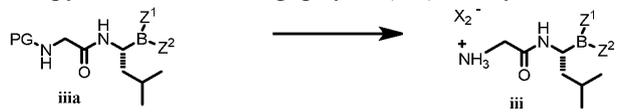
где кольцо А представляет собой включающий;

(1) взаимодействие соединения формулы (i) с соединением формулы (ii) с получением соединения формулы (iiiа)

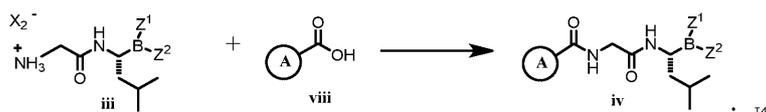


где PG представляет собой защитную группу, выбранную из ацильной группы и уретановой группы;

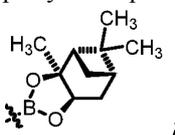
(2) удаление защитной группы соединения формулы (iiiа) с получением соединения формулы (iii)



(3) взаимодействие соединения формулы (iii) с соединением формулы (viii) с получением соединения формулы (iv)

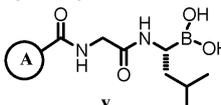


(4) удаление защитной группы соединения формулы (iv) с получением соединения формулы (v); где Z¹ и Z² вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют



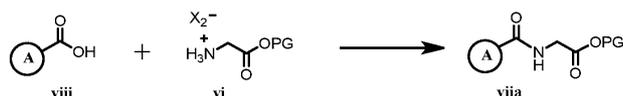
где X₁⁻ представляет собой CF₃CO₂⁻ и X₂⁻ представляет собой Cl⁻.

Изобретение также относится к способу получения соединения формулы (v)



где кольцо А представляет собой включающий;

(1а) взаимодействие соединения формулы (viii) с соединением формулы (vi) с получением соединения формулы (viiа)

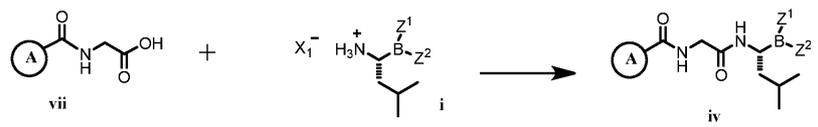


где PG представляет собой защитную группу, выбранную из ацильной группы и уретановой группы;

(2a) удаление защитной группы соединения формулы (viiia) с получением соединения формулы (vii);

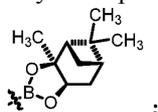


(3a) взаимодействие соединения формулы (vii) с соединением формулы (i) с получением формулы (iv)



и

(4) удаление защитной группы соединения формулы (iv) с получением соединения формулы (v), где Z^1 и Z^2 вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют



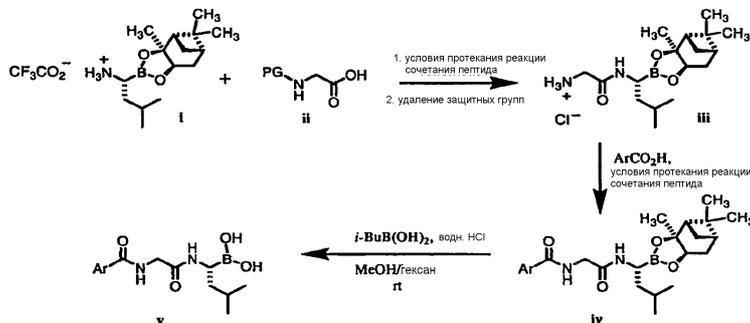
где X_1^- представляет собой $CF_3CO_2^-$ и X_2^- представляет собой Cl^- .

В настоящем описании термин "бороновая кислота" относится к химическому соединению, содержащему фрагмент $B(OH)_2$. В некоторых вариантах реализации, бороновые кислоты могут образовывать олигомерные ангидриды путем дегидратации фрагмента бороновой кислоты. Например, Снайдером (Snyder) с соавторами, J. Am. Chem. Soc. 80:3611 (1958), описаны олигомерные арилбороновые кислоты.

Общая методология синтеза

Способ получения соединения формулы (v) представлен на схеме 1 ниже.

