

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 042598

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.03

(21) Номер заявки
202091886

(22) Дата подачи заявки
2019.02.15

(51) Int. Cl. A61P 29/00 (2006.01)
C07F 5/02 (2006.01)
A61K 31/69 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ АРГИНАЗЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/631,659; 62/671,576; 62/721,113;
62/778,002

(32) 2018.02.17; 2018.05.15; 2018.08.22;
2018.12.11

(33) US

(43) 2021.01.18

(86) PCT/IB2019/051236

(87) WO 2019/159120 2019.08.22

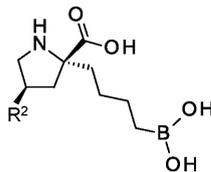
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

(72) Изобретатель:
Млинэрски Скотт Нэйтан, Гриб
Тайлер, Каваткар Самир (US),
Финлей Морис Реймонд Верскойл,
Симпсон Иэн (GB), Ван Цзянянь, Кук
Стив, У Дэдун (US)

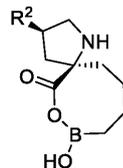
(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(56) WO-A1-2011133653
WO-A1-2016210106
WO-A1-2018089490

(57) Раскрыты соединения формул (II) и (IIb):



(II)



(IIb),

где R^2 представляет собой -ОН или -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -Н или -C(O)CH(R^{2b})NH₂; R^{2b} представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂, их фармацевтически приемлемые соли, фармацевтические композиции, содержащие соединения формулы (II) или (IIb), и способы их применения для лечения рака или респираторного воспалительного заболевания и ингибирования аргиназы.

042598 B1

042598 B1

Уровень техники

Аргиназа представляет собой марганецсодержащий металлофермент, который катализирует превращение L-аргинина в мочевины и L-орнитин. Существует две изоформы: аргиназа 1 представляет собой цитозольный фермент, преимущественно обнаруживаемый в гепатоцитах, где он играет критическую роль в удалении аммиака посредством синтеза мочевины, и аргиназа 2, митохондриальный фермент с высокой экспрессией в почках, вовлеченный в образование орнитина, предшественника для полиаминов и пролинов, необходимых для пролиферации клетки и образования коллагена соответственно.

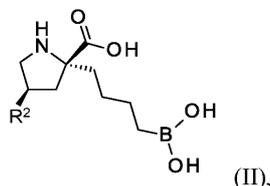
Хотя L-аргинин не является незаменимой аминокислотой, поскольку он может быть получен с помощью белкового обмена у здоровых взрослых, повышенная экспрессия и секреция аргиназ приводит к пониженным уровням L-аргинина при различных физиологических и патологических состояниях (например, беременности, аутоиммунных заболеваниях, раке). Иммунные клетки, в частности, чувствительны к пониженным уровням L-аргинина. Когда T-клетки находятся в микроокружении с низким уровнем L-аргинина, то они снижают свою скорость пролиферации и уменьшают экспрессию цепи CD3 ζ , IFN γ и литических ферментов, что приводит к нарушенной реактивности T-клеток. Дендритные клетки отвечают на условия с низким уровнем L-аргинина снижением их способности представлять антигены, и природные клетки-киллеры снижают как пролиферацию, так и экспрессию литических ферментов.

Опухоли используют множество иммуносупрессорных механизмов для избегания иммунной системы. Одним из таких является снижение уровня L-аргинина с помощью повышенных уровней циркулирующей аргиназы, повышенной экспрессии и секреции аргиназы опухолевыми клетками и привлечения супрессорных клеток миелоидного происхождения, экспрессирующих и секретирующих аргиназу. Вместе, это приводит к снижению уровня L-аргинина в микроокружении опухоли и иммуносупрессорному фенотипу.

Было показано, что фармакологическое ингибирование активности аргиназы способно обращать индуцированную низким уровнем L-аргинина иммуносупрессию на животных моделях. Поэтому существует необходимость в эффективных и селективных ингибиторах аргиназы для обращения иммуносупрессии и повторной активации противоракового иммунитета у пациентов, либо в виде отдельного средства, либо в комбинации со средствами терапии, дополнительно обращающими иммуносупрессорные механизмы.

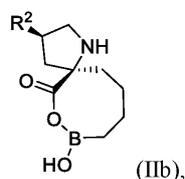
Краткое описание изобретения

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль:



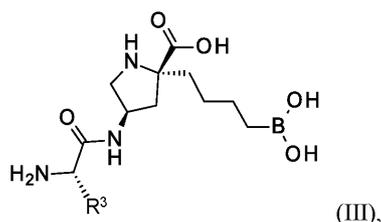
где R² представляет собой -OH или -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -H или -C(O)CH(R^{2b})NH₂; и R^{2b} представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂.

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (IIb) или его фармацевтически приемлемая соль:



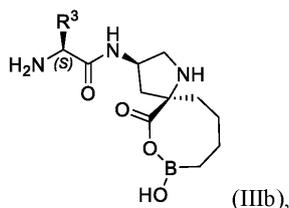
где R² представляет собой -OH или -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -H или -C(O)CH(R^{2b})NH₂; и R^{2b} представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂.

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (III) или его фармацевтически приемлемая соль:



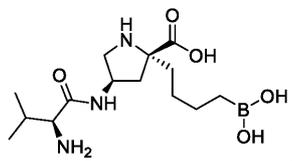
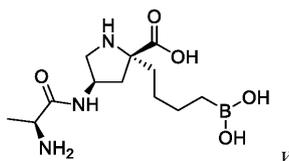
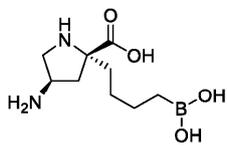
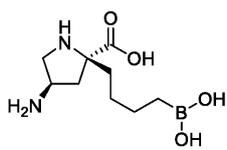
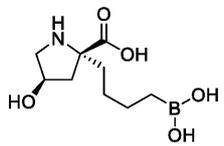
где R³ представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂.

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (IIIb) или его фармацевтически приемлемая соль:



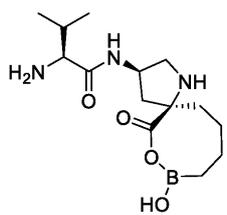
где R³ представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрыты соединения, представляющие собой:



или их фармацевтически приемлемые соли.

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение, имеющее следующую структуру:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (II), (III), (IIIb) или любое из указанных выше конкретных соединений, или их фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрыто применение соединения формулы (II), (III), (IIIb) или любого из указанных выше конкретных соединений, или их фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показаны спектры ЯМР, изображающие превращение соединения В в соединение А, где соединение В получено в 100% d6-DMSO (помеченное как А), 75% D₂O в d6-DMSO (помеченное как В), 50% D₂O в d6-DMSO (помеченное как С), 25% D₂O в d6-DMSO (помеченное как Е) и 100% D₂O (помеченное как F).

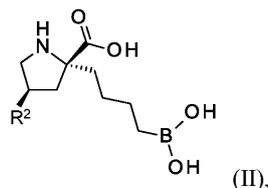
На фиг. 2 показан спектр ЯМР (в 0,1 М DCl в D₂O) соединения В, изображающий то, как подкисление приводит к почти полному превращению в соединении А.

На фиг. 3 приведено сравнение спектров ЯМР аморфного вещества в d6-DMSO (помеченное как В) с кристаллическим соединением В в d6-DMSO (помеченное как А), показывающее, что оба вещества имеют такую же циклическую структуру как кристаллическое соединение В.

Подробное описание изобретения

Соединения.

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R² представляет собой -ОН или -NHR^{2a};

R^{2a} представляет собой -Н или -C(O)CH(R^{2b})NH₂; и

R^{2b} представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂.

В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (II). В другом варианте осуществления раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (II).

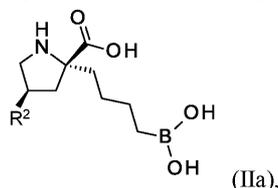
В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R² представляет собой -ОН.

В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R² представляет собой -NHR^{2a}, и R^{2a} представляет собой -Н.

В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R² представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NH₂, и R^{2b} представляет собой -CH₃.

В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R² представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NH₂, и R^{2b} представляет собой -CH(CH₃)₂.

В описании раскрыто соединение формулы (IIa) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R² представляет собой -ОН или -NHR^{2a}; R^{2a} представляет собой -Н или -C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c};

R^{2b} выбран из -Н, -(C₁-C₄)алкила и CH₂OR^{2d}, и R^{2c} представляет собой -Н; или R^{2b} и R^{2c} вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют 5-членное гетероциклическое кольцо; и

R^{2d} представляет собой -Н или -CH₃.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (IIa). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IIa).

В одном варианте R² в формуле (IIa) представляет собой -ОН.

В одном варианте R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, и R^{2a} представляет собой -Н.

В одном варианте R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}, R^{2b} представляет собой -Н, и R^{2c} представляет собой -Н.

В одном варианте R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}, R^{2b} представляет собой -CH₂OR^{2d}, R^{2c} представляет собой -Н, и R^{2d} представляет собой -Н.

В одном варианте R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}, R^{2b} представляет собой -CH₂OR^{2d}, R^{2c} представляет собой -Н, и R^{2d} представляет собой -CH₃.

В некоторых вариантах R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}, R^{2b} представляет собой -(C₁-C₄)алкил, и R^{2c} представляет собой -Н. В некоторых вариантах -(C₁-C₄)алкил выбран из метила, этила, изопропила, втор-бутила, трет-бутила и изобутила.

В некоторых вариантах R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой -C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}, R^{2b} представляет собой метил, и R^{2c} представляет собой -Н.

В некоторых вариантах R² в формуле (IIa) представляет собой -NHR^{2a}, R^{2a} представляет собой

$-C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}$, R^{2b} представляет собой этил, и R^{2c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^2 в формуле (IIa) представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}$, R^{2b} представляет собой изопропил, и R^{2c} представляет собой -H.

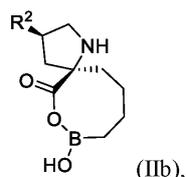
В некоторых вариантах R^2 в формуле (IIa) представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}$, R^{2b} представляет собой втор-бутил, и R^{2c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^2 в формуле (IIa) представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}$, R^{2b} представляет собой изобутил, и R^{2c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^2 в формуле (IIa) представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}$, R^{2b} представляет собой трет-бутил, и R^{2c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^2 в формуле (IIa) представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NHR^{2c}$, и R^{2b} и R^{2c} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное кольцо.

В одном варианте осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (IIb) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^2 представляет собой -OH или $-NHR^{2a}$,
 R^{2a} представляет собой -H или $-C(O)CH(R^{2b})NH_2$;
 R^{2b} представляет собой $-CH_3$ или $-CH(CH_3)_2$.

В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (IIb). В другом варианте осуществления раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IIb).

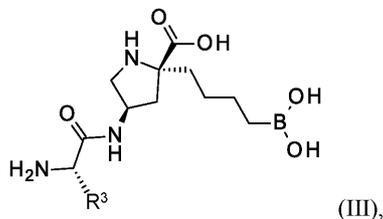
В одном варианте осуществления формулы (IIb) R^2 представляет собой -OH.

В одном варианте осуществления формулы (IIb) R^2 представляет собой $-NHR^{2a}$, и R^{2a} представляет собой -H.

В одном варианте осуществления формулы (IIb) R^2 представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NH_2$, и R^{2b} представляет собой $-CH_3$.

В одном варианте осуществления формулы (IIb) R^2 представляет собой $-NHR^{2a}$, R^{2a} представляет собой $-C(O)CH(R^{2b})NH_2$, и R^{2b} представляет собой $-CH(CH_3)_2$.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (III) или его фармацевтически приемлемая соль:



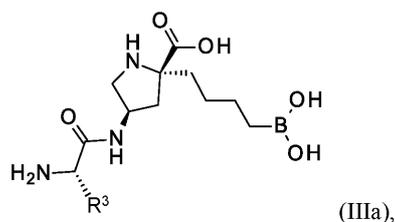
где R^3 представляет собой $-CH_3$ или $-CH(CH_3)_2$.

В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (III). В другом варианте осуществления раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (III).

В некоторых вариантах осуществления формулы (III) R^3 представляет собой $-CH_3$.

В некоторых вариантах осуществления формулы (III) R^3 представляет собой $-CH(CH_3)_2$.

В описании также раскрыто соединение формулы (IIIa) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^3 выбран из -H, $-(C_1-C_4)$ алкила и CH_2OR^{3a} , и
 R^{3a} представляет собой -H или $-CH_3$.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (IIIa). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IIIa).

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой -H.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой $-CH_2OR^{3a}$, и R^{3a} представляет собой -H.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой $-\text{CH}_2\text{OR}^{3a}$, и R^{3a} представляет собой $-\text{CH}_3$.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил. В некоторых вариантах $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил выбран из метила, этила, изопропила, втор-бутила, трет-бутила и изобутила.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой метил.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой этил.

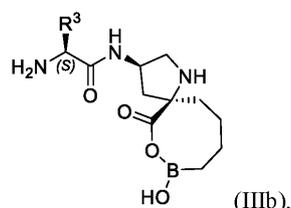
В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой изопропил.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой втор-бутил.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой изобутил.

В одном варианте R^3 в формуле (IIIa) представляет собой трет-бутил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрыто соединение формулы (IIIb) или его фармацевтически приемлемая соль:



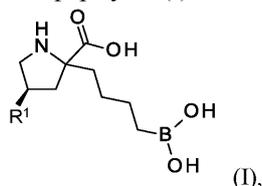
где R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (IIIb). В другом варианте осуществления раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IIIb).

В одном варианте осуществления формулы (IIIb) R^3 представляет собой $-\text{CH}_3$.

В одном варианте осуществления формулы (IIIb) R^3 представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

В описании также раскрыто соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^1 представляет собой $-\text{NHR}^{1a}$,

R^{1a} представляет собой $-\text{H}$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{1b})\text{NH}_2$; и

R^{1b} представляет собой $-\text{CH}_3$ или $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

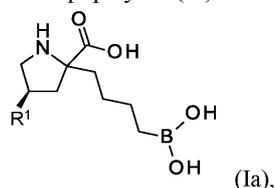
В одном варианте раскрыто соединение формулы (I). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (I).

В некоторых вариантах R^1 в формуле (I) представляет собой $-\text{NHR}^{1a}$, и R^{1a} представляет собой $-\text{H}$.

В некоторых вариантах R^1 в формуле (I) представляет собой $-\text{NHR}^{1a}$, R^{1a} представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{1b})\text{NH}_2$, и R^{1b} представляет собой $-\text{CH}_3$.

В некоторых вариантах R^1 в формуле (I) представляет собой $-\text{NHR}^{1a}$, R^{1a} представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{1b})\text{NH}_2$, и R^{1b} представляет собой $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

В описании также раскрыто соединение формулы (Ia) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^1 представляет собой $-\text{NHR}^{1a}$,

R^{1a} представляет собой $-\text{H}$ или $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{1b})\text{NHR}^{1c}$; и

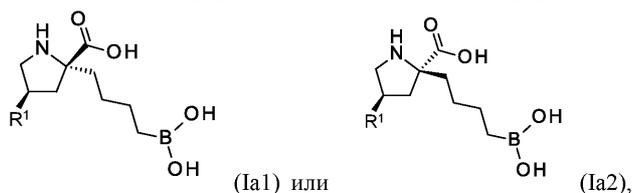
R^{1b} выбран из $-\text{H}$, $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкила и $\text{CH}_2\text{OR}^{1d}$; и R^{1c} представляет собой $-\text{H}$; или

R^{1b} и R^{1c} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное кольцо; и

R^{1d} представляет собой $-\text{H}$ или $-\text{CH}_3$.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (Ia). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (Ia).

В некоторых вариантах соединения формулы (Ia) представлено формулами (Ia1) или (Ia2):



где R^1 является таким же, как определено выше.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой -H, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой CH_2OR^{1d} , R^{1c} представляет собой -H, и R^{1d} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой CH_2OR^{1d} , R^{1c} представляет собой -H, и R^{1d} представляет собой $-CH_3$.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой $-(C_1-C_4)$ алкил, и R^{1c} представляет собой -H. В некоторых вариантах $-(C_1-C_4)$ алкил выбран из метила, этила, изопропила, втор-бутила, трет-бутила и изобутила.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой метил, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой этил, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой изопропил, и R^{1c} представляет собой -H.

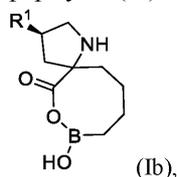
В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой втор-бутил, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой трет-бутил, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой трет-бутил, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ia) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, и R^{1b} и R^{1c} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное кольцо.

В описании также раскрыто соединение формулы (Ib) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^1 представляет собой $-NHR^{1a}$;

R^{1a} представляет собой -H или $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$; и

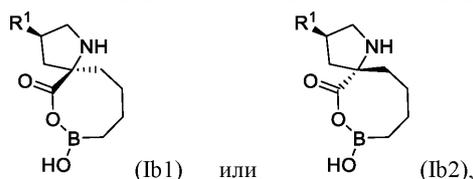
R^{1b} выбран из -H, $-(C_1-C_4)$ алкила и CH_2OR^{1d} ; и R^{1c} представляет собой -H; или

R^{1b} и R^{1c} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное гетероциклическое кольцо; и

R^{1d} представляет собой -H или $-CH_3$.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (Ib). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (Ib).

В некоторых вариантах соединения формулы (Ib) представлено формулами (Ib1) или (Ib2):



где R^1 является таким же, как определено выше.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ib) представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ib) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой -H, и R^{1c} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ib) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет собой CH_2OR^{1d} , R^{1c} представляет собой -H, и R^{1d} представляет собой -H.

В некоторых вариантах R^{1a} в формуле (Ib) представляет собой $-C(O)CH(R^{1b})NHR^{1c}$, R^{1b} представляет

собой $\text{CH}_2\text{OR}^{\text{ld}}$, R^{lc} представляет собой $-\text{H}$, и R^{ld} представляет собой $-\text{CH}_3$.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$. В некоторых вариантах $-(\text{C}_1-\text{C}_4)$ алкил выбран из метила, этила, изопропила, втор-бутила, трет-бутила и изобутила.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой метил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой этил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой изопропил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$.

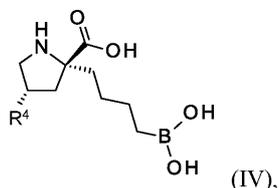
В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой втор-бутил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой изобутил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, R^{lb} представляет собой трет-бутил, и R^{lc} представляет собой $-\text{H}$.

В некоторых вариантах R^{la} в формуле (Ib) представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{R}^{\text{lb}})\text{NHR}^{\text{lc}}$, и R^{lb} и R^{lc} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное кольцо.

В описании также раскрыто соединение формулы (IV) или его фармацевтически приемлемая соль:

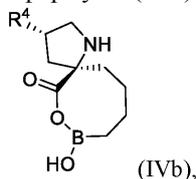


где R^4 представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{NH}_2$.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (IV). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IV).

В одном варианте R^4 в формуле (IV) представляет собой $-\text{OH}$. В другом варианте R^4 в формуле (IV) представляет собой $-\text{NH}_2$.

В описании также раскрыто соединение формулы (IVb) или его фармацевтически приемлемая соль:

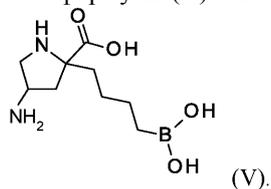


где R^4 представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{NH}_2$.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (IVb). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IVb).

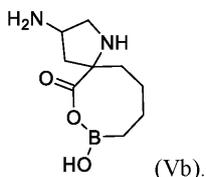
В одном варианте R^4 в формуле (IVb) представляет собой $-\text{OH}$. В другом варианте R^4 в формуле (IVb) представляет собой $-\text{NH}_2$.

В описании также раскрыто соединение формулы (V) или его фармацевтически приемлемая соль:



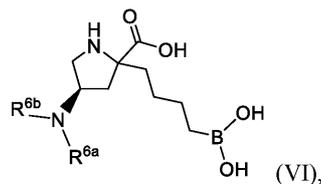
В одном варианте раскрыто соединение формулы (V). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (V).

В описании также раскрыто соединение формулы (Vb) или его фармацевтически приемлемая соль:



В одном варианте раскрыто соединение формулы (Vb). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (Vb).

В описании также раскрыто соединение формулы (VI) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^{6a} представляет собой -H или $-CH_3$;

R^{6b} представляет собой $-C(O)C(R^{6c}R^{6d})NH_2$ или $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой или $-OR^{6c}$; и

R^{6c} представляет собой $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой или $-OR^{6f}$;

R^{6d} представляет собой -H или $-CH_3$; и

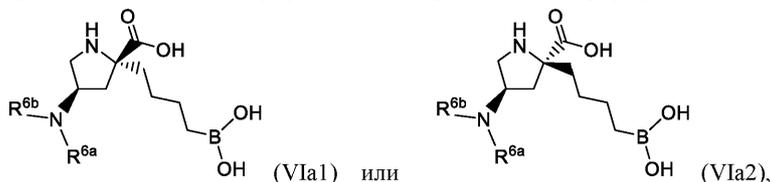
R^{6c} и R^{6f} независимо представляют собой -H или $-CH_3$.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (VI). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (VI).

В некоторых вариантах R^{6a} в формуле (VI) представляет собой -H или $-CH_3$, и R^{6b} представляет собой $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой.

В некоторых вариантах R^{6a} в формуле (VI) представляет собой -H или $-CH_3$, R^{6b} представляет собой $-C(O)C(R^{6c}R^{6d})NH_2$, R^{6c} представляет собой $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой или -OH, и R^{6d} представляет собой H или $-CH_3$.

В некоторых вариантах соединения формулы (VI) представлено формулами (VIa1) или (VIa2):



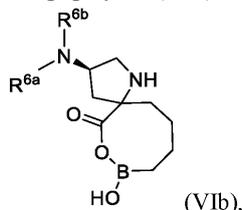
где R^{6a} и R^{6b} являются такими же, как определено выше.

В одном варианте раскрыто соединение формулы (VIa1). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (VIa1).

В одном варианте раскрыто соединение формулы (VIa2). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (VIa2).

В одном варианте осуществления формулы (VI) R^{6b} представляет собой $-CH_3$ или $-CH_2CH_2NH_2$.

В описании также раскрыто соединение формулы (VIb) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^{6a} представляет собой -H или $-CH_3$;

R^{6b} представляет собой $-C(O)C(R^{6c}R^{6d})NH_2$ или $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой или $-OR^{6c}$; и

R^{6c} представляет собой $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой или $-OR^{6f}$;

R^{6d} представляет собой -H или $-CH_3$; и

R^{6c} и R^{6f} независимо представляют собой -H или $-CH_3$.

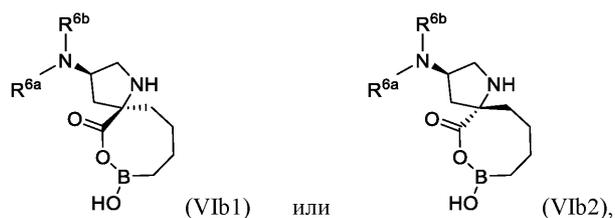
В одном варианте раскрыто соединение формулы (VIb). В другом варианте раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (VIb).

В одном варианте R^{6b} в формуле (VIb) представляет собой $-CH_3$ или $-CH_2CH_2NH_2$.

В некоторых вариантах R^{6a} в формуле (VIb) представляет собой -H или $-CH_3$, и R^{6b} представляет собой $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой.

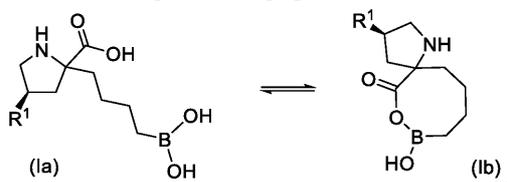
В некоторых вариантах R^{6a} в формуле (VIb) представляет собой -H или $-CH_3$, R^{6b} представляет собой $-C(O)C(R^{6c}R^{6d})NH_2$, R^{6c} представляет собой $-(C_1-C_3)$ алкил, который замещен 0 или 1 аминогруппой или -OH, и R^{6d} представляет собой H или $-CH_3$.

В некоторых вариантах соединения формулы (VIb) представлено формулами (VIb1) или (VIb2):



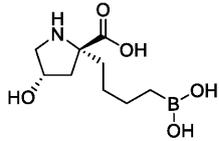
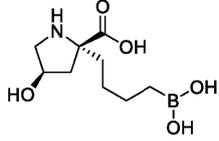
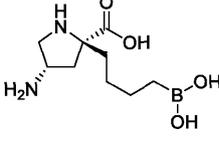
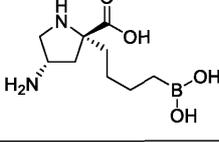
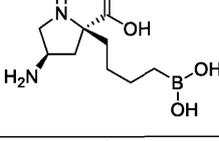
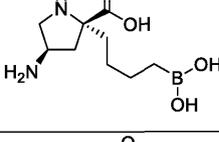
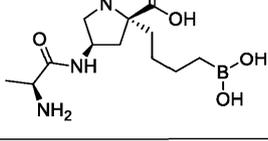
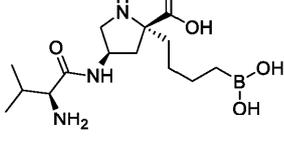
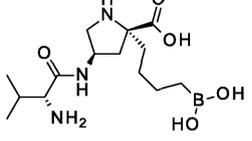
где R^{6a} и R^{6b} являются такими же, как определено выше.

