

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 044999

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.24

(21) Номер заявки
202192114

(22) Дата подачи заявки
2020.02.07

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

(54) ИНГИБИТОРЫ АРГИНАЗЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/802,765

(32) 2019.02.08

(33) US

(43) 2021.12.01

(86) PCT/IB2020/050982

(87) WO 2020/161675 2020.08.13

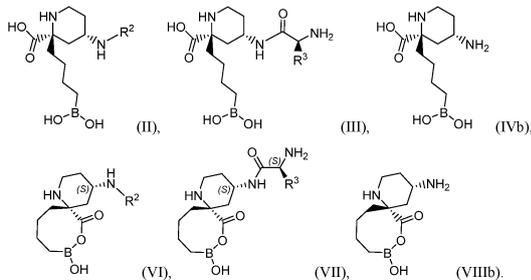
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АСТРАЗЕНЕКА АБ (SE)

(72) Изобретатель:
Млинэрски Скотт Нэйтан, Гриб
Тайлер, Каваткар Самир (US),
Финлей Морис Реймонд Верскойл,
Симпсон Иэн (GB)

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

(56) WO-A1-2011133653
WO-A1-2018119440
WO-A1-2019205979

(57) В изобретении раскрыты соединения формул (II), (III), (IVb), (VI), (VII) и (VIIIb) или их фармацевтически приемлемая соль, фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, и способы их применения для лечения рака или респираторного воспалительного заболевания.



B1

044999

044999

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.

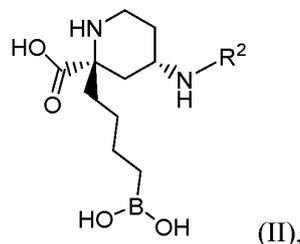
Хотя L-аргинин не является незаменимой аминокислотой, поскольку он может быть получен с помощью белкового обмена у здоровых взрослых, повышенная экспрессия и секреция аргиназ приводит к пониженным уровням L-аргинина при различных физиологических и патологических состояниях (например, беременности, аутоиммунных 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.

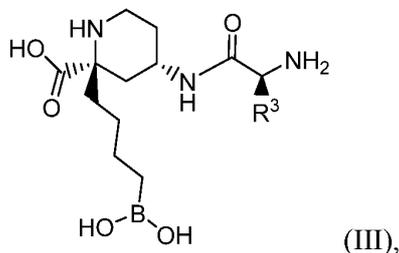
Краткое описание изобретения

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



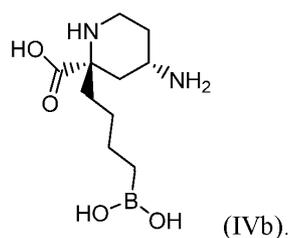
где R² представляет собой -H или -C(O)CH(R^{2a})NH₂ и R^{2a} выбран из -H или -(C₁-C₆)алкила.

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

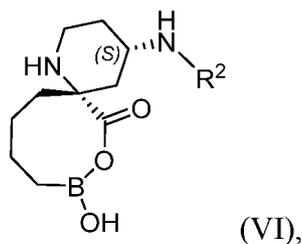


где R³ выбран из -H или -(C₁-C₄)алкила.

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

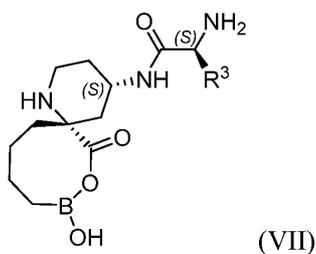


В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (VI) или его фармацевтически приемлемая соль:



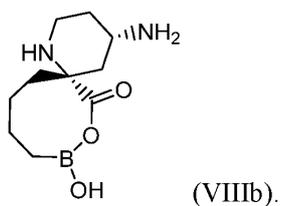
где R^2 представляет собой -H или $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$; и R^{2a} выбран из -H или $-(C_1-C_6)$ алкила.

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

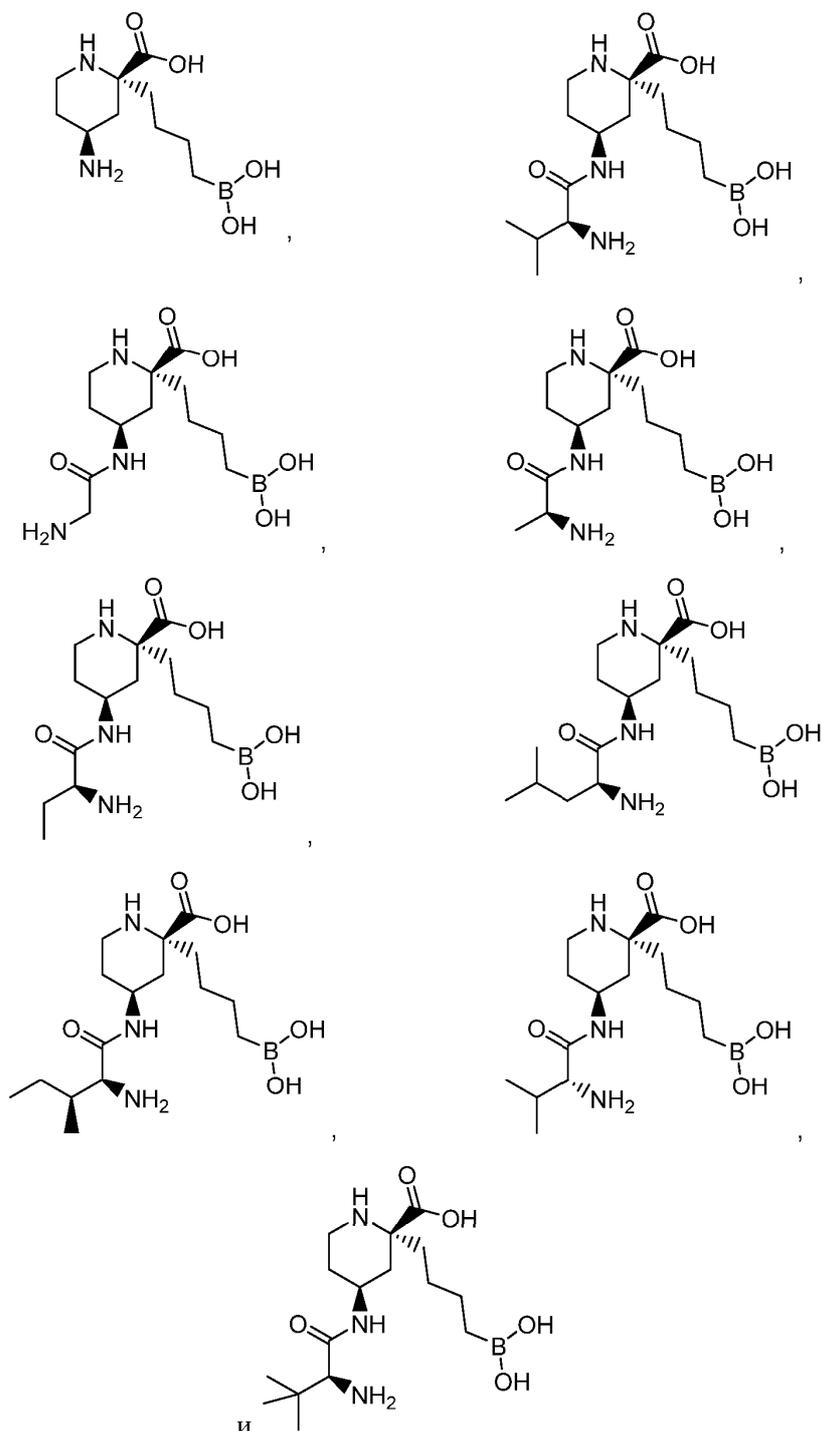


где R^3 выбран из -H или $-(C_1-C_4)$ алкила.

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



В одном варианте осуществления раскрыто соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из:



В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая вышеуказанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах осуществления раскрыт способ лечения рака у пациента, предусматривающий введение пациенту терапевтически эффективного количества вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления раскрыто применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления раскрыто применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая вышеуказанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака.

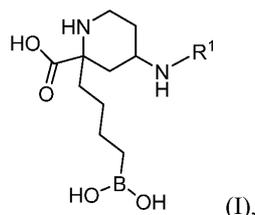
В некоторых вариантах осуществления раскрыт способ лечения респираторного воспалительного заболевания у пациента, предусматривающий введение пациенту вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления раскрыто применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли для лечения респираторного воспалительного заболевания.

В некоторых вариантах осуществления раскрыто применение вышеуказанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для лечения респираторного воспалительного заболевания.

В некоторых вариантах осуществления раскрыта фармацевтическая композиция, содержащая вышеуказанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения респираторного воспалительного заболевания. Подробное описание изобретения Соединения

В данном документе раскрыто соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль:



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

R^{1a} выбран из -H, $-(C_1-C_6)$ алкила и CH_2OR^{1c} ;

R^{1b} представляет собой -H; или в качестве альтернативы R^{1a} и R^{1b} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное гетероциклическое кольцо; и

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

В данном документе раскрыто соединение формулы (I) или фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (I).

R^1 может представлять собой -H.

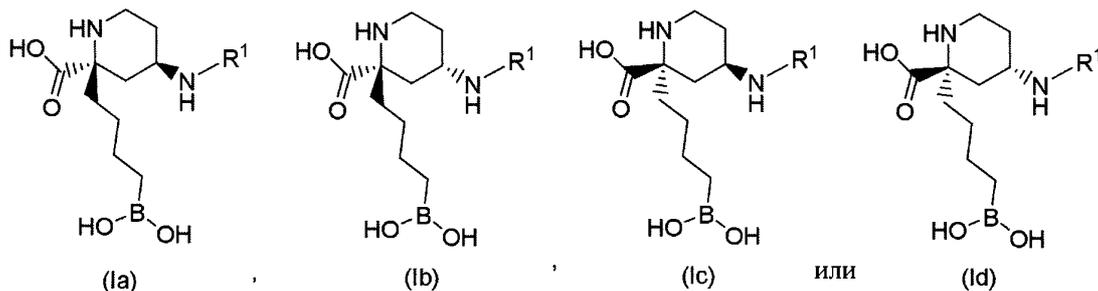
R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; R^{1a} может представлять собой -H; и R^{1b} может представлять собой -H.

R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; R^{1a} может представлять собой $-(C_1-C_6)$ алкил; и R^{1b} может представлять собой -H.

R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; R^{1a} может представлять собой CH_2OR^{1c} ; и R^{1b} может представлять собой -H.

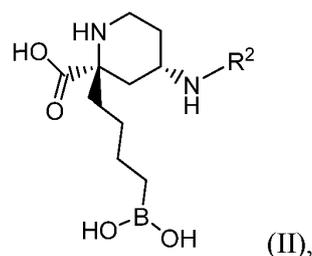
R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; и R^{1a} и R^{1b} , вместе с атомом, к которому они присоединены, могут образовывать 5-членное гетероциклическое кольцо.

В данном документе соединение формулы (I) может быть представлено любой из следующих структурных формул:



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

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



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

R^{2a} выбран из -H или $-(C_1-C_6)$ алкила.

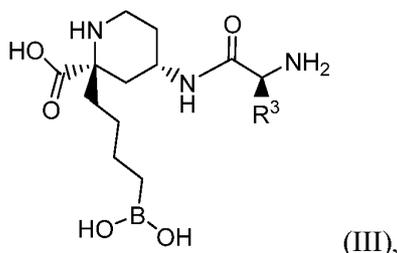
В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (II). В другом варианте осуществления раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (II).

В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R^2 представляет собой -H.

В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R^2 представляет собой $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$; и R^{2a} представляет собой -H.

В некоторых вариантах осуществления формулы (II) R^2 представляет собой $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$; и R^{2a} представляет собой $-(C_1-C_6)$ алкил.

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



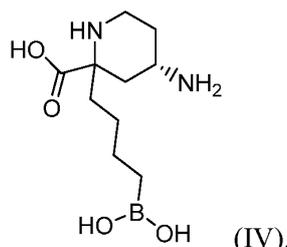
где R^3 выбран из -H или $-(C_1-C_4)$ алкил.

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 -H.

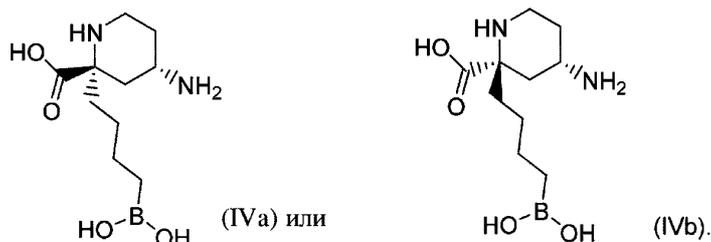
В некоторых вариантах осуществления формулы (III) R^3 представляет собой $-(C_1-C_4)$ алкил.

В данном документе раскрыто соединение формулы (IV) или его фармацевтически приемлемая соль:

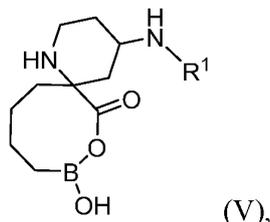


В данном документе раскрыто соединение формулы (IV) или фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (IV).