Схема 1

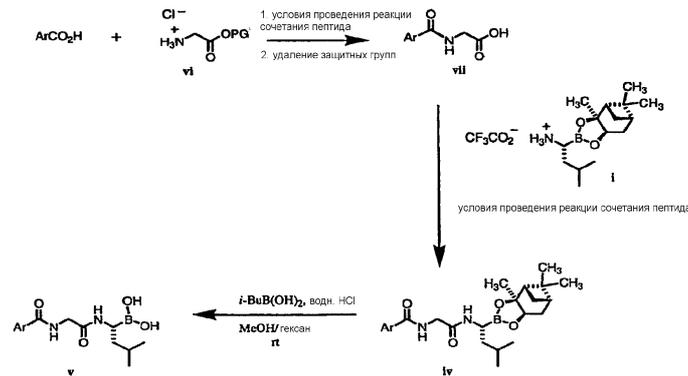


Реакция сочетания соединения (i) с N-защищенным глицином (ii) с последующим удалением N-концевых защитных групп обеспечивает получение соединения (iii). Примеры подходящих защитных групп (PG) включают, без ограничения, ацильные защитные группы, например, формил, ацетил (Ac), сукцинил (Suc) и метоксисукцинил; и уретановые защитные группы, например, трет-бутоксикарбонил (Boc), бензилоксикарбонил (Cbz) и флуоренилметоксикарбонил (Fmoc). Реакцию сочетания пептида можно осуществить путем предварительного превращения фрагмента карбоновой кислоты в составе соединения (ii) в активированный сложный эфир, например, O-(N-гидроксисукцинимидный) эфир с последующей обработкой соединением (i). В качестве альтернативы, активированный эфир можно получить *in situ* путем приведения карбоновой кислоты в контакт с агентом, применяемым в реакции сочетания пептида. Примеры подходящих агентов, применяемых в реакции сочетания пептида, включают, без ограничения, карбодиимидные агенты, например, дициклогексилкарбодиимид (DCC) или 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид (EDC); фосфониевые агенты, например, гексафторфосфат бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (BOP); и урониевые агенты, например, тетрафторборат O-(1H-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония (TBTU).

Затем проводили реакцию сочетания соединения (iii) с замещенной бензойной кислотой ($ArCO_2H$) с получением соединения (iv). Условия проведения реакции сочетания пептида, описанные выше для реакции сочетания соединений (i) и (ii), также подходят для проведения реакции сочетания соединения (iii) с $ArCO_2H$. Удаление защитных групп из фрагмента бороновой кислоты затем приводит к образованию соединения (v). Этап удаления защитных групп предпочтительно осуществляют путем переэтерифика-

ции в двухфазной смеси, содержащей бороновый эфир (iv), органический акцептор бороновой кислоты, низший алканол, C₅₋₈ углеводородный растворитель и водную минеральную кислоту.

Схема 2



В качестве альтернативы, очередность проведения реакций сочетания можно обратить, как показано на схеме 2. Таким образом, O-защищенный глицин (vi) сначала подвергают сочетанию с замещенной бензойной кислотой (ArCO₂H), а затем эфир гидролизуют с получением соединения (vii). Затем проводят реакцию сочетания с соединением (i) и удаление защитных групп из бороновой кислоты, как описано выше для схемы 1, с получением соединения (v).

Для более полного понимания настоящего изобретения далее приведены следующие примеры получения и проведения исследований. Эти примеры иллюстрируют получение или исследование конкретных соединений и никоим образом не ограничивают настоящее изобретение.

Примеры

Сокращения:

DCM - метилхлорид;

DIEA - диизопропилэтиламин;

EDCI - гидрохлорид N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодимида;

EtOAc - этилацетат;

ч - часы;

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография;

TBTU - тетрафторборат орто-бензотриазол-1-ил-N,N',N'-тетраметилурония;

HOBT - гидрат 1-гидроксисбензтриазола;

ЖХ-МС - жидкостная хроматография - масс-спектрометрия;

мин - минуты;

tr - время удерживания из спектров диодной матрицы.