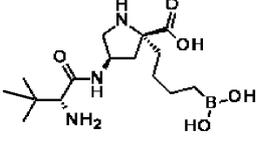
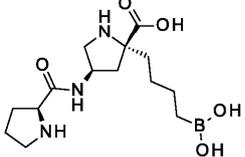
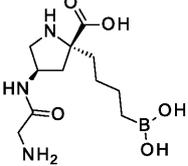
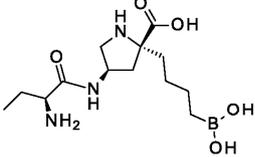
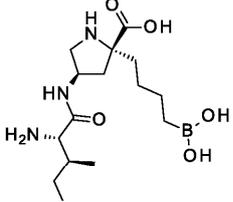
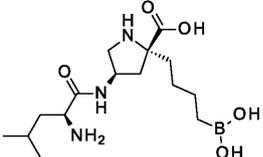
В некоторых вариантах соединения формул (I), (Ia), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (V) и (VI), в том числе их виды, превращаются в соединения формул (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), (Vb) и (VIb), в том числе их виды, посредством внутримолекулярной циклизации и наоборот. Т.е. это процесс взаимопревращения. Соединения формул (I), (Ia), (II), (IIa), (III), (IIIa), (IV), (V) и (VI), в том числе их виды, и соединения формул (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), (Vb) и (VIb), в том числе их виды, все превращаются друг в друга частично или полностью в зависимости от условий, таких как температура, давление, влажность, pH и/или состав среды (например, растворители) и т.д. Это проиллюстрировано на схеме ниже:

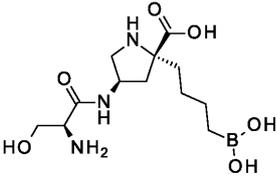
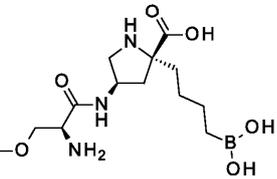
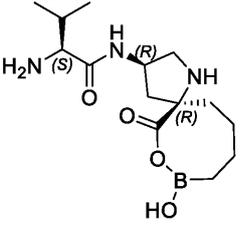
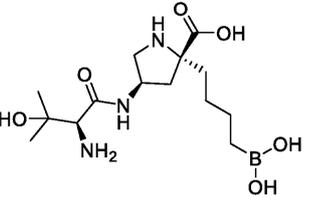
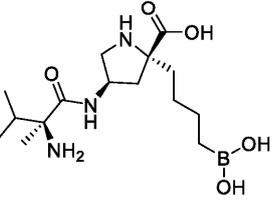
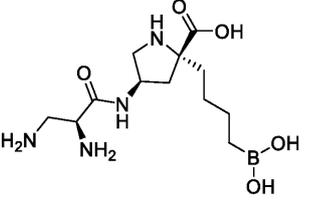


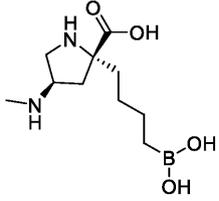
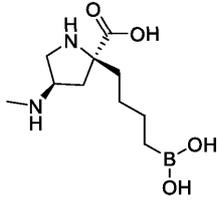
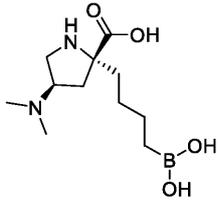
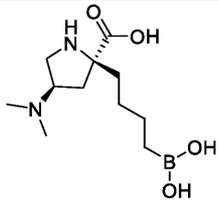
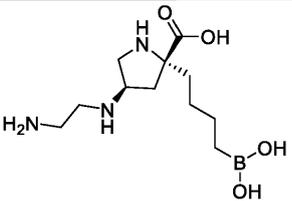
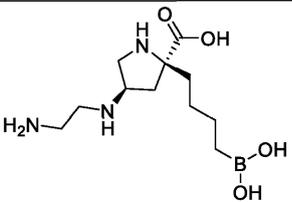
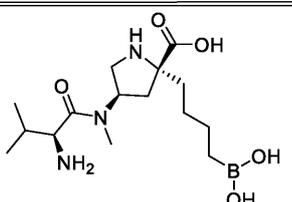
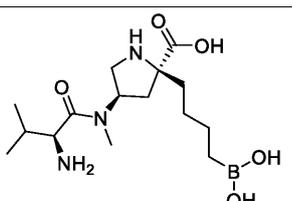
где R¹ является таким же, как определено в формуле (Ia) и (Ib) выше. В описании также раскрыты соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль.

Таблица 1

Пример	Соединение	Название
2		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-2-(4-Боробутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновая кислота
3		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боробутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновая кислота
4		(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-Амино-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
5		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-Амино-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
6		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Амино-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
7		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-Амино-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
8		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-((<i>S</i>)-2-Аминопропанамидо)-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
9		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-((<i>S</i>)-2-Амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
10		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-((<i>R</i>)-2-Амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боробутил)пирролидин-2-карбоновая кислота

11		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-((<i>S</i>)-2-Амино-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
12		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боронобутил)-4-((<i>S</i>)-пирролидин-2-карбоксамидо)пирролидин-2-карбоновая кислота
13		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-(2-Аминоацетамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
14		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-((<i>S</i>)-2-Аминобутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
15		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-2-Амино-3-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
16		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[2 <i>S</i>]-2-Амино-4-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота

17		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2-Амино-3-гидроксипроаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
18		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2-Амино-3-метоксипроаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
19		(S)-2-Амино-N-((3 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-8-гидрокси-6-оксо-7-окса-1-аза-8-бораспиро[4.7]додекан-3-ил)-3-метилбутанамид
20		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2-Амино-3-гидрокси-3-метилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
21		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2-Амино-2,3-диметилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
22		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боронобутил)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2,3-диаминопроаноил]амино]пирролидин-2-карбоновая кислота

23		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота
24		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота
25		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота
26		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-2-(4-Боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота
27		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-(2-Аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
28		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-(2-Аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
29		(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[2-Амино-3-метилбутаноил]метиламино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота
30		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-[[2-Амино-3-метилбутаноил]метиламино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота

Выражение "C₁-C₄алкил" включает ациклические алкильные фрагменты, имеющие 1-4 атома углерода. Примеры C₁-C₄алкильных фрагментов включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил.

Выражение "фармацевтически приемлемая соль" включает соли присоединения кислоты или при-

соединения основания, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства соединений формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых их подвидов или видов, и соединений из табл. 1, и которые обычно не являются биологически или другим образом нежелательными. Во многих случаях соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 способны к образованию солей кислоты и/или основания благодаря наличию основных и/или карбоксильных групп или подобных им групп.

Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты могут образовываться с помощью неорганических кислот и органических кислот, например, ацетатная, аспаратная, бензоатная, безилатная, бромидная/гидробромидная, бикарбонатная/карбонатная, бисульфатная/сульфатная, камфорсульфонатная, хлоридная/гидрохлоридная, хлортеофиллонатная, цитратная, этандисульфатная, fumarатная, глюцептатная, глюконатная, глюкуронатная, гиппуратная, гидройодидная/йодидная, изотионатная, лактатная, лактобионатная, лаурилсульфатная, малатная, малеатная, малонатная, манделатная, мезилатная, метилсульфатная, нафтоатная, напсилатная, никотинатная, нитратная, октадеканатная, олеатная, оксалатная, пальмитатная, пальмоатная, фосфатная/гидрофосфатная/дигидрофосфатная, полигалактуронатная, пропионатная, стеаратная, сукцинатная, субсалицилатная, сульфатная/гидросульфатная, тартратная, тозилатная и трифторацетатная соли. Неорганические кислоты, из которых можно получать соли, включают, например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту и т.п. Органические кислоты, из которых можно получать соли, включают, например, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, гликолевую кислоту, щавелевую кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, fumarовую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, бензойную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, толуолсульфоновую кислоту, трифторуксусную кислоту, сульфосалициловую кислоту и т.п.

Фармацевтически приемлемые соли присоединения основания можно образовывать с помощью неорганических и органических оснований. Неорганические основания, из которых можно получать соли, включают, например, аммиак и соли аммония и металлов из групп I-XII периодической таблицы элементов. В определенных вариантах осуществления соли получают из натрия, калия, аммония, кальция, магния, железа, серебра, цинка и меди; особенно подходящие соли включают соли аммония, калия, натрия, кальция и магния. Органические основания, из которых можно получать соли, включают, например, первичные, вторичные и третичные амины, замещенные амины, в том числе встречающиеся в природе замещенные амины, циклические амины, основные ионообменные смолы и т.п. Некоторые органические амины включают изопропиламин, бензатин, холинат, диэтанолламин, диэтиламин, лизин, меглюмин, пиперазин и трометамин.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых их подвидов или видов, и соединений из табл. 1 могут быть синтезированы из основного или кислотного фрагмента с помощью традиционных химических способов. Обычно такие соли можно получать путем осуществления реакции форм свободной кислоты таких соединений со стехиометрическим количеством подходящего основания (такого как гидроксид, карбонат, бикарбонат Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} или K^+ или т.п.) или путем осуществления реакции форм свободного основания таких соединений со стехиометрическим количеством подходящей кислоты. Такие реакции обычно осуществляют в воде или в органическом растворителе или в смеси обоих. Как правило, желательным, где это применимо, является применение неводных сред, таких как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил. Перечни дополнительных подходящих солей можно найти, например, в "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); Berge et al., "J. Pharm. Sci.", 1977, 66, 1-19, и в "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Любая формула, приведенная в данном документе, также представляет собой немеченные формы, а также изотопно меченые формы соединений формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых их подвидов или видов, и соединений из табл. 1. Изотопно меченые соединения характеризуются структурами, изображенными с помощью формул, приведенных в данном документе, за исключением того, что один или несколько атомов замещены атомом того же элемента, но с отличающимся массовым числом. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1, и их фармацевтически приемлемые соли включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора и йода, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{36}Cl и ^{125}I . Изотопно меченые соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 могут, в общем, быть получены с помощью традиционных методик, известных специалистам в данной области техники, или посредством способов, аналогичных тем, которые описаны в сопутствующих примерах, с применением подходящих изотопно меченых реагентов вместо немеченных реагентов, используемых ранее.

Соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в

том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 могут иметь различные изомерные формы. Выражение "оптический изомер", "стереоизомер" или "диастереоизомер" относится к любой из различных стереоизомерных конфигураций, которые могут существовать для данного соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, и соединений из табл. 1. Понятно, что заместитель может быть присоединен при хиральном центре, представляющем собой атом углерода, и, следовательно, раскрытые соединения включают энантиомеры, диастереомеры и рацематы. Термин "энантиомер" включает пары стереоизомеров, которые являются несовпадающими при наложении зеркальными отображениями друг друга. Смесь 1:1 пары энантиомеров является рацемической смесью. Термин используют для обозначения рацемической смеси, при необходимости. Термины "диастереомеры" или "диастереоизомеры" включают стереоизомеры, которые имеют по меньшей мере два асимметричных атома, но которые не являются зеркальными отображениями друг друга. Абсолютная стереохимия указана в соответствии с системой R-S Кана-Ингольда-Прелога. Если соединение представляет собой чистый энантиомер, стереохимия при каждом хиральном центре может быть указана либо как R, либо как S. Выделенные соединения, абсолютная конфигурация которых является неизвестной, могут быть обозначены как (+) или как (-) в зависимости от направления (право- или левовращающее), в котором они вращают плоскополяризованный свет при длине волны D линии натрия. Некоторые соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 содержат один или несколько асимметричных центров или осей и могут таким образом образовывать энантиомеры, диастереомеры или другие стереоизомерные формы, которые могут быть определены с точки зрения абсолютной стереохимии как (R)- или (S)-. Подразумевают, что в настоящее изобретение включены все такие возможные изомеры, в том числе рацемические смеси, оптически чистые формы и смеси промежуточных соединений. Оптически активные (R)- и (S)-изомеры можно получать с применением хиральных синтонов или хиральных реагентов или можно выделять с применением традиционных методик, хорошо известных из уровня техники, таких как хиральная HPLC.

Также в данном документе раскрыты промежуточные соединения 1-48 в примерах и их соли.

Фармацевтические композиции.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 и фармацевтически приемлемый носитель.

Выражение "фармацевтически приемлемый носитель" предусматривает соединения, материалы, композиции и/или лекарственные формы, которые по результатам тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, установленных специалистом в данной области техники.

Раскрытые композиции могут находиться в форме, подходящей для перорального применения (например, в виде таблеток, пастилок, твердых или мягких капсул, водных или масляных суспензий, эмульсий, диспергируемых порошков или гранул, сиропов или настоек), для местного применения (например, в виде кремов, мазей, гелей или водных или масляных растворов или суспензий), для введения путем ингаляции (например, в виде тонкодисперсного порошка или жидкого аэрозоля), для введения путем инсuffляции (например, в виде тонкодисперсного порошка) или для парентерального введения (например, в виде стерильного водного или масляного раствора для внутривенного, подкожного, внутримышечного или внутримышечного введения дозы) или в виде суппозитория-для ректального введения дозы.

Количество активного ингредиента, который объединяют с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями для получения единичной лекарственной формы, будет неизбежно варьироваться в зависимости от подвергаемого лечению реципиента и конкретного пути введения. Для получения дополнительной информации о путях введения и режимах дозирования читателю дается ссылка на главу 25.3 тома 5 *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

Терапевтическая значимость.

Соединения по настоящему изобретению являются пригодными в качестве ингибиторов аргиназы в видах терапии.

В одном аспекте раскрыты способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту эффективного количества соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, или их фармацевтически приемлемой соли.

В одном аспекте раскрыты способы лечения респираторного воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту эффективного количества соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, или их фармацевтически приемлемой соли.

В одном аспекте раскрыто соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV),

(IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые его подвиды или виды, или соединения из табл. 1, или их фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рака.

В одном аспекте раскрыто соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые его подвиды или виды, или соединения из табл. 1, или их фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении респираторного воспалительного заболевания.

В одном аспекте раскрыто применение соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, или фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

В одном аспекте раскрыто применение соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, или фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для лечения респираторного воспалительного заболевания.

В одном аспекте раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые его подвиды или виды, или соединения из табл. 1, или их фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении рака.

В одном аспекте раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые его подвиды или виды, или соединения из табл. 1, или их фармацевтически приемлемую соль для применения в лечении респираторного воспалительного заболевания.

Термин "рак" включает, например, почечно-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мезотелиома), рак поджелудочной железы, колоректальный рак, рак молочной железы, острый миелоидный лейкоз (AML), рак предстательной железы, рак желудка, рак мочевого пузыря, меланому, рак почек и рак яичника. В некоторых вариантах осуществления рак дал метастазы. В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с модуляцией аргиназы 1 и/или аргиназы 2.

В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с повышенными уровнями аргиназы 1 в плазме крови. В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с пониженными уровнями аргинина в плазме крови. В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован как с повышенными уровнями аргиназы 1 в плазме крови, так и с пониженными уровнями аргинина в плазме крови. В некоторых вариантах осуществления рак, ассоциированный с повышенными уровнями аргиназы 1 в плазме крови и/или с пониженными уровнями аргинина в плазме крови, включает почечно-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак легкого (например, мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), мезотелиома), рак поджелудочной железы, колоректальный рак и рак молочной железы.

В некоторых вариантах осуществления при раке секретируется аргиназа 2, например, при остром миелоидном лейкозе и раке предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления рак ассоциирован с аргиназа 1-положительными иммунными клетками, инфильтрирующими опухоль, например, рак легкого (мелкоклеточный рак легкого (SCLC), немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), рак желудка, рак мочевого пузыря, колоректальный рак, меланомы, плоскоклеточная карцинома головы и шеи, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, рак поджелудочной железы и рак почек.

Термин "респираторное воспалительное заболевание" относится к воспалительным состояниям или нарушениям, которые влияют на воздушные пространства, легочную сосудистую систему, легочную интерстициальную ткань или их комбинацию. Они могут быть обособлены в легком или могут вовлекать множество органов. В одном варианте осуществления респираторное воспалительное заболевание представляет собой воспалительное заболевание легкого. В другом варианте осуществления воспалительное заболевание легкого является неинфекционным.

В некоторых вариантах осуществления респираторное воспалительное заболевание представляет собой астму, хроническую обструктивную болезнь легких (COPD), химически-индуцированный фиброз легкого, идиопатический легочный фиброз, кистозный фиброз или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления респираторное воспалительное заболевание представляет собой хроническую обструктивную болезнь легких (COPD) или астму.

В одном аспекте раскрыты способы ингибирования аргиназы у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, или их фармацевтически приемлемой соли.

В одном аспекте раскрыто соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые его подвиды или виды, или соединения из табл. 1, или их фармацевтически приемлемая соль для применения в ингибировании аргиназы.

В одном аспекте раскрыто применение соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, или их фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для ингибирования аргиназы.

В одном аспекте раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые его подвиды или виды, или соединения из табл. 1, или их фармацевтически приемлемую соль для применения в ингибировании аргиназы.

Термин "аргиназа" включает марганец-содержащие ферменты, принадлежащие к семейству уреогидролаз, которые катализируют пятую и конечную стадию в цикле мочевины, превращая L-аргинин в L-орнитин и мочевины. Термин "аргиназа" включает два изофермента фермента, например, аргиназу 1, которая функционирует в цикле мочевины и находится преимущественно в цитоплазме клеток печени, и аргиназу 2, которая находится в митохондриях нескольких тканей в организме и вовлечена в регуляцию концентраций аргинина/орнитина в клетке. В некоторых вариантах осуществления соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль являются селективными в отношении аргиназы 1. В некоторых вариантах осуществления соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль являются селективными в отношении аргиназы 2. В некоторых вариантах осуществления соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды, и соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль ингибируют как аргиназу 1, так и аргиназу 2.

Выражение "эффективное количество" предусматривает количество соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, которое вызывает биологический или медицинский ответ у субъекта, например, снижение или ингибирование активности фермента или белка, ассоциированных с аргиназой или раком, уменьшение интенсивности симптомов рака или замедление или задерживание прогрессирования рака.

В некоторых вариантах осуществления выражение "эффективное количество" предусматривает количество соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любых его подвидов или видов, или соединений из табл. 1, которое при введении субъекту является эффективным для по меньшей мере частичного облегчения, подавления и/или уменьшения интенсивности рака, или ингибирования аргиназы, и/или снижения или ингибирования роста опухоли или пролиферации раковых клеток у субъекта.

Термин "субъект" предусматривает теплокровных млекопитающих, например, приматов, собак, кошек, кроликов, крыс и мышей. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой примата, например, человека. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает раком. В некоторых вариантах осуществления субъект нуждается в лечении (например, субъект получит биологическую или медицинскую пользу от лечения). В некоторых вариантах осуществления пациент страдает раком. В некоторых вариантах осуществления субъект характеризуется повышенными уровнями аргиназы 1 в плазме крови. В некоторых вариантах осуществления субъект характеризуется пониженными уровнями аргинина. В некоторых вариантах осуществления пациент характеризуется как повышенными уровнями аргиназы 1, так и пониженными уровнями аргинина. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рак, при котором секретируется аргиназа 2 (например, острый миелоидный лейкоз или рак предстательной железы). В некоторых вариантах осуществления субъект имеет аргиназу 1-положительные иммунные клетки, инфильтрирующие опухоль.

Выражения "ингибировать", "ингибирование" или "ингибирующий" предусматривают снижение относительно исходного уровня активности биологической активности или процесса. В некоторых вариантах осуществления соединения формул (I), (Ia), (Ib), (II), (IIa), (IIb), (III), (IIIa), (IIIb), (IV), (IVb), (V), (Vb), (VI), (VIb), в том числе любые их подвиды или виды и из табл. 1, ингибируют аргиназу.

Выражения "лечение", "осуществление лечения" и "лечение" предусматривают снижение или ингибирование активности фермента или белка, ассоциированных с аргиназой у субъекта, уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов рака или замедление или задерживание прогрессирования рака у субъекта. Выражения "лечение", "осуществление лечения" и "лечение" также предусматривают уменьшение или ингибирование роста опухоли или пролиферации раковых клеток у субъекта.

Примеры

Аспекты настоящего изобретения могут быть дополнительно определены посредством ссылки на следующие неограничивающие примеры, в которых подробно описано получение определенных соединений и промежуточных соединений по настоящему изобретению и способы применения соединений по настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники будет очевидно, что на практике могут быть осуществлены множество модификаций как материалов, так и способов без отступления от объема настоящего изобретения.

Если не определено иное:

(i) все синтезы проводили при температуре окружающей среды, т.е. в диапазоне 17-25°C и в атмосфере инертного газа, такого как азот, если не указано иное;

(ii) выпаривание проводили путем ротационного выпаривания или с использованием оборудования Genevac или испарителя Biotage v10 in vacuo, и процедуры выделения продукта проводили после удаления остаточных твердых веществ путем фильтрации;

(iii) процедуры очистки с помощью флэш-хроматографии на силикагеле проводили на автоматизированной системе Teledyne Isco CombiFlash® Rf или Teledyne Isco CombiFlash® Companion® с применением предварительно заполненных колонок RediSep Rf Gold™ (20-40 мкм, сферические частицы), картриджей GraceResolv™ (силикагель Davisil®) или картриджей Silicycle (40-63 мкм);

(iv) препаративную хроматографию проводили на устройстве для препаративной HPLC Gilson с УФ-системой сбора; альтернативно препаративную хроматографию проводили на устройстве для HPLC-MS AutoPurification от Waters с основанной на использовании MS и УФ системой сбора;

(v) хиральную препаративную хроматографию проводили на устройстве Gilson с УФ-системой сбора (233 инжектор/коллектор фракций, 333 и 334 насосы, 155 УФ-детектор) или на устройстве Varian Prep Star (2 x SD1 насосы, 325 УФ-детектор, 701 коллектор фракций) с насосом, работающим с инжектором Gilson 305; альтернативно хиральную препаративную хроматографию проводили на устройстве Waters Prep 100 SFC-MS с основанной на использовании MS и УФ системой сбора или на устройстве Thar MultiGram III SFC с УФ-системой сбора;

(vi) значения выхода, если они присутствуют, не обязательно представляют собой максимально достижимые;

(vii) обычно структуры конечных продуктов формулы I подтверждали с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР); значения химического сдвига при ЯМР измеряли по дельта-шкале [спектры протонного магнитного резонанса определяли с помощью устройства Bruker Avance III 600 (600 МГц), Bruker Avance 400 (400 МГц), Bruker Avance 300 (300 МГц) или Bruker DRX 500 (500 МГц)]; измерения проводили при температуре окружающей среды, если не указано иное; были использованы следующие сокращения: s, синглет; d, дублет; t, триплет; q, квартет; m, мультиплет; dd, дублет дублетов; ddd, дублет дублета дублетов; dt, дублет триплетов; bs, широкий сигнал;

(viii) обычно характеристики конечных продуктов формулы I также определяли с помощью масс-спектрометрии после жидкостной хроматографии (LCMS или UPLC); UPLC осуществляли с применением Waters UPLC, оснащенной масс-спектрометром Waters SQ (температура колонки 40°C, УФ = 220-300 нм или 190-400 нм, масс-спектрометрия = ESI с переключением режима положительной/отрицательной ионизации) при скорости потока 1 мл/мин, с применением системы растворителей от 97% А+3% В до 3% А+97% В в течение 1,50 мин (общее время анализа с уравниванием обратно до исходных условий и т.д. -1,70 мин), где А = 0,1% муравьиная кислота или 0,05% трифторуксусная кислота в воде (для кислотной обработки) или 0,1% гидроксид аммония в воде (для основной обработки) и В = ацетонитрил. В случае кислотного анализа применяли колонку Waters Acquity HSS T2 (1,8 мкм, 2,1×50 мм), в случае основного анализа применяли колонку Waters Acquity BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм). В качестве альтернативы UPLC проводили с применением Waters UPLC, оснащенной масс-спектрометром Waters SQ (температура колонки 30°C, УФ = 210-400 нм, масс-спектрометр = ESI с переключением режима положительной/отрицательной ионизации), при скорости потока 1 мл/мин, с применением градиента растворителя от 2 до 98% В в течение 1,5 мин (общее время анализа с уравниванием обратно до исходных условий -2 мин), где А = 0,1% муравьиная кислота в воде и В = 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле (для кислотной обработки) или А = 0,1% гидроксид аммония в воде и В = ацетонитрил (для основной обработки). В случае кислотного анализа используемой колонкой служила Waters Acquity HSS T3 (1,8 мкм, 2,1×30 мм), в случае основного анализа используемой колонкой служила Waters Acquity BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×30 мм); LCMS проводили с применением системы Waters Alliance HT (2795), оснащенной масс-спектрометром Waters ZQ ESCi и Phenomenex Gemini -NX C18 (колонка 5 мкм, 110А, 2,1×50 мм) при скорости потока 1,1 мл/мин, от 95% А до 95% В в течение 4 мин с удержанием 0,5 мин, где А = 0,1% муравьиная кислота и В = 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле (в случае кислотной обработки) или А = 0,1% гидроксид аммония в воде и В = ацетонитрил (для основной обработки). Дополнительно LCMS проводили с применением системы Shimadzu UFLC, оснащенной масс-спектрометром Shimadzu LCMS-2020 и колонкой Waters HSS C18 (1,8 мкм, 2,1×50 мм) или Shim-pack XR-ODS (2,2 мкм, 3,0×50 мм), или Phenomenex Gemini-NX C18 (3 мкм, 3,0×50 мм) при скорости потока 0,7 мл/мин, (для колонки Waters

HSS C18), 1,0 мл/мин, (для колонки Shim-pack XR-ODS) или 1,2 мл/мин, (для Phenomenex Gemini-NX C18) от 95% А до 95% В в течение 2,2 мин с удержанием 0,6 мин, где А = 0,1% муравьиная кислота или 0,05% трифторуксусная кислота в воде (для кислотной обработки) или 0,1% гидроксид аммония или 6,5 мМ карбоната аммония в воде (для основной обработки) и В = ацетонитрил. Описываемый молекулярный ион соответствует $[M+H]^+$, если не указано иное; для молекул с множественными изотопами (Br, Cl и т.д.) приведенное значение является значением, полученным для изотопа с наименьшей массой, если не указано иное;

(ix) ионообменную очистку обычно проводили с применением картриджа SCX-2 (Biotage);

(x) чистоту промежуточного соединения оценивали с помощью тонкослойной хроматографии, масс-спектрометрии, LCMS, UPLC/MS, HPLC (высокоэффективная жидкостная хроматография) и/или ЯМР-анализа;

(xi) применяли следующие сокращения:

EtOH: этанол;

EtOAc: этилацетат;

LDA: диизопропиламид лития;

MeOH: метанол;

TFA: трифторуксусная кислота;

MeCN: ацетонитрил;

LCMS: жидкостная хроматография-масс-спектрометрия;

к. т. или комн. темп.: комнатная температура;

водн.: водный;

THF: тетрагидрофуран;

KHMDS: бис(триметилсилил)амид калия;

DCM: дихлорметан;

DMF: диметилформамид;

НАТУ: (1-[бис(диметиламино)метил]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-б]пиридиний-3-оксида гексафторфосфат);

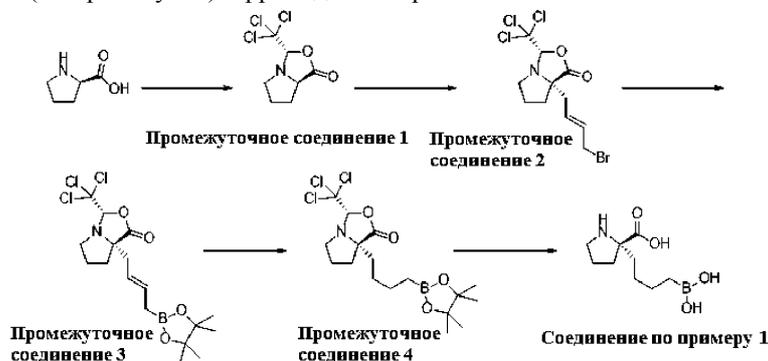
BOC: трет-бутоксикарбонил;

DTNB: 5,5-дителиобис(2-нитробензойная кислота);

TNB: 2-нитро-5-тиобензойная кислота;

HEPES: (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота).

