

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 041535

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.11.03

(21) Номер заявки
201990157

(22) Дата подачи заявки
2017.06.29

(51) Int. Cl. C07D 295/15 (2006.01)
C07D 303/12 (2006.01)
C07D 303/46 (2006.01)
C07C 69/612 (2006.01)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕПТИДНОГО ЭПОКСИКЕТОНОВОГО ИНГИБИТОРА
ИММУНОПРОТЕАСОМЫ

(31) 62/356,178

(32) 2016.06.29

(33) US

(43) 2019.05.31

(86) PCT/US2017/039975

(87) WO 2018/005781 2018.01.04

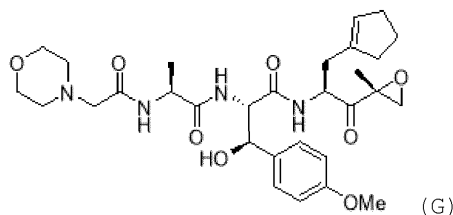
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КЕЗАР ЛАЙФ САЙНСИЗ (US)

(72) Изобретатель:
Джонсон Генри, Далзил Шон,
Макминн Дастин (US)

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

(56) WO-A1-2014152134
WO-A1-2014152127
CN-A-104710507
CN-A-101525370

(57) В данном документе описан способ получения (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксoproпан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетамидо]пропанамидо]пропанамид (соединение "G")



B1

041535

041535

B1

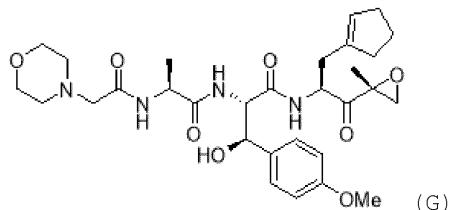
Уровень техники

Область техники.

Описание относится к способу и процессу получения (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксопропан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетида]пропанамида]пропанамида.

Описание уровня техники.

Соединение (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксопропан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетида]пропанамида]пропанамида (соединение "G") полезно в качестве ингибитора иммунопротеасомы.



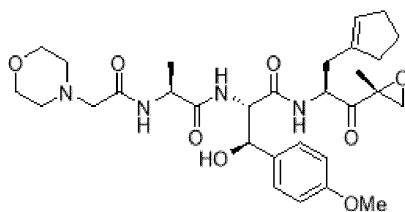
У эукариотов разрушение белка преимущественно опосредуется путем убиквитинового метаболического пути, по которому белки, предназначенные для разрушения, лигируются 76 аминокислотным полипептидом убиквитином. Однажды помеченные, убиквитинированные белки затем служат субстратами для 26S протеасомы, мультикаталитической протеазы, которая расщепляет белки на короткие пептиды благодаря действию трех основных протеолитических активностей. Несмотря на общую функцию внутриклеточного белкового обмена протеасом-опосредованное разрушение также играет ключевую роль во многих процессах, таких как представление антигена класса I главного комплекса гистосовместимости (МНС), апоптоз, регуляция роста клеток, активация NF-κB, процессирование антигена и трансдукция провоспалительных сигналов.

Протеасома 20S представляет собой мультикаталитический комплекс протеаз 700 кДа цилиндрической формы, состоящий из 28 субъединиц организованных в четыре кольца. У дрожжей и других эукариотов 7 различных α-субъединиц образуют внешние кольца, а 7 различных β-субъединиц составляют внутренние кольца. α-субъединицы служат сайтами связывания регуляторных комплексов 19S (PA700) и 1 IS (PA28), а также физическим барьером для внутренней протеолитической камеры, образованной двумя кольцами β-субъединиц. Таким образом, считается, что *in vivo* протеасома существует в виде частицы 26S ("протеасома 26S"). Эксперименты *in vivo* показали, что ингибирование формы протеасомы 20S можно легко соотнести с ингибированием протеасомы 26S. Расщепление аминотерминальных последовательностей β-субъединиц во время образования частиц действует на аминотерминальные остатки треонина, которые служат каталитическими нуклеофилами. Таким образом, субъединицы, ответственные за каталитическую активность в протеасомах, имеют аминотерминальный нуклеофильный остаток и эти субъединицы относятся к семейству N-терминальных нуклеофильных (Ntn) гидролаз (где нуклеофильный N-терминальный остаток представляет собой, например, Cys, Ser, Thr и другие нуклеофильные фрагменты). Это семейство включает, например, пенициллин G ацилазу (PGA), пенициллин V ацилазу (PVA), глутамин PRPP амидотрансферазу (GAT) и бактериальную гликозиласпарагиназу. В дополнение к повсеместно экспрессируемым β-субъединицам у высших позвоночных также имеется три β-субъединицы, индуцируемые интерфероном-γ (LMP7, LMP2 и MECL1), которые заменяют их нормальные аналоги, B5, B1 и B7 соответственно, изменяя каталитическую активность протеасомы. Благодаря использованию различных пептидных субстратов для эукариота протеасомы 20S были определены три основные протеолитические активности: хомотрипсиноподобная активность (CT-L), которая расщепляет после крупных гидрофобных остатков; трипсиноподобная активность (TL), которая расщепляет после основных остатков; и пептидилглутамилпептидная гидролизующая активность (PGPH), которая расщепляет после кислотных остатков. Две дополнительные менее охарактеризованные активности были также приписаны протеасоме: активность BgAAP, которая расщепляет после аминокислот с разветвленной цепью; и активность SNAAP, которая расщепляет после небольших нейтральных аминокислот. Основные протеолитические активности протеасомы, по-видимому, приносятся различными каталитическими сайтами, начиная с ингибиторов, точечные мутации в β-субъединицах и обмен индуцируемыми γ-интерфероном β-субъединицами изменяют эти активности в различной степени.

РСТ публикация № WO 2014/152134, которая включена в данный документ посредством ссылки, описывает трипептидные эпокси-иммунопротеасомные ингибиторы, такие как соединение G, и способы их мелкомасштабного синтеза. Однако крупномасштабный синтез трипептидных эпокси-иммунопротеасомных ингибиторов, таких как соединение G, необходим для коммерческого развития.

Сущность изобретения

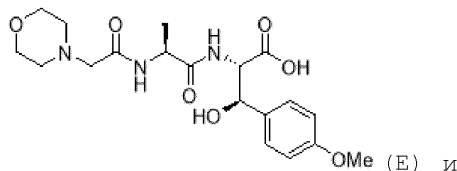
В одном из аспектов изобретение предлагает способ получения (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксопропан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетида]пропанамида]пропанамида (соединение "G")



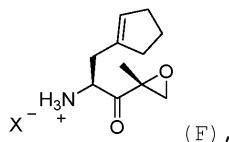
включающий

(а) смешивание основания третичного амина и суспензии

(i) (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетида)-пропанамида)пропановая кислота (соединение "Е")



(ii) (S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопропан-2-аминиевой соли (соединение "F")



где X^- представляет собой противоион;

в апротонном растворителе с образованием смеси; и

(б) смешивание конденсирующего агента и смеси стадии (а) с образованием соединения G;

причем температуру каждой стадии смешивания поддерживают на уровне от -20 до 25°C.

В некоторых вариантах реализации X^- выбирают из группы, состоящей из тозилата, трифлата, ацетата, нафталинсульфоната, 4-нитробензолсульфоната, сульфата, метилсульфата, нитрата, фторида, хлорида, бромида и их комбинаций. В некоторых случаях X^- представляет собой тозилат, нафталинсульфонат или 4-нитробензолсульфонат. Например, X^- представляет собой тозилат.