Аналитические методы ЖХ-МС

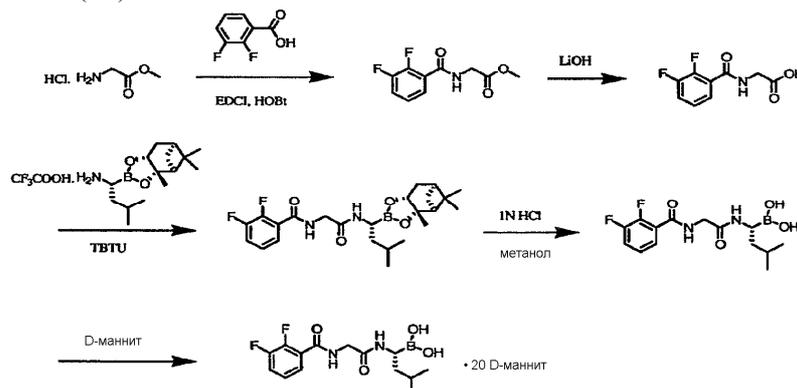
Спектры получали на колонке Symmetry C18 - 3,5 мкм -4,6×50 мм, используя следующий градиент:

Растворитель А: 2% изопропилового спирта, 98% воды, 10 mM NH₄OAc.

Растворитель В: 75% ацетонитрила, 25% метанола, 10 mM NH₄OAc.

Время [мин]	Расход [мл/мин]	% растворителя В
0,0	1,0	5,0
3,5	1,0	100,0
4,9	1,0	100,0
5,0	1,0	5,0

Пример 1. Синтез [(1R)-1-({[(2,3-дифторбензил)амино]ацетил}амино)-3-метилбутил)бороновой кислоты · 20 D-маннита (I-1)



Этап 1. Метил[(2,3-дифторбензоил)амино]ацетат.

К раствору 2,3-дифторбензойной кислоты (0,190 г, 1,2 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) добавляли гидрохлорид сложного глицинметилового эфира (0,150 г, 1,2 ммоль), HOBT (0,162 г, 1,2 ммоль), DIEA (0,209 мл, 1,2 ммоль) и EDCI (0,252 г, 1,3 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия, и продукт разделяли в DCM. Отделение органического слоя, а затем удаление растворителя позволяло получить метил[(2,3-дифторбензоил)амино]ацетат, который использовали на следующем этапе без очистки.

Этап 2. [(2,3-Дифторбензоил)амино]уксусная кислота.

К раствору метил[(2,3-дифторбензоил)амино]ацетата (0,250 г, 1,1 ммоль) в метаноле (7 мл) добавляли гидроксид лития (0,053 г, 2,2 ммоль) и воду (3 мл). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Смесь разбавляли водой (20 мл) и подкисляли 1N HCl (5 мл). Продукт разделяли в DCM/метаноле (4:1). Органический слой сушили над сульфатом натрия и растворитель удаляли с получением [(2,3-дифторбензоил)амино]уксусной кислоты, которую использовали на следующем этапе без очистки.

Этап 3. 2,3-Дифтор-N-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aR,4R,6R,7aS)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиоксаборол-2-ил]бутил)амино)-2-оксоэтил]бензамид.

К раствору [(2,3-дифторбензоил)амино]уксусной кислоты (0,205 г, 0,95 ммоль) в диметилформамиде (10 мл) добавляли TBTU (0,337 г, 1,0 ммоль) и (1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиоксаборол-2-ил]бутан-1-амин в виде трифторацетатной соли (0,362 г, 0,95 ммоль). Смесь оставляли охлаждаться до 0°C и добавляли по каплям DIEA (0,498 мл, 2,9 ммоль). Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакцию гасили водой (100 мл) и продукт разделяли в DCM. Органический слой сушили над сульфатом натрия и удаляли растворитель с получением 2,3-дифтор-N-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aR,4R,6R,7aS)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиоксаборол-2-ил]бутил)амино)-2-оксоэтил]бензамида.