Пример 1: (R)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 1: (3S,7aR)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-он.

Добавляли 2,2,2-трихлорэтан-1,1-диол (2,155 г, 13,03 ммоль) в раствор D-пролина (1,00 г, 8,69 ммоль) в CHCl_3 (100 мл) в атмосфере азота. Реакционную колбу была оснащена обратной ловушкой Дина-Старка и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником, перемешивали в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли DCM (100 мл) и последовательно промывали водой (2×200 мл) и насыщенным солевым раствором (2×200 мл). Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенный материал очищали с помощью кристаллизации из EtOH с получением продукта (промежуточное соединение 1, 1,13 г, выход 53,2%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,66-2,41 (4H, m), 3,05-3,20 (1H, m), 3,40-3,50 (1H, m), 4,10-4,20 (1H, m), 5,18 (1H, s).

Промежуточное соединение 2: (3S,7aS)-7a-((E)-4-бромбут-2-енил)-3-(трихлорметил)-тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-он.

Раствор LDA (2,0 М в THF/гептане/этилбензоле, 2,05 мл, 4,09 ммоль) добавляли по каплям в раствор (3S,7aR)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-она (промежуточное соединение 1, 1,00 г, 4,09 ммоль) в THF (500 мл) при -78°C в атмосфере азота. Полученный раствор перемешивали при -78°C в течение 20 мин. По каплям добавляли (E)-1,4-дибромбут-2-ен (875 мг, 4,09 ммоль) в реакционную смесь в виде раствора в THF (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 30

мин и затем нагревали до комнатной температуры с перемешиванием в течение дополнительных 2 ч. Реакционную смесь выпаривали досуха и полученный осадок разбавляли в EtOAc (20 мл) и последовательно промывали водой (2×20 мл) и насыщенным соевым раствором (2×20 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 2, 760 мг, выход 49%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,55-1,75 (1H, m), 1,85-2,25 (3H, m), 2,52-2,73 (2H, m), 3,14-3,32 (2H, m), 3,89-4,10 (2H, m), 5,01 (1H, s), 5,79-5,99 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=378.

Промежуточное соединение 3: (3S,7aS)-7a-((E)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бут-2-енил)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-он.

Добавляли Pd₂(dba)₃ (85,0 мг, 0,0928 ммоль) в раствор (3S,7aS)-7a-((E)-4-бромбут-2-енил)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-она (промежуточное соединение 2, 700 мг, 1,85 ммоль) и бис(пинаколато)дибора (942 мг, 3,71 ммоль) в THF (30 мл) в атмосфере азота. Полученную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 5 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха. Полученный осадок разбавляли с помощью EtOAc (50 мл) и последовательно промывали водой и насыщенным соевым раствором. Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Полученный неочищенный материал очищали посредством хроматографии на силикагеле с получением продукта (промежуточное соединение 3, 510 мг, выход 65%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,28 (12H, s), 1,58-1,80 (2H, m), 1,83-2,12 (3H, m), 2,42-2,65 (1H, m), 3,20 (1H, dd), 3,47 (1H, q), 3,71 (1H, t), 3,90 (1H, t), 4,98 (1H, s), 5,38-5,53 (1H, m), 5,64-5,83 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=424.

Промежуточное соединение 4: (3S,7aR)-7a-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-он.

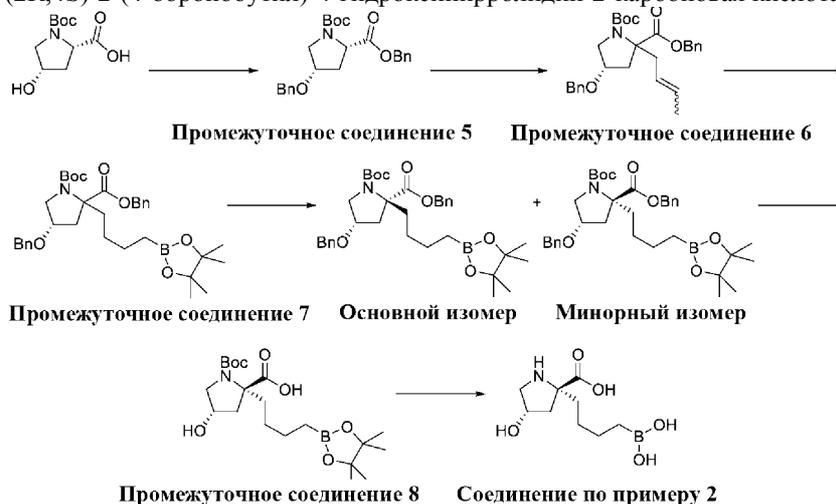
Добавляли Pd/C (10% вес./вес., 125 мг, 0,12 ммоль) в раствор (3S,7aS)-7a-((E)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бут-2-енил)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-она (промежуточное соединение 3, 500 мг, 1,18 ммоль) в MeOH (5 мл). Реакционная колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью MeOH. Фильтрат концентрировали досуха с получением неочищенного продукта (промежуточное соединение 4, 390 мг, выход 78%), который применяли без дополнительной очистки. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=426.

Пример 1: (R)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Концентрированный водный HCl (1,00 мл, 12,0 ммоль) добавляли в раствор (3S,7aR)-7a-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)-3-(трихлорметил)тетрагидропирроло[1,2-с]оксазол-1(3H)-она (промежуточное соединение 4, 300 мг, 0,703 ммоль) и фенолбороновой кислоты (172 мг, 1,41 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл). Полученный раствор нагревали до 80°C в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали посредством препаративной LCMS (колонка XBridge Prep C18 OBD, 5 мкм силикагель, 19×150 мм, H₂O (0,05% вес./вес. TFA/MeCN). Чистые фракции собирали и концентрировали досуха с получением (R)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 1, 85 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 0,63-0,74 (2H, m), 1,09-1,27 (2H, m), 1,27-1,37 (2H, m), 1,65-1,75 (1H, m), 1,77-2,08 (4H, m), 2,25-2,37 (1H, m), 3,21-3,37 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=216.

Пример 2: (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 5: (2S,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)пирролидин-1,2-

дикарбоксилат.

Растворяли (2S,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновую кислоту (5,00 г, 21,6 ммоль) в DMF (73 мл) и раствор охлаждали до 0°C. Добавляли порциями гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле) (1,81 г, 45,3 ммоль) и суспензию перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Добавляли бензилбромид (12,9 мл, 108 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи, при этом медленно подогревая до комн. темп. Неочищенную реакционную смесь разбавляли этилацетатом (250 мл) и последовательно промывали с помощью лимонной кислоты (10% водн.) и воды. Органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта в виде смеси ротамеров (промежуточное соединение 5, 5,5 г, выход 62%).

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,28-1,40 (9H, s x2) ротамеры, 2,20 (1H, dd), 2,36-2,45 (1H, m), 3,37 (1H, dd), 3,51-3,58 (1H, m), 4,14 (1H, br s), 4,33-4,50 (3H, m), 4,94-5,17 (2H, m), 7,25-7,32 (10H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=412.

Промежуточное соединение 6: (4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

(2S,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 5, 2,75 г, 6,68 ммоль) и кротилбромид (1,03 мл, 10,0 ммоль) растворяли в THF (45 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N₂. Раствор обрабатывали посредством добавления по каплям раствора KHMDS (0,5 M в толуоле, 20,1 мл, 10,0 ммоль). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли под вакуумом. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта в виде смеси ротамеров и E/Z олефинов (промежуточное соединение 6, 2,54 г, выход 82%).

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,20-1,41 (9H, s x2) ротамеры, 1,54-1,62 (3H, m), 2,10-2,59 (3H, m), 2,67-2,97 (1H, m), 3,10-3,43 (1H, m), 3,50-3,78 (1H, m), 3,98-4,15 (1H, m), 4,34-4,49 (2H, m), 4,94-5,13 (2H, m), 5,18-5,30 (1H, m), 5,38-5,63 (1H, m), 7,25-7,36 (10H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=466.

Промежуточное соединение 8: (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидрокси-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (0,366 г, 0,550 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (0,419 г, 1,09 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (31 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (1,74 мл, 12,0 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. (4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 6, 2,54 г, 5,46 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DCM (21 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и гасили водой. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали посредством хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 7, 2,0 г, выход 61%) в виде смеси ротамеров. Очищенный материал подвергали хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 21,2x250 мм, 5 мкм, температура = 23°C, подвижная фаза = 0-15% MeOH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 33 мг/ввод., конц. = 220 нг/мл в MeOH, скорость потока = 75 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия для основного изомера была присвоена на основании анти-добавления продукта и для минорного изомера была присвоена на основании син-добавления продукта. Минорный изомер (368 мг, 0,620 ммоль) растворяли в этилацетате (6,2 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 132 мг, 0,124 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью метанола. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидрокси-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 8, 228 мг, выход 98%) в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 0,57-0,74 (2H, m), 1,17 (12 H, s), 1,24-1,47 (13H, m), 1,59-1,78 (1H, m), 1,78-1,96 (1H, m), 2,01-2,20 (2H, m), 2,84-3,09 (1H, m), 3,58-3,73 (1H, m), 4,14-4,31 (1H, m), 4,98-5,09 (1H, m), 12,20-12,60 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=414.

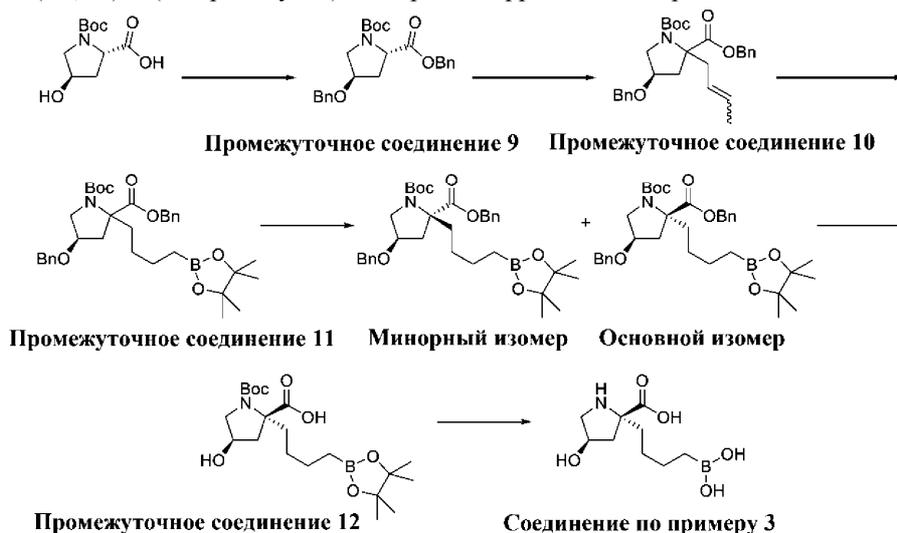
Пример 2: (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-4-гидроксипирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,65 мл, 8,4 ммоль) в раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидрокси-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 8, 175 мг, 0,423 ммоль) в DCM (4 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом.

мом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et₂O (3 мл) и 1 М водн. HCl (3 мл). Добавляли фенолбонную кислоту (103 мг, 0,847 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал был дополнительно очищен посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 10% и до 100% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 2, 33 мг, выход 33%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 0,67-0,78 (2H, m), 1,08-1,41 (4H, m), 1,81-2,12 (3H, m), 2,51 (1H, dd), 3,22-3,37 (2H, m), 4,46-4,56 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=232.

Пример 3: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 9: (2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Растворяли (2S,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновую кислоту (5,00 г, 21,6 ммоль) в DMF (73 мл) и раствор охлаждали до 0°C. Добавляли порциями гидрид натрия (60% вес./вес. в минеральном масле, 1,81 г, 45,4 ммоль) и суспензию перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Добавляли бензилбромид (12,86 мл, 108,1 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи, при этом медленно подогревая до комн. темп. Неочищенную реакционную смесь разбавляли этилацетатом (250 мл) и последовательно промывали с помощью лимонной кислоты (10% водн.) и воды. Органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали посредством хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 9, 5,9 г, выход 66%) в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,27-1,39 (9H, s x2) ротамеры, 1,95-2,08 (1H, m), 2,34-2,47 (1H, m), 3,41-3,53 (2H, m), 4,17 (1H, br s), 4,28 (1H, q), 4,43-4,55 (2H, m), 5,06-5,22 (2H, m), 7,25-7,41 (10H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=412.

Промежуточное соединение 10: (4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

(2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 9, 2,75 г, 6,68 ммоль) и кротилбромид (1,03 мл, 10,0 ммоль) растворяли в THF (45 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N₂. Раствор обрабатывали посредством добавления по каплям раствора KHMDS (0,5 М в толуоле, 20,1 мл, 10,0 ммоль). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли под вакуумом. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 10, 1,23 г, выход 40%) в виде смеси ротамеров и E/Z олефинов.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,25-1,34 (9H, s x2) ротамеры, 1,45-1,63 (3H, m), 2,12-2,64 (2H, m), 2,64-3,04 (1H, m), 3,06-3,19 (1H, m), 3,31-3,45 (1H, m), 3,46-3,81 (1H, m), 4,03-4,21 (1H, m), 4,30-4,55 (2H, m), 4,90-5,16 (2H, m), 5,16-5,34 (1H, m), 5,38-5,68 (1H, m), 7,25-7,41 (10H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=466.

Промежуточное соединение 12: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидрокси-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

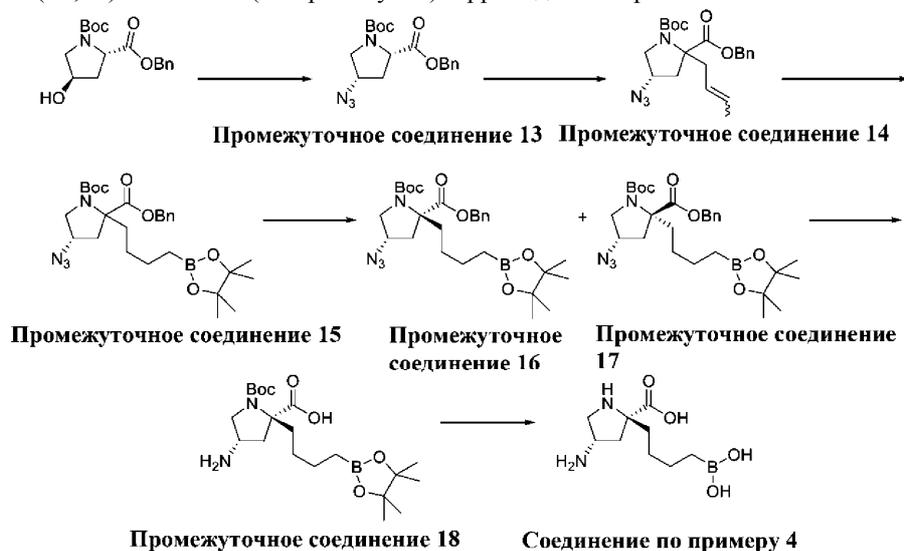
Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (177 мг, 0,264 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (203 мг, 0,527 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N_2 . Твердые вещества растворяли в DCM (15 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (0,84 мл, 5,8 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. (4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 10, 1,23 г, 2,64 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DCM (10 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и гасили водой. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали посредством хроматографии на силикагеле (гексаны/ $EtOAc$) с получением (4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(бензилокси)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 11, 950 мг, выход 60%). Очищенный материал подвергали хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 21,2×250 мм, 5 мкм, температура = 23°C, подвижная фаза = 0-15% MeOH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 33 мг/ввод., конц. = 220 нг/мл в MeOH, скорость потока = 75 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия для основного изомера была присвоена на основании анти-добавления продукта и для минорного изомера была присвоена на основании син-добавления продукта. Основной изомер (385 мг, 0,649 ммоль) растворяли в этилацетате (6,4 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 138 мг, 0,130 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью метанола. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением продукта (промежуточное соединение 12, 249 мг, выход 93%) в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 0,61-0,73 (2H, m), 0,97-1,11 (1H, m), 1,12-1,23 (12H, m), 1,25-1,44 (12H, m), 1,51-1,71 (1H, m), 1,84-2,04 (2H, m), 2,05-2,19 (2H, m), 3,12-3,29 (1H, m), 3,37-3,59 (1H, m), 4,09-4,23 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+=414$.

Пример 3: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновая кислота. Добавляли трифторуксусную кислоту (0,65 мл, 8,5 ммоль) в раствор (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-гидрокси-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 12, 197 мг, 0,179 ммоль) в DCM (3 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et_2O (3 мл) и 1 M водн. HCl (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (102 мг, 0,837 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et_2O . Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 M аммиака/метанола. Полученный материал был дополнительно очищен посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 10% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-гидрокси-пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 3, 25 мг, выход 25%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, D₂O) δ 0,68-0,78 (2H, m), 1,13-1,43 (4H, m), 1,64-1,79 (1H, m), 1,94-2,14 (2H, m), 2,47 (1H, d), 3,39 (2H, m), 4,46-4,53 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+=232$.

Пример 4: (2S,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 13: (2S,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли по каплям метансульфонилхлорид (0,71 мл, 9,2 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2S,4R)-4-гидроксипирролидин-1,2-дикарбоксилата (2,45 г, 7,26 ммоль) и триэтиламина (1,27 мл, 9,15 ммоль) в DCM (9,6 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч перед нагреванием до комнатной температуры с перемешиванием в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью дихлорметана и промывали водой. Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2S,4R)-4-((метилсульфонил)окси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (2,9 г, выход 95%), который применяли без дополнительной очистки. Масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=400. Азид натрия (1,65 г, 25,4 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2S,4R)-4-((метилсульфонил)окси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (2,90 г, 7,26 ммоль) в DMF (7,2 мл). Реакционную смесь нагревали до 50°C и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали. Полученный осадок разбавляли с помощью EtOAc и промывали водой. Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали посредством хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 13, 2,00 г, выход 80%) в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,27 и 1,40 (9H, s x2) ротамеры, 1,96-2,02 (1H, m), 2,53-2,63 (1H, m), 3,24-3,29 (1H, m), 3,58-3,66 (1H, m), 4,32-4,41 (2H, m), 5,06-5,22 (2H, m), 7,33-7,39 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=347.

Промежуточное соединение 14: (4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

(2S,4S)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 13, 1,00 г, 2,89 ммоль) и кротилбромид (0,44 мл, 4,3 ммоль) растворяли в THF (20 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N₂. Раствор обрабатывали посредством добавления по каплям раствора KHMDS (0,5 М в толуоле, 8,66 мл, 4,33 ммоль). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли под вакуумом. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 14, 750 мг, выход 65%) в виде смеси ротамеров и E/Z олефинов.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,25-1,34 (9H, s x2) ротамеры, 1,55-1,64 (3H, m), 1,99-2,15 (1H, m), 2,33-2,62 (2H, m), 2,73-3,10 (1H, m), 3,26-3,39 (1H, m), 3,52-3,84 (1H, m), 4,24-4,33 (1H, m), 5,03-5,21 (2H, m), 5,28-5,35 (1H, m), 5,49-5,65 (1H, m), 7,31-7,36 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=401.

Промежуточное соединение 16: (2S,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат и

промежуточное соединение 17: (2R,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (126 мг, 0,188 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (144 мг, 0,375 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (10 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (0,60 мл, 4,1 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли (4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 14, 750 мг, 1,87 ммоль) в реакционную смесь в виде раствора в DCM (8 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и гасили водой. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 15, 678 мг, выход 68%). Очищенный материал подвергали хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 21,2×250 мм, 5 мкм, температура = 23°C, подвижная фаза = 0-15% MeOH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 33 мг/ввод., конц. = 220 нг/мл в MeOH, скорость потока = 75 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия для основного изомера была присвоена на основании анти-добавления продукта, представляющего собой промежуточное соединение 16, и для минорного изомера на основании син-добавления продукта, представляющего собой промежуточное соединение 17.

Промежуточное соединение 16 (изомер 1, 608 мг): (2S,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,64-0,72 (2H, m), 1,04-1,12 (1H, m), 1,13-1,20 (12H, m), 1,22-1,39 (12H, m), 1,69-1,80 (1H, m), 2,01-2,23 (2H, m), 2,36-2,48 (1H, m), 3,35-3,42 (1H, m), 3,58-3,69 (1H, m), 4,33 (1H, квин.), 5,05-5,17 (2H, m), 7,31-7,40 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=529.

Промежуточное соединение 17 (изомер 2, 220 мг): (2R,4S)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Промежуточное соединение 18: (2S,4S)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2S,4S)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 16, 255 мг, 0,483 ммоль) растворяли в этилацетате (5 мл) и метаноле (5 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 128 мг, 0,120 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью метанола. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением продукта (промежуточное соединение 18, 190 мг, выход 95%) в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

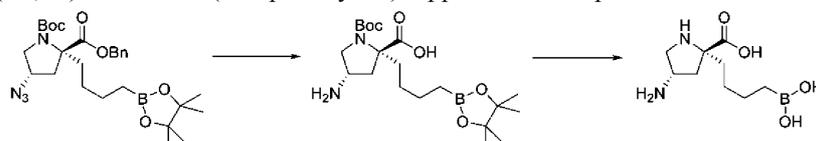
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 0,66 (2H, t), 0,88-1,03 (1H, m), 1,16 (12H, s), 1,24-1,38 (13H, m), 1,40-1,56 (1H, m), 1,80-1,91 (1H, m), 2,00-2,15 (2H, m), 3,17-3,28 (1H, m), 3,58-3,61 (1H, m), 3,80 (1H, dd), 9,01 (2H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=413.

Пример 4: (2S,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,71 мл, 9,2 ммоль) в раствор (2S,4S)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновую кислоту (промежуточное соединение 18, 190 мг, 0,461 ммоль) в DCM (4 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et₂O (3 мл) и 1 М водн. HCl (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (112 мг, 0,919 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал был дополнительно очищен посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 10% ацетонитрила в воде) с получением (2S,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 4, 40 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (300 МГц, D₂O) δ 0,73 (2H, t), 1,10-1,42 (4H, m), 1,69 (1H, ddd), 1,86-1,99 (1H, m), 2,10-2,30 (2H, m), 3,05 (1H, dd), 3,44 (1H, dd), 3,69 (1H, квин.); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=231.

Пример 5: (2R,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 17.

Промежуточное соединение 19.

Соединение по примеру 5.

Промежуточное соединение 19: (2R,4S)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4S)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 17, 220 мг, 0,416 ммоль) растворяли в этилацетате (5 мл) и метаноле (5 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 111 мг, 0,104 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью метанола. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением продукта (промежуточное соединение 19, 150 мг, выход 87%) в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 0,64-0,71 (2H, m), 1,17 (12H, s), 1,31-1,40 (15H, m), 1,49-1,93 (3H, m), 2,02-2,26 (3H, m), 3,38-3,47 (1H, m), 3,72-3,81 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=413.