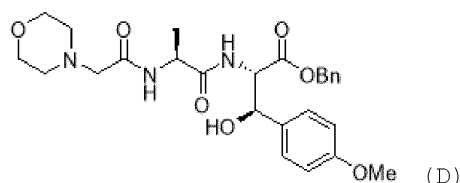
В различных вариантах реализации апротонный растворитель выбирают из группы, состоящей из ацетонитрила ("ACN"), дихлорметана ("ДХМ"), тетрагидрофурана ("ТГФ"), диметилацетамида ("DMAc"), этилацетата ("EtOAc"), изопропилацетата ("iPrOAc"), диметилформамида ("DMF") и их комбинаций. Например, апротонный растворитель может быть ДХМ.

В некоторых случаях основание третичного амина выбирают из группы, состоящей из N,N-диизопропилэтиламина ("DIPEA"), триэтиламина ("TEA"), N-метилморфолина ("NMM"), 2,2,6,6-тетраметилпиперидина ("TMP"), 2,4,6-триметилпиперидина ("коллин") и их комбинаций. Например, основание третичного амина может включать DIPEA. В различных случаях молярное соотношение основания третичного амина к соединению Е находится в диапазоне от 1:1 до 4:1.

В некоторых вариантах реализации конденсирующий агент включает карбодиимидный реагент, фосфониевый реагент, урониевый реагент, иммониевый реагент, имидазолиевый реагент, фосфорорганический реагент, хлорангидридный реагент, хлорформиатный реагент или пиридиниевый реагент. В различных вариантах реализации, урониевый реагент выбирают из группы 1-[бис(диметиламино)метил]-1H-1,2,3-триазол[4,5-b]пиридиния 3-оксидгексафторфосфат ("HATU"), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуридия гексафторфосфат ("HBTU") и их комбинаций. Например, урониевый реагент может представлять собой HATU. В некоторых случаях молярное соотношение конденсирующего агента к соединению Е составляет 1 к 1. Конденсирующий реагент дополнительно содержит конденсирующую добавку. В некоторых вариантах реализации конденсирующую добавку выбирают из группы, состоящей из бензотриазола, дикарбосимида, сукцинимиды и их комбинаций. В различных вариантах реализации конденсирующую добавку выбирают из группы, состоящей из N-гидроксисукцинимиды ("HOSu"), N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбосимида ("HONB"), 1-гидроксибензотриазола ("HOBt"), 6-хлор-1-гидроксибензотриазола ("Cl-HOBt"), 1-гидрокси-7-азабензотриазола ("HOAt") и их комбинаций.

В различных случаях температуру каждой стадии смешивания поддерживают на уровне от -15 до 25°C. В некоторых случаях смешивание на стадии (а) включает перемешивание смеси в течение до 10 мин. В различных вариантах реализации смешивание на стадии (б) включает перемешивание в течение до 2 ч. В некоторых вариантах реализации соединение G промывают одним или несколькими из следующих компонентов: вода, одноосновный фосфат калия, бикарбонат натрия и сульфат натрия.

В различных вариантах реализации соединение Е получают путем смешивания восстановителя и бензил (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетида)-пропанамида)пропаноата (соединение "D")

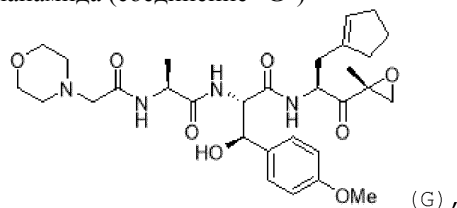


с образованием соединения E. В некоторых случаях восстановитель выбирают из группы, состоящей из H_2 , Pd/C; H_2 , Pd(OH) $_2$ /C; Li; Na; литий-4,4'-ди-трет-бутилбифенил ("Li DTBVP") и их комбинаций. В некоторых вариантах реализации смешивание восстановителя и соединения D происходит в атмосфере азота. Смешивание восстановителя и соединения D может происходить до 4 ч. Кроме того, смешивание может происходить при температуре в диапазоне от 10 до 20°C. В различных случаях получение соединения E дополнительно включает одну или несколько стадий из следующих: фильтрование соединения E через диатомит; промывание соединения E; и кристаллизация соединения E с ТГФ и водой.

Дополнительные аспекты и преимущества будут очевидны для специалиста в данной области техники из обзора следующего подробного описания. Хотя способы, описанные в данном документе, допускают варианты реализации в различных формах, описание в дальнейшем включает конкретные варианты реализации с пониманием того, что описание является иллюстративным, и не ограничивает изобретение конкретными вариантами реализации, описанными в данном документе.

Детальное описание

В данном документе описан способ получения (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксoproпан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетида]пропанамида]пропанамида (соединение "G")



и в некоторых случаях способ предназначен для крупномасштабного получения соединения G. Общая схема получения соединения G показана на схеме 1 ниже.

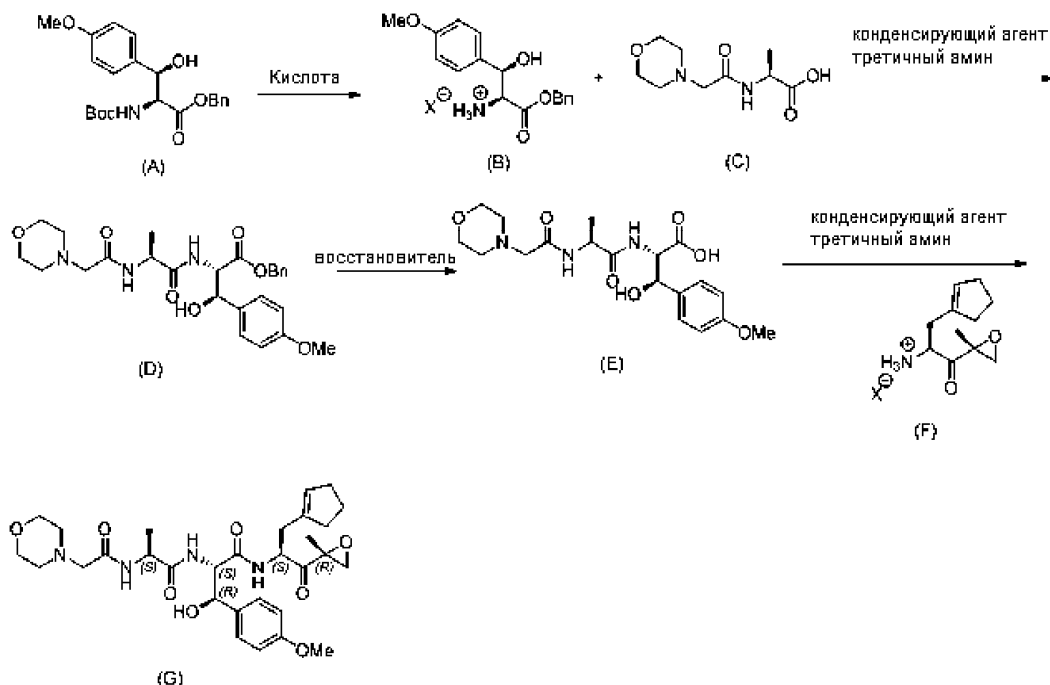


Схема 1

Оптическая чистота соединения G контролируется во время синтеза качеством исходных материалов и специфических реагентов, используемых для превращений.

Соединения, описанные в данном документе, могут быть идентифицированы либо по их химической структуре и/или химическому названию в данном документе. Когда химическая структура и химическое название конфликтуют, химическая структура является определяющей для идентификации соединения.

Если не указано иное, термины и сокращения, используемые в данном описании, включают в себя

нормальное и традиционное значение в соответствующей области.