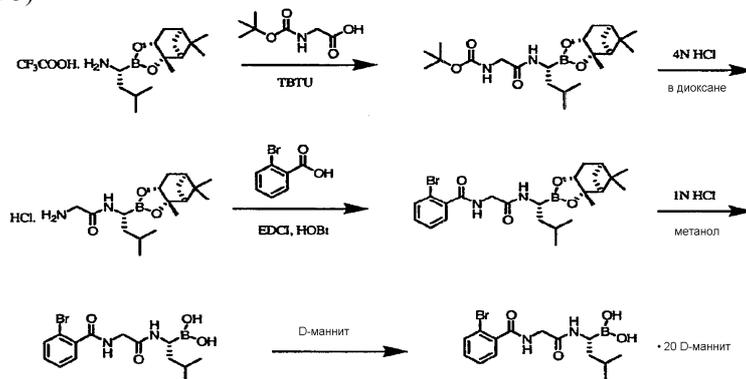
Этап 4. [(1R)-1-((2,3-Дифторбензоил)амино)ацетил]амино)-3-метилбутил]бороновая кислота.

К раствору 2,3-дифтор-N-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aR,4R,6R,7aS)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиоксаборол-2-ил]бутил)амино)-2-оксоэтил]бензамида (0,536 г, 1,2 ммоль) в метаноле/1N HCl (1:1) (1,5 мл) добавляли гептанол (1 мл) и изобутилборат (0,207 г, 2,0 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Слой гептанола отделяли и слой метанол/HCl концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой с получением [(1R)-1-((2,3-дифторбензоил)амино)ацетил]амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты.

Этап 5. [(1R)-1-((2,3-Дифторбензоил)амино)ацетил]амино)-3-метилбутил]бороновая кислота · 20 D-маннит (I-1).

К раствору [(1R)-1-((2,3-дифторбензоил)амино)ацетил]амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты (0,085 г, 0,26 ммоль) в трет-бутиловом спирте (2 мл) и воде (5 мл) добавляли D-маннит (0,943 г, 5,2 ммоль). Раствор нагревали и оставляли перемешиваться до полного растворения твердых веществ. Раствор затем замораживали и растворитель удаляли путем лиофилизации с получением [(1R)-1-((2,3-дифторбензоил)амино)ацетил]амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты · 20 D-маннита (I-1) (0,98 г, 97 %).

Пример 2. Синтез [(1R)-1-((2-бромбензоил)амино)ацетил]амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты · 20 D-маннита (I-5)



Этап 1. трет-Бутил-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиоксаборол-2-ил]бутил)амино)-2-оксоэтил]карбамат.

К смеси (1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиоксаборол-2-ил]бутан-1-амин в виде трифторацетатной соли (4,9 г, 10,8 ммоль), N-(трет-бутоксикарбонил)глицина (1,98 г, 11,3 ммоль) и TBTU (3,81 г, 11,9 ммоль) в DCM (100 мл) добавляли по каплям в течение 15 мин раствор DIEA (5,64 мл, 32,4 ммоль) в DCM (25 мл). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии с получением трет-бутил-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-

триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}амино)-2-оксоэтил]карбамата (2,5 г, 55%).

Этап 2. 2-Амино-N-[(1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}ацетамид.

К раствору трет-бутил-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}амино)-2-оксоэтил]карбамата (2,5 г, 5,9 ммоль) в DCM (15 мл) добавляли 4M HCl в диоксане (5,9 мл). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 2 ч, и концентрировали с получением 2-амино-N-[(1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}ацетамида, который использовали на следующем этапе без очистки.

Этап 3. 2-Бром-N-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}амино)-2-оксоэтил]бензамид.

К раствору 2-бромбензойной кислоты (0,124 г, 0,62 ммоль) в DCM (2,25 мл) добавляли EDCI (0,119 г, 0,62 ммоль), HOBT (0,084 г, 0,62 ммоль), N-метилморфолин (0,185 мл, 1,68 ммоль) и 2-амино-N-[(1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}ацетамид (0,2 г, 0,56 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 2 ч и концентрировали. Осадок разбавляли водой и экстрагировали EtOAc. Органические растворы объединяли, промывали соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии с получением 2-бром-N-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}амино)-2-оксоэтил]бензамида (0,22 г, 78 %).

Этап 4. [(1R)-1-((2-Бромбензоил)амино)ацетил}амино)-3-метилбутил]бороновая кислота.