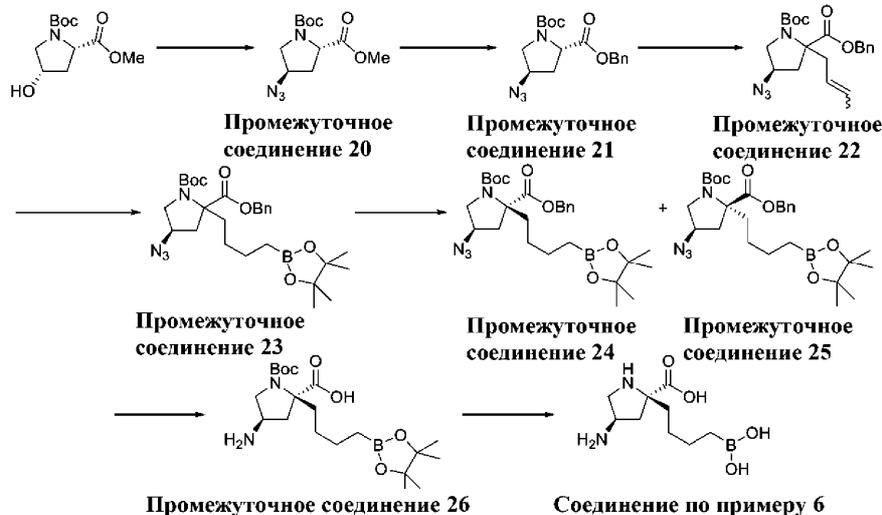
Пример 5: (2R,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (0,56 мл, 7,3 ммоль) добавляли в раствор (2R,4S)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 19, 150 мг, 0,364 ммоль) в DCM (3 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et₂O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (99 мг, 0,81 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал был дополнительно очищен посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 10% и от 0 до 100% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 5, 33 мг, выход 39%) в виде белого твердого

вещества.

^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 0,72 (1H, m), 1,11-1,39 (3H, m), 1,46-1,55 (1H, m), 1,63-1,79 (2H, m), 1,95-2,05 (1H, m), 2,58-2,65 (1H, m), 2,87-2,95 (1H, m), 3,48-3,58 (3H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=231$.

Пример 6: (2S,4R)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 20: (2S,4R)-1-трет-бутил-2-метил-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли по каплям метансульфонилхлорид (2,86 мл, 36,7 ммоль) в раствор (2S,4S)-1-трет-бутил-2-метил-4-гидрокси-пирролидин-1,2-дикарбоксилата (7,50 г, 30,6 ммоль) и триэтиламина (5,11 мл, 36,7 ммоль) в DCM (38 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч перед нагреванием до комнатной температуры с перемешиванием в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью дихлорметана и промывали водой. Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением 1-(трет-бутил)-2-метил-(2S,4S)-4-((метилсульфонил)окси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (9,9 г, выход 100%), который применяли без дополнительной очистки. Масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{NH}_4]^+=341$.

Азид натрия (5,96 г, 91,7 ммоль) добавляли в раствор 1-(трет-бутил)-2-метил-(2S,4S)-4-((метилсульфонил)окси)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (9,89 г, 30,6 ммоль) в DMF (30 мл). Реакционную смесь нагревали до 50°C и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали. Полученный осадок разбавляли с помощью EtOAc и промывали водой. Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали посредством хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 20, 5,95 г, выход 72%) в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 1,33 и 1,40 (9H, s x2) ротамеры, 2,08-2,22 (1H, m), 2,26-2,41 (1H, m), 3,41 (1H, dt), 3,48-3,61 (1H, m), 3,65 и 3,68 (3H, s x2) ротамеры, 4,22 (1H, dd), 4,30-4,43 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=271$.

Промежуточное соединение 21: (2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Раствор гидроксида натрия (5,28 г, 132 ммоль) в воде (22 мл) добавляли по каплям в раствор (2S,4R)-1-трет-бутил-2-метил-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 20, 5,95 г, 22,0 ммоль) в THF (44 мл) и MeOH (22 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли под вакуумом и водный слой подкисляли до pH~3 с помощью 5 M HCl и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением (2S,4R)-4-азидо-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (5,64 г, выход 100%) в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 1,35 и 1,40 (9H, s x2) ротамеры, 2,07-2,18 (1H, m), 2,26-2,38 (1H, m), 3,34-3,44 (1H, m), 3,48-3,63 (1H, m), 4,09-4,17 (1H, m), 4,30-4,37 (1H, m); масса/заряд (ES^-) $[\text{M}+\text{HCOO}]^-=301$.

Бензилбромид (2,83 мл, 23,8 ммоль) добавляли по каплям в раствор (2S,4R)-4-азидо-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (5,19 г, 19,9 ммоль) и триэтиламина (3,46 мл, 24,8 ммоль) в DMF (60 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие вещества удаляли под вакуумом и полученный осадок растворяли в EtOAc и промывали водой. Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 21, 5,09 г, выход 74%).

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,26 и 1,39 (9H, s x2) ротамеры, 2,11-2,23 (1H, m), 2,31-2,43 (1H, m), 3,43 (1H, ddd), 3,50-3,59 (1H, m), 4,25-4,40 (2H, m), 5,07-5,22 (2H, m), 7,31-7,40 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=347.

Промежуточное соединение 22: (4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

(2S,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 21, 5,09 г, 14,7 ммоль) и кротилбромид (2,27 мл, 22,0 ммоль) растворяли в THF (100 мл) и раствор охлаждали до 78°C в атмосфере N₂. Раствор обрабатывали посредством добавления по каплям раствора KHMDS (0,5 М в толуоле, 44,1 мл, 22,0 ммоль). Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли под вакуумом. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 22, 4,6 г, выход 78%) в виде смеси ротамеров и E/Z олефинов.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 1,26-1,43 (9H, m), 1,59-1,66 (3H, m), 2,07-2,17 (1H, m), 2,32-2,48 (2H, m), 2,57-3,12 (2H, m), 3,35-3,82 (1H, m), 4,20-4,38 (1H, m), 5,02-5,22 (2H, m), 5,24-5,41 (1H, m), 5,46-5,68 (1H, m), 7,28-7,42 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=401.

Промежуточное соединение 24: (2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат и промежуточное соединение 25: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (772 мг, 1,15 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (883 мг, 2,30 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (66 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (3,67 мл, 25,3 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. (4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(бут-2-енил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 22, 4,60 г, 11,5 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DCM (44 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и гасили водой. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 23, 2,7 г, выход 44%). Очищенный материал подвергали хиральной SFC (колонка Chiralpak IG, 21,2×250 мм, 5 мкм, температура = 23°C, подвижная фаза = 0-7% MeOH (0,2% вес./вес. NH₄OH):CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 16,8 мг/ввод., конц. = 112,5 нг/мл в MeOH, скорость потока = 70 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия для основного диастереомера, представляющего собой промежуточное соединение 25, была присвоена на основании анти-добавления продукта и для минорного диастереомера, представляющего собой промежуточное соединение 24, на основании син-добавления продукта.

Промежуточное соединение 24 (436 мг): (2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,58-0,70 (2H, m), 1,17 (12H, s), 1,25-1,40 (13 H, m), 1,74-1,83 (1H, s), 2,00-2,11 (2H, m), 2,38-2,47 (1H, m), 3,07-3,16 (1H, m), 3,81 (1H, m), 4,29-4,34 (1H, m), 5,04-5,17 (2H, m), 7,34-7,39 (m, 5H); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=529.

Промежуточное соединение 25 (1,60 г): (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 0,56-0,73 (2H, m), 0,98-1,13 (1H, m), 1,17 (12H, s), 1,26-1,37 (13H, m), 1,66-1,79 (1H, m), 2,01-2,22 (2H, m), 2,34-2,47 (1H, m), 3,60 (1H, br dd), 4,29-4,35 (1H, m), 5,04-5,18 (2H, m), 7,31-7,40 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=529.

Промежуточное соединение 26: (2S,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 24, 236 мг, 0,447 ммоль) растворяли в этилацетате (4,5 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 119 мг, 0,112 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью метанола. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением продукта (промежуточное соединение 26, 275 мг, выход 100%), который применяли без дополнительной очистки.

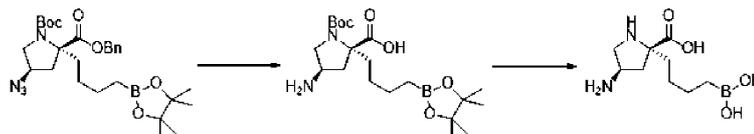
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 0,64-0,71 (2H, M), 1,17 (12H, s), 1,27-1,40 (15H, m), 1,57-1,82 (4H, m), 1,98-2,08 (3H, m), 3,70-3,78 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=413.

Пример 6: (2S,4R)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

обавляли трифторуксусную кислоту (0,69 мл, 8,9 ммоль) в раствор (2S,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 26, 184 мг, 0,446 ммоль) в DCM (4 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et₂O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (109 мг, 0,894 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 100% ацетонитрила в воде) с получением (2S,4R)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 6, 38 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 0,72 (2H, td), 1,09-1,19 (1H, m), 1,22-1,39 (3H, m), 1,65-1,76 (2H, m), 1,95-2,04 (1H, m), 2,58-2,64 (1H, m), 2,87-2,94 (1H, m), 3,48-3,57 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=231.

Пример 7: (2R,4R)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 25 Промежуточное соединение 27 Соединение по примеру 7

Промежуточное соединение 27: (2R,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 25, 688 мг, 1,30 ммоль) растворяли в этилацетате (13 мл) и метаноле (4 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 346 мг, 0,325 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью метанола. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением продукта (промежуточное соединение 27, 500 мг, выход 93%), который применяли без дополнительной очистки.

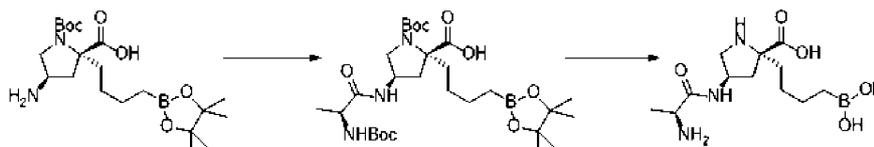
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 0,67 (2H, t), 0,94-1,00 (1H, m), 1,17 (12H, s), 1,22-1,38 (11H, m), 1,43-1,53 (1H, m), 1,85 (1H, d), 2,00-2,15 (2H, m), 3,23 (2H, dd), 3,58-3,61 (1H, m), 3,80-3,88 (1H, m), 8,96 (2H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=413.

Пример 7: (2R,4R)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (1,02 мл, 13,3 ммоль) в раствор (2R,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 27, 275 мг, 0,667 ммоль) в DCM (4 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et₂O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (163 мг, 1,34 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 10% и до 100% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-амино-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 7, 53 мг, выход 34%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ 0,76 (2H, dt), 1,10-1,46 (4H, m), 1,62-1,71 (1H, m), 1,84-1,96 (1H, m), 2,10-2,21 (1H, m), 2,22-2,32 (1H, m), 3,07 (1H, dd), 3,46 (1H, dd), 3,71 (1H, квин.); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=231.

Пример 8: (2R,4R)-4-((S)-2-аминопропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 27 Промежуточное соединение 28 Соединение по примеру 8

Промежуточное соединение 28: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Триэтиламин (0,18 мл, 1,3 ммоль) и НАТУ (213 мг, 0,560 ммоль) добавляли последовательно в раствор Вос-Ala-OH (106 мг, 0,560 ммоль) в DMF (2,4 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. (2R,4R)-4-Амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновую кислоту (промежуточное соединение 27, 210 мг, 0,509 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DMF (2,4 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенную реакционную смесь концентрировали и непосредственно очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 28, 236 мг, выход 79%) в виде смеси ротамеров.

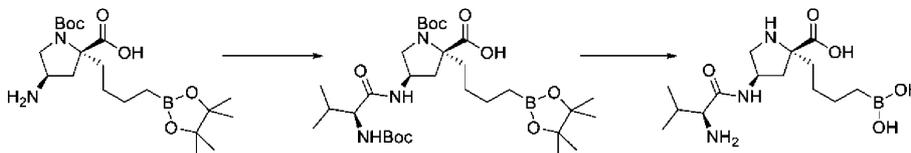
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6) δ 0,65-0,72 (2H, m), 1,11-1,18 (18H, m), 1,26-1,37 (20H, m), 1,63-1,73 (1H, m), 2,02-2,25 (2H, m), 3,09-3,20 (1H, m), 3,59-3,72 (1H, m), 3,83-3,94 (1H, m), 4,18-4,29 (1H, m), 6,80 (1H, br s), 7,96 (1H, s), 13,78 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=584$.

Пример 8: (2R, 4R)-4-((S)-2-аминопропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,62 мл, 8,1 ммоль) в раствор (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 28, 236 мг, 0,404 ммоль) в DCM (4 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et_2O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (99 мг, 0,81 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et_2O . Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxp CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал был дополнительно очищен с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, 0-10% ацетонитрил в воде) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-аминопропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 8, 18 мг, выход 15%) в виде белого твердого вещества и смеси ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,69 (2H, dt), 1,05-1,14 (1H, m), 1,21 (3H, d), 1,23-1,35 (3H, m), 1,65 (1H, dt), 1,91-1,96 (1H, m), 2,17 (1H, dd), 2,35 (1H, dd), 3,26 (1H, dd), 3,46-3,57 (2H, m), 4,29-4,34 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=302$.

Пример 9: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 27 Промежуточное соединение 29 Соединение по примеру 9

Промежуточное соединение 29: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Триэтиламин (0,21 мл, 1,5 ммоль) и НАТУ (254 мг, 0,668 ммоль) добавляли последовательно в раствор Вос-Val-OH (145 мг, 0,668 ммоль) в DMF (2,9 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. (2R,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновую кислоту (промежуточное соединение 27, 250 мг, 0,606 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DMF (2,9 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенную реакционную смесь концентрировали и непосредственно очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением продукта (промежуточное соединение 29, 250 мг, выход 67%) в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (300 МГц, DMSO- d_6) δ 0,64-0,73 (2H, m), 0,73-0,85 (6H, m), 1,13-1,14 (1H, m), 1,17 (12H, s), 1,22-1,42 (22H, m), 1,56-1,75 (1H, m), 1,79-1,97 (1H, m), 2,00-2,26 (2H, m), 3,08-3,24 (1H, m), 3,54-3,77 (2H, m), 4,12-4,36 (1H, m), 6,58 (1H, t), 7,96-8,03 (2H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=584$.

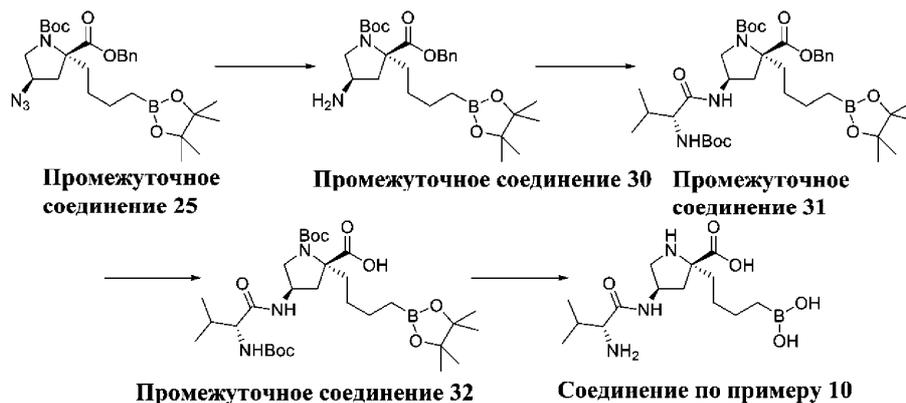
Пример 9: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,63 мл, 8,2 ммоль) в раствор (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 29, 250 мг, 0,409 ммоль) в DCM (4 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et_2O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (99 мг, 0,81 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et_2O . Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной

хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 2 М аммиака/метанола. Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, 0-10% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 9, 28 мг, выход 20%) в виде белого твердого вещества и смеси ротамеров.

^1H ЯМР (300 МГц, D_2O) δ 0,66-0,76 (2H, m), 0,85 (6H, dd), 1,07-1,43 (4H, m), 1,55-1,68 (1H, m), 1,77-1,97 (2H, m), 2,13-2,33 (2H, m), 3,07 (1H, d), 3,08-3,16 (1H, m), 3,37-3,48 (1H, m), 4,27-4,40 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=330$.

Пример 10: (2R,4R)-4-((R)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 30: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли катализатор Lindlar (5% вес./вес., 0,275 г, 2,58 ммоль) в раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 25, 1,56 г, 2,95 ммоль) в THF (25 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и заполняли обратно водородом x3) при комнатной температуре в течение 8,5 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (1-15% MeOH в DCM) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 1,01 г, выход 68%) в виде смолы и в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2) δ 0,74 (2H, q), 1,20-1,22 (14H, m), 1,23-1,29 (2H, m), 1,32 (6H, s), 1,37-1,42 (5H, m), 1,74-1,83 (1H, m), 1,83-1,93 (1H, m), 2,11-2,19 (0,6H, m), 2,21-2,32 (1,4H, m), 3,19 (0,4H, dd), 3,28 (0,6H, dd), 3,44-3,51 (1H, m), 3,63 (1H, dd), 5,07-5,20 (2H, m), 7,28-7,34 (1H, m), 7,34-7,41 (4H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=503$.

Промежуточное соединение 31: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-диизопропилэтиламин (0,235 мл, 1,34 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору HATU (245 мг, 0,64 ммоль) и Boc-D-Val-OH (117 мг, 0,54 ммоль) в DMF (2 мл) при комнатной температуре. Раствор перемешивали в течение 20 мин и затем добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 270 мг, 0,54 ммоль) в DMF (2 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 2,5 ч, разбавляли с помощью DCM (30 мл) и последовательно промывали водой (3x25 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (5-65% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 31, 239 мг, выход 63%) в виде бесцветной пены и в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2) δ 0,74-0,81 (2H, m), 0,84 (3H, d), 0,87-0,94 (3H, m), 1,24 (12H, s), 1,26-1,34 (2H, m), 1,37 (5H, s), 1,40-1,43 (2H, m), 1,45 (4H, s), 1,46 (9H, s), 1,78-1,89 (1H, m), 1,95-2,07 (2H, m), 2,21-2,29 (0,6H, m), 2,31-2,46 (1,4H, m), 3,51-3,60 (1,5H, m), 3,65 (0,5H, br d), 3,72 (1H, br dd), 4,49-4,58 (1H, m), 5,01 (1H, br d), 5,19-5,29 (2H, m), 6,93-7,09 (1H, m), 7,36-7,40 (1H, m), 7,43 (4H, кажущийся d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=702$.

Промежуточное соединение 32: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

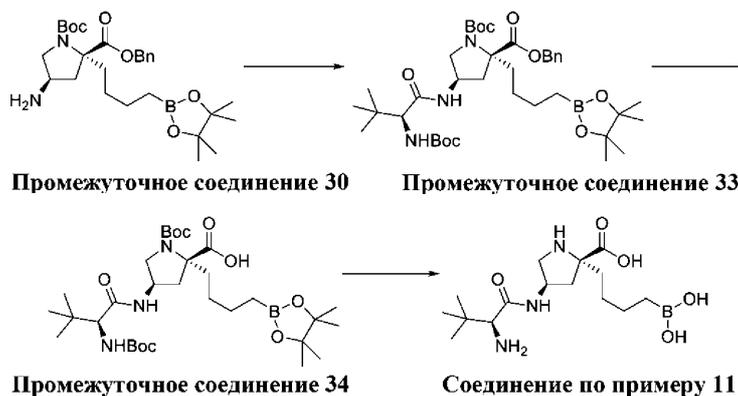
Pd/C (10% вес./вес., 25 мг, 0,23 ммоль) добавляли в раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 31, 239 мг, 0,34 ммоль) в EtOAc (4 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и заполняли обратно водородом x3) при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (2-15% MeOH в DCM) с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 32, 196 мг, выход 94%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,63-0,71 (2H, m), 0,75-0,82 (6H, m), 1,15 (12H, s), 1,21-1,30 (2H, m), 1,32 (6H, s), 1,36 (13H, br s), 1,61-1,72 (1H, m), 1,81-1,90 (1H, m), 1,92-2,05 (2H, m), 2,05-2,13 (0,6H, m), 2,13-2,28 (1,4H, m), 3,03-3,14 (1H, m), 3,62 (0,6H, t), 3,66 (1,4H, t), 4,18-4,29 (1H, m), 6,59 (1H, d), 7,99 (1H, br s), 12,48 (0,4H, br s), 12,65 (0,6H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=612.

Пример 10: (2R,4R)-4-((R)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота. Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,37 мл, 4,8 ммоль) к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((R)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 32, 195 мг, 0,32 ммоль) в DCM (2 мл). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 22 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную аминокислоту растворяли в 1 М водн. HCl (2 мл) и Et₂O (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (117 мг, 0,96 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и воды (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O и водный слой лиофилизировали. Полученное твердое вещество растворяли в MeOH (3 мл) и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка PoraPak Rxn CX 20 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH (20 мл). Полученный материал дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, 0-80% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((R)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 10, 46 мг, выход 44%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,73-0,80 (2H, m), 0,90 (6H, кажущийся t), 1,13-1,25 (1H, m), 1,26-1,35 (1H, m), 1,40 (2H, квин.), 1,68-1,80 (1H, m), 1,85-1,96 (1H, m), 2,00 (1H, td), 2,29 (1H, dd), 2,37-2,45 (1H, m), 3,18 (1H, d), 3,28 (1H, dd), 3,59 (1H, dd), 4,36-4,49 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=330.

Пример 11: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 33: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-диизопропилэтиламин (0,165 мл, 0,95 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору NATU (158 мг, 0,42 ммоль) и Boc-Pe-OH (92 мг, 0,40 ммоль) в DMF (1,5 мл) при комнатной температуре. Раствор перемешивали в течение 15 мин и затем добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 190 мг, 0,38 ммоль) в DMF (1,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч, разбавляли с помощью EtOAc (30 мл) и последовательно промывали водой (3×25 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (30 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл). Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (5-65% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-

(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 33, 261 мг, выход 96%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 0,69 (2H, q), 0,87 (9H, s), 1,17 (12H, s), 1,26 (5H, s), 1,29-1,32 (1H, m), 1,34 (5H, s), 1,38 (9H, s), 1,72-1,85 (1H, m), 1,90-2,08 (2H, m), 2,06-2,18 (1H, m), 2,22-2,35 (2H, m), 3,11-3,22 (1H, m), 3,68-3,81 (2H, m), 4,23-4,37 (1H, m), 5,06-5,19 (2H, m), 6,40 (1H, t), 7,31-7,40 (5H, m), 8,11 (1H, d); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{Na}]^+=738$.

Промежуточное соединение 34: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 25 мг, 0,23 ммоль) добавляли в раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 33, 260 мг, 0,36 ммоль) в EtOAc (4 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и заполняли обратнo водородом x3) при комнатной температуре в течение 15 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (2-10% MeOH в DCM) с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 34, 207 мг, выход 91%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров.

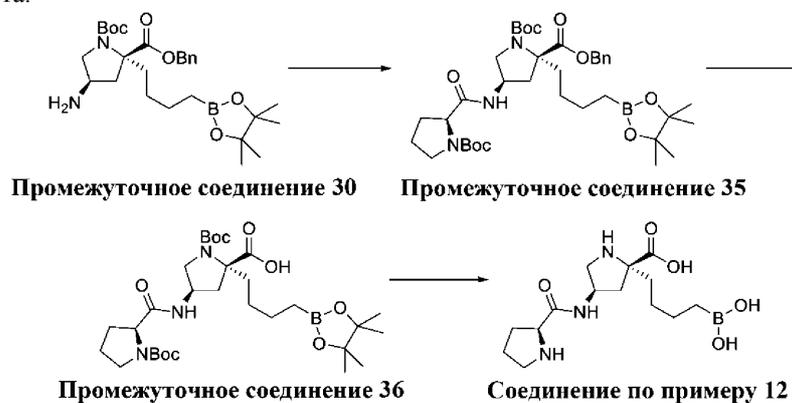
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 0,63-0,72 (2H, m), 0,86 (9H, s), 1,09-1,20 (14H, m), 1,21-1,30 (2H, m), 1,33 (5H, s), 1,35-1,38 (13H, m), 1,61-1,73 (1H, m), 1,89-2,11 (2H, m), 2,14-2,27 (1H, m), 3,06-3,14 (1H, m), 3,59-3,72 (1H, m), 3,72-3,80 (1H, m), 4,20-4,30 (1H, m), 6,35 (1H, d), 8,08 (1H, br s), 12,47 (0,4H, br s), 12,63 (0,6H, br s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=626$.

Пример 11: (2R, 4R)-4-((S)-2-амино-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,38 мл, 4,9 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 34, 206 мг, 0,33 ммоль) в DCM (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную аминокислоту растворяли в 1 М водн. HCl (4 мл) и Et₂O (4 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (120 мг, 0,99 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и воды (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O и водный слой лиофилизировали. Полученное твердое вещество растворяли в MeOH (3 мл) и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка RogaPak Rxn CX 20 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH (20 мл). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, 2-50% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 11, 40 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,72 (2H, td), 0,89 (9H, s), 1,10-1,21 (1H, m), 1,22-1,30 (1H, m), 1,35 (2H, квин.), 1,64-1,75 (1H, m), 1,90-2,02 (1H, m), 2,22-2,34 (2H, m), 3,04 (1H, s), 3,22 (1H, dd), 3,56 (1H, dd), 4,41 (1H, квин.); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=344$.

Пример 12: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-((S)-пирролидин-2-карбоксамидо)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 35: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоксамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-Диизопропилэтиламин (0,182 мл, 1,04 ммоль) добавляли медленно к перемешиваемому раствору NATU (175 мг, 0,46 ммоль) и Вос-Pro-OH (94 мг, 0,44 ммоль) в DMF (1,5 мл) при комнатной температуре. Раствор перемешивали в течение 20 мин и затем добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 210 мг, 0,42 ммоль) в DMF (1,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч, разбавляли с помощью EtOAc (30 мл) и последовательно промывали водой (3×25 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ и насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл). Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (5-100% EtOAc в гексане) с получением (2R,4R)-2-бензия-1-трет-бутил-4-((S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоксамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 35, 249 мг, выход 85%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,68-0,79 (2H, m), 1,20 (12H, s), 1,31 (5H, s), 1,36-1,48 (16H, m), 1,74-1,87 (3H, m), 1,89-2,10 (3H, m), 2,13-2,46 (2H, m), 3,27-3,40 (1H, m), 3,44 (2H, br s), 3,50-3,64 (2H, m), 3,78-4,05 (1H, m), 4,49 (1H, br s), 5,10-5,27 (2H, m), 7,10 (1H, br s), 7,30-7,42 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=700.