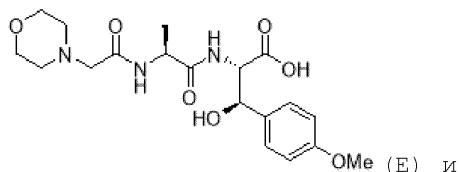
Поскольку вклад настоящего описания не ограничивается конкретными вариантами реализации или аспектами, описанными в данном документе, описание предоставляет специалисту в данной области техники дополнительные варианты реализации, включающие изменения и модификации для адаптации к различным применениям и условиям. Например, изменения и модификации материалов, способов синтеза или методик, описанных в данном документе, будут очевидны для специалиста в данной области.

Диапазоны, используемые в данном документе для физических свойств, таких как молекулярный вес, или химических свойств, таких как химические формулы, все комбинации и подкомбинации диапазонов и конкретные варианты реализации в них предназначены для включения.

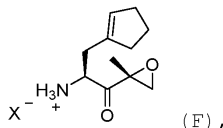
Получение соединения G.

В одном из аспектов в настоящем документе предлагается способ получения соединения G. Соединение G может быть получено в две стадии: стадию (а) и стадию (б). На стадии (а) смесь образуется путем смешивания основания третичного амина и суспензии, которая включает

(i) (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-(S)-2(2-морфолино-ацетида)пропанамидо)пропановую кислоту (соединение "E")



(ii) (S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопропан-2-аминиевую соль (соединение "F")



где X^- представляет собой противоион в апротонном растворителе с образованием смеси.

На стадии (б) смесь со стадии (а) и конденсирующий агент смешивают вместе при температуре в диапазоне от около -20 до около 25°C с образованием соединения G.

Противоион (X^-) может быть любым анионом, способным образовывать ионную связь с аммониевой группой соединения F. В некоторых вариантах реализации X^- выбирают из группы, состоящей из тозилата, трифлата, ацетата, нафталинсульфоната, 4-нитробензолсульфоната, сульфата, метилсульфата, нитрата, фторида, хлорида, бромиды и их комбинаций. В некоторых случаях X^- может быть тозилатом, нафталинсульфонатом или 4-нитробензолсульфонатом. Например, X^- может быть тозилатом.

Апротонный растворитель может представлять собой любой апротонный растворитель (или смесь растворителей), в котором может протекать реакция нуклеофильного замещения ацилом между соединениями E и F. Подходящие апротонные растворители включают ацетонитрил ("ACN"), дихлорметан ("ДХМ"), тетрагидрофуран ("ТГФ"), диметилацетамид ("DMAc"), этилацетат ("EtOAc"), изопропилацетат ("iPrOAc"), диметилформамид ("DMF") и их комбинации. В различных вариантах реализации апротонный растворитель выбирают из группы, состоящей из ACN, ТГФ, DMF и ДХМ. Например, апротонный растворитель может включать ДХМ.

Соединение E и соединение F могут присутствовать в молярном соотношении от 0,8:1 до 1,3:1. В некоторых вариантах реализации соединения E и F присутствуют в соотношении от около 0,9:1 до 1,1:1. Например, молярное соотношение соединений E и F может составлять около 1:1 или в диапазоне от 1:1,1 до 1:1,5.

Основание третичного амина может представлять собой любое основание третичного амина, которое может активировать или катализировать реакцию нуклеофильного замещения ацилом между соединениями E и F. Подходящие основания третичного амина могут включать, например, N,N-диизопропилэтиламин ("DIPEA"), триэтиламин ("TEA"), N-метилморфолин ("NMM"), 2,2,6,6-тетраметилпиперидин ("TMP"), 2,4,6-триметилпиридин ("коллидин") и их комбинации. Например, основание третичного амина может включать DIPEA. Основание третичного амина может присутствовать в молярном соотношении к соединению E в диапазоне от около 1:1 до около 4:1. В некоторых вариантах реализации основание третичного амина и соединение E присутствуют в соотношении от около 2,5:1 до 4:1 или от 2,5:1 до 3,5:1. Например, соотношение основания третичного амина к соединению E может составлять около 3,5:1 или 3,9:1.

Конденсирующий агент может включать, например, карбодиимидный реагент, фосфониевый реагент, урониевый реагент, иммониевый реагент, имидазолиевый реагент, фосфорорганический реагент, хлорангидридный реагент, хлорформатный реагент, пиридиниевый реагент или их комбинации. См., например, Han & Kim, Tetrahedron Report, 60:2447-2467 (2004); Montalbetti and Falque, Tetrahedron, 61:10827-10852 (2005). Карбодиимид может включать, например, N,N'-дициклогексилкарбодиимид ("DCC"),

1,3-диизопропилкарбодиимид ("DIC"), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид ("EDC"), или изопропилкарбодиимид ("CIC") и их комбинации. Фосфониевый агент может включать, например, (бензотриазол-1-ил-окси)трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат ("BOP") или бензотриазол-1-ил-окситрипиридинфосфония гексафторфосфат ("PyBOP") и их комбинации. Урониевый агент может включать, например, 1-[бис(диметиламино)метил]-1Н-1,2,3-триазол[4,5-*b*]пиридина 3-оксидгексафторфосфат ("HATU"), О-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат (HBTU) и их комбинации. Например, урониевый агент может включать HATU. Имидазолиевый агент может включать, например, 1,1'-карбонилдиимидазол ("CDI").

Хлорангидридный агент включает, например, пивалоилхлорид, 2,4,6-триметилбензоилхлорид и их комбинации. Хлорформатный агент может включать, например, этилхлорформат, изобутилхлорформат и их комбинации. Конденсирующий агент может присутствовать в молярном соотношении к соединению Е в диапазоне от около 0,8:1 до около 1:5. В некоторых вариантах реализации конденсирующий агент и соединение Е присутствуют в соотношении от 0,9:1 до 1,1:1. Например, соотношение конденсирующего агента к соединению Е может составлять около 1:1 или 1,11:1.

Реакцию конденсации можно проводить в присутствии конденсирующей добавки. Конденсирующие добавки известны в данной области техники, и любая подходящая добавка может быть использована для образования соединения G. Подходящие конденсирующие добавки включают, например, бензотриазолы, дикарбоксимиды и сукцинимиды. В некоторых вариантах реализации конденсирующие добавки выбраны из группы, состоящей из N-гидроксисукцинимиды ("HOSu"), N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимиды ("HONB"), 1-гидроксисукцинимид ("HOBt"), 6-хлор-1-гидроксисукцинимид ("Cl-HOBt"), 1-гидрокси-7-азабензотриазол ("HOAt") и их комбинации. Например, конденсирующая добавка может включать HOBt.

Температура каждой стадии смешивания поддерживается в диапазоне от около -20°C до около 25°C. В некоторых вариантах реализации температуру каждой стадии смешивания поддерживают в диапазоне от около -15°C до около 25°C. В некоторых случаях температура каждой стадии смешивания поддерживается в диапазоне от около -5°C до около 15°C. Например, температура каждой стадии смешивания может поддерживаться в диапазоне от около -5°C до около 5. Температура каждой стадии смешивания может быть одинаковой или различной.

На стадии (а) получения соединения G смешивание может происходить в течение периода времени до около 30 мин (например, до около 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 мин). В некоторых вариантах реализации смешивание на стадии (а) может происходить в течение около 10 мин. В некоторых случаях смешивание на стадии (а) может происходить в течение по меньшей мере около 30 с или по меньшей мере около 1 мин (например, по меньшей мере около 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 мин). Например, смешивание на стадии (а) может происходить в течение от около 30 с до около 30 мин, или от около 1 мин до около 20 мин, или от около 2 мин до около 15 мин, или от около 5 мин до около 10 мин.