К раствору 2-бром-N-[2-((1R)-3-метил-1-[(3aS,4S,6S,7aR)-3a,5,5-триметилгексагидро-4,6-метан-1,3,2-бензодиазоборол-2-ил]бутил}амино)-2-оксоэтил]бензамида (0,220 г, 0,44 ммоль) в метаноле/гексане (1:1) (2,2 мл) добавляли 1N HCl (1 мл, 1,0 ммоль) и изобутилборат (0,078 г, 0,76 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой с получением [(1R)-1-((2-бромбензоил)амино)ацетил}амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты (0,119 г, 73%).

Этап 5. [(1R)-1-((2-Бромбензоил)амино)ацетил}амино)-3-метилбутил]бороновая кислота · 20 D-маннит (I-5).

К раствору [(1R)-1-((2-бромбензоил)амино)ацетил}амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты (0,103 г, 0,28 ммоль) в трет-бутиловом спирте (9 мл) и воде (15 мл) добавляли D-маннит (1,01 г, 5,5 ммоль). Раствор нагревали и оставляли перемешиваться до полного растворения твердых веществ. Раствор затем замораживали и растворитель удаляли путем лиофилизации с получением [(1R)-1-((2-бромбензоил)амино)ацетил}амино)-3-метилбутил]бороновой кислоты · 20 D-маннита (I-5) (0,92 г, 84 %).

Соединения в следующей таблице получали из подходящих начальных материалов способом, аналогичным способу, приведенному в примере 1 или 2:

I-1	ЖХ-МС: ЭР- 327,3, tr = 3,36 мин.
I-2	ЖХ-МС: ЭР- 343-2, tr = 3,62 мин.
I-3	ЖХ-МС: ЭР- 327,3, tr = 3,49 мин.
I-4	ЖХ-МС: ЭР- 327,2, tr = 327 мин.
I-5	ЖХ-МС: ЭР- 369,2, tr = 3,30 мин. ¹ H ЯМР (300 МГц, d ₄ -MeOD) 8: 7,62 (дд, 1H), 7,28-7,50 (м, 3H), 4,19 (с, 2H), 2,70-2,78 (м, 1H), 1,57-1,71 (м, 1H), 1,26-1,40 (м, 2H) и 0,89 (д, 6H).
I-6	ЖХ-МС: ЭР- 309,1, tr = 3,14 мин.
I-7	ЖХ-МС: ЭР- 343,2, tr = 3,30 мин.
I-8	ЖХ-МС: ЭР- 309,3, tr = 3,23 мин.
I-9	ЖХ-МС: ЭР- 327,3, tr = 3,49 мин.
I-10	ЖХ-МС: ЭР- 325,2, tr = 3,58 мин.
I-11	ЖХ-МС: ЭР- 359,2, tr = 3,66 мин. ¹ H ЯМР (300 МГц, d ₄ MeOD) 8: 7,62 (с, 1H), 7,49 (д, 2H), 4,23 (с, 2H), 2,74-2,82 (м, 1H), 1,62-1,78 (м, 1H), 1,30-1,45 (м, 2H) и 0,95 (д, 6H).
I-12	ЖХ-МС: ЭР- 359,2, tr = 3,95 мин.
I-13	ЖХ-МС: ЭР- 309,2, tr = 3,34 мин.
I-14	ЖХ-МС: ЭР- 343,2, tr = 3,44 мин.
I-15	ЖХ-МС: ЭР- 359,2, tr = 3,26 мин.

I-16	ЖХ-МС: ЭР- 325,2, tr = 3,20 мин.
I-17	ЖХ-МС: ЭР- 327,3, tr = 3,39 мин.
I-18	ЖХ-МС: ЭР- 343,2, tr = 3,58 мин.
I-19	ЖХ-МС: ЭР- 325,1, tr = 3,51 мин.
I-20	ЖХ-МС: ЭР- 359,2, tr = 3,54 мин.
I-21	ЖХ-МС: ЭР- 359,2, tr = 3,99 мин.

Пример 2. Исследование с применением протеасомы 20S.