Промежуточное соединение 36: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоксамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 25 мг, 0,23 ммоль) добавляли в раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоксамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 35, 249 мг, 0,36 ммоль) в EtOAc (4 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и обратно заполняли водородом x3) при комнатной температуре в течение 5 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоксамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 36, 207 мг, выход 87%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

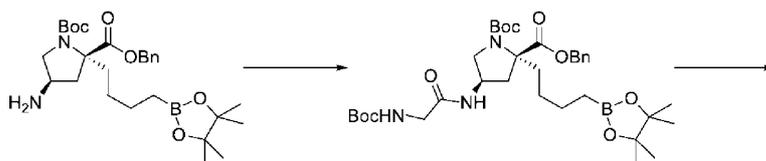
¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,66-0,83 (2H, m), 1,21 (12H, s), 1,34-1,51 (21H, m), 1,63-1,97 (4H, m), 2,06 (1H, m), 2,11-2,29 (2H, m), 2,33-2,67 (1H, m), 3,24-3,52 (3H, m), 3,53-3,67 (1H, m), 4,15-4,34 (1H, m), 4,47-4,74 (1H, m), 6,76-7,23 (1H, m), 7,17-7,69 (1H, m), 9,74 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=610.

Пример 12: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-((S)-пирролидин-2-карбоксамидо)пирролидин-2-карбоновая кислота.

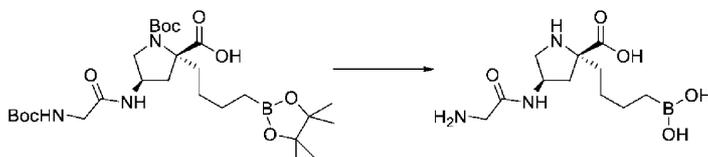
Добавляли трифторуксусную кислоту (0,518 мл, 6,73 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пирролидин-2-карбоксамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 36, 205 мг, 0,34 ммоль) в DCM (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную аминокислоту растворяли в 1 М водн. HCl (4 мл) и Et₂O (4 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (123 мг, 1,01 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и воды (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O и водный слой лиофилизировали. Полученное твердое вещество растворяли в MeOH (3 мл) и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 20 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH (20 мл). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, 0-50% ацетонитрила воде) с получением (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-((S)-пирролидин-2-карбоксамидо)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 12, 89 мг, выход 81%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,70-0,79 (2H, m), 1,11-1,23 (1H, m), 1,24-1,33 (1H, m), 1,34-1,42 (2H, m), 1,60-1,71 (1H, m), 1,81-1,91 (3H, m), 1,91-1,99 (1H, m), 2,18 (1H, dd), 2,22-2,29 (1H, m), 2,40 (1H, dd), 3,08-3,16 (1H, m), 3,16-3,22 (1H, m), 3,25 (1H, dd), 3,48 (1H, dd), 3,99 (1H, dd), 4,29-4,38 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=328.

Пример 13: (2R,4R)-4-(2-аминоацетамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 30 Промежуточное соединение 37



Промежуточное соединение 38 Соединение по примеру 13

Промежуточное соединение 37: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-л)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-Диизопропилэтиламин (0,182 мл, 1,04 ммоль) добавляли медленно к перемешиваемому раствору НАТУ (175 мг, 0,46 ммоль) и Boc-Gly-OH (77 мг, 0,44 ммоль) в DMF (1,5 мл) при комнатной температуре. Раствор перемешивали в течение 20 мин и затем добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 210 мг, 0,42 ммоль) в DMF (1,5 мл). Реакционный раствор перемешивали в течение 2 ч, разбавляли с помощью EtOAc (30 мл) и последовательно промывали водой (3×25 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ и насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл). Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (10-100% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 37, 235 мг, выход 85%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,70-0,78 (2H, m), 1,12-1,18 (1H, m), 1,20 (12H, s), 1,25-1,30 (1H, m), 1,33 (5H, s), 1,43 (15H, s), 1,74-1,86 (1H, m), 1,95 (0,5H, br d), 2,03 (0,5H, br d), 2,15-2,26 (1H, m), 2,26-2,37 (1H, m), 2,40 (1H, dd), 3,43-3,57 (3H, m), 3,57-3,64 (1H, m), 4,50 (1H, br s), 5,03 (0,5H, br s), 5,10 (0,5H, br s), 5,13-5,25 (1H, m), 7,01 (1H, dd), 7,32-7,37 (1H, m), 7,36-7,41 (4H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=660.

Промежуточное соединение 38: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-(2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 25 мг, 0,23 ммоль) добавляли в раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-(2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 37, 233 мг, 0,35 ммоль) в EtOAc (4 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и обратно заполняли водородом x3) при комнатной температуре в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-(2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 38, 176 мг, выход 87%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,65-0,80 (2H, m), 1,11-1,18 (1H, m), 1,18-1,23 (12H, m), 1,25-1,32 (1H, m), 1,36-1,45 (13H, m), 1,47 (7H, s), 1,70-1,83 (0,4H, m), 1,84-1,95 (0,6H, m), 2,06-2,27 (2H, m), 2,33-2,47 (0,4H, m), 2,63 (0,6H, br d), 3,44-3,62 (2H, m), 3,63-3,82 (2H, m), 4,28 (0,6H, br s), 4,36-4,60 (0,4H, m), 5,26 (0,6H, br s), 5,58-5,90 (0,3H, m), 6,83 (0,6H, br s), 6,97-7,44 (0,4H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=570.

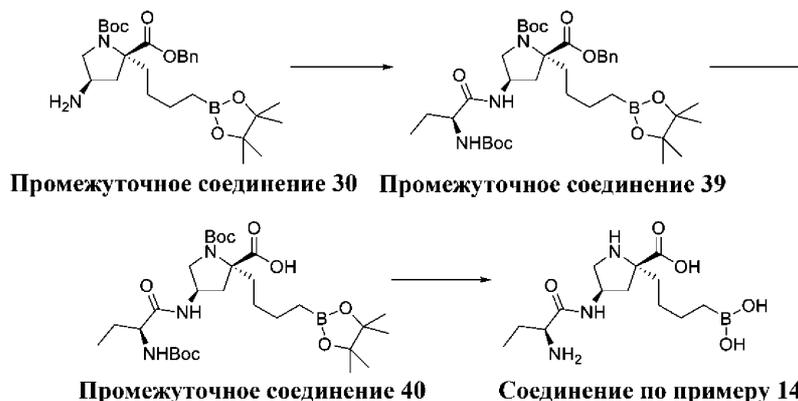
Пример 13: (2R, 4R)-4-(2-аминоацетида)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,476 мл, 6,18 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-(2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 38, 176 мг, 0,31 ммоль) в DCM (2 мл). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Неочищенную аминокислоту растворяли в 1 М водн. HCl (4 мл) и Et₂O (4 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (113 мг, 0,93 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и воды (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O и водный слой лиофилизировали. Полученное твердое вещество растворяли в MeOH (3 мл) и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка PoraPak Rxn CX 20 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH (20 мл). Полученный ма-

териал дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 40% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-(2-аминоацетиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 13, 62 мг, выход 70%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,76 (2H, td), 1,15-1,25 (1H, m), 1,26-1,34 (1H, m), 1,36-1,46 (2H, m), 1,69-1,79 (1H, m), 2,00 (1H, ddd), 2,27 (1H, dd), 2,44 (1H, dd), 3,33 (1H, dd), 3,42 (2H, s), 3,59 (1H, dd), 4,36-4,45 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=288.

Пример 14: (2R,4R)-4-((S)-2-аминобутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 39: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

НATU (804 мг, 2,11 ммоль) добавляли в раствор Boc-Abu-OH (430 мг, 2,11 ммоль) в DMF (4 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. (2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 30, 885 мг, 1,76 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DMF (3 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,75 мл, 4,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь затем разбавляли водой (15 мл) и Et₂O (10 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью Et₂O (2×10 мл). Объединенные органические вещества промывали 5% водным раствором хлорида лития (10 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 39, 766 мг, выход 63%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,70-0,84 (5H, m), 1,09-1,19 (1H, m), 1,21 (12H, s), 1,36-1,46 (18H, m), 1,46-1,97 (7H, m), 2,12-2,45 (2H, m), 3,45-3,60 (1H, m), 3,68 (1H, br d), 3,78-3,94 (1H, m), 4,42-4,64 (1H, m), 4,73-5,03 (1H, m), 5,07-5,33 (2H, m), 7,09 (1H, br d), 7,28-7,40 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=688.

Промежуточное соединение 40: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 39, 766 мг, 1,11 ммоль) растворяли в EtOAc (11 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 119 мг, 0,11 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью EtOAc и метанола. Фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 40, 470 мг, выход 70%) в виде белой пены.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,67-0,82 (2H, m), 0,89 (3H, br t), 1,11-1,28 (14H, m), 1,37-1,51 (20H, m), 1,53-1,65 (1H, m), 1,65-1,94 (2H, m), 2,02-2,12 (1H, m), 2,13-2,31 (1H, m), 2,70 (1H, br d), 3,40-3,62 (2H, m), 3,88-4,04 (1H, m), 4,26 (1H, br s), 5,01 (1H, br s), 6,73 (1H, br d); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=598.

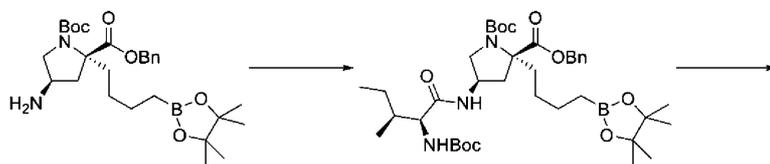
Пример 14: (2R,4R)-4-((S)-2-аминобутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли фенолбороновую кислоту (192 мг, 1,57 ммоль) в раствор (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-

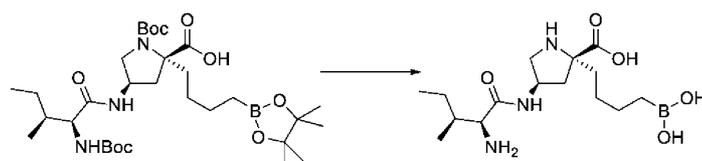
диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 40, 470 мг, 0,79 ммоль) в 2 М водн. HCl (5 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и Et₂O (10 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O (3×5 мл) и затем лиофилизировали до получения пены. Органический слой концентрировали под вакуумом. Полученный осадок разбавляли в 4 М HCl в диоксане (4 мл, 16 ммоль) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (10 мл) и Et₂O (10 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O (3×5 мл) и затем лиофилизировали до получения пены. Пены из этих двух операций объединяли и полученную неочищенную аминокислоту очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Silicycle SiliaSep SPE-R51230B-20X 5 г). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH. Полученный материал дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, от 0 до 25% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-аминобутанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 14, 96 мг, выход 39%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,55-0,82 (2H, m), 0,88 (3H, t), 1,12-1,48 (4H, m), 1,56-1,81 (3H, m), 1,86-2,10 (1H, m), 2,12-2,53 (2H, m), 3,15-3,37 (1H, m), 3,41-3,53 (1H, m), 3,62 (1H, dd), 4,35-4,52 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M-H₂O+H]⁺=298.

Пример 15: (2R,4R)-4-((2S,3S)-2-амино-3-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 30 Промежуточное соединение 41



Промежуточное соединение 42 Соединение по примеру 15

Промежуточное соединение 41: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((2S,3S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

НАТУ (804 мг, 2,11 ммоль) добавляли в раствор Вос-Не-ОН (489 мг, 2,11 ммоль) в DMF (4 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. (2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 30, 885 мг, 1,76 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DMF (3 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,75 мл, 4,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь затем разбавляли водой (15 мл) и Et₂O (10 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью Et₂O (2×10 мл). Объединенные органические слои промывали 5% водным раствором хлорида лития (10 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((2S,3S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 41, 707 мг, выход 56%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,79 (2H, brt), 0,83-1,05 (8H, m), 1,12-1,21 (1H, m), 1,24 (12H, s), 1,32-1,61 (20H, m), 1,62-2,02 (4H, m), 2,18-2,55 (2H, m), 3,49-3,65 (1H, m), 3,65-3,78 (1H, m), 3,90 (1H, br s), 4,53-4,72 (1H, m), 4,95 (1H, br s), 5,07-5,43 (2H, m), 7,16 (1H, br d), 7,30-7,44 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=716.

Промежуточное соединение 42: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-((2S,3S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 41, 707 мг, 0,99 ммоль) растворяли в EtOAc (10 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 105 мг, 0,10 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью EtOAc и метанола. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-(трет-

бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 42, 603 мг, выход 98%), которую применяли без дополнительной очистки.

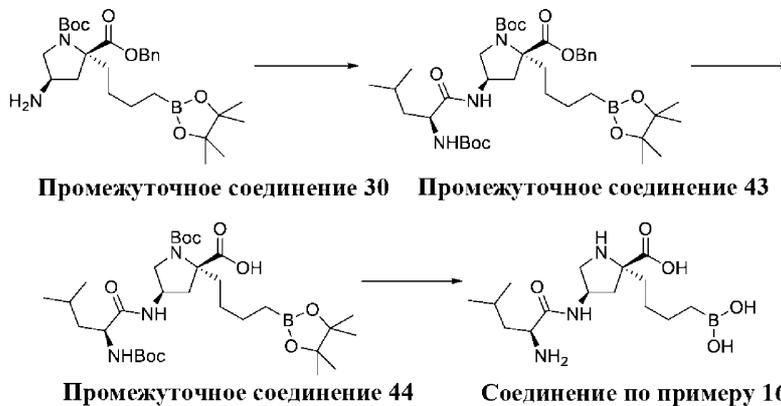
^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,68-0,80 (2H, m), 0,83-0,93 (6H, m), 1,05-1,14 (1H, m), 1,21 (12H, s), 1,28-1,36 (1H, m), 1,37-1,55 (22H, m), 1,71-1,96 (2H, m), 2,18-2,31 (1H, m), 2,72 (1H, brd), 3,42-3,51 (2H, m), 3,52-3,63 (1H, m), 3,86-4,04 (1H, m), 4,16-4,34 (1H, m), 4,98 (1H, br d), 6,69 (1H, br s); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=626$.

Пример 15: (2R,4R)-4-((2S, 3S)-2-амино-3-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (1,10 мл, 14,3 ммоль) в раствор (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 42, 603 мг, 0,96 ммоль) в DCM (6 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту растворяли в Et_2O (10 мл) и повторно концентрировали под вакуумом. Данные способы повторного растворения и повторной концентрации повторяли еще дважды. Неочищенную аминокислоту затем растворяли в Et_2O (6 мл) и 1 М водн. HCl (6 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (235 мг, 1,93 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et_2O . Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Silicycle SiliaSep SPE-R51230B-20X 5 г). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH. Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18Aq, 0-25% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((2S,3S)-2-амино-3-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 15, 136 мг, выход 41%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,55-0,81 (2H, m), 0,89 (6H, dd), 1,07-1,52 (6H, m), 1,63-1,83 (2H, m), 1,86-2,09 (1H, m), 2,13-2,51 (2H, m), 3,11-3,40 (2H, m), 3,45-3,67 (1H, m), 4,39-4,54 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=344$.

Пример 16: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-4-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 43: (2S,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

НАТУ (247 мг, 0,65 ммоль) добавляли в раствор Boc-Leu-OH (125 мг, 0,54 ммоль) в DCM (2 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. (2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 30, 272 мг, 0,54 ммоль) добавляли реакционную смесь в виде раствора в DCM (2 мл). Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,19 мл, 1,1 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь затем разбавляли с помощью DCM (20 мл) и последовательно промывали водой (25 мл) и насыщенным водным хлоридом натрия (30 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/ EtOAc) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 43, 210 мг, выход 54%) в виде бесцветной пены и в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,77 (2H, t), 0,91 (6H, d), 1,06-1,19 (1H, m), 1,19-1,24 (12H, m), 1,31-1,51 (20H, m), 1,50-1,63 (2H, m), 1,73-2,02 (2H, m), 2,17-2,55 (2H, m), 3,35-3,75 (2H, m), 3,84-4,06 (1H, m), 4,35-

4,75 (2H, m), 5,00-5,46 (2H, m), 7,08-7,22 (1H, m), 7,28-7,42 (5H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+=716$.

Промежуточное соединение 44: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 43, 201 мг, 0,28 ммоль) растворяли в EtOAc (4 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 100 мг, 0,094 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали через диатомовую землю и промывали с помощью EtOAc и метанола. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 44, 170 мг, выход 97%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров.

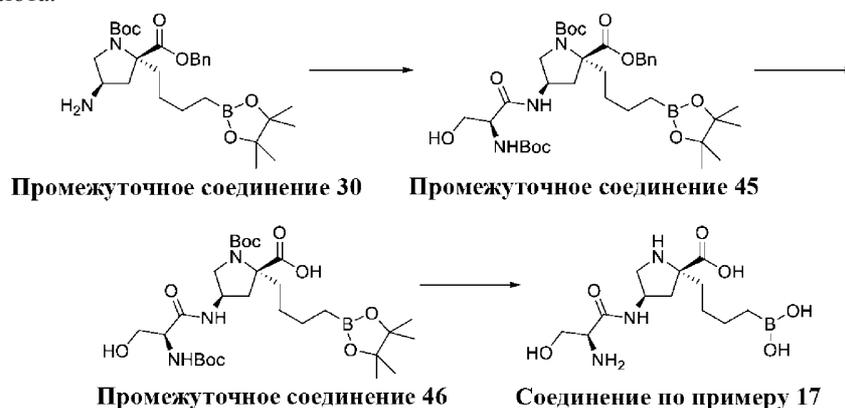
1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 0,78 (2H, t), 0,93 (6H, d), 1,15-1,25 (12H, m), 1,25-1,31 (2H, m), 1,39-1,51 (19H, m), 1,55-1,72 (2H, m), 1,73-1,89 (1H, m), 2,01-2,11 (1H, m), 2,18-2,36 (1H, m), 2,47-2,83 (1H, m), 3,37-3,74 (2H, m), 3,96-4,10 (1H, m), 4,17-4,32 (1H, m), 4,82-5,31 (1H, m), 6,62-7,12 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+=626$.

Пример 16: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-4-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (1,00 мл, 13,0 ммоль) в раствор (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 44, 170 мг, 0,27 ммоль) в DCM (2 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и затем концентрировали под вакуумом. Неочищенную аминокислоту затем растворяли в Et_2O (5 мл) и воде (4 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (66 мг, 0,54 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (5 мл) и Et_2O (20 мл) и слои разделяли. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 2g) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-амино-4-метилпентанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 16, 88 мг, выход 94%) в виде белого твердого вещества.

1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,46-0,68 (2H, m), 0,73-0,82 (6H, m), 1,03-1,13 (1H, m), 1,13-1,23 (1H, m), 1,23-1,42 (4H, m), 1,42-1,52 (1H, m), 1,54-1,66 (1H, m), 1,76-1,93 (1H, m), 2,07-2,19 (1H, m), 2,29 (1H, dd), 3,13 (1H, q), 3,34 (1H, t), 3,48 (1H, q), 4,23-4,40 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[M+H]^+=344$.

Пример 17: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 45: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-Диизопропилэтиламин (0,108 мл, 0,62 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору COMU (292 мг, 0,68 ммоль), (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 311 мг, 0,62 ммоль) и Boc-Ser-OH (133 мг, 0,65 ммоль) в DMF (5 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч, разбавляли водой (80 мл) и EtOAc (15 мл). Фазы разделяли и водную фазу дополнительно разбавляли с помощью насыщенного водного $NaHCO_3$, затем экстрагировали с помощью EtOAc (2×20 мл). Объединенные органические вещества промывали насыщенным водным раствором NaCl (2×10 мл), высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-

1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 45, 358 мг, выход 84%) в виде бесцветной сухой пленки и в виде смеси ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,76 (2H, t), 1,16 (1H, m), 1,21 (12H, s), 1,31 (6H, s), 1,35-1,42 (5H, m), 1,43 (1H, s), 1,73-1,87 (1H, m), 1,87-2,02 (2H, m), 2,14-2,24 (1H, m), 2,29-2,41 (1H, m), 3,43-3,52 (0,4H, m), 3,52-3,61 (2H, m), 3,66 (0,6H, d), 3,79-3,92 (1H, m), 3,92-4,04 (1H, m), 4,51 (1H, br s), 5,06-5,26 (2H, m), 5,36 (1H, br s), 7,30-7,40 (5H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=690$.

Промежуточное соединение 46: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 45, 358 мг, 0,52 ммоль) растворяли в EtOAc (4 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 50 мг, 0,047 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю, концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 46, 303 мг, выход 97%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

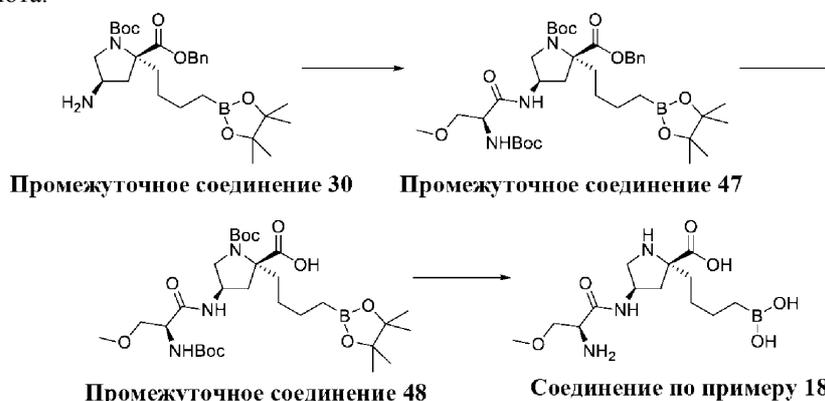
^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2) δ 0,67-0,91 (2H, m), 1,25 (14H, s), 1,41-1,47 (3H, m), 1,48 (9H, s), 1,53 (10H, s), 1,82-1,90 (2H, m), 2,06-2,14 (1H, m), 2,24-2,33 (1H, m), 2,76-2,91 (1H, m), 3,48-3,54 (1H, m), 3,59 (1H, dd), 3,70 (1H, dd), 3,93 (1H, d), 4,03-4,17 (1H, m), 4,29 (1H, d), 6,79-6,98 (1H, m); масса/заряд (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=600$.

Пример 17: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,771 мл, 10,01 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 46, 300 мг, 0,50 ммоль) в DCM (4 мл) при комнатной температуре. Через 1,5 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (4 мл, 4,00 ммоль) и Et_2O (4 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (183 мг, 1,50 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавляли с помощью Et_2O (20 мл) и воды (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et_2O , слои разделяли и водный слой лиофилизировали. Полученное твердое вещество растворяли в MeOH (3 мл) и подвергали ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 20 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH (20 мл). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 30% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-гидроксипропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 17, 94 мг, выход 59%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,77 (2H, td), 1,16-1,26 (1H, m), 1,26-1,35 (1H, m), 1,35-1,45 (2H, m), 1,76 (1H, ddd), 2,02 (1H, ddd), 2,29 (1H, dd), 2,46 (1H, dd), 3,35 (1H, dd), 3,48 (1H, t), 3,62 (1H, dd), 3,66-3,77 (2H, m), 4,40-4,50 (1H, m); масса/заряд (ES^-) $[\text{M}+\text{H}]^+=318$.

Пример 18: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-метоксипропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 47: (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-Диизопропилэтиламин (0,082 мл, 0,47 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору COMU (220 мг, 0,51 ммоль), (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 235 мг, 0,47 ммоль) и N-Вос-О-метил-L-серина (108 мг, 0,49 ммоль) в DMF (3 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч, затем разбавляли водой (60 мл) и DCM (15 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью DCM (2×20 мл). Объединенные органические вещества промывали с помощью насыщенного водного NaHCO₃ (30 мл), насыщенного водного раствора NaCl (2×10 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный осадок очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 47, 145 мг, выход 44%) в виде бесцветной сухой пленки и в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,78 (2H, t), 1,18 (1H, br dd), 1,22-1,26 (13H, m), 1,33 (6H, s), 1,44 (5H, br s), 1,46 (9H, s), 1,57-1,74 (1H, m), 1,74-1,85 (1H, m), 1,94 (0,4H, d), 2,01 (0,6H, d), 2,18-2,27 (0,6H, m), 2,32-2,47 (1,4H, m), 3,32 (3H, s), 3,39-3,46 (1H, m), 3,49-3,55 (0,4H, m), 3,60 (1H, dd), 3,65-3,76 (1,6H, m), 4,15 (1H, br d), 4,51-4,64 (1H, m), 5,06-5,22 (2H, m), 5,23-5,34 (1H, m), 7,32-7,39 (5H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=704.

Промежуточное соединение 48: (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

(2R,4R)-2-Бензил-1-трет-бутил-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 47, 145 мг, 0,21 ммоль) растворяли в EtOAc (2 мл) и обрабатывали с помощью Pd/C (10% вес./вес., 22 мг, 0,021 ммоль). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю, концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 48, 126 мг, выход 100%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров, которую применяли без дополнительной очистки.