В данном документе соединение формулы (IV) может быть представлено одной из следующих структурных формул:



В данном документе раскрыто соединение формулы (V) или его фармацевтически приемлемая соль:



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

R^{1a} выбран из -H, $-(C_1-C_4)$ алкила и CH_2OR^{1c} ;

R^{1b} представляет собой -H; или в качестве альтернативы R^{1a} и R^{1b} вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют 5-членное гетероциклическое кольцо; и

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

В данном документе раскрыто соединение формулы (V) или фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (V).

В формуле (V) R^1 может представлять собой -H.

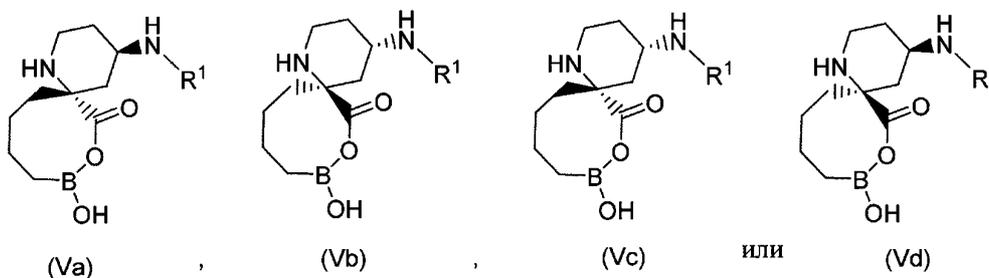
В формуле (V) R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; R^{1a} может представлять собой $-H$; и R^{1b} может представлять собой $-H$.

В формуле (V) R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; R^{1a} может представлять собой $-(C_1-C_6)$ алкил; и R^{1b} может представлять собой $-H$.

В формуле (V) R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; R^{1a} может представлять собой CH_2OR^{1c} ; и R^{1b} может представлять собой $-H$.

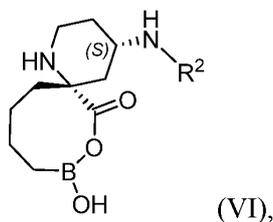
В формуле (I) R^1 может представлять собой $-C(O)CH(R^{1a})NHR^{1b}$; и R^{1a} и R^{1b} вместе с атомом, к которому они присоединены, могут образовывать 5-членное гетероциклическое кольцо.

Соединение формулы (V) может быть представлено любой из следующих структурных формул:



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

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



где R^2 представляет собой $-H$ или $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$; и R^{2a} выбран из $-H$ или $-(C_1-C_6)$ алкила.

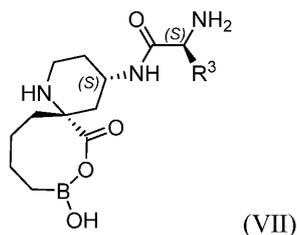
В одном варианте осуществления раскрыто соединение формулы (VI). В другом варианте осуществления раскрыта фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (VI).

В некоторых вариантах осуществления формулы (VI) R^2 представляет собой $-H$.

В некоторых вариантах осуществления формулы (VI) R^2 представляет собой $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$; и R^{2a} представляет собой $-H$.

В некоторых вариантах осуществления формулы (VI) R^2 представляет собой $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$; и R^{2a} представляет собой $-(C_1-C_6)$ алкил.

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



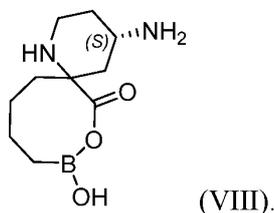
где R^3 выбран из $-H$ или $-(C_1-C_4)$ алкила.

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

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

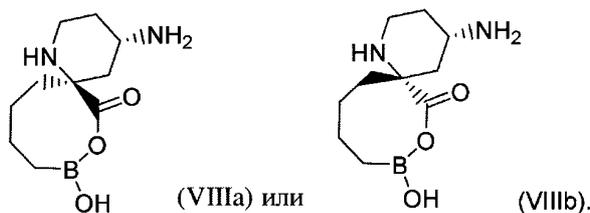
В некоторых вариантах осуществления формулы (III) R^3 представляет собой $-(C_1-C_4)$ алкил.

В данном документе раскрыто соединение формулы (VIII) или его фармацевтически приемлемая соль:

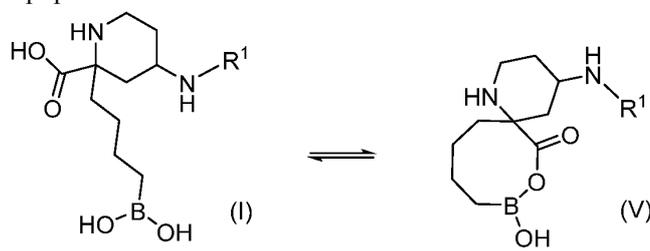


В данном документе раскрыто соединение формулы (VIII) или фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (VIII).

Соединение формулы (VIII) может быть представлено одной из следующих структурных формул:



В данном документе соединения формул (I), (II), (III) и (IV), в том числе их любые подвиды и виды, превращают в соединения формул (V), (VI), (VII) и (VIII), в том числе их любые подвиды и виды, посредством внутримолекулярной циклизации и наоборот. Т. е. это процесс взаимопревращения. Соединения формул (I), (II), (III) и (IV), в том числе их подвиды и виды, и соединения формул (V), (VI), (VII) и (VIII), в том числе их подвиды и виды, превращают 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 R^1 является таким же, как определено в формуле (I) и (V) выше.

В некоторых вариантах осуществления раскрыты соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль.

Таблица 1

Пример	Соединение	Название
1		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-Амино-2-(4-боробутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
2		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-((<i>S</i>)-2-Амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боробутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
3		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-(2-Аминоацетида)-2-(4-боробутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
4		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-[[2-(2-Аминопропаноил)амино]-2-(4-боробутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
5		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-[[2-(2-Аминобутаноил)амино]-2-(4-боробутил)пиперидин-2-карбоновая кислота

6		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2-Амино-4-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
7		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-[[[(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-2-Амино-3-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
8		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-[[[(2 <i>S</i>)-2-Амино-3,3-диметилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
9		(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-4-[[[(2 <i>R</i>)-2-Амино-3-метилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота
10		анти-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 1
11		анти-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 2
12		(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота

Стереохимические конфигурации в химических структурах в данном документе изображены посредством клиновидных обозначений (в том числе сплошных клиновидных и прерывистых/пунктирных клиновидных), жирных линий и пунктирных линий. Клиновидные обозначения применяют для указания абсолютной стереохимии. В частности, клиновидные обозначения применяют для указания положения химических связей относительно плоскости изображения, где сплошной клин указывает на то, что связь направлена к зрителю; прерывистый (пунктирный) клин указывает на то, что связь направлена от зрителя. Например, химические структуры из примеров 1-9 и 12 содержат клиновидные обозначения, указывающие на абсолютную стереохимию. С другой стороны, жирные и пунктирные линии применяют для

указания относительной стереохимии, например, жирные линии на кольце указывают на связи на той же самой стороне, т.е. находящиеся в син-положении, тогда как пунктирная линия на кольце указывает на связь на противоположной стороне от жирных линий, т.е. находящиеся в анти-положении. Например, химические структуры соединений из примеров 10 и 11 содержат жирные и пунктирные линии, указывающие относительную стереохимию двух энантиомеров.

Формулировка "C₁-C₄алкил" включает ациклические алкильные фрагменты, содержащие от 1 до 4 атомов углерода, и "C₁-C₆алкил" включает ациклические алкильные фрагменты, содержащие от 1 до 6 атомов углерода. Примеры C₁-C₄алкильных фрагментов включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, изобутил и трет-бутил.

Формулировка "фармацевтически приемлемая соль" включает соли присоединения кислоты или присоединения основания, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства соединений формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любых подвидов или видов, и соединений из табл. 1, и которые, как правило, не являются биологически или иным образом нежелательными. Во многих случаях соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1 способны образовывать кислотные и/или основные соли вследствие присутствия 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, аспартатная, бензоатная, безилатная, бромидная/гидробромидная, бикарбонатная/карбонатная, бисульфатная/сульфатная, камфорсульфонатная, хлоридная/гидрохлоридная, хлортеофиллонатная, цитратная, этандисульфатная, фумаратная, 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, фумаровую 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, диэтаноламин, диэтиламин, лизин, меглюмин, пиперазин и трометамин.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любых подвидов или видов, и соединений из табл. 1 можно синтезировать 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⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ 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., V. 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).

Предусматривается, что любая формула, приведенная в данном документе, также представляет собой немеченные формы, а также изотопно меченные формы соединений формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любых подвидов или видов, и соединений из табл. 1. Изотопно меченные 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 (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или ви-

ды, 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 меченные соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1, в общем, можно получать с помощью традиционных методик, известных специалистам в данной области техники, или с помощью способов, аналогичных таковым, описанным в сопутствующих примерах, с применением подходящих изотопно меченных реагентов вместо немеченных реагентов, используемых ранее.

Соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1 могут характеризоваться разными изомерными формами. Формулировка "оптический изомер," "стереоизомер" "энантиомер" или "диастереоизомер" означает любую из различных стереоизомерных конфигураций, которые могут существовать для данного соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, и соединения 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 из соединений формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любых подвидов или видов, и соединений из табл. 1 содержат один или несколько асимметричных центров или осей и, таким образом, могут образовывать энантиомеры, диастереомеры или другие стереоизомерные формы, которые могут быть определены с точки зрения абсолютной стереохимии как (R)- или (S)-. Понимают, 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 данном документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), 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 инсуффляции (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 данном документе раскрыты способы лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc),

(VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В данном документе раскрыты способы лечения респираторного воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В данном документе раскрыто соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении рака.

В данном документе раскрыто соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в лечении респираторного воспалительного заболевания.

В данном документе раскрыто применение соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемой соли, в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

В данном документе раскрыто применение соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемой соли, в изготовлении лекарственного препарата для лечения респираторного воспалительного заболевания.

В данном документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в лечении рака.

В данном документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 или его 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 данном документе раскрыты способы ингибирования аргиназы у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту эффективного количества соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В данном документе раскрыто соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, для применения в ингибировании аргиназы.

В данном документе раскрыто применение соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1 или его фармацевтически приемлемой соли, в изготовлении лекарственного препарата для ингибирования аргиназы.

В данном документе раскрыты фармацевтические композиции, содержащие соединение формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любые подвиды или виды, или соединения из табл. 1 или его 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 данном документе соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль, являются селективными в отношении аргиназы 1. В данном документе соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль, являются селективными в отношении аргиназы 2. В данном документе соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1 или их фармацевтически приемлемая соль, ингибируют как аргиназу 1, так и аргиназу 2.

Формулировка "эффективное количество" включает количество соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения из табл. 1, которое будет вызывать 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 данном документе формулировка "эффективное количество" включает количество соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе его любых подвидов или видов, или соединения 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 подавления 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. Соединения формул (Ib), (II), (III), (IVb), (Vc), (VI), (VII) и (VIIIb), в том числе их любые подвиды или виды, и соединения из табл. 1, могут ингибировать 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×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 T3 (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)метиле]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний-3-оксида гексафтор-фосфат),

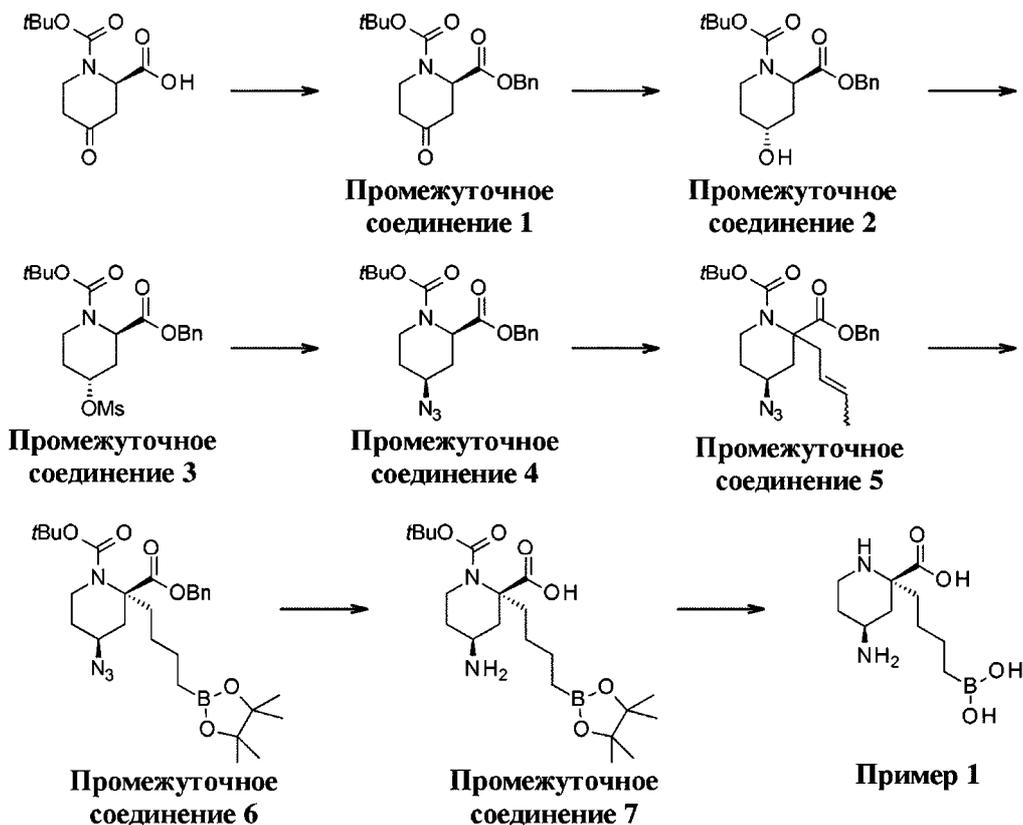
BOC: трет-бутоксикарбонил,

DTNB: 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота),

TNB: 2-нитро-5-тиобензойная кислота,

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

Пример 1. (2R,4S)-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 1. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(R)-4-оксопиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (3,49 мл, 22,4 ммоль) и DMAP (0,249 г, 2,04 ммоль) в перемешиваемый раствор (R)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-оксопиперидин-2-карбоновой кислоты (4,955 г, 20,37 ммоль) и бензилового спирта (2,11 мл, 20,4 ммоль) в DCM (150 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 50% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(R)-4-оксопиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 1, 6,50 г, выход 96%) в виде бесцветного масла и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,40 (5H, br s), 1,49 (4H, br s), 2,43 - 2,65 (2H, m), 2,70 - 2,92 (2H, m), 3,53 - 3,74 (1H, m), 3,94 - 4,10 (1H, m), 4,89 (0,5H, br s), 5,10 - 5,23 (2,5H, m), 7,31 - 7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=356.