На стадии (б) получения соединения G смешивание может происходить в течение периода времени до около 3 ч (например, до около 1, 1,5, 2, 2,5 или 3 ч). В некоторых вариантах реализации смешивание на стадии (б) может происходить в течение около 2 ч. В некоторых случаях смешивание на стадии (б) может происходить в течение по меньшей мере около 30 мин, или по меньшей мере около 1 ч, или по меньшей мере около 1,5 часа. Например, смешивание на стадии (б) может происходить в течение от около 30 мин до около 3 ч, или от около 30 мин до около 2,5 ч, или от около 1 ч до около 2 ч.

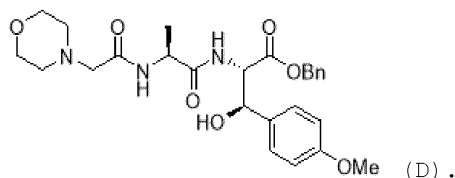
На стадии (б) реакция связывания может происходить в атмосфере азота. В некоторых случаях реакция конденсации происходит не в атмосфере азота.

После стадии (б) соединение G может быть промыто одним или несколькими растворителями. Температура во время промывания может необязательно находиться в диапазоне от около 0°C до около 25°C, или от около 15°C до около 25°C. Подходящие растворители для промывания включают, например, воду, одноосновный фосфат калия, бикарбонат натрия, сульфат натрия и их комбинации. В некоторых вариантах реализации воду добавляют к соединению G после стадии (б) и полученную двухфазную смесь разделяют на водный слой и органический слой перед промыванием. В различных случаях соединение G можно промывать водой, одноосновным фосфатом калия, бикарбонатом натрия и сульфатом натрия.

Например, соединение G может быть получено путем (а) смешивания соединения Е и соединения F (молярное соотношение 1:1) в ДХМ в течение периода времени до около 10 мин с образованием смеси и (б) смешивания смеси со стадии (а) и около 1 молярного эквивалента HATU в течение до около 2 ч в атмосфере азота, где температура каждой стадии находится в диапазоне от около -20°C до около 25°C или от около -20 до 0°C. Полученную смесь можно погасить водой, чтобы получить двухфазную смесь. Органический слой можно отделить, промыть водой, затем одноосновным фосфатом калия, затем бикарбонатом натрия и сульфатом натрия (последовательно).

Получение соединения Е.

Соединение Е может быть получено путем смешивания восстановителя и бензил (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетида)пропаноид)пропаноата (соединения "D")



Восстановителем может быть любой подходящий агент, способный удалять бензильную группу в соединении D с образованием карбоновой кислоты соединения E. Подходящие восстановители включают, например, H_2 в присутствии Pd/C или $Pd(OH)_2/C$; Li; Na; литий-4,4'-ди-трет-бутилбифенил ("Li DTBVP") и их комбинации. Например, восстановителем может быть H_2 в присутствии Pd/C.

Смешивание восстановителя и соединения D может происходить в любом растворителе, способном обеспечить протекание реакции восстановления. Например, растворитель может включать ТГФ, метанол или их комбинацию.

В некоторых вариантах реализации соединения D помещают в атмосферу азота перед воздействием атмосферы водорода. В различных вариантах реализации атмосфера водорода устанавливается на уровне около 15 фунтов на квадратный дюйм.

Смешивание восстановителя и соединения D может происходить в течение периода времени по меньшей мере от 30 мин до около 5 ч (например, до около 2, 2,5, 3, 3,5, 4 или 4,5 ч). В некоторых вариантах реализации смешивание может происходить в течение около 4 ч. В некоторых случаях смешивание восстановителя и соединения D может происходить в течение по меньшей мере около 30 мин или по меньшей мере около 1 ч (например, по меньшей мере около 1,5, или 2, или 2,5, или 3, или 3,5 ч). Например, смешивание может происходить в течение от около 30 мин до около 5 ч, или от около 1 ч до около 4 ч, или от около 2 ч до около 4 ч.

Температура смешивания поддерживается в диапазоне от около $10^\circ C$ до около $20^\circ C$. В некоторых вариантах реализации температура поддерживается на уровне около $17^\circ C$.

В некоторых случаях после завершения смешивания соединения E фильтруется, например, через диатомовую землю (т.е. диатомит). Полученный фильтрат может быть впоследствии промыт подходящим растворителем (например, водой, метанолом, водой и их комбинациями).

Соединение E (с промывкой или без нее) может быть кристаллизовано с образованием полиморфа, характеризующегося термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии ("ДСК"), данными термогравиметрического анализа ("ТГА") и диаграммой дифракции рентгеновских лучей (XRPD), изображенных на фиг. 2, 3 и 4 соответственно. Например, кристаллизация соединения E может происходить в ТГФ и воде при нагревании соединения E до температуры в диапазоне от около $50^\circ C$ до около $70^\circ C$, или от около $60^\circ C$ до около $70^\circ C$, или от около $55^\circ C$ до около $65^\circ C$ и затем охлаждении до температуры около $0^\circ C$. Таким образом, другим аспектом настоящего описания является кристаллическая форма соединения E, которая характеризуется рентгенограммой, включающей пики при 6,2, 8,5, 9,7, 12,7, 13,7, 16,0, 16,9, 17,2, 18,4, 18,9, 19,2, 19,7, 22,5, 24,7, 25,4, 28,7 и $29,7 \pm 0,2^\circ 2\theta$, используя Cu K α излучение, как показано на фиг. 4.

Например, соединение E может быть получено смешиванием вместе восстановителя, такого как H_2 , в присутствии Pd/C, и соединения D в атмосфере азота, при температуре от 10 до $20^\circ C$, в течение периода времени по меньшей мере от 30 мин до 4 ч. Соединение E может быть отфильтровано через диатомит, и полученный осадок на фильтре может быть промыт (например, водой, метанолом и/или ТГФ). Соединение E можно кристаллизовать, нагревая его до температуры от около 60 до $70^\circ C$, доводя температуру до температуры от около 55 до $65^\circ C$ и добавляя ТГФ к смеси, нагревая смесь до температуры от 60 до $70^\circ C$, добавляя воду к нагретой смеси, охлаждая смесь до температуры от 55 до $65^\circ C$, добавляя к смеси затравочный кристалл и перемешивая затравленную смесь в течение около 2 ч при $0^\circ C$. Фильтрация, промывание и высушивание охлажденной смеси приводит к кристаллизации соединения E.

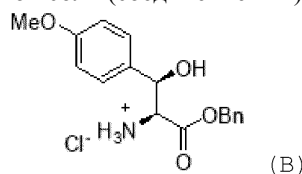
Примеры

Следующие примеры приведены для иллюстрации и не предназначены для ограничения объема изобретения.

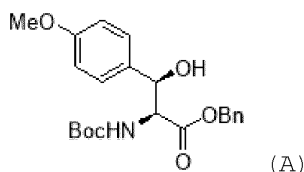
Общая схема синтеза.

Соединение G может быть получено в соответствии со схемой 1, показанной выше.

Пример 1. Крупномасштабное получение HCl соли (2S,3R)-1-(бензилокси)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-1-оксопропан-2-аминиевой соли (соединение "B").



Этилацетат (58,5 кг) при $20^\circ C$ насыщали газообразным HCl (6,8 кг). В этом растворе растворяли бензил(2S,3R)-2 ((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)пропаноат (соединение "A")

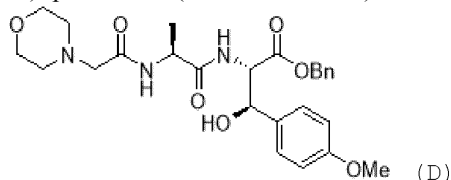


(5 кг, 12,5 моль, предварительно растворенный в 32,5 кг этилацетата). Суспензию перемешивали при 20°C и после завершения, как определено ВЭЖХ, фильтровали и высушивали в вакууме при 45°C с получением кристаллического полиморфа соединения В (3,85 кг) в виде HCl соли. ЖХ/МС (НРМС(МН) m/z: 302). Чистота ВЭЖХ 97,9%. Характеристическая кривая ДСК показана на фиг. 1.