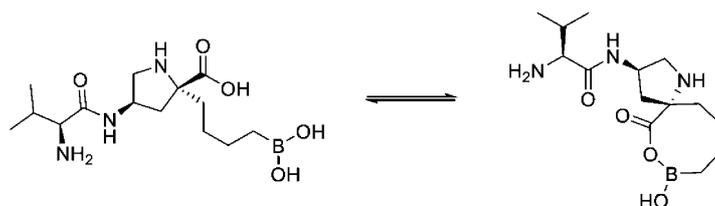
¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,65-0,80 (2H, m), 1,14-1,29 (14H, m), 1,35-1,43 (5H, m), 1,44 (7H, s), 1,46-1,60 (8H, m), 1,77-1,95 (1H, m), 2,03-2,14 (1H, m), 2,14-2,26 (1H, m), 2,68 (1H, br d), 3,33 (3H, s), 3,38-3,47 (1H, m), 3,47-3,60 (2H, m), 3,65-3,76 (1H, m), 4,02-4,15 (1H, m), 4,24 (1H, br s), 5,38 (1H, br s), 7,06 (1H, br s); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=614.

Пример 18: (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-метоксипропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,25 мл, 3,26 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метоксипропанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 48, 100 мг, 0,16 ммоль) в DCM (2 мл) при температуре окружающей среды. Через 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (2 мл, 2,00 ммоль) и Et₂O (2 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (60 мг, 0,49 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и воды (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O, слои разделяли и водный слой лиофилизировали. Полученное твердое вещество растворяли в MeOH (3 мл) и подвергали ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 20 cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в растворе MeOH (20 мл). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 20% ацетонитрила в воде). Фракции, содержащие продукт, лиофилизировали и полученный материал снова подвергали флэш-хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 2% ацетонитрила в воде). Фракции, содержащие продукт, лиофилизировали и полученный материал снова повторно очищали с помощью флэш-хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 5% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4R)-4-((S)-2-амино-3-метоксипропанамидо)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 18, 18 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,77 (2H, td), 1,14-1,27 (1H, m), 1,27-1,35 (1H, m), 1,35-1,45 (2H, m), 1,72-1,81 (1H, m), 2,02 (1H, ddd), 2,30 (1H, dd), 2,41 (1H, dd), 3,31-3,38 (4H, m), 3,55-3,60 (3H, m), 3,63 (1H, dd), 4,42-4,51 (1H, m); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=332.

Пример 19: (S)-2-амино-N-((3R,5R)-8-гидрокси-6-оксо-7-окса-1-аза-8-бораспиро[4.7]додекан-3-ил)-3-метилбутанамид - соединение В.

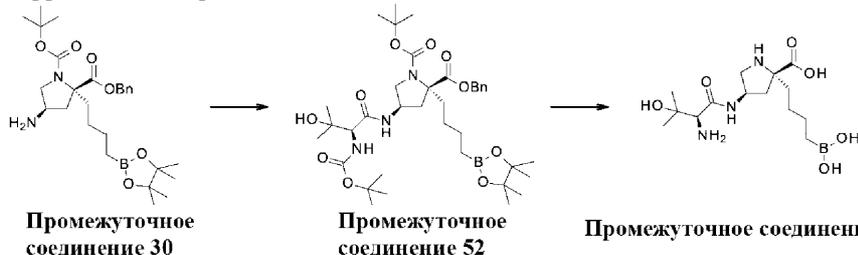


Соединение А

Соединение В

Соединение В (пример 19) получали с помощью внутримолекулярной циклизации соединения по примеру 9 (соединение А) посредством процесса взаимопревращения. Кроме того, взаимопревращения между соединением А (пример 9) и соединением В наблюдали при различных условиях. Например, соединение В преобразовывали в соединение А в присутствии воды, и такое превращение пропорционально концентрации воды в растворителе. Это продемонстрировано на фиг. 1, где показаны спектры ЯМР соединения В, полученные в 100% d6-DMSO (помеченное как А), 75% D₂O в d6-DMSO (помеченное как В), 50% D₂O в d6-DMSO (помеченное как С), 25% D₂O в d6-DMSO (помеченное как Е) и 100% D₂O (помеченное как F). В d6-DMSO соединение В преобладает, при этом существует пропорциональное увеличение в соединении А с повышением в концентрации D₂O. Пропорция соединения А относительно соединения В в 100% D₂O достигает примерно 90%. Кроме того, соединение В преобразовывали в соединение А в условиях кислоты. На фиг. 2 спектры ЯМР соединения В в 0,1 М DCl (в D₂O) демонстрируют, что подкисление обеспечивает почти полное превращение соединения А. Кроме того, было определено, что кристаллическое соединение В и аморфное соединение В имеют одинаковую структурную форму. На фиг. 3 спектры ЯМР (полученные в d6-DMSO) демонстрируют, что как кристаллическое соединение В, так и аморфное соединение В имеют одинаковую циклическую структуру.

Пример 20: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-гидрокси-3-метил-бутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Промежуточное
соединение 30Промежуточное
соединение 52

Промежуточное соединение 20

Промежуточное соединение 52: 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-гидрокси-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,13 мл, 0,76 ммоль) в раствор (S)-N-альфа-трет-бутилоксикарбонил-3,3-диметилсерина (106 мг, 0,454 ммоль) и HATU (0,173 г, 0,454 ммоль) в MF (2,6 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин. Добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 190 мг, 0,38 ммоль) в DMF (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (40 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора NH₄Cl (2×20 мл), насыщенного водного раствора NaHCO₃ (2×20 мл) и солевого раствора (20 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (0-50% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-гидрокси-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 52, 223 мг, выход 82%) в виде белой пены и в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, MeOH-d₄) δ 0,70-0,83 (m, 2H) 1,14-1,27 (m, 19H) 1,31 (s, 6H) 1,36-1,42 (m, 5H) 1,44 (s, 10H) 1,81-1,93 (m, 1H) 2,02-2,14 (m, 1H) 2,14-2,30 (m, 1H) 2,36-2,49 (m, 1H) 3,39-3,48 (m, 1H) 3,73-3,83 (m, 1H) 3,87-3,97 (m, 1H) 4,43-4,53 (m, 1H) 5,09-5,25 (m, 2H) 7,28-7,45 (m, 5H); масса/заряд (ES⁺) [M+H]⁺=718.

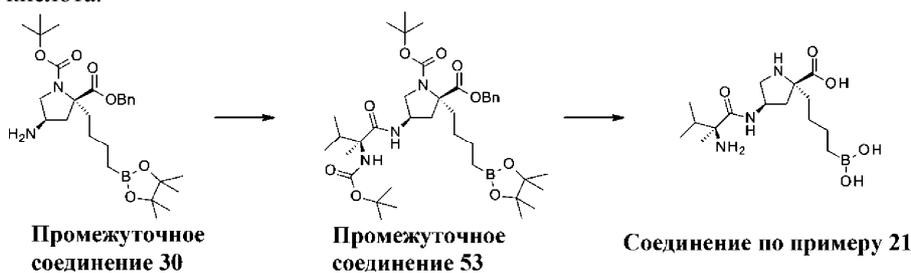
Пример 20: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-гидрокси-3-метил-бутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 100 мг, 0,09 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-гидрокси-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 52, 220 мг, 0,31 ммоль) в EtOAc (3 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и концентрировали досуха. Белое твердое вещество растворяли в DCM (1 мл) и трифторук-

сусной кислоте (0,50 мл, 6,5 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Раствор концентрировали и полученный осадок растворяли в Et₂O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (100 мг, 0,82 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak R_{hp} CX 20cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (20 мл) с получением (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-гидрокси-3-метил-бутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 20, 92 мг, выход 87%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,70 (2H, t), 1,20 (4H, s), 1,28 (4H, s), 1,31- 1,40 (2H, m), 1,77-1,88 (1H, m), 2,04-2,14 (1H, m), 2,40-2,47 (1H, m), 2,48-2,54 (1H, m), 3,40 (1H, dd), 3,74 (1H, s), 3,75-3,80 (1H, m), 4,47-4,55 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=346.

Пример 21: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-2,3-диметил-бутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 53: 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-2,3-диметил-бутаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,14 мл, 0,82 ммоль) в раствор (S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2,3-диметилбутановой кислоты (0,113 г, 0,489 ммоль) и HATU (0,186 г, 0,489 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин. Добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 205 мг, 0,408 ммоль) в DMF (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (50 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора NH₄Cl (2×25 мл), насыщенного водного раствора NaHCO₃ (2×25 мл) и солевого раствора (20 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Полученный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (0-50% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-2,3-диметил-бутаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 53, 211 мг, выход 72%) в виде белой пены и в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, MeOH-d₄) δ 0,72-0,79 (2H, m), 0,80-0,93 (6H, m), 1,17-1,25 (13H, m), 1,31 (9H, d), 1,36-1,47 (16H, m), 1,82-1,92 (2H, m), 1,97-2,09 (1H, m), 2,15-2,30 (1H, m), 2,34-2,51 (1H, m), 3,61-3,75 (1H, m), 4,42-4,56 (1H, m), 5,08-5,31 (2H, m), 7,29-7,46 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=716.

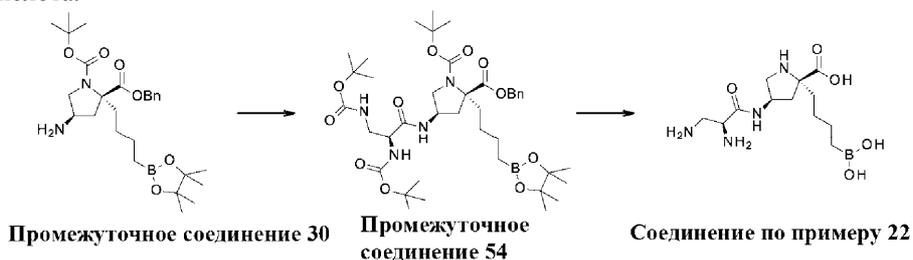
Пример 21: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-2,3-диметил-бутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 90 мг, 0,08 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-2,3-диметил-бутаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 53, 210 мг, 0,29 ммоль) в EtOAc (4 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и концентрировали досуха. Белое твердое вещество растворяли в DCM (1 мл) и трифторуксусной кислоте (0,50 мл, 6,5 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Раствор концентрировали и полученный осадок растворяли в Et₂O (2 мл) и 1 М водн. HCl (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (100 мг, 0,82 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak R_{hp} CX 20cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (20 мл) с получением (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-2,3-диметил-бутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 21, 90 мг, выход 89%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,74-0,78 (2H, m), 0,79 (3H, d), 0,89 (3H, d), 1,17-1,27 (4H, m), 1,28-1,35

(1H, m), 1,36-1,47 (2H, m), 1,70-1,81 (1H, m), 1,93-2,07 (2H, m), 2,27 (1H, dd), 2,43 (1H, dd), 3,27-3,39 (1H, m), 3,60 (1H, dd), 4,39-4,48 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=344.

Пример 22: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-[[[(2S)-2,3-диаминопропаноил]амино]пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 54: 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2,3-бис(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,14 мл, 0,82 ммоль) в раствор Вос-Дар(Вос)-ОН·DCHA (0,238 г, 0,489 ммоль) и НАТУ (0,186 г, 0,489 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин. Добавляли раствор (2R,4R)-2-бензил-1-трет-бутил-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 30, 205 мг, 0,408 ммоль) в DMF (1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 16ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (50 мл) и промывали с помощью насыщенного водного раствора NH₄Cl (2×25 мл), насыщенного водного раствора NaHCO₃ (2×25 мл) и солевого раствора (20 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (0-50% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2,3-бис(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 54, 214 мг, выход 66%) в виде белой пены и в виде смеси ротамеров.

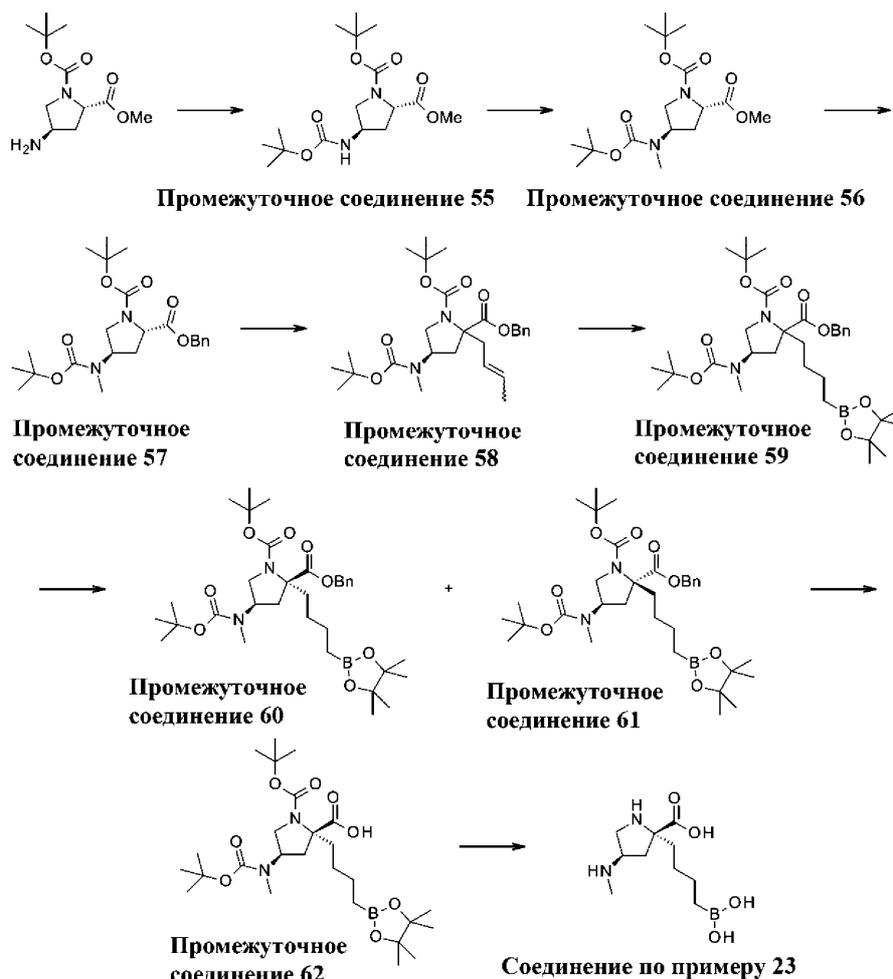
¹H ЯМР (500 МГц, MeOH-d₄) δ 0,76 (2H, q), 1,19-1,26 (14H, m), 1,27-1,34 (6H, m), 1,37-1,52 (24H, m), 1,76-1,93 (1H, m), 2,06-2,31 (2H, m), 2,50 (1H, s), 3,19-3,27 (2H, m), 3,66-3,84 (1H, m), 4,00-4,13 (1H, m), 4,35-4,50 (1H, m), 5,04-5,25 (2H, m), 7,26-7,50 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=789.

Пример 22: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-[[[(2S)-2,3-диаминопропаноил]амино]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 57 мг, 0,053 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2,3-бис(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 54, 210 мг, 0,27 ммоль) в EtOAc (4 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH, фильтровали через диатомовую землю и концентрировали досуха. Белое твердое вещество растворяли в DCM (1 мл) и трифторуксусной кислоте (0,50 мл, 6,5 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Раствор концентрировали и полученный осадок растворяли в Et₂O (2 мл) и 1 M водн. HCl (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (100 мг, 0,82 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли водой и промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка RogaPak Rxn CX 20cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (20 мл) с получением (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-[[[(2S)-2,3-диаминопропаноил]амино]пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 22, 74 мг, выход 88%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,71 (2H, t), 1,11-1,24 (1H, m), 1,26-1,41 (3H, m), 1,75-1,89 (1H, m), 2,00-2,13 (1H, m), 2,31-2,48 (1H, m), 2,51-2,67 (1H, m), 3,39-3,53 (3H, m), 3,68-3,80 (1H, m), 4,27 (1H, t), 4,41-4,52 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=317.

Пример 23: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 55: 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (4,41 г, 20,2 ммоль) в раствор соли шавелевой кислоты 1-(трет-бутил)-2-метил-(2S,4R)-4-аминопирролидин-1,2-дикарбоксилата (4,50 г, 13,5 ммоль) и триэтиламина (5,63 мл, 40,4 ммоль) в DCM (57 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи в атмосфере N₂. Неочищенную реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (200 мл) и последовательно промывали с помощью 0,5 М HCl (водн.), насыщенного раствора бикарбоната натрия и солевого раствора. Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH) с получением 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 55, 3,66 г, выход 79%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,29-1,42 (18H, m), 1,96-2,17 (2H, m), 3,12-3,17 (1H, m), 3,45-3,56 (1H, m), 3,62-3,69 (3H, m), 3,96-4,06 (1H, m), 4,24-4,34 (1H, m), 7,17-7,26 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=345.

Промежуточное соединение 56: 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле) (0,491 г, 12,3 ммоль) частями в раствор 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 55, 3,66 г, 10,7 ммоль) в DMF (35 мл). После добавления реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, затем добавляли метилиодид (0,715 мл, 11,4 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили водой. Смесь разбавляли с помощью EtOAc (200 мл) и слои разделяли. Органический слой промывали последовательно водой и солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 56, 3,13 г, выход 82%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,28-1,41 (18H, m), 1,87-2,02 (1H, m), 2,29-2,44 (1H, m), 2,69 (3H, s), 3,13-3,25 (1H, m), 3,44-3,57 (1H, m), 3,60-3,68 (3H, m), 4,23-4,32 (1H, m), 4,62 (1H, br s); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=359.

Промежуточное соединение 57: 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Раствор гидроксида натрия (2,10 г, 52,4 ммоль) в воде (11 мл) добавляли в раствор 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 56, 3,13 г, 8,73 ммоль) в THF (22 мл) и MeOH (11 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и водный слой подкисляли до pH~3 с помощью 5 M HCl (водн.) и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением неочищенной карбоновой кислоты в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

Добавляли бензилбромид (1,24 мл, 10,5 ммоль) в раствор неочищенной карбоновой кислоты, йодида натрия (1,737 г, 11,59 ммоль) и K₂CO₃ (3,01 г, 21,8 ммоль) в DMF (28 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь фильтровали и твердые вещества промывали с помощью EtOAc. Фильтрат концентрировали и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 57, 3,05 г, выход 81%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,20-1,42 (18H, m), 1,91-2,07 (1H, m), 2,33-2,46 (1H, m), 2,69 (3H, s), 3,12-3,26 (1H, m), 3,44-3,57 (1H, m), 4,20-4,38 (1H, m), 4,66 (1H, br s), 5,07-5,20 (2H, m), 7,25-7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=435.

Промежуточное соединение 58: 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 57, 3,05 г, 7,02 ммоль) и кротилбромид (1,08 мл, 10,5 ммоль) растворяли в THF (25 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N₂. Раствор KHMDS (0,5 M в толуоле, 21,0 мл, 10,5 ммоль) добавляли по каплям в реакционную смесь и реакционную смесь перемешивали в течение 17ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью очистки с использованием силикагеля (гексаны/EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 58, 1,26 г, выход 37%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров, E/Z изомеров олефина и ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,23-1,44 (18H, m), 1,51-1,70 (3H, m), 2,00-2,26 (2H, m), 2,38-2,47 (1H, m), 2,57-2,68 (3H, m), 2,71-3,00 (1H, m), 3,00-3,25 (1H, m), 3,40-3,74 (1H, m), 4,54-4,80 (1H, m), 5,01-5,27 (2H, m), 5,28-5,47 (1H, m), 5,49-5,72 (1H, m), 7,25-7,42 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=489.

Промежуточное соединение 59: 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1, 2-дикарбоксилат.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (269 мг, 0,400 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (308 мг, 0,801 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и промывали с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (11 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (1,28 мл, 8,82 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 58, 1,96 г, 4,01 ммоль) в реакционную смесь в виде раствора в DCM (7,5 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH и воды. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил] пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 59, 2,5 г, выход 100%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров и ротамеров. Очищенный материал подвергали хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 30 мм×250 мм, 5 мкм, температура = 20°C, подвижная фаза = 0-30% MeOH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 31 мг/ввод., конц. = 125 мг/мл в MeOH, скорость потока = 75 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Stereoхимия каждого диастереомера была присвоена ретроспективно на основе активности фермента по примеру 23 и примеру 24 для соответствия другим соединениям, приведенным в качестве примера.

Промежуточное соединение 60 (изомер 2, 637 мг): 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,58-0,76 (2H, m), 1,15 (12H, d), 1,21-1,47 (22H, m), 1,69-1,82 (1H, m),

1,94-2,23 (3H, m), 2,56-2,62 (3H, m), 3,19-3,28 (1H, m), 3,45-3,57 (1H, m), 4,58-4,79 (1H, m), 5,01-5,26 (2H, m), 7,26-7,41 (5H, m).

Промежуточное соединение 61 (изомер 1, 860 мг): 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 0,62-0,71 (2H, m), 1,15 (12H, s), 1,20-1,42 (22H, m), 1,67-1,84 (1H, m), 1,92-2,32 (3H, m), 2,69 (3H, s), 3,04-3,15 (1H, m), 3,57-3,71 (1H, m), 4,52-4,73 (1H, m), 4,98-5,25 (2H, m), 7,24-7,40 (5H, m).

Промежуточное соединение 62: (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 165 мг, 0,155 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 60, 637 мг, 1,03 ммоль) в EtOAc (7 мл). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 62, 350 мг, выход 64%) в виде белого твердого вещества.

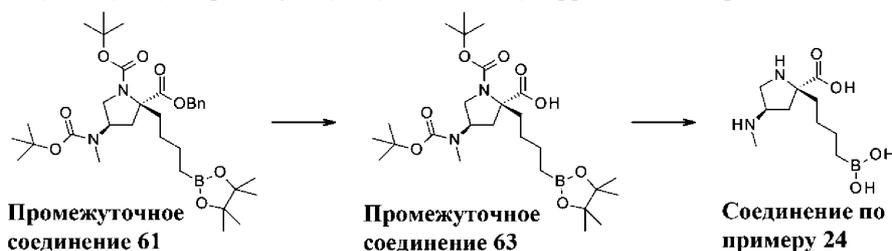
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 0,63-0,73 (2H, m), 1,14-1,19 (12H, m), 1,22-1,42 (21H, m), 1,63-1,77 (1H, m), 1,99-2,18 (3H, m), 2,63-2,67 (3H, m), 3,21-3,27 (2H, m), 3,41-3,55 (1H, m), 4,57-4,80 (1H, m), 12,32-12,75 (1H, m); масса/заряд: (ES $^+$) [M+H] $^+$ =527.

Пример 23: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (0,51 мл, 6,7 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 62, 350 мг, 0,66 ммоль) в DCM (4 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et $_2$ O (5 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (162 мг, 1,33 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et $_2$ O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et $_2$ O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (60 мл) с получением (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 23, 140 мг, выход 86%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, D $_2$ O) δ 0,72-0,82 (2H, m), 1,09-1,43 (4H, m), 1,62-1,77 (1H, m), 1,83-1,95 (1H, m), 2,23 (2H, d), 2,46 (3H, s), 3,02-3,11 (1H, m), 3,37-3,49 (1H, m), 3,49-3,61 (1H, m); масса/заряд: (ES $^+$) [M+H] $^+$ =245.

Пример 24: (2S,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 63: (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 223 мг, 0,209 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 61, 860 мг, 1,39 ммоль) в EtOAc (9,3 мл). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 63, 520 мг, выход 71%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 0,60-0,75 (2H, m), 1,16 (12H, s), 1,28-1,45 (22H, m), 1,56-1,74 (1H, m),

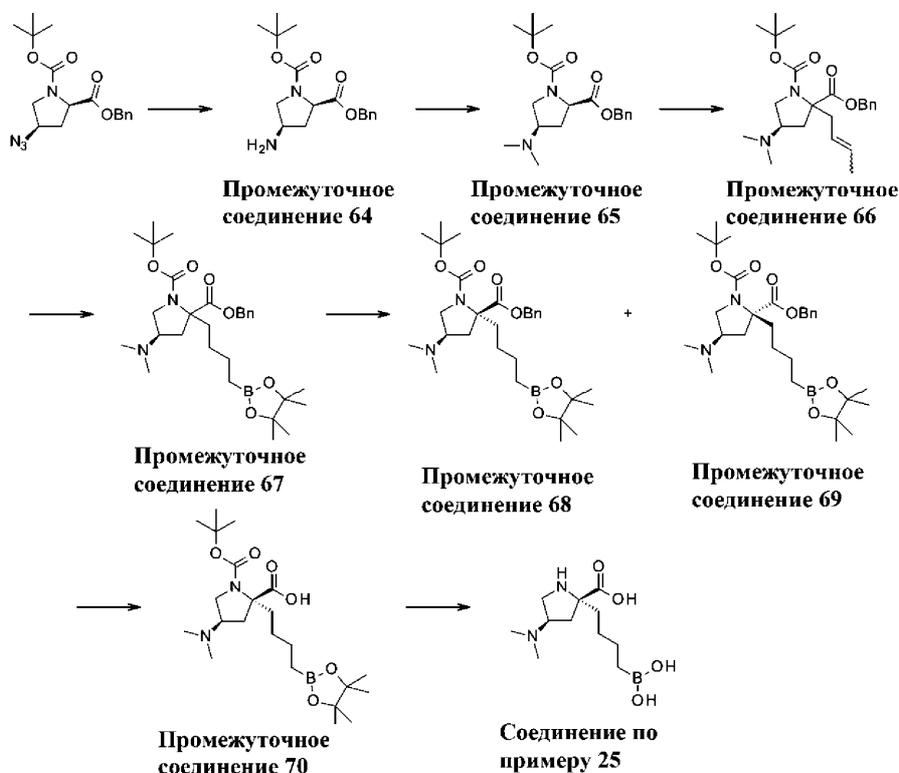
1,84-1,95 (1H, m), 2,01-2,22 (2H, m), 2,69 (3H, s), 3,01-3,17 (1H, m), 3,56-3,70 (1H, m), 4,52-4,73 (1H, m), 12,35-12,77 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=527.