Промежуточное соединение 2. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-гидроксипиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли порциями борогидрид натрия (0,738 г, 19,5 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(R)-4-оксопиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 1, 6,504 г, 19,51 ммоль) в смеси MeOH/THF (1:20, 105 мл) при 0°C. Смесь перемешивали в течение 5 ч, затем осторожно гасили с помощью 1 М HCl (водн.) (от 15 мл до выделения газа) и нагревали до комнатной температуры. Смесь разбавляли водой (25 мл) и с помощью EtOAc (50 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (4×20 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 45% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-гидроксипиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 2, 3,84 г, выход 59%) в виде бесцветной смолы, представляющей собой смесь 5:1 диастереомеров (основной диастереомер представляет собой указанное в заголовке соединение) и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,38 (5H, br s), 1,40 - 1,44 (2H, m), 1,46 (5,4H, br s), 1,60 - 1,69 (1,4H, m), 1,70 - 1,79 (0,2H, m), 1,83 - 1,97 (1,2H, m), 2,48 (1H, br dd), 2,92 - 3,08 (1H, m), 3,28 - 3,46 (0,2H, m), 3,54 - 3,70 (1H, m), 3,76 - 3,84 (0,1H, m), 3,87 - 3,96 (0,1H, m), 4,00 (0,5H, br d), 4,15 (0,5H, s), 4,65 - 4,74 (0,1H, m), 4,87 (0,6H, br d), 5,08 (0,5H, br d), 5,13 - 5,26 (2,4H, m), 7,31 - 7,40 (6H, m); масса/заряд: (ES⁻) [M+Na]⁺=358.

Промежуточное соединение 3. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-((метилсульфонил)окси)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли порциями метансульфоновый ангидрид (3,59 г, 20,6 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-гидроксипиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 2, 3,84 г, 11,5 ммоль; смесь 5:1 диастереомеров) и триэтиламина (3,35 мл, 24,0 ммоль) в DCM (50 мл) при 0°C. Обеспечивали прекращение эффекта охлаждающей бани и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После 6 ч реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (50 мл) и последовательно промывали с помощью 1 М HCl (водн.) (50 мл) и насыщенного водного раствора NaCl (50 мл). Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния с получением неочищенного 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-((метилсульфонил)окси)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 3, 4,73 г, выход 100%) в виде бледно-оранжевой смолы и смеси диастереомеров. Неочищенный материал применяли непосредственно без дополнительной очистки, масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=436.

Промежуточное соединение 4. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидопиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли азид натрия (3,72 г, 57,2 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4R)-4-((метилсульфонил)окси)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 3, 4,73 г, 11,4 ммоль; смесь диастереомеров) в DMF (50 мл) и реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 20 ч. Обеспечивали охлаждение смеси до комнатной температуры, ее фильтровали и фильтрат разбавляли водой (400 мл) и с помощью EtOAc (40 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (4×40 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl (2×40 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 30% EtOAc в гексанах) с получением диастереомерно чистого 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидопиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 4, 2,58 г, выход 63%) в виде бесцветной смолы и смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,39 (4H, br s), 1,46 (5H, br s), 1,63 - 1,73 (1H, m), 1,74 - 1,87 (1H, m), 1,95 (1H, ddd), 2,50 - 2,61 (1H, m), 3,03 - 3,44 (1H, m), 3,73 - 3,89 (0,5H, m), 3,90 - 4,01 (1,5H, m), 4,58 - 4,74 (0,5H, m), 4,88 (0,5H, br s), 5,15 - 5,34 (2H, m), 7,30 - 7,43 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Voc]⁺=261.

Промежуточное соединение 5. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(4S)-4-азидо-2-(бут-2-ен-1-ил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Растворяли 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидопиперидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 4, 1,94 г, 5,38 ммоль) и кротилбромид (0,977 мл, 8,07 ммоль) в THF (30 мл) и раствор охлаждали до -78°C. Добавляли по каплям раствор KHMDS (1M в 2-метилтетрагидрофуране, 7,0 мл, 7,0 ммоль) в течение 10 мин. Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали всего в течение 18 ч. Неочищенную реакционную смесь гасили с помощью насыщенного водного раствора NH₄Cl затем разбавляли насыщенным водным раствором NaCl и EtOAc (50 мл). Фазы разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 2 до 30% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(4S)-4-азидо-2-(бут-2-ен-1-ил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 5, 2,106 г, выход 94%) в виде син-/анти-диастереомерной смеси и в виде смеси ротамеров и E-/Z-олефинов. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 1,40 - 1,42 (4H, m), 1,43 (5H, br s), 1,49 - 1,58 (1H, m), 1,59 - 1,66 (0,6H, m), 1,67 - 1,74 (3,4H, m), 1,86

(0,5H, dd), 1,89 - 2,05 (2H, m), 2,07 - 2,19 (1H, m), 2,42 (0,5H, dd), 2,58 - 2,69 (1H, m), 2,71 - 2,83 (0,5H, m), 3,01 - 3,16 (0,5H, m), 3,21 (0,5H, br dd), 3,31 - 3,44 (0,5H, m), 3,61 - 3,77 (1,5H, m), 3,97 - 4,07 (0,5H, m), 5,10 - 5,27 (2H, m), 5,36 - 5,45 (1H, m), 5,51 - 5,74 (2H, m), 7,32 - 7,47 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M-Вос]⁺=315.

Промежуточное соединение 6. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли бис-(1,5-циклооктадиен)диридия(I) дихлорид (50 мг, 0,074 ммоль) и бис-(дифенилфосфино)метан (57 мг, 0,15 ммоль) в высушенную в печи круглодонную колбу. Колбу закрывали и продували с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (9 мл) и в раствор медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (0,32 мл, 2,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли 2-бензил-1-(трет-бутил)-(4S)-4-азидо-2-(бут-2-ен-1-ил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 5, 616 мг, 1,49 ммоль) в реакционную смесь в виде раствора в DCM (3 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 66 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH (1 мл) и воды (5 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×15 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 15% EtOAc в гексанах) с получением диастереомерно чистого 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 6, 261 мг, выход 32%) в виде прозрачной бесцветной смолы. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,79 (2H, t), 1,25 (12H, s), 1,29 - 1,35 (1H, m), 1,36 - 1,39 (1H, m), 1,41 (9H, s), 1,42 - 1,46 (2H, m), 1,57 - 1,68 (1H, m), 1,85 - 1,94 (3H, m), 1,95 - 2,01 (1H, m), 2,05 (1H, dd), 2,92 - 3,11 (1H, m), 3,49 - 3,72 (1H, m), 3,98 - 4,03 (1H, m), 5,09 (1H, d), 5,18 (1H, d), 7,29 - 7,42 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=565.

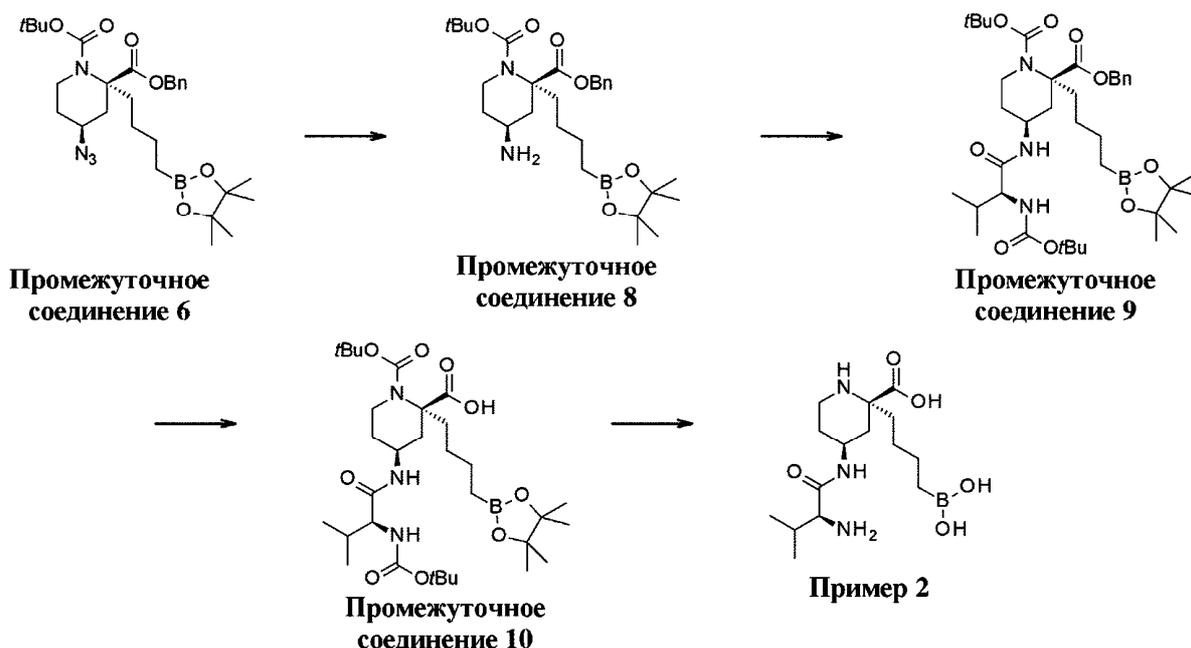
Промежуточное соединение 7. (2R,4S)-4-Амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 50 мг, 0,047 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 6, 268 мг, 0,494 ммоль) в EtOAc (3 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH (5 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 45% MeOH в DCM) с получением (2R,4S)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 7, 156 мг, выход 74%) в виде белой сухой пленки. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,71 (2H, t), 1,07 - 1,16 (1H, m), 1,19 (14H, s), 1,31 - 1,37 (2H, m), 1,40 (9H, s), 1,80 - 1,96 (1H, m), 2,02 (3H, br d), 2,33 (1H, br s), 3,00 (1H, br s), 3,53 (1H, br s), 3,92 (1H, br s), 8,60 (3H, br s); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=427.

Пример 1. (2R,4S)-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,53 мл, 6,9 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 7, 146 мг, 0,342 ммоль) в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et₂O (3 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (125 мг, 1,03 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и водой (5 мл) 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,4S)-4-амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (62 мг, выход 74%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,71 - 0,82 (2H, m), 1,10 - 1,30 (2H, m), 1,33 - 1,44 (2H, m), 1,45 - 1,55 (1H, m), 1,62 (1H, dd), 1,77 (1H, ddd), 1,84 - 1,93 (1H, m), 2,01 - 2,08 (1H, m), 2,18 (1H, ddd), 3,07 (1H, td), 3,22 (1H, dt), 3,28 - 3,39 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=245.

Пример 2. (2R,4S)-4-((S)-2-Амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 8. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли цинк (270 мг, 4,14 ммоль) и AcOH (1,20 мл, 20,9 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 6, 748 мг, 1,38 ммоль) в THF (10 мл). Быстро перемешиваемую смесь нагревали до 30°C в течение 18 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли с помощью DCM (30 мл) и фильтровали через диатомовую землю. Осадок на фильтре промывали с помощью DCM и фильтрат концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок разделяли между EtOAc (40 мл) и насыщенным водным раствором NaHCO₃. Фазы разделяли и органические слои промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ и насыщенным водным раствором NaCl. Органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 713 мг, выход 100%) в виде прозрачной бесцветной смолы. Неочищенный материал применяли непосредственно без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,79 (2H, t), 1,24 (12H, s), 1,32 - 1,38 (2H, m), 1,39 - 1,47 (13H, m), 1,68 (2H, br t), 1,83 - 1,99 (4H, m), 2,93 (1H, td), 2,97 - 3,07 (1H, m), 3,96 - 4,10 (1H, m), 5,06 - 5,23 (2H, m), 7,30 - 7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=517.