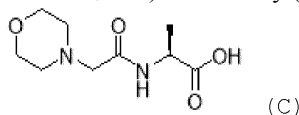
Пример 2. Мелкомасштабный синтез ТФУ соли (2S,3R)-1-(бензилокси)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-1-оксипропан-2-аминиевой соли (соединение "В").

Трифторуксусную кислоту ("ТФУ") (20 мл) добавляли к раствору соединения А (7,0 г, 17,4 ммоль) в дихлорметане ("ДХМ") (50 мл) при 0°C. Смесь перемешивали в течение 30 мин, затем разбавляли ДХМ (100 мл). Добавляли насыщенный NaHCO₃ (водный, 100 мл) и два слоя разделяли. Водный слой экстрагировали ДХМ (2×100 мл) и объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом натрия, затем концентрировали, получая сырое соединение В (5,0 г, выход 84%) в виде ТФУ соли. ЖХ/МС (НРМС(МН) m/z: 302).

Пример 3. Крупномасштабное получение (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетида)пропанамида)пропаноата (соединение "D").



К соединению В (3,8 кг) и (2-морфолиноацетил)-L-аланину (соединение "С")



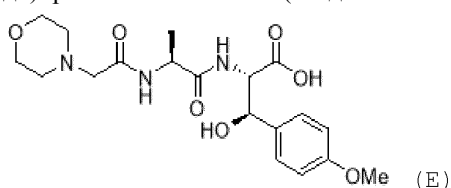
(2,5 кг) при 20°C добавляли ацетонитрил (30,4 кг). Температуру доводили до 0°C и добавляли N,N-диизопропилэтиламин ("DIPEA") (3,19 кг), а затем 1-[бис(диметиламино)метил]-1Н-1,2,3-триазол[4,5-б]пиридиния 3-оксидгексафторфосфат ("НАТУ") (5,22 кг) порциями в течение 30 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 0°C, затем гасили 3,5% NaHCO₃ (водный, 46 кг) и перемешивали в течение 30 мин. После выдерживания в течение 1 ч при 20°C добавляли твердый NaHCO₃ и смесь перемешивали в течение 30 мин, затем снова выдерживали при 20°C в течение 1 ч. Водный слой разбавляли водой (30,6 кг), экстрагировали изопропилацетатом ("iPrOAc") (23,4 кг) и органические слои объединяли. Органические слои вытесняли iPrOAc (3×27 кг), промывали 3,5% NaHCO₃ (водный, 30 кг), KН₂РO₄ (водный, 3×65 кг), водой (15 кг), 7% NaHCO₃ (водный, 2×61 кг) и 5% Na₂SO₄ (водный, 3×55 кг). Раствор концентрировали до 18 л, затем вытесняли тетрагидрофураном ("ТГФ") (4×22,8 л) с получением продукта (5,04 кг, выход 90%, чистота по ВЭЖХ 97,9%) в виде раствора в ТГФ (34,5 мас.%, всего 14,6 кг).

Аналогичные результаты были получены с использованием 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид HCl ("EDC") (1,1 экв.) вместо НАТУ в качестве конденсирующего реагента.

Пример 4. Мелкомасштабный синтез соединения D.

Реагенты НАТУ (6,79 г, 17,9 ммоль) и DIPEA (9,63 мл, 59,2 ммоль) добавляли к раствору соединения В (соль ТФУ, 5,0 г, 14,8 ммоль) и соединения С (3,36 г, 15,9 ммоль) в диметилформамиде ("ДМФА") (100 мл) при 0°C. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. Смесь концентрировали и остаток очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/EtOAc=от 2:1 до 1:2) с получением соединения D (5,8 г, 78% выход) в виде бесцветного твердого вещества. ЖХ/МС (НРМС(МН) m/z: 500).

Пример 5. Крупномасштабное получение (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетида)пропанамида)пропановой кислоты (соединение "E").



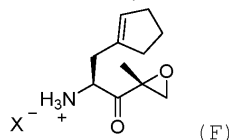
К раствору бензил(2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетида)пропанамида)пропаноата (соединение "D") (5,04 кг в виде 34,5 мас.% раствора в

ТГФ) и добавляли ТГФ (3,25 кг), а затем метанол (7,0 кг). Внутри реакционного сосуда создавали атмосферу N_2 и добавляли Pd/C (10%, 473 г) в атмосфере азота. Добавляли ТГФ (500 г) и метанол (1 кг) для промывания реакционного сосуда и создавали атмосферу H_2 (15 фунтов на кв. дюйм). Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при 17°C, затем фильтровали через диатомит. Влажный осадок промывали метанолом (30 кг), концентрировали до 3-4 объемов, вытесняли ТГФ (4×45 кг) и нагревали до 60-70°C. Через 2 ч температуру доводили до 50-60°C и добавляли ТГФ (30 кг). Смесь снова нагревали до 60-70°C в течение 2 ч. К этому раствору добавляли воду (370 кг) при 60-70°C, затем смесь охлаждали до 55-65°C. Добавляли затравочные кристаллы (18,0 г) и смесь перемешивали при 55-65°C в течение 1 ч. Дважды суспензию концентрировали до 5-6 объемов и перемешивали в течение 2 ч при 0°C. Смесь фильтровали с использованием ТГФ (10 кг) для промывания. Влажный осадок высушивали с получением кристаллического полиморфа соединения E (3,54 кг, чистота 97,6%). Характеристические данные ДСК, ТГА и XRPD показаны на фиг. 2-4.

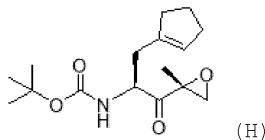
Пример 6. Мелкомасштабный синтез соединения E.

К раствору соединения D (5,8 г, 11,6 моль) в ТГФ (120 мл) добавляли Pd/C (1,5 г, 10%). Смесь перемешивали в атмосфере H_2 (1 атм.) при комнатной температуре в течение ночи, затем фильтровали через слой целита. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток промывали EtOAc (20 мл), получая соединение E (4,8 г, выход ~100%) в виде бесцветного твердого вещества.

Пример 7. Крупномасштабное получение тозилатной соли ((S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопропан-2-аминиевой соли (соединение "F").



К раствору трет-бутил ((S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопропан-2-ил)карбамата (соединение "H").



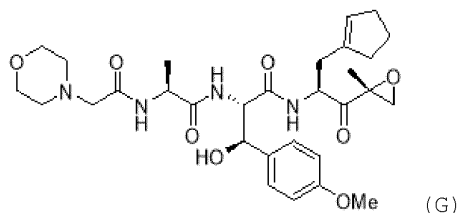
(134 г) в ДХМ (402 мл) при 0°C добавляли ТФУ (414,3 г, 8 экв.) со скоростью, поддерживающей внутреннюю температуру на уровне -5-5°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при этой температуре в атмосфере N_2 . Затем темную смесь концентрировали для удаления ДХМ и ТФУ при 15-25°C. Раствор вытесняли метил-трет-бутиловым эфиром ("МВТЕ") (5×2 л). Анализ ВЭЖХ показал, что в растворе оставалось 2,72 экв. ТФУ, и добавляли МТБЕ (804 мл) при 15-25°C. К этому раствору при 0°C добавляли п-толуолсульфоновую кислоту ("PTSA") (83,6 г) и смесь перемешивали при этой температуре в течение 10-12 ч. Затем смесь фильтровали при 0°C, промывали МТБЕ (3×268 мл, затем 1×168 мл) и осадок на фильтре сушили в вакууме при 15-25°C в течение 16-18 ч, получая соединение F (126 г, чистота 99,4%) в виде тозилатной соли. Характеристические кривые ДСК и ТГА показаны на фиг. 5 и 6, а характеристическая кривая XRPD показана на фиг. 9.