Пример 24: (2S,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли трифторуксусную кислоту (1,23 мл, 16,0 ммоль) по каплям к перемешиваемому раствору (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 63, 520 мг, 0,80 ммоль) в DCM (8,5 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et₂O (5 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (196 мг, 1,60 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxp CX 60cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (60 мл) с получением (2S,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(метиламино)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 24, 163 мг, выход 83%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,70-0,90 (2H, m), 1,10-1,46 (4H, m), 1,65-1,77 (2H, m), 1,96-2,07 (1H, m), 2,43 (3H, s), 2,68-2,77 (1H, m), 2,96-3,10 (1H, m), 3,37-3,50 (1H, m), 3,50-3,60 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=245.

Пример 25: (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 64: 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-аминопирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Трифенилфосфин (7,87 г, 30,0 ммоль) и воду (0,54 мл, 30,0 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-азидопирролидин-1,2-дикарбоксилата (5,20 г, 15,0 ммоль) в THF (68 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 6 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли с помощью EtOAc и последовательно промывали водой (2×100 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-аминопирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 64, 3,2 г, выход 67%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,20-1,49 (9H, m), 1,53-1,64 (1H, m), 1,65-1,79 (2H, m), 2,26-2,40 (1H, m), 2,85-3,01 (1H, m), 3,31-3,42 (1H, m), 3,45-3,56 (1H, m), 4,13-4,24 (1H, m), 4,99-5,25 (2H, m), 7,36 (5H, s); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=321.

Промежуточное соединение 65: 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-(диметиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Триацетоксиборогидрид натрия (6,35 г, 29,9 ммоль) добавляли частями в раствор 2-бензил-1-трет-

бутил-(2R,4R)-4-аминопирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 64, 3,20 г, 9,99 ммоль) и формальдегида (37% вес./вес. в H₂O, 4,46 мл, 59,9 ммоль) в MeOH (79 мл). После добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и полученный осадок разбавляли с помощью DCM. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации и фильтрат концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc с NH₄OH) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-(диметиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 65, 3,00 г, выход 86%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,24 (9H, s), 1,53-1,67 (1H, m), 2,10 (6H, s), 2,40-2,48 (1H, m), 2,53-2,73 (1H, m), 2,83-3,06 (1H, m), 3,59-3,69 (1H, m), 4,15-4,29 (1H, m), 5,02-5,21 (2H, m), 7,26-7,42 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺)[M+H]⁺=350.

Промежуточное соединение 66: 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-(диметиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

2-Бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-(диметиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 65, 3,00 г, 8,61 ммоль) и кротилбромид (1,33 мл, 12,9 ммоль) растворяли в THF (18 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N₂. Раствор KHMDS (0,5 M в толуоле, 25,8 мл, 12,9 ммоль) добавляли по каплям в реакционную смесь и реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью очистки с использованием силикагеля (гексаны/EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-(диметиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 66, 1,55 г, выход 45%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров, E/Z изомеров олефина и ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,21-1,44 (9H, m), 1,51-1,70 (3H, m), 1,79-1,96 (1H, m), 2,05 (6H, s), 2,08-2,24 (1H, m), 2,31-2,43 (1H, m), 2,54-2,74 (1H, m), 2,75-3,08 (2H, m), 3,56-3,86 (1H, m), 5,00-5,23 (2H, m), 5,23-5,42 (1H, m), 5,43-5,73 (1H, m), 7,23-7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=403.

Промежуточное соединение 67: 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (240 мг, 0,36 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (275 мг, 0,715 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (10 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (1,14 мл, 7,87 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. 2-Бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-(диметиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 66, 1,44 г, 3,58 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DCM (6,7 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH и воды. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 67, 1,5 г, выход 79%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров и ротамеров. Очищенный материал подвергали хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 30 мм×250 мм, 5 мкм, температура = 20°C, подвижная фаза = 0-15% MeOH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 32 мг/ввод., конц. = 80 мг/мл в MeOH, скорость потока = 120 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия каждого диастереомера была присвоена ретроспективно на основе активности фермента по примеру 25 и примеру 26 для соответствия другим соединениям, приведенным в качестве примера.

Промежуточное соединение 68 (изомер 2, 190 мг): 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,64-0,71 (2H, m), 0,97-1,12 (1H, m), 1,13-1,17 (12H, m), 1,24 (13H, s), 1,57-1,81 (1H, m), 1,81-1,99 (1H, m), 2,06 (6H, s), 2,09-2,21 (1H, m), 2,55-2,74 (1H, m), 3,02-3,12 (1H, m), 3,59-3,70 (1H, m), 5,00-5,20 (2H, m), 7,27-7,41 (5H, m).

Промежуточное соединение 69 (изомер 1, 491 мг): 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,52-0,72 (2H, m), 0,93-1,12 (1H, m), 1,12-1,20 (12H, m), 1,20-1,39 (13H, m), 1,59-1,74 (1H, m), 1,77-1,93 (1H, m), 2,06 (6H, s), 2,08-2,15 (1H, m), 2,53-2,65 (1H, m), 2,78-2,96 (1H, m), 3,67-3,82 (1H, m), 5,00-5,21 (2H, m), 7,27-7,42 (5H, m).

Промежуточное соединение 70: (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-

тетраметил-],3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 57 мг, 0,054 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 68, 189 мг, 0,356 ммоль) в EtOAc (2,4 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 70, 150 мг, выход 96%) в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

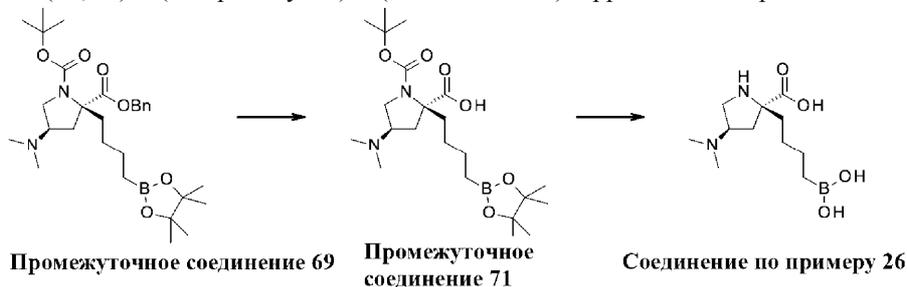
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,53-0,70 (2H, m), 1,11-1,20 (12H, m), 1,21-1,41 (14H, m), 1,56-1,71 (1H, m), 1,92-2,06 (2H, m), 2,20 (7H, s), 2,69-2,78 (1H, m), 3,37-3,51 (1H, m), 3,67-4,21 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=441.

Пример 25: (2R, 4R)-2-(4-боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (0,26 мл, 3,4 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 70, 150 мг, 0,34 ммоль) в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et₂O (5 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (83 мг, 0,68 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 20cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (20 мл) с получением (2R,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 25, 73 мг, выход 83%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,62-0,73 (2H, m), 1,14-1,36 (4H, m), 1,79-1,90 (1H, m), 1,99-2,10 (1H, m), 2,57-2,73 (2H, m), 2,82-2,90 (6H, m), 3,48-3,56 (1H, m), 3,89-3,98 (1H, m), 4,12-4,20 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=259.

Пример 26: (2S,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 71: (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 148 мг, 0,139 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 69, 490 мг, 0,93 ммоль) в EtOAc (6,7 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 71, 405 мг, выход 99%) в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,52-0,71 (2H, m), 0,83-1,06 (1H, m), 1,16 (12H, s), 1,32 (12H, s), 1,53-1,67 (1H, m), 1,75-1,88 (1H, m), 2,01-2,13 (7H, m), 2,54-2,69 (1H, m), 2,79-2,95 (1H, m), 3,66-3,83 (1H, m), 7,24-7,46 (1H, m), 11,86-12,88 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=441.

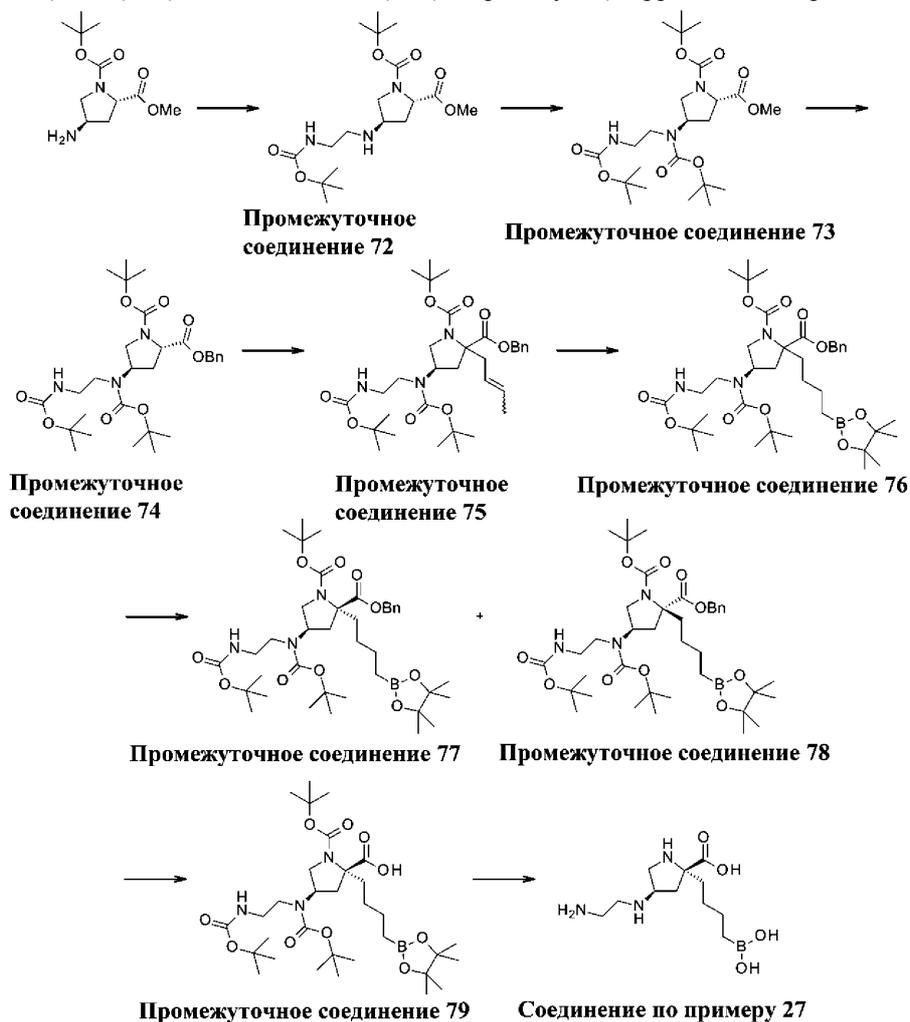
Пример 26: (2S,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (1,0 мл, 13 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-(диметиламино)-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 71, 405 мг, 0,919 ммоль) в DCM (5,1 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et₂O (5 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (224 мг, 1,84 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% ам-

миака в MeOH (60 мл) с получением (2S,4R)-2-(4-боронобутил)-4-(диметиламино)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 26, 206 мг, выход 87%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,71-0,89 (2H, m), 1,12-1,44 (4H, m), 1,70-1,82 (2H, m), 1,97-2,11 (1H, m), 2,29 (6H, s), 2,62-2,71 (1H, m), 2,95-3,10 (2H, m), 3,61-3,68 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=259.

Пример 27: (2R,4R)-4-(2-аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 72: 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Уксусную кислоту (42 мкл, 0,73 ммоль) добавляли в раствор 1-(трет-бутил)-2-метил-(2S,4R)-аминопирролидин-1,2-дикарбоксилата (7,48 г, 30,6 ммоль) и трет-бутил-(2-оксоэтил)карбамата (4,64 г, 29,2 ммоль) в MeOH (194 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Раствор охлаждали до 0°C и добавляли частями триацетоксиборогидрид натрия (9,27 г, 43,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, при этом медленно нагревая до комнатной температуры.

Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок разбавляли с помощью DCM, последовательно промывали с помощью насыщенного раствора бикарбоната натрия, воды и насыщенного раствора хлорида натрия. Органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (DCM/EtOAc/MeOH) с получением 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 72, 4,77 г, выход 42%) в виде бесцветного масла.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,25-1,48 (20H, m), 1,84-2,07 (3H, m), 2,88-2,98 (2H, m), 3,02-3,17 (1H, m), 3,17-3,27 (1H, m), 3,40-3,51 (1H, m), 3,64 (3H, s), 4,14-4,24 (1H, m), 6,63-6,74 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=388.

Промежуточное соединение 73: 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Ди-трет-бутилдикарбонат (4,29 мл, 18,5 ммоль) добавляли в раствор 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 72, 4,77 г, 12,3 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (4,30 мл, 24,6 ммоль) в DCM (53 мл) при ком-

натной температуре и реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и последовательно промывали водой и насыщенным водным хлоридом натрия. Органический слой высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/ EtOAc) с получением 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 73, 4,25 мг, выход 71%).

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,21-1,27 (1H, m), 1,27-1,42 (27H, m), 1,99-2,07 (1H, m), 2,33-2,46 (1H, m), 2,93-3,14 (3H, m), 3,17-3,24 (1H, m), 3,48-3,61 (1H, m), 3,61-3,69 (3H, m), 4,20-4,44 (2H, m), 6,79-6,94 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=488$.

Промежуточное соединение 74: 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Раствор гидроксида натрия (2,09 г, 52,3 ммоль) в воде (11 мл) добавляли в раствор 1-трет-бутил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 73, 4,25 г, 8,72 ммоль) в THF (22 мл) и MeOH (11 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и водный слой подкисляли до pH~3 с помощью 5 M HCl (водн.) и экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением неочищенной карбоновой кислоты в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

Добавляли бензилбромид (1,24 мл, 10,5 ммоль) в раствор неочищенной карбоновой кислоты, йодида натрия (1,96 г, 13,1 ммоль) и K_2CO_3 (3,62 г, 26,2 ммоль) в DMF (28 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь фильтровали и твердые вещества промывали с помощью EtOAc . Фильтрат концентрировали и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/ EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 74, 3,91 г, выход 80%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,20-1,47 (27H, m), 2,00-2,13 (1H, m), 2,36-2,45 (1H, m), 2,93-3,01 (2H, m), 3,02-3,26 (3H, m), 3,48-3,64 (1H, m), 4,26-4,43 (2H, m), 5,05-5,22 (2H, m), 6,78-6,93 (1H, m), 7,25-7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=564$.

Промежуточное соединение 75: 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

2-Бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 74, 3,91 г, 6,94 ммоль) и кротилбромид (0,93 мл, 9,0 ммоль) растворяли в THF (10,6 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N_2 . Раствор KHMDS (0,5 M в толуоле, 34,7 мл, 17,3 ммоль) добавляли по каплям в реакционную смесь и реакционную смесь перемешивали в течение 17ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью очистки с использованием силикагеля (гексаны/ EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 75, 1,34 г, выход 31%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров, E/Z изомеров олефина и ротамеров.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 1,21-1,45 (27H, m), 1,53-1,71 (3H, m), 1,91-2,32 (2H, m), 2,37-2,47 (1H, m), 2,69-2,86 (1H, m), 2,86-3,11 (4H, m), 3,46-3,58 (1H, m), 3,58-3,77 (1H, m), 4,29-4,57 (1H, m), 5,00-5,20 (2H, m), 5,28-5,46 (1H, m), 5,46-5,71 (1H, m), 6,83-7,00 (1H, m), 7,19-7,43 (5H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=618$.

Промежуточное соединение 76: 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (222 мг, 0,331 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан (254 мг, 0,661 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N_2 . Твердые вещества растворяли в DCM (9 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (1,05 мл, 7,26 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. 2-Бензил-1-трет-бутил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил-[2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 75, 2,04 г, 3,30 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DCM (6,1 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH и воды. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали

и концентрировали досуха. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 76, 1,14 г, выход 46%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров и ротамеров. Очищенный материал подвергали хиральной SFC [(S,S)Whelk-O1 колонка, 30×250 мм, 5 мкм, температура = 20°C, подвижная фаза = 0-20% IPA с 0,2% NH₄OH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 18 мг/ввод., конц. = 46 мг/мл в MeOH, скорость потока = 120 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия каждого диастереомера была присвоена ретроспективно на основе активности фермента по примеру 27 и примеру 28 для соответствия другим соединениям, приведенным в качестве примера.

Промежуточное соединение 77 (изомер 2, 347 мг): 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,60-0,76 (2H, m), 1,15 (12H, s), 1,21-1,52 (31H, m), 1,66-1,82 (1H, m), 1,96-2,19 (2H, m), 2,19-2,33 (1H, m), 2,83-3,10 (4H, m), 3,48-3,66 (1H, m), 4,34-4,53 (1H, m), 5,00-5,23 (2H, m), 6,83-6,93 (1H, m), 7,25-7,43 (5H, m).

Промежуточное соединение 78 (изомер 1, 540 мг): 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,61-0,76 (2H, m), 1,15 (12H, s), 1,21-1,47 (31H, m), 1,61-1,80 (1H, m), 1,93-2,24 (2H, m), 2,26-2,43 (1H, m), 2,89-3,13 (5H, m), 3,60-3,81 (1H, m), 4,33-4,49 (1H, m), 5,00-5,20 (2H, m), 6,86-6,94 (1H, m), 7,27-7,39 (5H, m).

Промежуточное соединение 79: (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 99 мг, 0,093 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 77, 347 мг, 0,465 ммоль) в EtOAc (2,3 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 79, 287 мг, выход 94%) в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

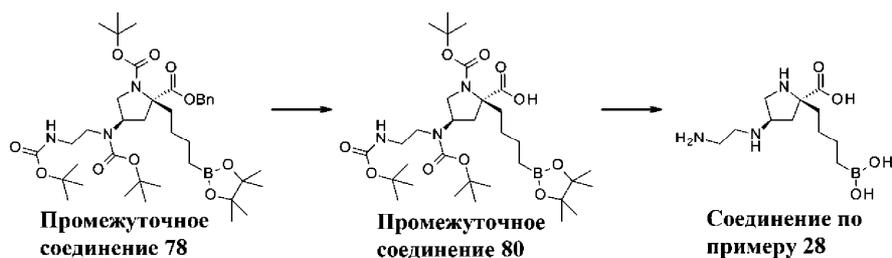
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,65-0,74 (2H, m), 1,14-1,21 (12H, m), 1,31-1,43 (31H, m), 1,66-1,76 (1H, m), 2,00-2,27 (3H, m), 2,96-3,12 (5H, m), 3,37-3,42 (1H, m), 3,49-3,61 (1H, m), 4,34-4,49 (1H, m), 6,84-6,93 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=656.

Пример 2 7: (2R,4R)-4-(2-аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (0,67 мл, 8,8 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил] пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 79, 287 мг, 0,438 ммоль) в DCM (3,7 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1M водн. HCl (5 мл) и Et₂O (5 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (107 мг, 0,878 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка PoraPak Rxp CX 20cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (20 мл) с получением (2R,4R)-4-(2-аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 27, 106 мг, выход 89%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,63-0,77 (2H, m), 1,13-1,23 (1H, m), 1,37 (3H, br d), 1,63-1,76 (1H, m), 1,92-2,02 (1H, m), 2,06-2,14 (1H, m), 2,24-2,33 (1H, m), 2,78 (2H, s), 2,96 (2H, s), 3,08-3,19 (1H, m), 3,28-3,43 (1H, m), 3,43-3,51 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=274.

Пример 28: (2S,4R)-4-(2-аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 80: (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 137 мг, 0,129 ммоль) добавляли в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 78, 480 мг, 0,64 ммоль) в EtOAc (7,2 мл). Колба была оснащена баллоном с H₂ и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 80, 170 мг, выход 40%) в виде белого твердого вещества.

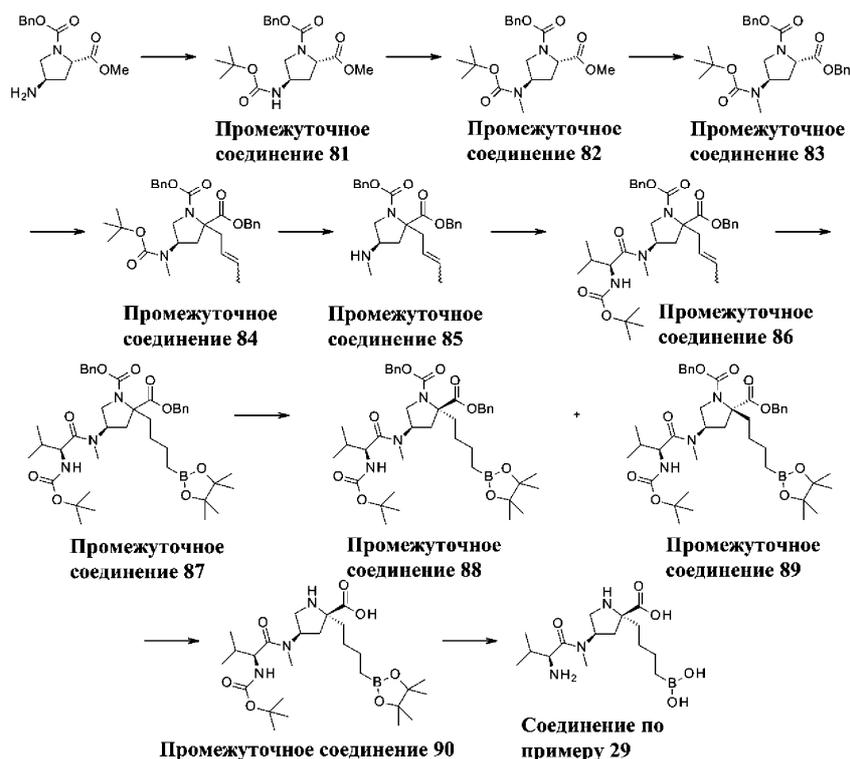
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,58-0,73 (2H, m), 1,15 (12H, s), 1,37 (31H, br d), 1,58-1,74 (2H, m), 2,18-2,33 (2H, m), 2,92-3,16 (6H, m), 3,59-3,73 (1H, m), 4,31-4,50 (1H, m), 6,84-6,95 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=656.

Пример 28: (2S,4R)-4-(2-аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (1,00 мл, 13,0 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (2S,4R)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[трет-бутоксикарбонил-2-(трет-бутоксикарбониламино)этил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 80, 170 мг, 0,26 ммоль) в DCM (5 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et₂O (5 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (63 мг, 0,52 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 20cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (20 мл) с получением (2S,4R)-4-(2-аминоэтиламино)-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 28, 67 мг, выход 95%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,65-0,77 (2H, m), 1,11-1,24 (1H, m), 1,25-1,34 (1H, m), 1,34-1,42 (2H, m), 1,62-1,79 (2H, m), 1,97-2,06 (1H, m), 2,61-2,70 (1H, m), 2,72-2,84 (2H, m), 2,93 (3H, s), 3,30-3,41 (1H, m), 3,47-3,55 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=274.

Пример 29: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-метилбутаноил]метиламино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 81: 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Ди-трет-бутилдикарбонат (6,27 г, 28,8 ммоль) добавляли в раствор 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-аминопирролидин-1,2-дикарбоксилата (5,00 г, 18,0 ммоль) и триэтиламина (5,00 мл, 35,9 ммоль) в DCM (78 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью DCM и последовательно промывали с помощью 0,5 М (водн.) HCl, насыщенного раствора бикарбоната натрия и насыщенного раствора хлорида натрия. Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью хроматографии на силикагеле (DCM/MeOH) с получением 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 81, 5,4 г, выход 79%) в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,31-1,42 (9H, m), 1,99-2,23 (2H, m), 3,22-3,28 (1H, m), 3,52-3,65 (4H, m), 3,96-4,10 (1H, m), 4,30-4,48 (1H, m), 4,92-5,13 (2H, m), 7,18-7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=379.

Промежуточное соединение 82: 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле) (0,423 г, 12,3 ммоль) добавляли частями в раствор 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-(трет-бутоксикарбониламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 81, 3,20 г, 8,46 ммоль) в DMF (33 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч перед нагреванием до комнатной температуры, при этом перемешивая в течение дополнительного 1 ч. Метилйодид (0,63 мл, 10,2 ммоль) добавляли и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили водой. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и суспензию разбавляли с помощью DCM (200 мл). Слои разделяли и органический слой последовательно промывали водой (4×50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (2×50 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 82, 2,33 г, выход 70%) в виде бесцветного масла, которое применяли без дополнительной очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,25-1,47 (9H, m), 1,89-2,08 (1H, m), 2,31-2,46 (1H, m), 2,69 (3H, d), 3,22-3,39 (2H, m), 3,65 (4H, s), 4,22-4,49 (1H, m), 4,87-5,17 (2H, m), 7,18-7,46 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=393.

Промежуточное соединение 83: дибензил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Раствор гидроксида натрия (1,425 г, 35,62 ммоль) в воде (7,5 мл) добавляли в раствор 1-бензил-2-метил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное

соединение 82, 2,33 г, 5,94 ммоль) в THF (15 мл) и MeOH (7,5 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и водный слой подкисляли до pH~3 с помощью 5 М HCl (водн.) и экстрагировали с помощью DCM (4×50 мл). Объединенные органические вещества высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением неочищенной карбоновой кислоты в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

Добавляли бензилбромид (0,66 мл, 5,6 ммоль) в раствор неочищенной карбоновой кислоты, йодида натрия (1,11 г, 7,38 ммоль) и K₂CO₃ (1,92 г, 13,9 ммоль) в DMF (28 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь фильтровали и твердые вещества промывали с помощью EtOAc. Фильтрат концентрировали и очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением дибензил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 83, 2,45 г, выход 94%) в виде бледно-желтого масла.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,28-1,45 (9H, m), 1,98 (1H, s), 2,30-2,46 (1H, m), 2,64-2,71 (3H, m), 3,30 (1H, s), 3,51-3,76 (1H, m), 4,48 (1H, d), 4,53-4,75 (1H, m), 4,88-5,21 (4H, m), 7,18-7,42 (10H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=469.