Промежуточное соединение 9. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,12 мл, 0,63 ммоль) в перемешиваемый раствор COMU (270 мг, 0,63 ммоль) и Boc-Val-OH (137 мг, 0,631 ммоль) в DMF (2 мл) при комнатной температуре. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. и затем охлаждали до 0°C. Добавляли раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 310 мг, 0,60 ммоль) в DMF (2 мл) и N,N-диизопропилэтиламин (0,10 мл, 0,60 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли водой (40 мл) и полученный осадок собирали путем фильтрации. Твердое вещество растворяли в EtOAc, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 10 до 100% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 9, 184 мг, выход 43%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,73 - 0,80 (2H, m), 0,85 (3H, d), 0,89 (3H, d), 1,22 (12H, br s), 1,23 - 1,29 (2H, m), 1,37 - 1,45 (20H, m), 1,62 - 1,74 (1H, m), 1,86 - 1,99 (3H, m), 2,00 - 2,12 (3H, m), 2,97 (1H, t), 3,78 (1H, t), 3,94 - 4,06 (1H, m), 4,07 - 4,14 (1H, m), 5,00 (1H, br s), 5,05 - 5,24 (2H, m), 6,05 (1H, br d), 7,28 - 7,36 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=716.

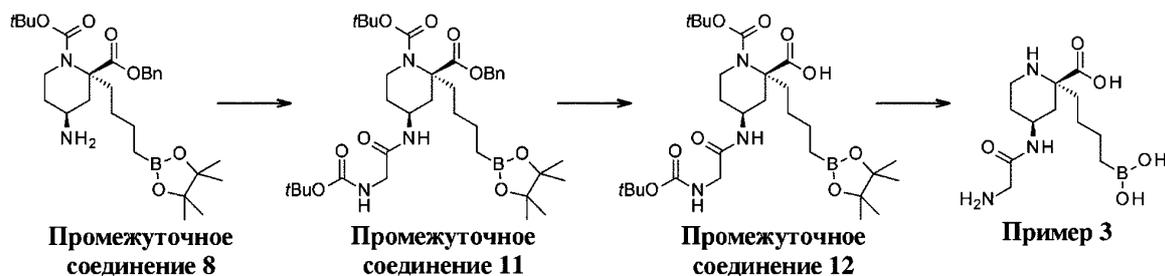
Промежуточное соединение 10. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 27 мг, 0,025 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 9, 184 мг, 0,257 ммоль) в EtOAc (2 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом $\times 3$) при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (20 мл) и MeOH (20 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 20 до 100% EtOAc в гексанах, затем 10% MeOH в DCM) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 10, 116 мг, выход 72%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров. *НЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,78 (3H, br d), 0,83 - 0,91 (2H, m), 0,94 (3H, br d), 1,20-1,25 (12H, m), 1,40 (9H, br s), 1,42 - 1,53 (11H, m), 1,51 - 1,66 (1H, m), 1,75 - 2,18 (4H, m), 2,19 - 2,34 (1H, m), 2,88 - 3,06 (1H, m), 3,85 - 4,06 (2H, m), 4,07 - 4,26 (1H, m), 5,14 (1H, br s), 5,93 (1H, br s), 6,73 (1H, br s), 7,30 - 7,48 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=627.

Пример 2. (2R,4S)-4-((S)-2-Амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,433 мл, 5,63 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 10, 176 мг, 0,281 ммоль) в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 3 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et₂O (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (103 мг, 0,845 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и водой (5 мл) 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,4S)-4-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 2, 89 мг, выход 92%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,73 - 0,83 (2H, m), 0,88 - 0,96 (6H, m), 1,14 - 1,24 (1H, m), 1,25 - 1,35 (1H, m), 1,37 - 1,50 (2H, m), 1,64 - 1,76 (1H, m), 1,79 - 1,99 (4H, m), 2,01 - 2,09 (1H, m), 2,17 (1H, dd), 3,11 (1H, d), 3,16 - 3,24 (1H, m), 3,31 (1H, dt), 4,10 - 4,22 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=344.

Пример 3. (2R,4S)-4-(2-Аминоацетида)-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 11. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,12 мл, 0,63 ммоль) в перемешиваемый раствор COMU (270 мг, 0,63 ммоль) и Вос-Gly-OH (110 мг, 0,63 ммоль) в DMF (2 мл) при комнатной температуре. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. и затем охлаждали до 0°C. Добавляли раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 310 мг, 0,60 ммоль) в DMF (2 мл) и N,N-диизопропилэтиламин (0,11 мл, 0,60 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли водой (60 мл) и pH регулировали до ~5 с помощью уксусной кислоты. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (4 \times 15 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl (2 \times 10 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 10 до 100% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)ацетида)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 11, 204 мг, выход 51%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,75 (2H, br t), 1,21 (14H, s), 1,24 (2H, br d), 1,38 (9H, s), 1,40 (10H, s), 1,71 (1H, dd), 1,81 - 1,91 (1H, m), 1,93 - 2,04 (3H, m), 2,86 - 3,04 (1H, m), 3,62 (2H, br s), 3,93 - 4,04 (1H, m), 4,06 - 4,15 (1H, m), 5,11 (2H, s), 5,14 (1H, br s), 6,27 (1H, br s), 7,28 - 7,40 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=674.

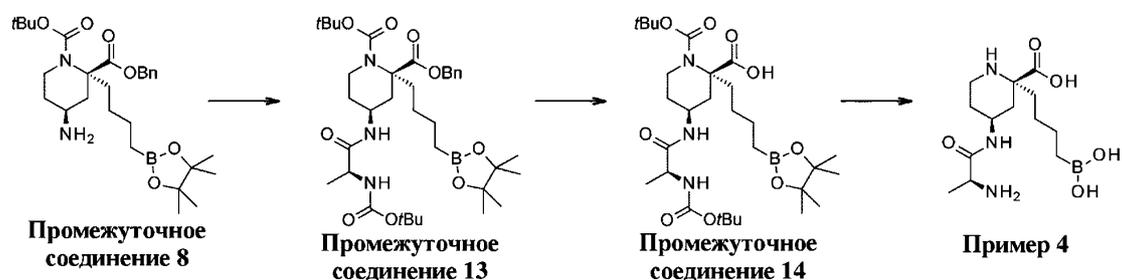
Промежуточное соединение 12. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)ацетиламино)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 32 мг, 0,030 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)ацетиламино)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 11, 204 мг, 0,303 ммоль) в EtOAc (2 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (20 мл) и MeOH (20 мл), фильтровали через диатомовую землю и фильтрат концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 25 до 100% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)ацетиламино)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 12, 117 мг, выход 66%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,78 (2H, t), 1,17 - 1,29 (13H, m), 1,40 (10H, br s), 1,45 (9H, s), 1,48 - 1,57 (2H, m), 1,76 - 2,01 (3H, m), 2,04 - 2,13 (1H, m), 2,98 (1H, br t), 3,47 - 3,66 (1H, m), 3,75 (1H, s), 3,90 - 4,06 (2H, m), 4,13 - 4,25 (1H, m), 5,41 (1H, br s), 5,92 (1H, br s), 6,73 (1H, br s), 7,65 (1H, br s); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=584$.

Пример 3. (2R,4S)-4-(2-Аминоацетиламино)-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,31 мл, 4,0 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-(2-((трет-бутоксикарбонил)амино)ацетиламино)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 12, 117 мг, 0,201 ммоль) в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 3 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et₂O (3 мл). Добавляли фенилбороновую кислоту (73 мг, 0,60 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и водой (5 мл) 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,4S)-4-(2-аминоацетиламино)-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 3, 61 мг, выход 100%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,72 - 0,84 (2H, m), 1,14 - 1,25 (1H, m), 1,26 - 1,34 (1H, m), 1,41 (2H, quin), 1,72 (1H, dtd), 1,79 - 1,94 (2H, m), 1,96 - 2,08 (2H, m), 2,10 (1H, dd), 3,14 - 3,25 (1H, m), 3,30 - 3,36 (1H, m), 3,37 (2H, s), 4,08 - 4,19 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=302$.

Пример 4. (2R,4S)-4-[[[(2S)-2-Аминопропаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 13. 2-Бензил-1-трет-бутил-(2R,4S)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,17 мл, 1,0 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 245 мг, 0,474 ммоль), Вос-Ala-OH (108 мг, 0,571 ммоль) и COMU (244 мг, 0,571 ммоль) в DMF (1,5 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли водой (20 мл) и с помощью EtOAc (20 мл) и фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (3×20 мл) и объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 15 до 80% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4S)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 13, 191 мг, выход 59%) в виде бледно-желтой смолы и в виде смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,69 - 0,83 (2H, m), 1,22 (12H, d), 1,26 (5H, td), 1,38 (9H, br s), 1,40 (9H, br d), 1,42 - 1,49 (3H, m), 1,57 - 1,73 (1H, m), 1,83 - 1,98 (3H, m), 2,01 - 2,05 (2H, m), 2,91 - 3,03 (1H, m), 4,02 (2H, br s), 4,96 (1H, br s), 5,05 - 5,22 (2H, m), 6,21 (1H, br s), 7,27 - 7,36 (5H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=688$.

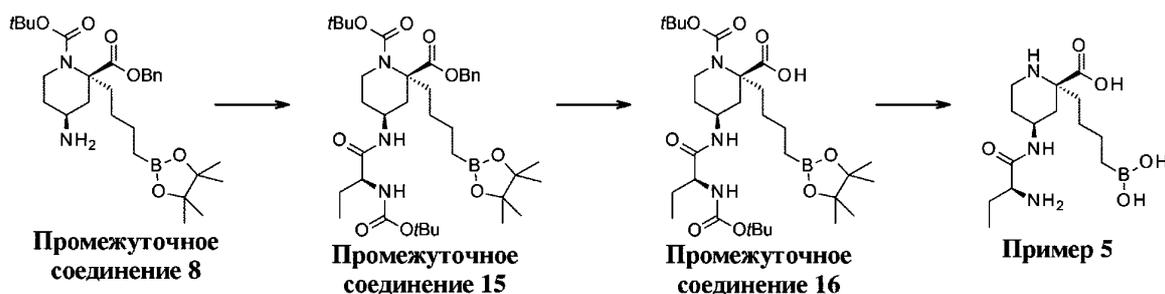
Промежуточное соединение 14. (2R,4S)-1-трет-Бутоксикарбонил-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 15 мг, 0,014 ммоль) в раствор 2-бензил-1-трет-бутил-(2R,4S)-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 13, 190 мг, 0,28 ммоль) в EtOAc (2 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом $\times 3$) при комнатной температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (15 мл) и MeOH (2 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 20 до 100% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4S)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 14, 134 мг, выход 81%) в виде сухой пленки и в виде смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,78 (2H, brt), 1,20 - 1,25 (12H, m), 1,29 - 1,36 (5H, m), 1,41 (9H, s), 1,44 (1H, s), 1,48 - 1,62 (2H, m), 1,77 - 2,01 (3H, m), 2,09 (2H, br s), 2,97 (1H, br s), 3,92 - 4,05 (1H, m), 5,07 (1H, br s), 5,48 (1H, br s), 6,71 (1H, br s), 7,61 (1H, br s); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=598$.

Пример 4. (2R,4S)-4-[[[(2S)-2-Аминопропаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,34 мл, 4,4 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-трет-бутоксикарбонил-4-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 14, 130 мг, 0,22 ммоль) в DCM (1 мл) при комнатной температуре. После 3 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (2,0 мл, 2,0 ммоль) и Et_2O (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (80 мг, 0,65 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 . 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). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold[®] C18, от 0 до 15% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4S)-4-[[[(2S)-2-аминопропаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 4, 25 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,72 - 0,80 (2H, m), 1,12 - 1,23 (1H, m), 1,24 - 1,26 (1H, m), 1,27 (3H, d), 1,40 (2H, quin), 1,66 - 1,76 (1H, m), 1,78 - 1,92 (2H, m), 1,93 - 1,99 (1H, m), 2,00 - 2,06 (1H, m), 2,10 (1H, dd), 3,18 (1H, ddd), 3,27 - 3,36 (1H, m), 3,53 (1H, q), 4,10 (1H, tt); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=316$.

Пример 5. (2R,4S)-4-[[[(2S)-2-Аминобутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 15. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,165 мл, 0,94 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 244 мг, 0,47 ммоль), Вос-Абу-ОН (96 мг, 0,47 ммоль) и COMU (206 мг, 0,48 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 \times 10 мл). Объединенные органические слои последовательно промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (20 мл) и насыщенным водным раствором NaCl (15 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 15 до 60% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 15, 215 мг, выход 65%) в виде прозрачной смолы и

в виде смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,71 - 0,79 (2H, m), 0,87 (3H, br t), 1,19 (4H, br s), 1,21 (9H, s), 1,36 (5H, br s), 1,38 (8H, s), 1,39 - 1,41 (8H, m), 1,48 - 1,58 (2H, m), 1,68 (1H, br dd), 1,72 - 1,81 (1H, m), 1,84 - 1,98 (3H, m), 1,99 - 2,02 (1H, m), 2,88 - 3,04 (1H, m), 3,89 (1H, br d), 3,95 - 4,07 (2H, m), 5,00 (1H, br d), 5,05 - 5,22 (2H, m), 6,20 (1H, br s), 7,27 - 7,36 (5H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=703$.