К 1 мкл исследуемого соединения, растворенного в ДМСО, в 384-луночном черном микротитрационном планшете добавляли 25 мкл используемого в данном исследовании буфера при 37°C, содержащего активатор PA28 человека (Boston Biochem, конечная концентрация 12 нМ) с Ac-WLA-AMC (β -селективный субстрат) (конечная концентрация 15 мкМ), а затем добавляли 25 мкл используемого в данном исследовании буфера при 37°C, содержащего 20S протеасомы человека (Boston Biochem, конечная концентрация 0,25 нМ). Используемый в исследовании буфер содержал 20 мМ HEPES, 0,5 мМ EDTA и 0,01% BSA, pH 7,4. За ходом реакции следили с помощью планшет-ридера BMG Galaxy (37°C, возбуждение на 380 нм, испускание на 460 нм, усиление 20). Процент ингибирования рассчитывали относительно контрольных образцов с 0% ингибирования (ДМСО) и 100% ингибирования (10 мкМ бортезомиб).

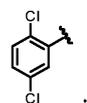
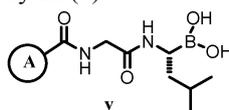
В ходе указанного исследования все соединения с I-1 по I-21 проявляли значения IC_{50} , меньшие чем 50 нМ.

Хотя настоящее изобретение описано выше с указанием некоторых деталей, призванных обеспечить ясность и более полное понимание изобретения, приведенные конкретные варианты реализации являются иллюстративными и не ограничивают настоящее изобретение. Для специалиста в данной области техники после ознакомления с настоящим описанием представляется очевидным, что возможные различные изменения по форме и содержанию также находятся в рамках настоящего изобретения, объем которого определяется в большей степени прилагаемой формулой изобретения, чем конкретными вариантами реализации.

Патентная и научная литература, упоминаемая в настоящем описании, характеризуют сведения, доступные специалистам в данной области техники. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, обычно подразумеваемые средним специалистом в области техники, к которой относится настоящее изобретение. Содержание патентов, заявок на патент и источников, ссылки на которые приведены в настоящем описании, настоящим включены в настоящее описание посредством ссылки в той же степени, как если бы для каждого из таких документов конкретно и отдельно было указано, что данный документ включен посредством ссылки. В случае несоответствия настоящее описание, включая определения, будет определяющим.

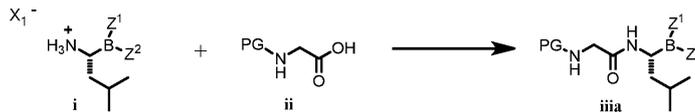
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения соединения формулы (v)



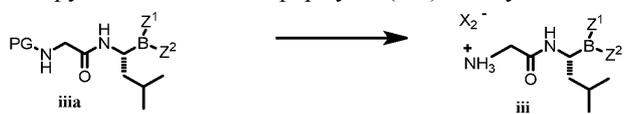
где кольцо А представляет собой включающий:

(1) взаимодействие соединения формулы (i) с соединением формулы (ii) с получением соединения формулы (iiiа)

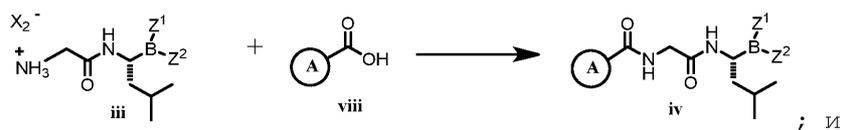


где PG представляет собой защитную группу, выбранную из ацильной группы и уретановой группы;

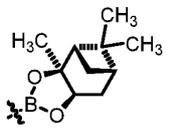
(2) удаление защитной группы соединения формулы (iiiа) с получением соединения формулы (iii)



(3) взаимодействие соединения формулы (iii) с соединением формулы (viii) с получением соединения формулы (iv)



(4) удаление защитной группы соединения формулы (iv) с получением соединения формулы (v); где Z^1 и Z^2 вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют



где X_1^- представляет собой $CF_3CO_2^-$ и X_2^- представляет собой Cl^- .

2. Способ по п.1, где взаимодействие на стадиях (1) и (3) осуществляют в присутствии агента сочетания пептида.