Промежуточное соединение 84: дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Дибензил-(2S,4R)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 83, 2,45 г, 5,23 ммоль) и кротилбромид (0,81 мл, 7,8 ммоль) растворяли в THF (18 мл) и раствор охлаждали до -78°C в атмосфере N₂. Раствор KHMDS (0,5 М в толуоле, 15,7 мл, 7,85 ммоль) добавляли по каплям в реакционную смесь и реакционную смесь перемешивали в течение 17ч, при этом медленно нагревая до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь гасили водой и летучие вещества удаляли при пониженном давлении. Неочищенную смесь разбавляли в DCM и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Неочищенный материал очищали с помощью очистки с использованием силикагеля (гексаны/EtOAc) с получением дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 84, 2,10 г, выход 86%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров, E/Z изомеров олефина и ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,31-1,40 (9H, m), 1,46-1,68 (3H, m), 1,99-2,31 (2H, m), 2,40-2,47 (1H, m), 2,55-2,68 (3H, m), 2,69-3,00 (1H, m), 3,30 (1H, s), 3,51-3,77 (1H, m), 4,55-4,74 (1H, m), 4,79-5,21 (4H, m), 5,26-5,41 (1H, m), 5,42-5,71 (1H, m), 7,16-7,42 (10H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=523.

Промежуточное соединение 85: дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-(метиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Трифторуксусную кислоту (3,84 мл, 50,2 ммоль) добавляли по каплям в раствор дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 84, 2,10 г, 4,02 ммоль) в DCM (32 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха с получением соли TFA дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-(метиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 85, 2,55 г, выход 100%) в виде бесцветного масла, которое применяли без очистки.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 1,45-1,74 (3H, m), 2,14-2,33 (1H, m), 2,34-2,46 (1H, m), 2,57-2,65 (3H, m), 2,66-3,07 (1H, m), 3,15-3,56 (1H, m), 3,66-3,77 (1H, m), 3,81-4,13 (1H, m), 4,79-5,22 (4H, m), 5,26-5,73 (2H, m), 7,20-7,41 (10H, m), 8,62-8,87 (2H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=423.

Промежуточное соединение 86: дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[[2S]-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

N,N-Диизопропилэтиламин (0,70 мл, 4,0 ммоль) добавляли в раствор HATU (1,52, 4,02 ммоль) и Вос-Val-OH (873 мг, 4,02 ммоль) в DMF (15 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Добавляли раствор соли TFA дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-(метиламино)пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 85, 2,16 г, 4,02 ммоль) в DMF (15 мл) и N,N-диизопропилэтиламина (0,70 мл, 4,0 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительных 17 ч. Реакционную смесь концентрировали и непосредственно очищали с помощью хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[[2S]-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 86, 1,97 г, выход 79%) в виде смеси ротамеров.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) 0,61-0,92 (6H, m), 1,35 (9H, br s), 1,62 (3H, br d), 1,79-1,92 (1H, m), 2,03-2,33 (2H, m), 2,57-2,76 (2H, m), 2,76-3,00 (3H, m), 3,30 (1H, s), 3,49-3,77 (1H, m), 4,04-4,16 (1H, m), 4,78-5,20 (5H, m), 5,26-5,72 (2H, m), 6,72-7,03 (1H, m), 7,17-7,38 (10H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=622.

Промежуточное соединение 87: дибензил-(4R)-4-[[2S]-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

Дихлорид бис(1,5-циклооктадиен)диридия(I) (213 мг, 0,317 ммоль) и бис(дифенилфосфино)метан

(244 мг, 0,635 ммоль) добавляли в круглодонную колбу, высушенную в печи. Колбу закупоривали и продували с помощью N_2 . Твердые вещества растворяли в DCM (8,9 мл) и медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (1,01 мл, 6,97 ммоль) в раствор. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Дибензил-(4R)-2-(бут-2-енил)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]пирролидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 86, 1,97 г, 3,17 ммоль) добавляли в реакционную смесь в виде раствора в DCM (5,9 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH и воды. Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM. Объединенные органические вещества высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (гексаны/EtOAc) с получением дибензил-(4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 87, 1,5 г, выход 63%) в виде желтого масла и в виде смеси диастереомеров и ротамеров. Очищенный материал подвергали хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 30×250 мм, 5 мкм, температура = 20°C, подвижная фаза = 0-30% MeOH:CO₂, УФ-обнаружение при 220 нм, нагрузка = 31 мг/ввод., конц. = 125 мг/мл в MeOH, скорость потока = 75 мл/мин, давление на выходе = 100 бар] с получением двух диастереомеров. Стереохимия каждого диастереомера была присвоена ретроспективно на основе активности фермента по примеру 29 и примеру 30 для соответствия другим соединениям, приведенным в качестве примера.

Промежуточное соединение 88 (изомер 2, 280 мг): дибензил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,51-0,70 (2H, m), 0,72-0,93 (6H, m), 1,14 (12H, s), 1,20-1,52 (13H, m), 1,67-2,31 (5H, m), 2,54-2,90 (3H, m), 3,33-3,48 (1H, m), 3,49-3,85 (1H, m), 4,01-4,18 (1H, m), 4,71-5,23 (5H, m), 6,71-7,07 (1H, m), 7,19-7,33 (10H, m).

Промежуточное соединение 89 (изомер 1, 590 мг): дибензил-(2S,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилат.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,49-0,72 (2H, m), 0,73-0,90 (6H, m), 1,15 (12H, s), 1,34 (13H, br s), 1,59-2,34 (5H, m), 2,94 (3H, br s), 3,30 (1H, s), 3,63-3,76 (1H, m), 3,96-4,17 (1H, m), 4,75-5,18 (5H, m), 6,71-7,05 (1H, m), 7,17-7,41 (10H, m).

Промежуточное соединение 90: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 99 мг, 0,093 ммоль) добавляли в раствор дибензил-(2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 88, 280 мг, 0,37 ммоль) в EtOAc (1,8 мл). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 90, 180 мг, выход 92%) в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

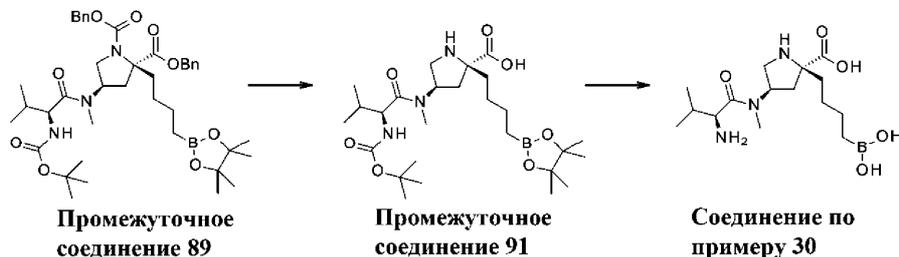
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 0,59-0,69 (2H, m), 0,74-0,87 (6H, m), 1,16 (12H, s), 1,22-1,30 (3H, m), 1,35 (9H, s), 1,49-1,65 (1H, m), 1,65-1,82 (1H, m), 1,82-1,95 (2H, m), 2,15-2,26 (1H, m), 2,63-2,91 (3H, m), 2,92-3,21 (3H, m), 4,05-4,22 (1H, m), 4,80-5,16 (1H, m), 6,76 (1H, s), 7,56-8,05 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=526.

Пример 29: (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-метилбутаноил]метиламино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (0,53 мл, 6,9 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 90, 180 мг, 0,34 ммоль) в DCM (10 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et₂O (5 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (84 мг, 0,69 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et₂O. Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка Porapak Rxn CX 60cc). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (60 мл) с получением (2R,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 29, 98 мг, выход 86%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,72-0,83 (2H, m), 0,85-1,01 (6H, m), 1,10-1,45 (4H, m), 1,61-1,84 (1H, m), 1,85-2,03 (2H, m), 2,19-2,34 (1H, m), 2,34-2,49 (1H, m), 3,00 (3H, s), 3,16-3,51 (2H, m), 3,76-3,96 (1H, m), 4,95-5,10 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=344$.

Пример 30: (2S,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-метилбутаноил]метиламино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 91: (2S,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновая кислота.

Pd/C (10% вес./вес., 209 мг, 0,196 ммоль) добавляли в раствор дибензил-(2S,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 89, 590 мг, 0,79 ммоль) в EtOAc (4 мл). Колба была оснащена баллоном с H_2 и суспензию перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через диатомовую землю. Фильтрат концентрировали досуха с получением (2S,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 91, 397 мг, выход 96%) в виде белого твердого вещества, которое применяли без дополнительной очистки.

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,58-0,67 (2H, m), 0,73-0,87 (6H, m), 1,16 (12H, s), 1,22-1,31 (3H, m), 1,35 (9H, s), 1,51-1,67 (1H, m), 1,68-1,95 (3H, m), 2,28-2,37 (2H, m), 2,95 (4H, s), 4,05-4,20 (1H, m), 4,66-4,79 (1H, m), 6,65-6,90 (1H, m), 7,85-8,15 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=526$.

Пример 30: (2S,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-метилбутаноил]метиламино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновая кислота.

Трифторуксусную кислоту (1,17 мл, 15,2 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору (2S,4R)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пирролидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 91, 397 мг, 0,755 ммоль) в DCM (10 мл) при комнатной температуре. После 1 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М водн. HCl (5 мл) и Et_2O (5 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (186 мг, 1,52 ммоль) и прозрачный двухфазный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли с помощью Et_2O и воды и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et_2O . Водный слой лиофилизировали и очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка $\text{RogaPak Rxx CX 60cc}$). Необходимый продукт элюировали из колонки с применением 5% аммиака в MeOH (60 мл) с получением (2S,4R)-4-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]метил-амино]-2-(4-боронобутил)пирролидин-2-карбоновой кислоты (пример 30, 163 мг, выход 92%) в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,68-0,78 (2H, m), 0,83-0,94 (6H, m), 1,10-1,41 (4H, m), 1,66-2,13 (4H, m), 2,49-2,68 (1H, m), 3,02 (3H, s), 3,22-3,30 (1H, m), 3,43-3,60 (1H, m), 3,70-3,88 (1H, m), 4,53-4,66 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=344$.

Пример 31: биологическая активность соединений примеров 1-30.

Ингибирующие эффекты соединений примеров 1-30 в отношении активности аргиназы 1 и аргиназы 2 человека определяли количественно посредством измерения образования тиольной группы из тио-аргинина с применением рекомбинантной аргиназы 1 или аргиназы 2, полученной из *E. coli*. Тиольную группу определяли с помощью реактива Элмана, 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной кислоты) (DTNB). DTNB реагирует с тиолом с получением смешанного дисульфида и 2-нитро-5-тиобензойной кислоты (TNB), которые определяют количественно с помощью оптической плотности анионов (TNB^{2-}) при 412 нм.

Анализ проводили в чистых 384-луночных планшетах (Greiner, № по кат. 781101). Различные концентрации соединений по примерам 1-30 в 300 нл DMSO распределяли в планшеты для анализа с применением акустического дозатора Echo с последующим незамедлительным закупориванием планшета и центрифугированием.

Две предварительные смеси получали из реагентов, размороженных непосредственно перед добавлением в планшеты для анализа. Первая предварительная смесь содержит аргиназу 1 человека или аргиназу 2 человека при конечной концентрации 5 нМ и 0,5 мМ DTNB в буфере для анализа, 45 мМ HEPES

pH 7,5, brij 35, 0,045% (вес/об.) и 100 мкМ MnCl₂. Вторая предварительная смесь содержит недавно размороженный 0,5 мМ тиоаргинин в буфере для анализа. Пятнадцать микролитров первой предварительной смеси распределяли в планшеты для анализа, содержащие соединения по примерам 1-30, центрифугировали и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре перед добавлением пятнадцати микролитров второй предварительной смеси.

Планшеты для анализа центрифугировали перед считыванием оптической плотности при 412 нм в многорежимном планшете-ридере Pherastar для сбора данных в момент времени 0 (T₀). Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 60 мин до повторного считывания для сбора данных в момент времени 1 (T₁). Данные получены вычитанием сигнала A412, измеренного при T₀ (момент времени 0), из того, который измерен в T₁ (момент времени 1). Данные преобразовывали в значения % эффекта с применением уравнения:

% эффект соединения = $100 * [(X - \min) / (\max - \min)]$, где X представляет собой нормализованное значение для соединения на основе минимального (среда-носитель) и максимального (эталонное соединение) контролей ингибирования.

Концентрацию соединений по примерам 1-30, которая ингибировала активность на 50% (т.е. IC₅₀), рассчитывали путем построения графика зависимости % эффекта от концентрации тестируемого соединения и аппроксимации данных с применением алгоритма Smart fit в Genedata Screener. Результаты таких анализов находятся в табл. 2.

Таблица 2

Пример	Фермент аргиназа 1 человека IC ₅₀ (мкМ)	Фермент аргиназа 2 человека IC ₅₀ (мкМ)
1	14,69	22,98
2	26,57	21,44
3	4,55	10,40
4	41,92	74,07
5	6,41	16,63
6	3,96	10,41
7	0,01	0,02
8	0,61	0,56
9	0,32	0,33
10	3,77	4,77
11	0,21	0,20
12	0,70	0,85
13	0,43	0,63
14	0,26	0,31
15	0,31	0,26
16	0,31	0,31
17	0,20	0,23
18	0,32	0,38
19	0,22	0,28
20	0,34	0,52
21	0,48	0,68
22	0,93	1,32
23	1,14	2,12
24	<0,003	0,01
25	10,80	24,55
26	0,06	0,15
27	1,43	3,32
28	0,09	0,19
29	5,27	9,28
30	1,35	2,42

Пример 32: исследования биологической доступности.

Примеры 8, 9 и 13-20 являются пролекарственными формами соединений по примеру 7. Следующее фармакокинетическое исследование проводили для демонстрации биологической доступности соединений по примеру 7 и по примеру 8. Соединение по примеру 8 было составлено в 0,9% вес./об. солевом растворе pH 4 (регулируют с помощью 1 М HCl) для IV дозирования. Состав вводили в дозе 2 мг/кг с помощью бедренного катетера каждому из двух самцов крыс (170-250 г). Образцы серийных проб крови из катетера яремной вены были отобраны через 0,033, 0,083, 0,167, 0,5, 1, 2, 4, 8 и 24 ч после введения

дозы. В ходе PO дозирования соединения по примеру 8 составлено в деионизированной воде с рН 4 (регулируют с помощью 1 М HCl) и производили дозирование при 5 мг/кг с помощью желудочного зонда каждому из двух самцов крыс (170-250 г). Образцы серийных проб крови отбирали с помощью катетера яремной вены через 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 8 и 24 ч после введения дозы. Образцы плазмы получали из крови с применением низкоскоростного центрифугирования. Отдельный набор калибровочных стандартов, содержащий соединения по примеру 7 и по примеру 8, получали с помощью внесения контрольной плазмы крови. Образцы и калибровочные вещества-стандарты экстрагировали посредством осаждения двумя объемами ацетонитрила с последующим центрифугированием. Полученные результаты применяли для определения Cl (мл/мин./кг), Vdss (л/кг), Cmax (мкМ), AUC (мкМ/ч), Tmax (ч) и %F как для соединения по примеру 7, так и соединения по примеру 8. Абсолютную биологическую доступность определяли сравнением AUC, нормализованной по PO дозе соединения по примеру 7, если дозирование производится по примеру 8, относительно AUC, нормализованной по IV дозе соединения по примеру 7, если производится дозирование по примеру 7. При необходимости измеренные и ненормализованные дозы использовали для расчета биодоступности. Аналогичным образом такую же процедуру повторяли для соединений по примерам 9 и 13-20. Результаты показаны в табл.3-12. Эти результаты указывают на то, что биологическая доступность может быть повышена с помощью включения некоторых фрагментов аминокислот в виде пролекарств.

Таблица 3

	Пример 8	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	NV #	8,90 *
Vdss (л/кг)	NV #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	NV #	3,60 #
AUC PO (мкМ.ч.)	NV #	10,40 #
Tmax (ч.)	NV #	1,00 #
%F	NV #	33,00 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 4

	Пример 9	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	33,30 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,20 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	0,60 #	5,70 #
AUC PO (мкМ.ч.)	0,24 #	16,80 #
Tmax (ч.)	0,25 #	1,00 #
%F	3,20 #	59,00 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 5

	Пример 13	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	17,90 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,20 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	0,46 #	3,30 #
AUC PO (мкМ.ч.)	0,62 #	13,30 #
Tmax (ч.)	0,50 #	1,25 #
%F	3,80 #	40,70 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 6

	Пример 14	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	NV #	8,90 *
Vdss (л/кг)	NV #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	NV #	3,80 #
AUC PO (мкМ.ч.)	NV #	8,90 #
Tmax (ч.)	NV #	1,00 #
%F	NV #	29,90 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 7

	Пример 15	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	104,00 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,46 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	NV #	5,70 #
AUC PO (мкМ.ч.)	NV #	15,60 #
Tmax (ч.)	NV #	1,00 #
%F	NV #	57,10 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 8

	Пример 16	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	585,00 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	7,41 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	NV #	1,60 #
AUC PO (мкМ.ч.)	NV #	5,80 #
Tmax (ч.)	NV #	1,00 #
%F	NV #	17,00 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 9

	Пример 17	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	40,50 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,36 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	0,43 #	4,90 #
AUC PO (мкМ.ч.)	0,38 #	18,30 #
Tmax (ч.)	0,38 #	1,50 #
%F	5,80 #	61,90 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 10

	Пример 18	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	317,00 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,64 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	NV #	4,10 #
AUC PO (мкМ.ч.)	NV #	13,10 #
Tmax (ч.)	NV #	1,50 #
%F	NV #	45,70 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 11

	Пример 19	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	36,80 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,20 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	0,33 #	5,70 #
AUC PO (мкМ.ч.)	0,21 #	16,80 #
Tmax (ч.)	0,25 #	1,00 #
%F	2,50 #	59,00 #

наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

Таблица 12

	Пример 20	Пример 7
Cl (мл/мин./кг)	8,90 #	8,90 *
Vdss (л/кг)	0,29 #	0,26 *
Cmax PO (мкМ)	1,80 #	2,20 #
AUC PO (мкМ.ч.)	6,90 #	12,20 #
Tmax (ч.)	1,00 #	3,50 #
%F	25,50 #	59,00 #

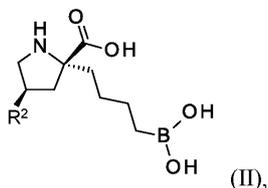
наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

* наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде полезной нагрузки.

NV - нет окончательного значения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемая соль:

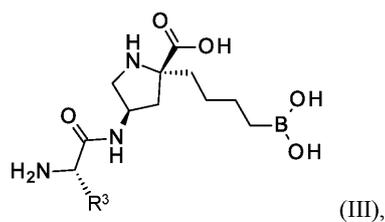


где R² представляет собой -OH или -NHR^{2a},

R^{2a} представляет собой -H или -C(O)CH(R^{2b})NH₂;

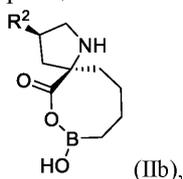
R^{2b} представляет собой -CH₃ или -CH(CH₃)₂.

2. Соединение формулы (III) или его фармацевтически приемлемая соль:



где R^3 представляет собой $-CH_3$ или $-CH(CH_3)_2$.

3. Соединение формулы (IIIb) или его фармацевтически приемлемая соль:

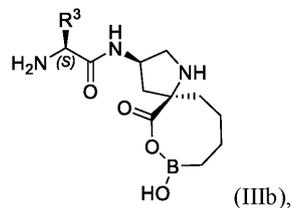


где R^2 представляет собой $-OH$ или $-NHR^{2a}$;

R^{2a} представляет собой $-H$ или $-C(O)CH(R^{2b})NH_2$;

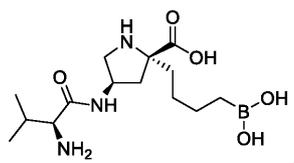
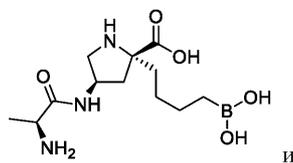
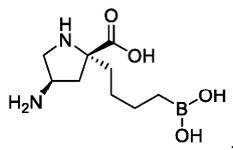
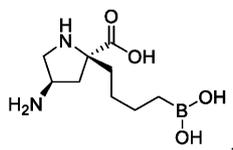
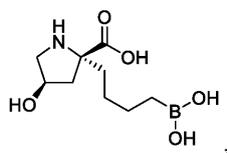
R^{2b} представляет собой $-CH_3$ или $-CH(CH_3)_2$.

4. Соединение формулы (IIIb) или его фармацевтически приемлемая соль:



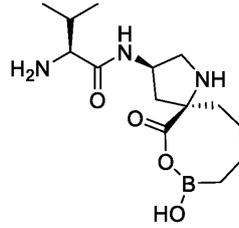
где R^3 представляет собой $-CH_3$ или $-CH(CH_3)_2$.

5. Соединение, выбранное из:



или его фармацевтически приемлемая соль.

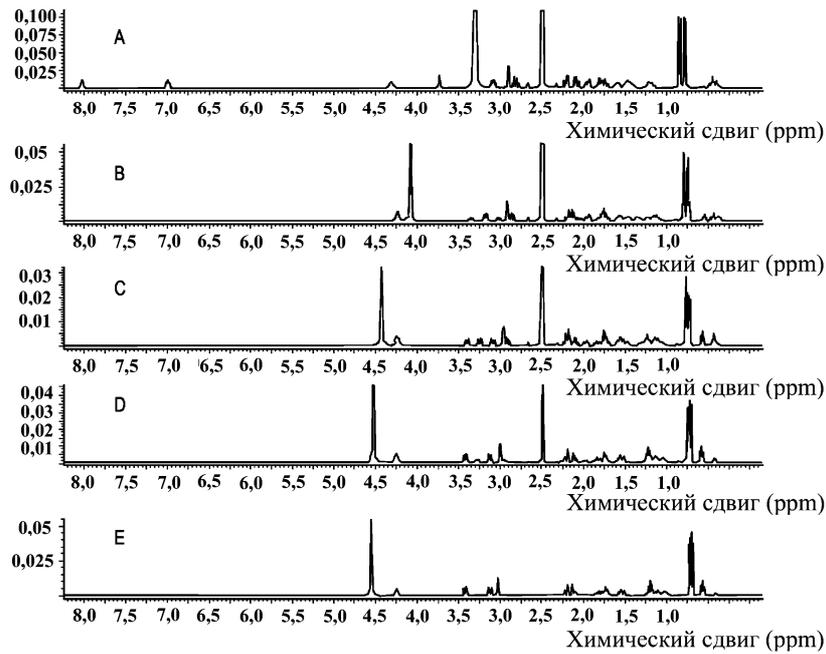
6. Соединение, имеющее следующую структуру:



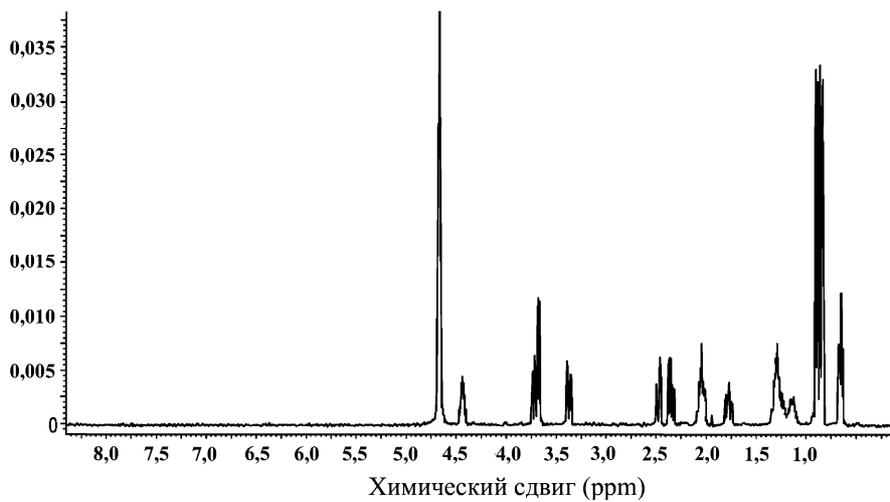
или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

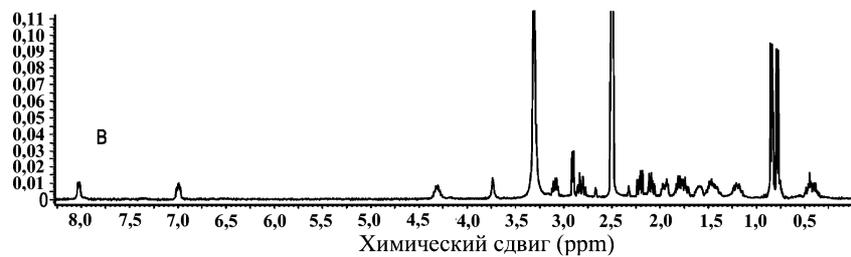
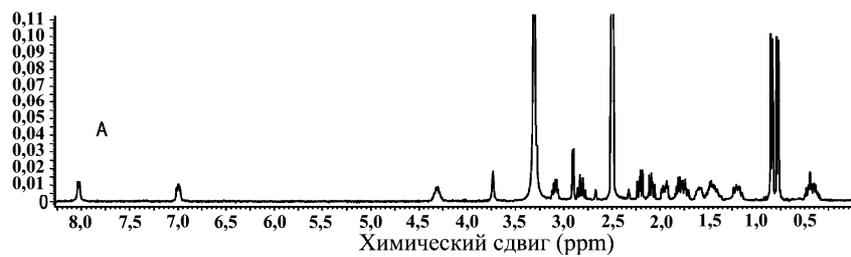
8. Применение соединения по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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