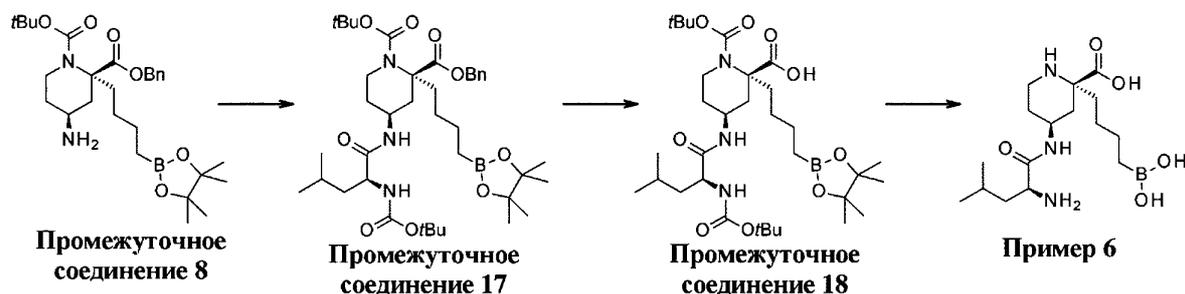
Промежуточное соединение 16. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 16 мг, 0,015 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 15, 215 мг, 0,31 ммоль) в EtOAc (3 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом $\times 3$) при комнатной температуре в течение 24 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и MeOH (1 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 100% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточное соединение 16, 147 мг, выход 78%) в виде сухой пленки и смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,75 (2H, br s), 0,89 (3H, br s), 1,20 (12H, s), 1,24 - 1,33 (2H, m), 1,37 (10H, br s), 1,40 (10H, s), 1,42 - 1,61 (4H, m), 1,85 (3H, br s), 1,98 (2H, br s), 2,01 - 2,06 (1H, m), 2,95 (1H, br s), 3,98 (2H, br s), 5,27 (0,5H, br s), 5,68 (0,5H, br s), 6,74 (0,5H, br s), 7,52 (0,5H, br s); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=612$.

Пример 5. (2R,4S)-4-[[2(S)-2-Аминобутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,37 мл, 4,8 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 16, 147 мг, 0,24 ммоль) в DCM (1 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (2,0 мл, 2,0 ммоль) и Et_2O (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (88 мг, 0,72 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et_2O (5 мл) и водой (2 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et_2O . 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). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 15% ацетонитрила в воде) с получением (2R,4S)-4-[[2(S)-2-аминобутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 5, 37 мг, выход 47%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,76 (2H, brt), 0,87 (3H, t), 1,13 - 1,23 (1H, m), 1,24 - 1,34 (1H, m), 1,40 (2H, quin), 1,63 (2H, dq), 1,67 - 1,74 (1H, m), 1,78 - 1,85 (1H, m), 1,86 - 1,96 (2H, m), 1,99 - 2,07 (1H, m), 2,13 (1H, br dd), 3,10 - 3,24 (1H, m), 3,25 - 3,41 (2H, m), 4,07 - 4,21 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=330$.

Пример 6. (2R,4S)-4-[[2(S)-2-Амино-4-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 17. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метилпентаноидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,17 мл, 0,94 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 244 мг, 0,47 ммоль), Вос-Leu-OH (96 мг, 0,47 ммоль) и SOMU (206 мг, 0,48 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 \times 10 мл). Объединенные органические слои последовательно промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (20 мл) и насыщенным водным раствором NaCl (15 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали до сухого состоя-

ния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 15 до 60% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 17, 224 мг, выход 65%) в виде белой пены и в виде смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,73 - 0,80 (2H, m), 0,89 (3H, d), 0,90 (3H, d), 1,22 (12H, s), 1,27 (1H, br s), 1,39 (9H, s), 1,40 (9H, s), 1,41 - 1,48 (4H, m), 1,55 - 1,64 (2H, m), 1,68 (1H, br dd), 1,85 - 1,98 (3H, m), 2,01 (1H, br d), 2,02 - 2,05 (1H, m), 2,93 - 3,02 (1H, m), 3,94 - 4,08 (3H, m), 4,83 (1H, br d), 5,05 - 5,22 (2H, m), 6,20 (1H, br s), 7,28 - 7,31 (1H, m), 7,33 (4H, d); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=731$.

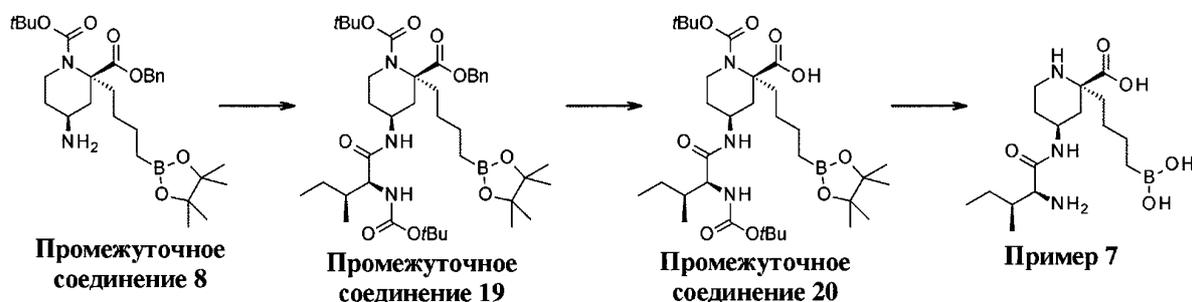
Промежуточное соединение 18. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 13 мг, 0,012 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 17, 174 мг, 0,24 ммоль) в EtOAc (2,5 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом $\times 3$) при комнатной температуре в течение 23 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и MeOH (1 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 15 до 100% EtOAc в гексанах) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 18, 149 мг, выход 98%) в виде сухой пленки и смеси ротамеров. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,78 (2H, br t), 0,91 (6H, br d), 1,23 (11H, s), 1,27 - 1,36 (2H, m), 1,40 (10H, s), 1,43 (11H, s), 1,46 - 1,55 (2H, m), 1,60 - 1,73 (2H, m), 1,78 - 1,96 (3H, m), 1,97 - 2,02 (1H, m), 2,05 - 2,14 (1H, m), 2,82 - 3,08 (1H, m), 3,92 - 4,08 (2H, m), 5,00 (0,4H, br s), 5,49 (0,6H, br d), 6,76 (0,4H, br d), 7,60 (0,6H, br s); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=640$.

Пример 6. (2R,4S)-4-[[2(S)-2-Амино-4-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,36 мл, 4,7 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 18, 149 мг, 0,23 ммоль) в DCM (1 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (2,0 мл, 2,0 ммоль) и Et₂O (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (85 мг, 0,70 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (10 мл) и водой (2 мл) 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,4S)-4-[[2(S)-2-амино-4-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 6, 81 мг, выход 97%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,74 - 0,82 (2H, m), 0,89 (3H, d), 0,91 (3H, d), 1,15 - 1,25 (1H, m), 1,24 - 1,34 (1H, m), 1,38 - 1,47 (3H, m), 1,47 - 1,54 (1H, m), 1,60 (1H, dt), 1,65 - 1,76 (1H, m), 1,79 - 1,98 (3H, m), 2,01 - 2,09 (1H, m), 2,14 (1H, dd), 3,15 - 3,23 (1H, m), 3,31 (1H, dt), 3,39 (1H, t), 4,10 - 4,17 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+=340$.

Пример 7. (2R,4S)-4-[[2(S,3S)-2-Амино-3-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 19. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,24 мл, 1,4 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 355 мг, 0,687 ммоль), Вос-1Ie-OH (159 мг, 0,687 ммоль) и COMU (300 мг, 0,70 ммоль) в DMF (4 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в

течение 16 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и смесь перемешивали в течение 10 мин. Полученный осадок собирали путем фильтрации. Твердое вещество растворяли в EtOAc (20 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaCl (5 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 60% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 19, 424 мг, выход 85%) в виде белой пены и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,73 - 0,80 (2H, m), 0,82 - 0,90 (6H, m), 0,97 - 1,11 (1H, m), 1,21 (12H, s), 1,26 - 1,31 (1H, m), 1,32 - 1,36 (1H, m), 1,38 (9H, br s), 1,39 (9H, s), 1,41 - 1,43 (2H, m), 1,67 (1H, br dd), 1,75 - 1,84 (2H, m), 1,86 - 1,98 (3H, m), 2,00 (1H, br d), 2,03 (1H, br d), 2,92 - 3,02 (1H, m), 3,81 (1H, t), 3,95 - 4,09 (2H, m), 4,98 (1H, br s), 5,04 - 5,21 (2H, m), 6,07 (1H, br d), 7,28 - 7,36 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=730.

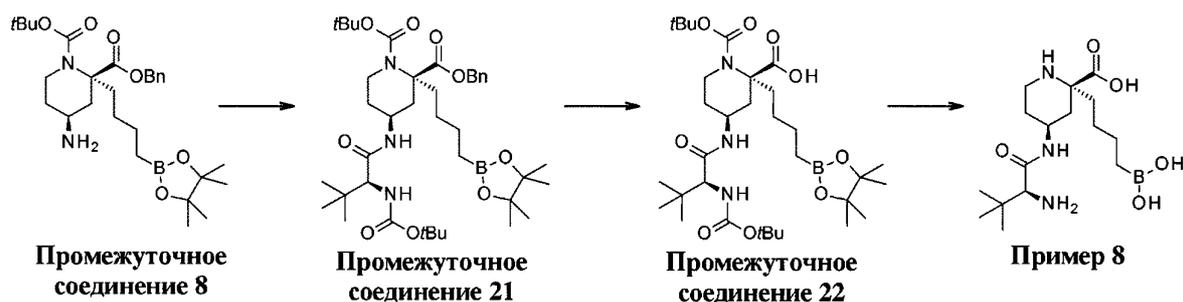
Промежуточное соединение 20. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 22 мг, 0,021 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 19, 302 мг, 0,41 ммоль) в EtOAc (4 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и MeOH (1 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 15 до 100% EtOAc в гексанах, затем от 0 до 50% MeOH в EtOAc) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 20, 223 мг, выход 84%) в виде сухой пленки и в виде смеси ротамеров, и побочного продукта на основе бороновой кислоты, (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)пиперидин-2-карбоновой кислоты (30 мг, выход 13%), в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров. Промежуточное соединение 20. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,72 - 0,81 (2H, m), 0,82 - 0,88 (3H, m), 0,89 - 0,94 (3H, m), 0,98 - 1,11 (1H, m), 1,21 - 1,24 (12H, m), 1,26 - 1,31 (1H, m), 1,32 - 1,38 (2H, m), 1,40 (10H, br s), 1,42 (10H, br s), 1,45 - 1,55 (1H, m), 1,53 - 1,64 (1H, m), 1,76 - 1,97 (4H, m), 1,98 - 2,08 (3H, m), 2,83 - 3,10 (1H, m), 3,90 - 4,08 (2H, m), 5,15 (0,5H, br d), 5,81 (0,5H, br s), 6,74 (0,5H, br s), 7,48 (0,5H, br s); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=640. Побочный продукт на основе бороновой кислоты: ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,76 - 0,86 (2H, m), 0,86 - 0,96 (6H, m), 1,03 - 1,13 (1H, m), 1,43 (9H, br s), 1,44 (12H, s), 1,53 - 1,68 (1H, m), 1,78 - 1,90 (2H, m), 1,90 - 1,99 (2H, m), 1,99 - 2,04 (1H, m), 2,07 - 2,21 (1H, m), 2,98 - 3,11 (1H, m), 3,43 - 3,61 (1H, m), 3,90 (1H, br s), 3,96 - 4,12 (2H, m), 5,19 (1H, br s), 5,53 - 5,76 (1H, m), 6,72 (1H, br s); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=558.

Пример 7. (2R, 4S)-4-[[[(2S,3S)-2-Амино-3-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,62 мл, 8,1 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 20, 223 мг, 0,35 ммоль) и побочного продукта на основе бороновой кислоты, (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((2S,3S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилпентанамидо)пиперидин-2-карбоновой кислоты (30 мг, 0,05 ммоль), в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et₂O (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (147 мг, 1,21 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (5 мл) и водой (1 мл) и слои разделяли. Водный слой 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,4S)-4-[[[(2S,3S)-2-амино-3-метилпентаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 7, 126 мг, выход 88%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,78 (2H, td), 0,85 - 0,91 (6H, m), 1,11 - 1,25 (2H, m), 1,26 - 1,34 (1H, m), 1,37 - 1,49 (3H, m), 1,64 - 1,76 (2H, m), 1,80 - 1,91 (2H, m), 1,92 - 1,99 (1H, m), 2,01 - 2,09 (1H, m), 2,17 (1H, dd), 3,15 - 3,24 (2H, m), 3,31 (1H, dt), 4,10 - 4,21 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=358.

Пример 8. (2R,4S)-4-[[2(S)-2-Амино-3,3-диметилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.



Промежуточное соединение 21. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,24 мл, 1,4 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 355 мг, 0,687 ммоль), Вос-трет-Леу-ОН (159 мг, 0,687 ммоль) и COMU (300 мг, 0,70 ммоль) в DMF (4 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и смесь перемешивали в течение 10 мин. Полученный осадок собирали путем фильтрации. Твердое вещество растворяли в EtOAc (20 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaCl (5 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 55% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 21, 372 мг, выход 74%) в виде белой пены. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,73 - 0,81 (2H, m), 0,95 (9H, s), 1,24 (12H, s), 1,41 (10H, s), 1,42 - 1,46 (12H, m), 1,68 (1H, dd), 1,87 - 1,95 (1H, m), 1,96 - 2,01 (2H, m), 2,02 - 2,05 (2H, m), 2,92 - 3,04 (1H, m), 3,69 (1H, br d), 3,98 - 4,12 (2H, m), 5,05 - 5,25 (3H, m), 5,50 - 5,62 (1H, m), 7,30 - 7,39 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=730.