Пример 8. Мелкомасштабный синтез нафталинсульфонатной соли соединения F.

К соединению H (2 г) добавляли ДХМ (8 мл) и смесь охлаждали до 5°C. ТФУ (8 мл) добавляли со скоростью, поддерживающей внутреннюю температуру ниже 10°C. Затем смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 30 мин, затем концентрировали в вакууме. Для удаления избытка ТФУ добавляли толуол (3×5 мл). К соли ТФУ добавляли EtOAc (4 мл), затем 2-нафталинсульфоновую кислоту (6,78 ммоль, 1,41 г, растворенную в 10 мл EtOAc). Смесь перемешивали при комнатной температуре и бесцветное твердое вещество осаждали в течение 5 мин. Смесь перемешивали еще 15 мин, затем фильтровали, используя EtOAc (10 мл) для промывания. Твердое вещество помещали в вакуум на 16 ч и получали нафталинсульфонатную соль в виде бесцветного твердого вещества (1,62 г, 72% выход). Характеристические кривые ДСК и ТГА показаны на фиг. 7 и 8.

Аналогичную методику использовали для получения 4-нитробензолсульфоновой кислоты соединения F.

Пример 9. Крупномасштабное получение (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксопропан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетида]пропанамидо]пропанамид (соединение "G").



К соединению E (110,0 г) и соединению F (тозилатная соль, 110,0 г) добавляли ДХМ (1,46 кг) и суспензию охлаждали от -15 до 5°C. DIPEA (122,1 г) добавляли со скоростью, поддерживающей внутреннюю температуру от -15 до -5°C. Затем смесь перемешивали в течение 10 мин и к этому раствору добавляли НАТУ (114,4 г) при температуре от -15 до -5°C в атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение 2 ч при температуре от -15 до -5°C и добавляли соединение F (3,91 г). Через 10 мин внутреннюю температуру доводили до 5-15°C, затем добавляли воду (1100 г). Раствор перемешивали в течение 30-60 мин и выдерживали 30-60 мин. Органический слой отделяли и промывали водой (1100 г) в течение 30-60 мин и смесь выдерживали 30-60 мин. Органические фазы объединяли и температуру повышали до 15-25°C. Раствор концентрировали до 2-4 объемов в вакууме (<45°C). Добавляли iPrOAc (957 г) и раствор концентрировали до 2-4 объемов в вакууме (<45°C). Раствор промывали 5% KH_2PO_4 (водный, 1100 г), 1% KH_2PO_4 (водный, 2×1100 г), 7% NaHCO_3 (водный, 1100 г) и 5% Na_2SO_4 (водный, 1100 г). Продукт был получен в виде 10,53 мас.% раствора в iPrOAc (89,8%).

Пример 10. Мелкомасштабное получение соединения G.

НАТУ (5,35 г, 14,1 ммоль) и DIPEA (9,55 мл, 58,7 ммоль) добавляли к раствору соединения E (4,8 г, 11,7 ммоль) и соединения F (соль ТФУ, 3,46 г, 11,7 ммоль) в ДМФА (90 мл) при 0°C. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 мин. Смесь концентрировали и остаток очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/EtOAc=2:1 до EtOAc), получая соединение G (4,8 г, выход 70%, чистота 95,2% по данным ВЭЖХ) в виде бесцветного твердого вещества. ЖХ/МС (HPLC(MH) m/z: 587).

Представленное выше описание приведено лишь для ясности понимания, и оно не подразумевает никаких излишних ограничений, поскольку специалистам в данной области техники могут быть понятны различные модификации в пределах объема настоящего изобретения.

В данном описании и в формуле изобретения, которая следует, если контекст не требует иного, следует понимать, что слово "содержит" и варианты, такие как "содержат" и "содержащий", подразумевают включение указанного целого числа или стадии или группы целых чисел или стадий, но не исключение любого другого целого числа или стадии или группы целых чисел или стадий.

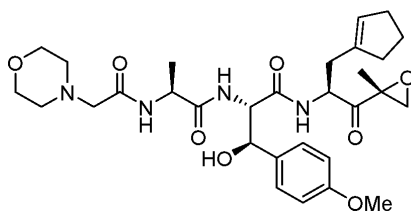
В данном описании, если композиции описаны как содержащие компоненты или материалы, предусмотрено, что указанные композиции также могут состоять по сути или состоять из любой комбинации указанных компонентов или материалов, если не указано иное. Аналогичным образом, если способы описаны как включающие определенные стадии, предусмотрено, что указанные способы также могут состоять по сути или состоять из любой комбинации указанных стадий, если не указано иное. Изобретение, иллюстративно описанное в данном документе, может быть должным образом осуществлено на практике в отсутствие какого-либо элемента или стадии, которые не описаны в данном документе.

Практическое осуществление способа, описанного в данном документе, и его отдельных стадий может быть реализовано вручную и/или с помощью автоматических приспособлений, обеспечиваемых электронным оборудованием. Несмотря на то что способы описаны со ссылкой на конкретные варианты реализации, специалистам в данной области техники понятно, что можно использовать другие способы реализации действий, связанных с указанными способами. Например, порядок различных стадий можно изменять без отступления от объема или сути указанного способа, если не описано иное. Кроме того, некоторые из отдельных стадий можно объединять, опускать или дополнительно подразделять на дополнительные стадии.

Все патенты, публикации и ссылки, цитированные в данном документе, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки. В случае противоречий между настоящим описанием и включенными патентами, публикациями и ссылками следует руководствоваться настоящим описанием.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

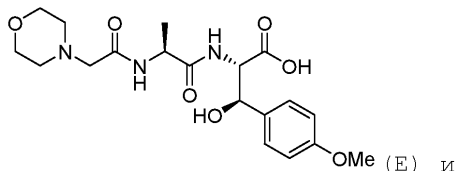
1. Способ получения (2S,3R)-N-[(2S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-[(2R)-2-метилоксиран-2-ил]-1-оксопропан-2-ил]-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-[(2S)-2-[2-(морфолин-4-ил)ацетида]пропанамида]пропанамида (соединение "G")



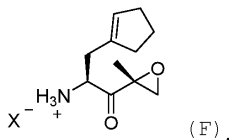
включающий

(а) смешивание основания третичного амина и суспензии

(i) (2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетиамидо)пропанамидо)пропановой кислоты (соединение "Е")



(ii) (S)-3-(циклопент-1-ен-1-ил)-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопропан-2-аминиевой соли (соединение "F")



где X^- представляет собой противоион, в апротонном растворителе с образованием смеси; и

(б) смешивание конденсирующего агента и смеси стадии (а) с образованием соединения G, причем температуру каждой стадии смешивания поддерживают на уровне от -20 до 25°C.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что X^- выбирают из группы, состоящей из тозилата, трифлата, ацетата, нафталинсульфоната, 4-нитробензолсульфоната, сульфата, метилсульфата, нитрата, фторида, хлорида, бромида и их комбинаций.

3. Способ по п.1 или 2, отличающийся тем, что апротонный растворитель выбирают из группы, состоящей из ацетонитрила ("ACN"), дихлорметана ("ДХМ"), тетрагидрофурана ("ТГФ"), диметилацетамида ("DMAc"), этилацетата ("EtOAc"), изопропилацетата ("iPrOAc"), диметилформамида ("DMFA") и их комбинаций.

4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что основание третичного амина выбирают из группы, состоящей из N,N-диизопропилэтиламина ("DIPEA"), триэтиламина ("TEA"), N-метилморфолина ("NMM"), 2,2,6,6-тетраметилпиперидина ("TMP"), 2,4,6-триметилпиперидина ("коллин") и их комбинаций.