3. Способ по п.2, где агент сочетания пептид выбирают из карбодиимидного агента, фосфониевого агента и урониевого агента.

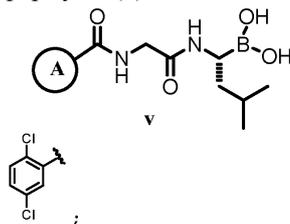
4. Способ по п.3, где агент сочетания пептид выбирают из дициклогексилкарбодиимида (DCC), 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (EDC), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (BOP), тетрафторбората O-(1H-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония (TBTU) и N-гидроксибензотриазола (HOBT).

5. Способ по п.1, где взаимодействие на стадиях (1) и (3) осуществляют в присутствии растворителя.

6. Способ по п.5, где растворитель выбирают из дихлорметана, тетрагидрофурана и диметилформамида.

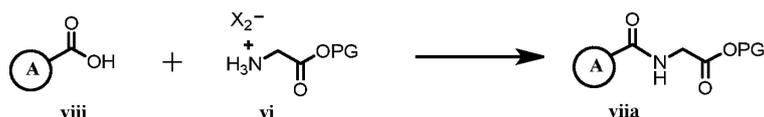
7. Способ по п.1, где защитную группу выбирают из формила, ацетила, сукцинила, метоксисукцинила; трет-бутоксикарбонила (Boc), бензилоксикарбонила (Cbz) и флуоренилметоксикарбонила (Fmoc).

8. Способ получения соединения формулы (v)



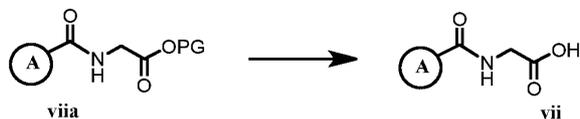
где кольцо A представляет собой включающий:

(1a) взаимодействие соединения формулы (viii) с соединением формулы (vi) с получением соединения формулы (vii)

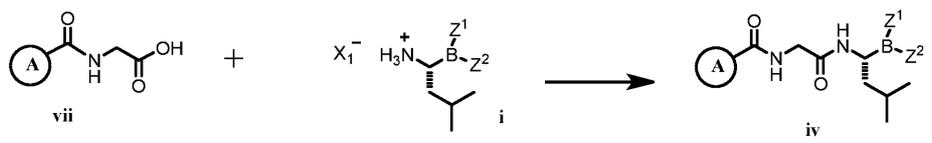


где PG представляет собой защитную группу, выбранную из ацильной группы и уретановой группы;

(2a) удаление защитной группы соединения формулы (vii) с получением соединения формулы (vii);

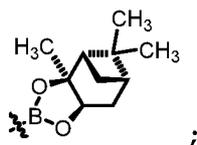


(3a) взаимодействие соединения формулы (vii) с соединением формулы (i) с получением формулы (iv)



и

(4) удаление защитной группы соединения формулы (iv) с получением соединения формулы (v), где Z^1 и Z^2 вместе с атомом бора, к которому они присоединены, образуют



где X_1^- представляет собой $CF_3CO_2^-$ и X_2^- представляет собой Cl^- .

9. Способ по п.8, где взаимодействие на стадиях (1а) и (3а) осуществляют в присутствии агента сочетания пептида.

10. Способ по п.9, где агент сочетания пептид выбирают из карбодиимидного агента, фосфониевого агента и урониевого агента.

11. Способ по п.10, где агент сочетания пептид выбирают из дициклогексилкарбодиимида (DCC), 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (EDC), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис (диметиламино)фосфония (BOP), тетрафторбората O-(1H-бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуруния (TBTU) и N-гидроксибензотриазола (HOBT).

12. Способ по п.8, где взаимодействие на стадиях (1а) и (3а) осуществляют в присутствии растворителя.

13. Способ по п.12, где растворитель выбирают из дихлорметана, тетрагидрофурана и диметилформамида.

14. Способ по п.8, где защитную группу выбирают из формила, ацетила, сукцинила, метоксисукцинила; трет-бутоксикарбонила (Boc), бензилоксикарбонила (Cbz) и флуоренилметоксикарбонила (Fmoc).