Промежуточное соединение 22. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

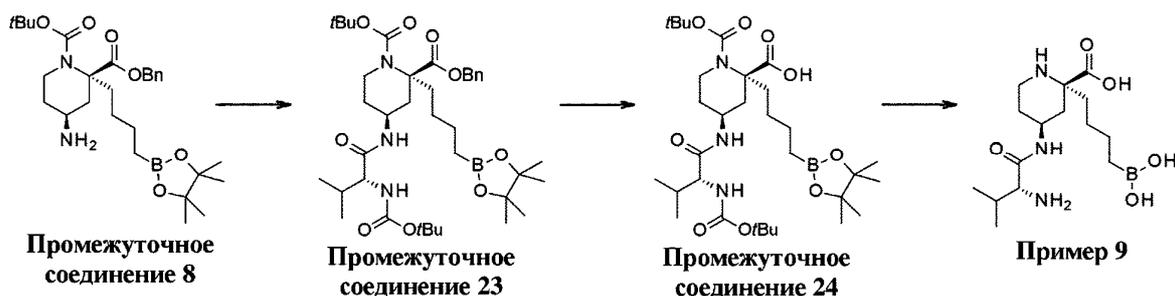
Добавляли Pd/C (10 вес.%, 27 мг, 0,025 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 21, 372 мг, 0,511 ммоль) в EtOAc (4 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и MeOH (1 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 40 до 100% EtOAc в гексанах, затем от 0 до 40% MeOH в EtOAc) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 22, 265 мг, выход 81%) в виде сухой пленки и смеси ротамеров, и побочного продукта на основе бороновой кислоты, (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)пиперидин-2-карбоновой кислоты (32 мг, выход 11%), в виде прозрачной сухой пленки и в виде смеси ротамеров. Промежуточное соединение 22. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,75 (2H, brt), 0,93 (9H, s), 1,20 (12H, s), 1,24 - 1,33 (2H, m), 1,36 (9H, s), 1,38 (9H, br s), 1,40 (3H, br s), 1,51 - 1,64 (1H, m), 1,72 - 1,82 (1H, m), 1,83 - 1,98 (3H, m), 2,03 (1H, br s), 2,79 - 3,06 (1H, m), 3,76 (0,4H, br d), 3,85 - 4,07 (2,6H, m), 5,42 (0,6H, br d), 6,39 - 6,71 (1H, m), 6,74 - 6,99 (0,4H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=640. Побочный продукт на основе бороновой кислоты: ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,77 - 0,86 (2H, m), 0,97 (9H, s), 1,42 (9H, br s), 1,43 (14H, br s), 1,52 - 1,67 (1H, m), 1,75 - 1,90 (2H, m), 1,91 - 2,04 (3H, m), 2,08 - 2,19 (1H, m), 2,97 - 3,14 (1H, m), 3,44 - 3,63 (1H, m), 3,87 (1H, br d), 3,97 - 4,11 (2H, m), 5,50 (1H, br s), 6,53 - 6,79 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=558.

Пример 8. (2R,4S)-4-[[2(S)-2-Амино-3,3-диметилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,73 мл, 9,4 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 22, 265 мг, 0,414 ммоль) и побочного продукта на основе бороновой кислоты, (2R,4S)-2-(4-боронобутил)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,3-диметилбутанами-

до)пиперидин-2-карбоновой кислоты (32 мг, 0,057 ммоль), в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et₂O (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (172 мг, 1,41 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (5 мл) и водой (1 мл) 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,4S)-4-[[2-(2S)-2-амино-3,3-диметилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 8, 158 мг, выход 94%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,74 - 0,81 (2H, m), 0,95 (9H, s), 1,15 - 1,25 (1H, m), 1,26 - 1,34 (1H, m), 1,38 - 1,48 (2H, m), 1,65 - 1,75 (1H, m), 1,80 - 1,91 (2H, m), 1,96 (1H, ddd), 2,01 - 2,10 (1H, m), 2,19 (1H, dd), 3,05 (1H, s), 3,15 - 3,24 (1H, m), 3,30 (1H, dt), 4,10 - 4,23 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=358.

Пример 9. (2R,4S)-4-[[2-(2R)-2-Амино-3-метилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота



Промежуточное соединение 23. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Медленно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,063 мл, 0,36 ммоль) в перемешиваемый раствор HATU (61 мг, 0,16 ммоль) и Boc-D-Val-OH (33 мг, 0,15 ммоль) в DMF (1 мл) при 0°C. Раствор перемешивали в течение 10 мин, затем добавляли раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-амино-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 8, 75 мг, 0,15 ммоль) в DMF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Неочищенную реакционную смесь разбавляли с помощью 0,1 М HCl (водн.) (30 мл) и EtOAc. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (3×15 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 40% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 23, 74 мг, выход 71%) в виде бесцветной пленки и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,75 (2H, t), 0,84 (3H, d), 0,89 (3H, d), 1,21 (12H, s), 1,30 - 1,35 (1H, m), 1,37 (9H, s), 1,39 (9H, s), 1,42 (4H, br s), 1,69 (1H, dd), 1,81 - 1,91 (1H, m), 1,92 - 2,01 (3H, m), 2,02 (2H, s), 2,94 - 3,02 (1H, m), 3,75 (1H, dd), 3,91 - 4,03 (1H, m), 5,03 - 5,19 (3H, m), 6,10 (1H, d), 7,28 - 7,39 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=715.

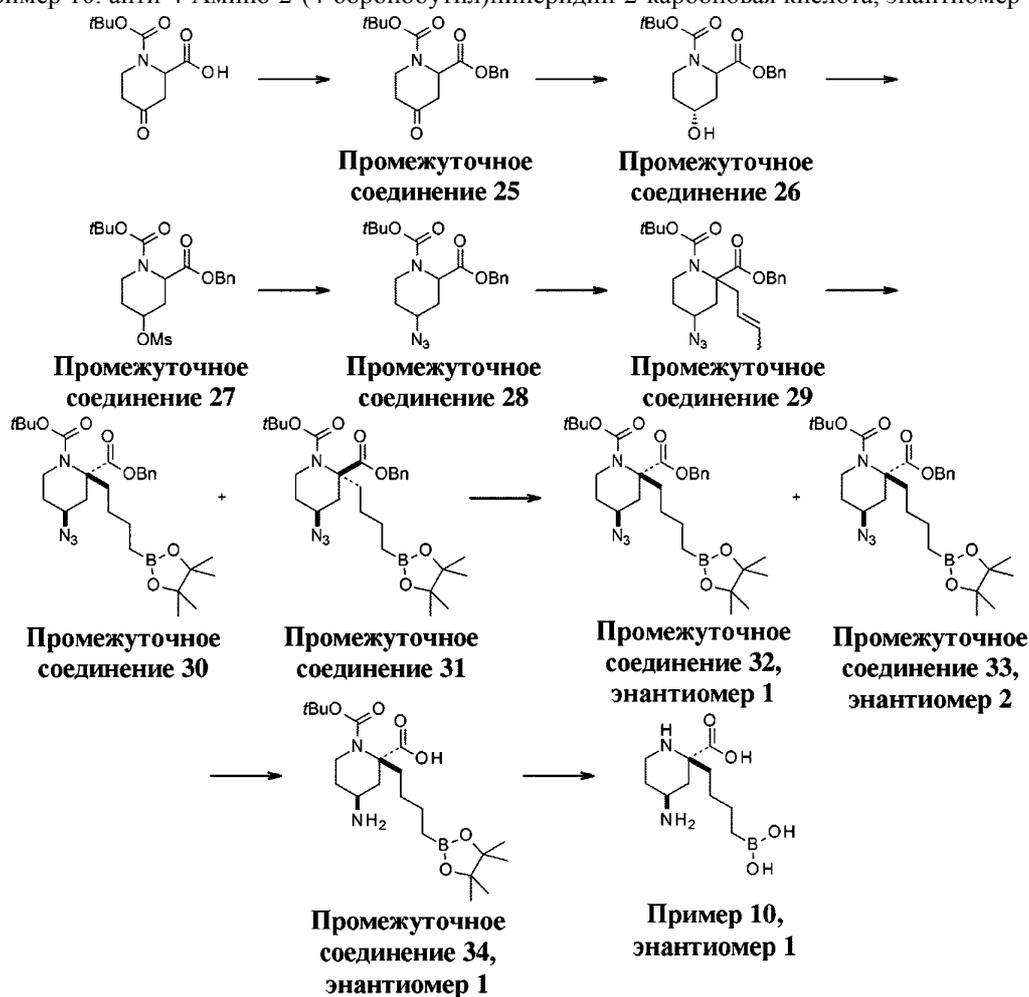
Промежуточное соединение 24. (2R,4S)-1-(трет-Бутоксикарбонил)-4-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 5 мг, 0,005 ммоль) в раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 23, 69 мг, 0,10 ммоль) в EtOAc (1 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 19 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (10 мл) и MeOH (1 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 40 до 100% EtOAc в гексанах, затем от 0 до 40% MeOH в EtOAc) с получением (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 24, 40 мг, выход 66%) в виде сухой пленки и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,77 (2H, t), 0,91 (6H, br d), 1,20 - 1,24 (13H, m), 1,29 (1H, br d), 1,33 - 1,42 (11H, m), 1,43 (10H, s), 1,70 - 1,82 (1H, m), 1,83 - 1,90 (1H, m), 1,91 - 2,02 (4H, m), 3,00 (1H, t), 3,83 - 3,94 (1H, m), 3,96 - 4,07 (1H, m), 4,13 (1H, br s), 5,40 (1H, d), 6,03 - 6,33 (1H, m), 6,90 - 7,22 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=625.

Пример 9. (2R,4S)-4-[[2-(2R)-2-Амино-3-метилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,10 мл, 1,3 ммоль) в перемешиваемый раствор (2R,4S)-1-(трет-бутоксикарбонил)-4-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилбутаноил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислот (промежуточного соединения 24, 40 мг, 0,06 ммоль) в DCM (1 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (1,0 мл, 1,0 ммоль) и Et₂O (1 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (24 мг, 0,20 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 20 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (5 мл) и водой (1 мл) 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,4S)-4-[[2-(2R)-2-амино-3-метилбутаноил]амино]-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 9, 20 мг, выход 91%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,73 - 0,83 (2H, m), 0,87 - 0,95 (6H, m), 1,14 - 1,23 (1H, m), 1,24 - 1,33 (1H, m), 1,41 (2H, quin), 1,65 - 1,77 (1H, m), 1,79 - 1,87 (1H, m), 1,88 - 1,98 (3H, m), 2,01 - 2,09 (1H, m), 2,15 (1H, dd), 3,14 (1H, d), 3,15 - 3,24 (1H, m), 3,31 (1H, dt), 4,11 - 4,20 (1H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M-H₂O+H]⁺=326.

Пример 10. анти-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 1



Промежуточное соединение 25. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-оксопиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (3,48 мл, 22,3 ммоль) и DMAP (0,248 г, 2,03 ммоль) в перемешиваемый раствор 1-(трет-бутоксикарбонил)-4-оксопиперидин-2-карбоновой кислоты (4,94 г, 20,3 ммоль) и бензилового спирта (2,21 мл, 21,4 ммоль) в DCM (130 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 17 ч при медленном нагревании до комнатной температуры. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 50% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-оксопиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 25, 6,68 г, выход 99%) в виде бесцветного масла и в виде смеси ротамеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,40 (5H, br s), 1,45 - 1,58 (4H, m), 2,50 (2H, br d), 2,71 - 2,94 (2H, m), 3,51 - 3,75 (1H, m), 4,05 (1H, br s), 4,89 (0,5H, br s), 5,09 - 5,27 (2,5H, m), 7,30 - 7,42 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=356.

Промежуточное соединение 26. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-гидроксипиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли порциями борогидрид натрия (0,749 г, 19,8 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-оксопиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 25, 6,60 г, 19,8 ммоль) в смеси MeOH/THF (1:1, 100 мл) при 0°C. Смесь перемешивали в течение 3 ч, затем осторожно гасили с помощью 1 М HCl (водн.) (от 20 мл до выделения газа) и нагревали до комнатной температуры. Смесь разбавляли водой (120 мл) и с помощью EtOAc (40 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-гидроксипиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 26, 6,87 г, 103%) в виде прозрачной смолы. Неочищенный материал переносили на следующую стадию непосредственно без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,34 - 1,42 (5H, m), 1,47 (4H, s), 1,56 - 1,78 (3H, m), 1,84 - 1,97 (1H, m), 2,48 (1H, br dd), 2,88 - 3,10 (1H, m), 3,63 (1H, br dd), 4,00 (0,5H, br d), 4,71 (0,5H, s), 4,87 (0,5H, br s), 5,08 (0,5H, br s), 5,13 - 5,26 (2H, m), 7,32 - 7,39 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=358.

Промежуточное соединение 27. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-((метилсульфонил)окси)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли порциями метансульфононовый ангидрид (6,26 г, 36,0 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-гидроксипиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 26, 6,71 г, 19,9 ммоль) и триэтиламина (5,60 мл, 40,2 ммоль) в DCM (100 мл) при 0°C. Обеспечивали прекращение эффекта охлаждающей бани и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После 15 ч реакционную смесь разбавляли с помощью DCM (100 мл) и последовательно промывали с помощью 1 М (водн.) HCl (50 мл), водой (50 мл), насыщенным водным раствором NaHCO₃ (50 мл) и насыщенным водным раствором NaCl (50 мл). Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-((метилсульфонил)окси)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточное соединение 27, 7,74 г, выход 94%) в виде бледно-оранжевой смолы и смеси ротамеров и изомеров. Неочищенный материал переносили на следующую стадию непосредственно без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,39 (4H, br s), 1,43 - 1,48 (5H, m), 1,57 (0,5H, br s), 1,66 - 1,78 (1H, m), 1,84 - 1,95 (1H, m), 1,97 - 2,07 (0,5H, m), 2,08 - 2,20 (1H, m), 2,68 - 2,87 (1H, m), 2,93 - 3,00 (3H, m), 3,98 - 4,07 (0,6H, m), 4,14 - 4,24 (0,4H, m), 4,52 - 4,72 (1H, m), 4,86 - 5,05 (1H, m), 5,08 - 5,22 (2H, m), 7,34 - 7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=436.