5. Способ по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что молярное соотношение основания третичного амина к соединению E находится в диапазоне от 1:1 до 4:1.

6. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что конденсирующий агент включает карбодиимидный реагент, фосфониевый реагент, ураниевый реагент, иммониевый реагент, имидазолиевый реагент, фосфорорганический реагент, хлорангидридный реагент, хлорформиатный реагент или пиридиниевый реагент.

7. Способ по любому из пп.1-6, отличающийся тем, что молярное соотношение конденсирующего агента к соединению E составляет 1 к 1.

8. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что конденсирующий реагент дополнительно содержит конденсирующую добавку.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что конденсирующую добавку выбирают из группы, состоящей из бензотриазола, дикарбосимида, сукцинимида и их комбинаций.

10. Способ по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что температуру каждой стадии смешивания поддерживают на уровне от -15 до 25°C.

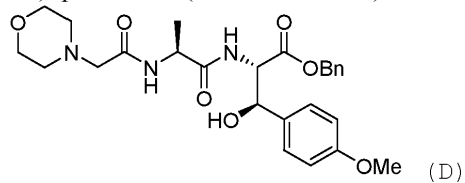
11. Способ по любому из пп.1-10, отличающийся тем, что смешивание на стадии (а) включает перемешивание смеси в течение до 10 мин.

12. Способ по любому из пп.1-11, отличающийся тем, что смешивание на стадии (б) включает перемешивание в течение до 2 ч.

13. Способ по любому из пп.1-12, дополнительно включающий промывание соединения G одним или несколькими из следующих компонентов: вода, одноосновный фосфат калия, бикарбонат натрия и сульфат натрия.

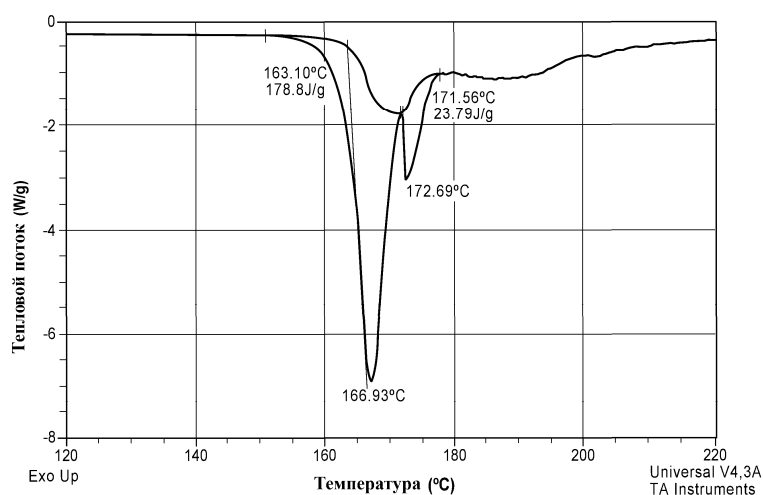
14. Способ по любому из пп.1-13, отличающийся тем, что соединение E получают смешиванием восстановителя и бензил-(2S,3R)-3-гидрокси-3-(4-метоксифенил)-2-((S)-2-(2-

морфолиноацетида)пропанамида)пропаноата (соединение "D")

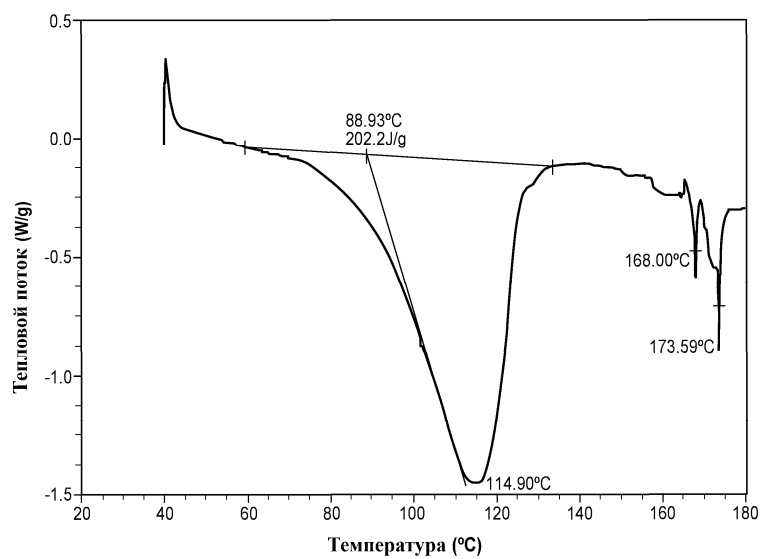


с образованием соединения E.

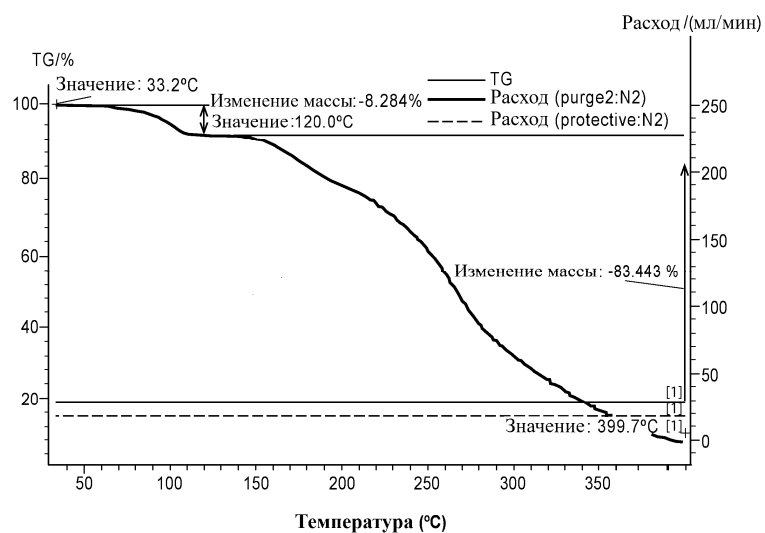
15. Способ по п.14, отличающийся тем, что восстановитель выбирают из группы, состоящей из H_2 , Pd/C; H_2 , $Pd(OH)_2/C$; Li; Na; литий-4,4'-ди-трет-бутилбифенил ("Li DTBVP") и их комбинаций.



Фиг. 1

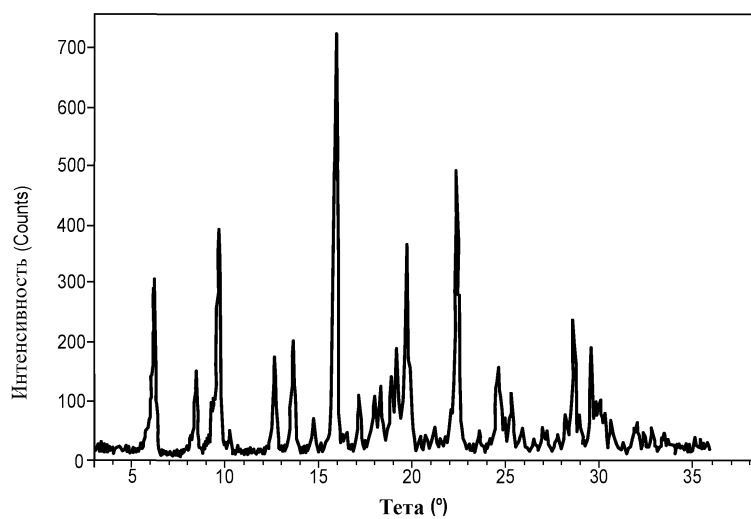


Фиг. 2

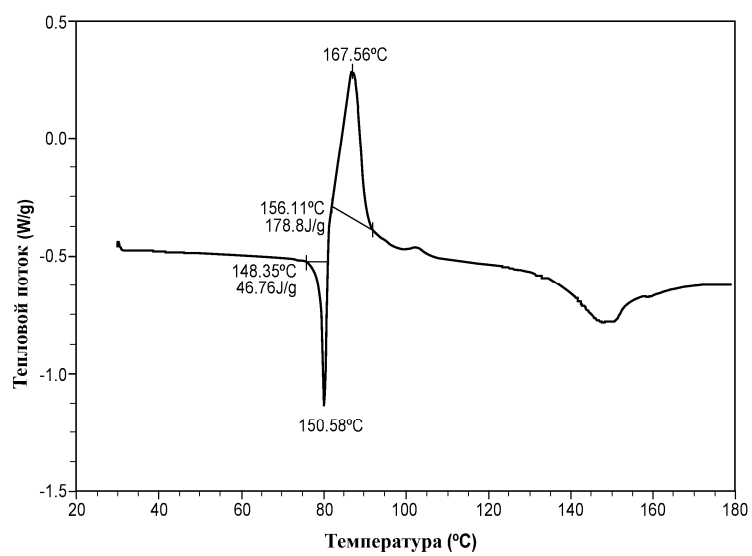


Температура (°C)

Фиг. 3



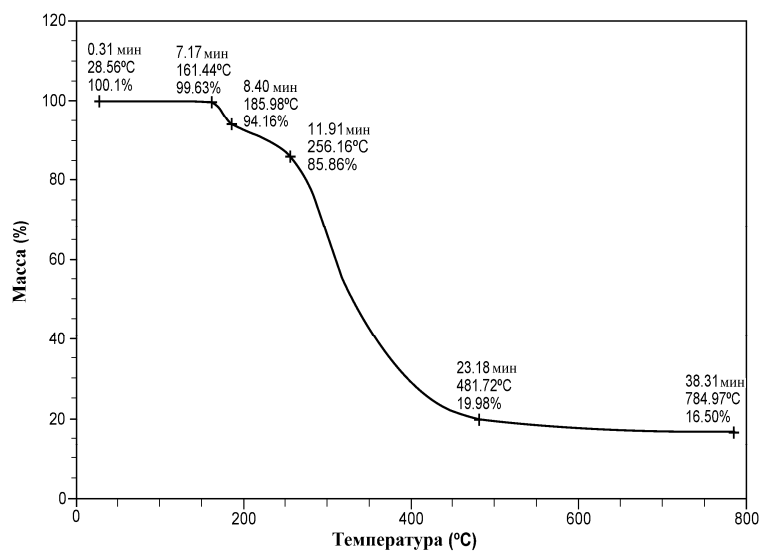
Фиг. 4



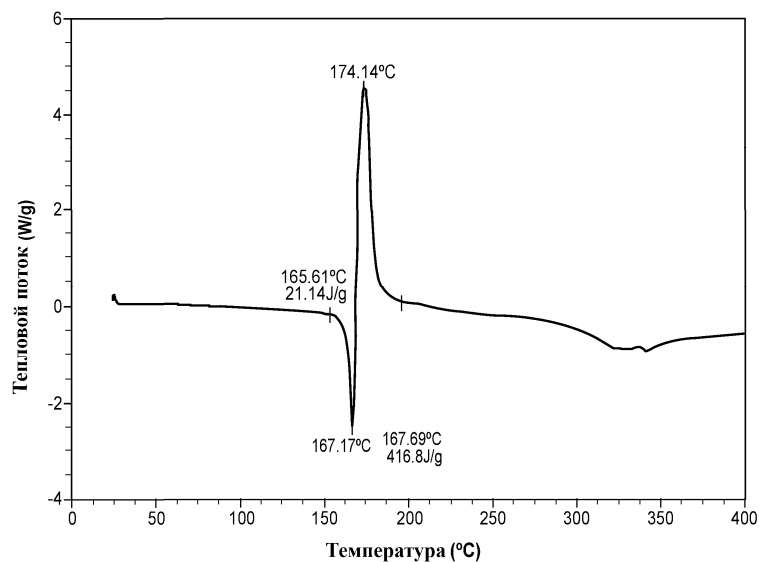
Температура (°C)

Фиг. 5

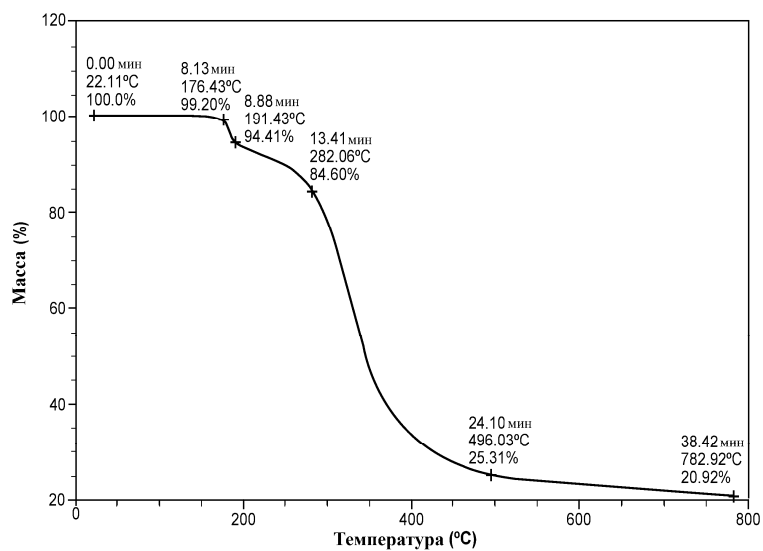
041535



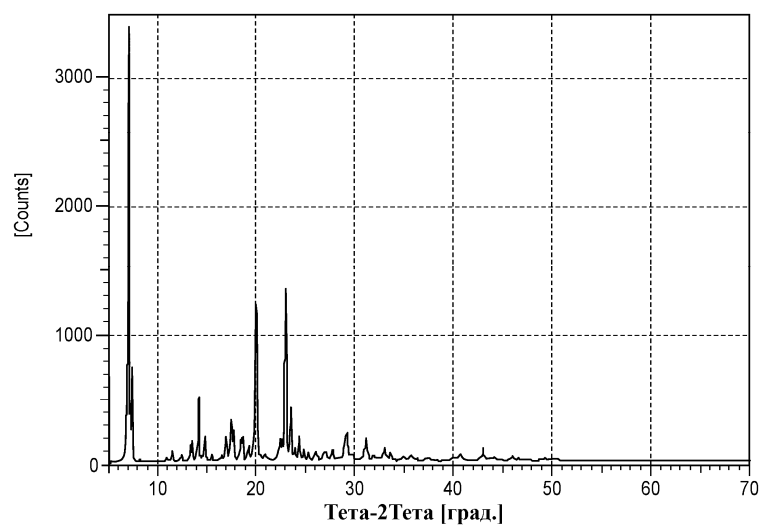
Фиг. 6



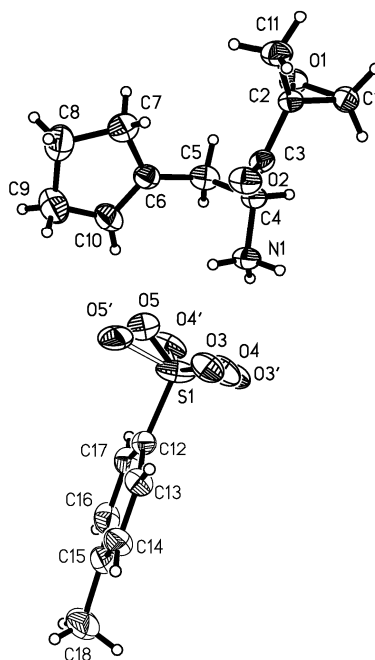
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10