Промежуточное соединение 28. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-азидопиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли азид натрия (6,05 г, 93,1 ммоль) в перемешиваемый раствор 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-((метилсульфонил)окси)пиперидин-1,2-дикарбоксилата промежуточного соединения 27, 7,73 г, 18,6 ммоль) в DMF (50 мл). Реакционную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 21 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и фильтрат разбавляли водой (500 мл) и с помощью EtOAc (50 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (4×40 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl (2×40 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 35% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидопиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 28, 5,26 г, выход 78%) в виде бледно-желтой смолы и в виде смеси ротамеров и изомеров. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 1,38 (4H, br s), 1,46 (5H, br s), 1,64 - 1,74 (1H, m), 1,74 - 1,86 (1H, m), 1,95 (1H, ddd), 2,43 - 2,59 (1H, m), 3,13 - 3,38 (1H, m), 3,83 (0,5H, br d), 3,90 - 4,09 (1,5H, m), 4,68 (0,5H, br s), 4,88 (0,5H, br s), 5,10 - 5,36 (2H, m), 7,30 - 7,43 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Hoc]⁺=261.

Промежуточное соединение 29. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-(бут-2-енил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Растворяли 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидопиперидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 28, 5,26 г, 14,6 ммоль) и кротилбромид (2,65 мл, 21,9 ммоль) в THF (100 мл) и раствор охлаждали до -78°C. Добавляли по каплям раствор KHMDS (1М в 2-метилтетрагидрофуране, 22,0 мл, 22,0 ммоль) в течение 10 мин. Реакционную смесь медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали всего в течение 5 ч. Неочищенную реакционную смесь гасили с помощью насыщенного водного раствора NH₄Cl затем разбавляли насыщенным водным раствором NaCl и EtOAc (50 мл). Фазы разделяли и водный слой экстрагировали с помощью EtOAc (3×40 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaCl, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 2 до 40% EtOAc в гексанах) с получением 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-(бут-2-енил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 29, 5,13 г, выход 85%) в виде прозрачного бледно-желтого масла и в виде смеси диастереомеров, ротамеров и E/Z-олефинов. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ 1,37 (4H, br s), 1,39 (5H, s), 1,40 - 1,43 (1H, m), 1,45 - 1,54 (1H, m), 1,54 - 1,62 (1H, m), 1,67 (3H, dd), 1,79 - 1,89 (1H, m), 1,91 - 2,01 (2H, m), 2,03 - 2,08 (1H, m), 2,08 - 2,15 (1H, m), 2,38 (1H, dd), 2,50 - 2,66 (1H, m), 2,67 - 2,83

(1H, m), 2,94 - 3,11 (1H, m), 3,17 (1H, br dd), 3,32 (1H, ddd), 3,56 - 3,75 (2H, m), 3,99 (1H, dt), 5,05 - 5,25 (1H, m), 5,35 - 5,43 (1H, m), 5,49 - 5,64 (2H, m), 7,29 - 7,39 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=415.

Промежуточное соединение 30. анти-2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилат и промежуточное соединение 31. син-2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилат.

Добавляли бис-(1,5-циклооктадиен)диридия(I) дихлорид (415 мг, 0,618 ммоль) и бис-(дифенилфосфино)метан (475 мг, 1,24 ммоль) в высушенную в печи круглодонную колбу. Колбу закрывали и продували с помощью N₂. Твердые вещества растворяли в DCM (90 мл) и в раствор медленно добавляли 4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (2,70 мл, 18,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли 2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-(бут-2-енил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 29, 5,12 г, 12,4 ммоль) в виде раствора в DCM (30 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 46 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и осторожно гасили с помощью MeOH (2 мл) и водой (50 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали с помощью DCM (3×30 мл). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 20% EtOAc в гексанах) с получением анти-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил] пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 30, 2,01 г, выход 30%) в качестве первого элюированного диастереомера в виде бесцветной смолы и син-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 31, 2,07 г, выход 31%) в качестве второго элюированного диастереомера в виде бесцветной смолы.

Промежуточное соединение 30: ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,80 (2H, t), 1,25 (12H, s), 1,28 - 1,36 (2H, m), 1,38 (8H, s), 1,40 - 1,44 (2H, m), 1,44 - 1,48 (1H, m), 1,49 - 1,54 (1H, m), 1,67 - 1,78 (1H, m), 1,87 - 2,03 (2H, m), 2,07 - 2,19 (1H, m), 2,50 (1H, td), 3,42 (1H, ddd), 3,46 - 3,58 (1H, m), 3,66 - 3,77 (1H, m), 5,09 - 5,21 (2H, m), 7,29 - 7,43 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=565.

Промежуточное соединение 31: ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,79 (2H, br t), 1,25 (12H, s), 1,30 - 1,39 (2H, m), 1,39 - 1,44 (1H, m), 1,58 - 1,69 (1H, m), 1,86 - 1,94 (3H, m), 1,94 - 2,00 (1H, m), 2,01 - 2,09 (1H, m), 2,94 - 3,09 (1H, m), 3,52 - 3,66 (1H, m), 4,05 (1H, br d), 5,03 - 5,25 (2H, m), 7,29 - 7,39 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=565.

Промежуточное соединение 32. анти-2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилат, энантиомер 1 и промежуточное соединение 33. анти-2-Бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилат, энантиомер 2.

Подвергали анти-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 30, 2 г, 3,69 ммоль) хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 21,2 мм×250 мм, 5 мкм, температура=20°C, подвижная фаза=20% изопропанол:CO₂, УФ детекция при 220 нм, нагрузка=25 мг/ввод., конц.=100 мг/мл в MeCN, расход=70 мл/мин, давление на выходе =100 бар] с получением энантиомера 1 анти-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 32, 980 мг, выход 49%, 96% ee) в качестве первого элюированного энантиомера в виде бесцветной смолы, и энантиомера 2 анти-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 33, 957 мг, выход 48%, 98% ee) в качестве второго элюированного энантиомера в виде бесцветной смолы.

Промежуточное соединение 32: ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,80 (2H, t), 1,25 (12H, s), 1,27 - 1,35 (2H, m), 1,38 (9H, s), 1,41 - 1,47 (2H, m), 1,49 - 1,53 (1H, m), 1,68 - 1,78 (1H, m), 1,89 - 2,03 (2H, m), 2,08 - 2,18 (1H, m), 2,42 - 2,56 (1H, m), 3,42 (1H, ddd), 3,47 - 3,56 (1H, m), 3,68 - 3,77 (1H, m), 5,09 - 5,22 (2H, m), 7,31 - 7,42 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=565.

Промежуточное соединение 33: ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 0,80 (2H, t), 1,25 (12H, s), 1,27 - 1,35 (2H, m), 1,38 (9H, s), 1,41 - 1,48 (2H, m), 1,49 - 1,52 (1H, m), 1,67 - 1,77 (1H, m), 1,88 - 1,96 (1H, m), 1,96 - 2,03 (1H, m), 2,09 - 2,18 (1H, m), 2,50 (1H, td), 3,42 (1H, ddd), 3,51 (1H, dq), 3,67 - 3,76 (1H, m), 5,10 - 5,22 (2H, m), 7,32 - 7,41 (5H, m); масса/заряд: (ES⁺) [M+Na]⁺=565.

Промежуточное соединение 34. анти-4-Амино-1-трет-бутоксикарбонил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 1.

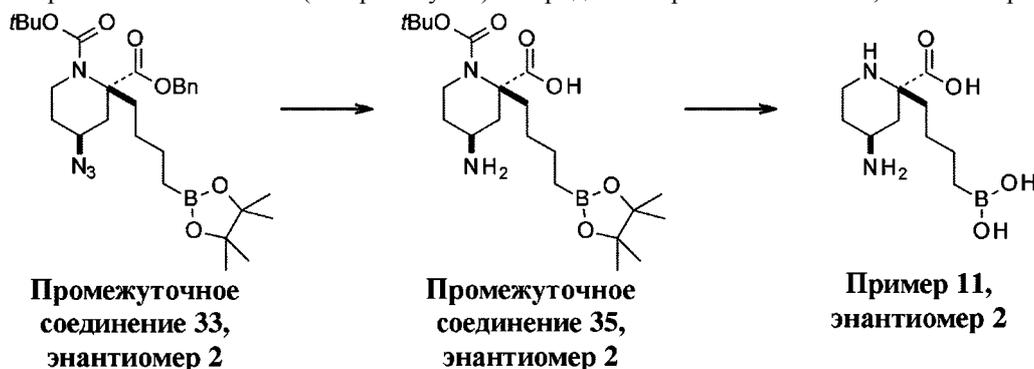
Добавляли Pd/C (10 вес.%, 50 мг, 0,047 ммоль) в раствор анти-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилата, энантиомера 1 (промежуточного соединения 32, 250 мг, 0,46 ммоль), в EtOAc (3 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH (5 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 55% MeOH в DCM) с получением анти-4-амино-1-трет-

бутоксикарбонил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновой кислоты, энантиомера 1 (промежуточного соединения 34, 159 мг, выход 82%), в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 0,64 (2H, td), 1,16 (12H, s), 1,18 - 1,25 (2H, m), 1,25 - 1,30 (2H, m), 1,32 (9H, s), 1,34 - 1,46 (2H, m), 1,49 - 1,61 (1H, m), 1,84 - 1,99 (2H, m), 2,91 - 3,04 (1H, m), 3,27 (1H, br s), 3,37 - 3,49 (2H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=427$.

Пример 10. анти-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 1.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,58 мл, 7,5 ммоль) в перемешиваемый раствор анти-4-амино-1-трет-бутоксикарбонил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновой кислоты, энантиомера 1 (промежуточное соединение 34, 159 мг, 0,37 ммоль), в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et_2O (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (136 мг, 1,12 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et_2O (20 мл) и водой (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et_2O . 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 анти-4-амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты, энантиомера 1 (пример 10, 84 мг, выход 92%), в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,75 (2H, t), 1,18 - 1,29 (2H, m), 1,30 - 1,42 (3H, m), 1,43 - 1,52 (1H, m), 1,55 - 1,65 (1H, m), 1,65 - 1,73 (1H, m), 1,96 - 2,03 (1H, m), 2,44 - 2,53 (1H, m), 2,95 (1H, td), 3,04 (1H, tt), 3,11 - 3,19 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=245$.

Пример 11. анти-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 2



Промежуточное соединение 35. анти-4-Амино-1-трет-бутоксикарбонил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 2

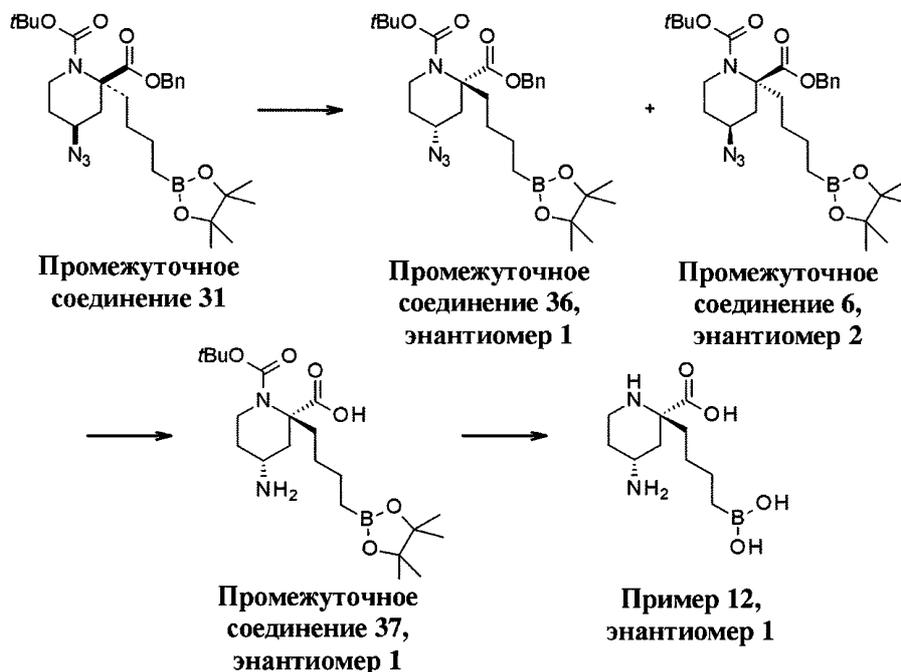
Добавляли Pd/C (10 вес.%, 25 мг, 0,023 ммоль) в раствор анти-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилата, энантиомера 2 (промежуточного соединения 33, 138 мг, 0,25 ммоль), в смеси EtOAc/изопропанол (2:1, 3 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом $\times 3$) при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH (5 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния с получением анти-4-амино-1-трет-бутоксикарбонил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновой кислоты, энантиомера 2 (промежуточного соединения 35, 118 мг, выход 109%) в виде белого твердого вещества и в виде смеси ротамеров. Неочищенный материал переносили на следующую стадию непосредственно без дополнительной очистки. ^1H ЯМР (500 МГц, CD_2Cl_2) δ 0,61 - 0,80 (2H, m), 0,93 - 1,15 (2H, m), 1,18 - 1,24 (12H, m), 1,24 - 1,38 (3H, m), 1,42 (9H, br s), 1,47 - 1,67 (2H, m), 1,70 - 1,91 (1H, m), 1,97 - 2,15 (1H, m), 2,16 - 2,34 (1H, m), 2,44 (1H, br s), 3,20 - 3,40 (1H, m), 3,55 (2H, br s), 8,35 (2H, br s); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=427$.

Пример 11. анти-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 2.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,43 мл, 5,5 ммоль) в перемешиваемый раствор анти-4-амино-1-трет-бутоксикарбонил-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-2-карбоновой кислоты, энантиомера 2 (промежуточное соединение 35, 118 мг, 0,277 ммоль), в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (2,0 мл, 2,0 ммоль) и Et_2O (2 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (101 мг, 0,83 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавляли с помощью Et_2O (20 мл) и водой (5 мл) и слои разделяли. Водный слой промывали с помощью Et_2O . 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). Полученный материал дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (RediSep Rf Gold® C18, от 0 до 95% ацетонитрила в воде) с получением анти-4-амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты, энантиомера 2 (примера 11,

41 мг, выход 61%), в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 0,70 (2H, t), 1,14 - 1,24 (2H, m), 1,24 - 1,37 (3H, m), 1,37 - 1,45 (1H, m), 1,51 - 1,59 (1H, m), 1,59 - 1,67 (1H, m), 1,91 - 1,98 (1H, m), 2,43 (1H, dt), 2,89 (1H, td), 2,98 (1H, tt), 3,07 - 3,13 (1H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{H}]^+=245$.

Пример 12. син-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота, энантиомер 1



Промежуточное соединение 36. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2S,4R)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат (энантиомер 1) и промежуточное соединение 6. 2-Бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилат (энантиомер 2).

Подвергали син-2-бензил-1-(трет-бутил)-4-азидо-2-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил]пиперидин-1,2-дикарбоксилат (промежуточное соединение 31, 2,0 г, 3,7 ммоль) хиральной SFC [колонка (S,S)Whelk-O1, 4,6 мм×100 мм, 5 мкм, температура=20°C, подвижная фаза=20% изопропанол:CO₂, УФ детекция при 220 нм, нагрузка=25 мг/ввод., конц.=100 мг/мл в MeCN, расход=70 мл/мин, давление на выходе=100 бар] с получением энантиомера 1 син-2-бензил-1-(трет-бутил)-(2S,4R)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 36, 994 мг, выход 49%, 98% ee) в качестве первого элюированного энантиомера в виде бесцветной смолы, и энантиомера 2 син-2-бензил-1-(трет-бутил)-(2R,4S)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 6, 1,04 г, выход 51%, 98% ee) в качестве второго элюированного энантиомера в виде бесцветной смолы. Абсолютную стереохимию энантиомера 2 определяли с помощью SFC при сравнении с ранее синтезированным промежуточным соединением 6. Абсолютную стереохимию промежуточного соединения 36 присваивали аналогично. Промежуточное соединение 36: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,79 (2H, brt), 1,25 (12H, s), 1,29 - 1,36 (1H, m), 1,38 (1H, br d), 1,41 (11H, s), 1,56 - 1,68 (1H, m), 1,85 - 1,94 (3H, m), 1,97 (1H, br d), 2,05 (1H, br dd), 2,94 - 3,07 (1H, m), 3,54 - 3,65 (1H, m), 4,03 (1H, t), 5,06 - 5,25 (2H, m), 7,30 - 7,39 (5H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{Na}]^+=565$.

Промежуточное соединение 6: ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 0,79 (2H, brt), 1,25 (12H, s), 1,30 - 1,36 (1H, m), 1,36 - 1,39 (1H, m), 1,41 (11H, s), 1,56 - 1,67 (1H, m), 1,85 - 1,94 (3H, m), 1,94 - 2,01 (1H, m), 2,05 (1H, br dd), 2,96 - 3,05 (1H, m), 3,54 - 3,64 (1H, m), 4,01 - 4,05 (1H, m), 5,06 - 5,23 (2H, m), 7,29 - 7,38 (5H, m); масса/заряд: (ES^+) $[\text{M}+\text{Na}]^+=565$.

Промежуточное соединение 37. (2S,4R)-4-Амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли Pd/C (10 вес.%, 50 мг, 0,047 ммоль) в раствор син-2-бензил-1-(трет-бутил)-(2S,4R)-4-азидо-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-1,2-дикарбоксилата (промежуточного соединения 36, 250 мг, 0,46 ммоль) в EtOAc (3 мл). Суспензию перемешивали в атмосфере водорода (баллон, колбу вакуумировали и снова заполняли водородом ×3) при комнатной температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH (5 мл), фильтровали через диатомовую землю и концентрировали до сухого состояния. Полученный осадок очищали с помощью флэш-хроматографии на диоксиде кремния (от 5 до 40% MeOH в DCM) с получением (2S,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 37, 149 мг, выход 76%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР

(500 МГц, CD₂Cl₂) δ 0,71 (2H, brt), 1,05 - 1,15 (1H, m), 1,19 (14H, s), 1,29 - 1,37 (2H, m), 1,40 (9H, s), 1,75 - 1,94 (1H, m), 1,95 - 2,20 (3H, m), 2,23 - 2,48 (1H, m), 3,02 (1H, br s), 3,54 (1H, br s), 3,92 (1H, br s), 8,64 (3H, br s); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=427.

Пример 12. (2S,4R)-4-Амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновая кислота.

Добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,43 мл, 5,5 ммоль) в перемешиваемый раствор (2S,4R)-4-амино-1-(трет-бутоксикарбонил)-2-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)бутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (промежуточного соединения 37, 146 мг, 0,342 ммоль) в DCM (2 мл) при комнатной температуре. После 2 ч раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный осадок растворяли в 1 М HCl (водн.) (3,0 мл, 3,0 ммоль) и Et₂O (3 мл). Добавляли фенолбороновую кислоту (125 мг, 1,03 ммоль) и перемешивали прозрачный двухфазный раствор при комнатной температуре в течение 4 ч. Смесь разбавляли с помощью Et₂O (20 мл) и водой (5 мл) 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-амино-2-(4-боронобутил)пиперидин-2-карбоновой кислоты (пример 12, 63 мг, выход 75%). ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 0,70 - 0,82 (2H, m), 1,10 - 1,31 (2H, m), 1,35 - 1,44 (2H, m), 1,45 - 1,54 (1H, m), 1,62 (1H, dd), 1,76 (1H, ddd), 1,84 - 1,94 (1H, m), 2,00 - 2,08 (1H, m), 2,18 (1H, ddd), 3,07 (1H, td), 3,22 (1H, dt), 3,33 (1H, tt); масса/заряд: (ES⁺) [M+H]⁺=245.

Пример 13. Биологическая активность соединений из примеров 1-12.

Ингибирующие эффекты соединений из примеров 1-12 в отношении активности аргиназы 1 и аргиназы 2 человека определяли количественно посредством измерения образования тиольной группы из тиааргинина с применением рекомбинантной аргиназы 1 или аргиназы 2, полученной из E. coli. Тиольную группу определяли с помощью реактива Элмана, 5,5'-дитио-бис-(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 (TNB²⁻) при 412 нм.

Анализы проводили в чистых 384-луночных планшетах (Greiner, № по кат. 781101). Различные концентрации соединений из примеров 1-12 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, brj 35, 0,045 вес./об.% и 100 мкМ MnCl₂. Вторая предварительная смесь содержит недавно размороженный 0,5 мМ тиааргинин в буфере для анализа. Пятнадцать микролитров первой предварительной смеси распределяли в планшеты для анализа, содержащие соединения из примеров 1-12, центрифугировали и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего добавляли пятнадцать 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:

$$\% \text{ эффект соединения} = 100 \times [(X - \text{min}) / (\text{max} - \text{min})],$$

где X представляет собой нормализованное значение для соединения на основе минимального (среда-носитель) и максимального (эталонное соединение) контролей ингибирования.

Концентрацию соединений из примеров 1-12, 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	0,003	0,004
2	0,029	0,024
3	0,080	0,059
4	0,035	0,027
5	0,025	0,021
6	0,018	0,015
7	0,023	0,021
8	0,031	0,024
9	0,234	0,180
10	20,149	53,109
11	3,151	4,368
12	2,197	2,542

Пример 14. Исследования биологической доступности.

Соединения из примеров 2, 3, и 4 являются пролекарственными формами соединения из примера 1. Следующее фармакокинетическое исследование проводили для демонстрации биологической доступности соединений из примера 1 и из примера 2. Соединение из примера 2 было составлено в 0,9 вес./об.%, солевом растворе с 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 соединение из примера 2 составляли в деионизированной воде с pH 4 (регулировали с помощью 1 М HCl) и производили дозирование при 5 мг/кг с помощью желудочного зонда каждому двум самцам 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 из примера 1 и из примера 2, получали путем 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), Vd_{ss} (л/кг), C_{max} (мкМ), AUC (мкМ·ч), t_{max} (ч) и %F как для соединения из примера 1, так и для соединения из примера 2. Абсолютную биологическую доступность определяли путем сравнения AUC, нормализованной по PO дозе соединения из примера 1, если дозирование осуществляют как для соединения из примера 2, относительно AUC, нормализованной по IV дозе соединения из примера 1, если дозирование осуществляют как для соединения из примера 1. При необходимости измеренные и ненормализованные дозы применяли для расчета биодоступности. Аналогичным образом, такую же процедуру повторяли для соединений из примеров 3 и 4. Результаты показаны в табл. 3-5. Эти результаты указывают на то, что биологическая доступность может быть повышена с помощью включения некоторых фрагментов аминокислот в виде пролекарств.

Таблица 3

	Пример 2	Пример 1
Cl (мл/мин./кг)	16,3 #	8,5 *
Vd _{ss} (л/кг)	0,25 #	0,23 *
C _{max} PO (мкМ)	0,35 #	2,5 #
AUC PO (мкМ·ч.)	0,29 #	23,7 #
T _{max} (ч.)	0,25 #	2,3 #
%F	2,0 #	82 #

Наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

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

NV - нет окончательного значения.

Таблица 4

	Пример 3	Пример 1
Cl (мл/мин./кг)	13,5 #	8,5 *
Vdss (л/кг)	0,22 #	0,23 *
Cmax PO (мкМ)	0,64 #	2,0 #
AUC PO (мкМ·ч.)	1,1 #	25,7 #
Tmax (ч.)	0,75 #	2,5 #
%F	5,2 #	78 #

Наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

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

NV - нет окончательного значения.

Таблица 5

	Пример 4	Пример 1
Cl (мл/мин./кг)	180 #	8,5 *
Vdss (л/кг)	NV #	0,23 *
Cmax PO (мкМ)	NV #	1,0 #
AUC PO (мкМ·ч.)	NV #	6,1 #
Tmax (ч.)	NV #	1,5 #
%F	NV #	20 #

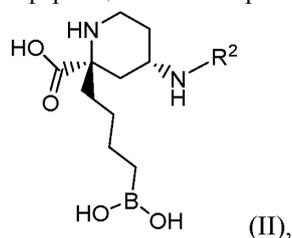
Наблюдаемое значение, если производится дозирование в виде пролекарства.

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

NV - нет окончательного значения.

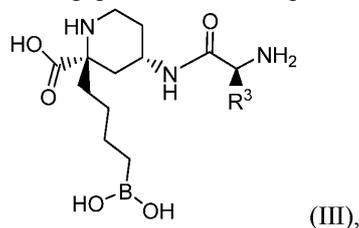
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

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



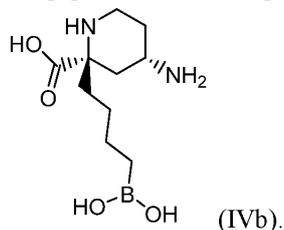
где R² представляет собой -H или -C(O)CH(R^{2a})NH₂ и R^{2a} выбран из -H или -(C₁-C₆)алкила.

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

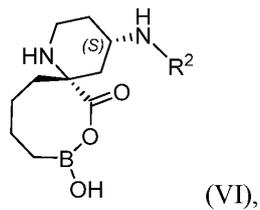


где R³ выбран из -H или -(C₁-C₄)алкила.

3. Соединение формулы (IVb) или его фармацевтически приемлемая соль

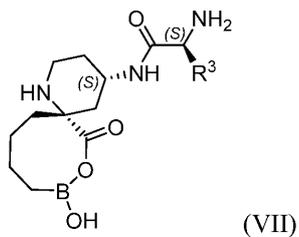


4. Соединение формулы (VI) или его фармацевтически приемлемая соль



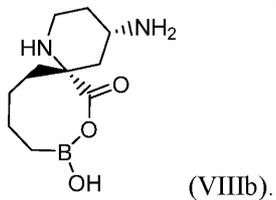
где R^2 представляет собой -H или $-C(O)CH(R^{2a})NH_2$ и R^{2a} выбран из -H или $-(C_1-C_6)$ алкила.

5. Соединение формулы (VII) или его фармацевтически приемлемая соль

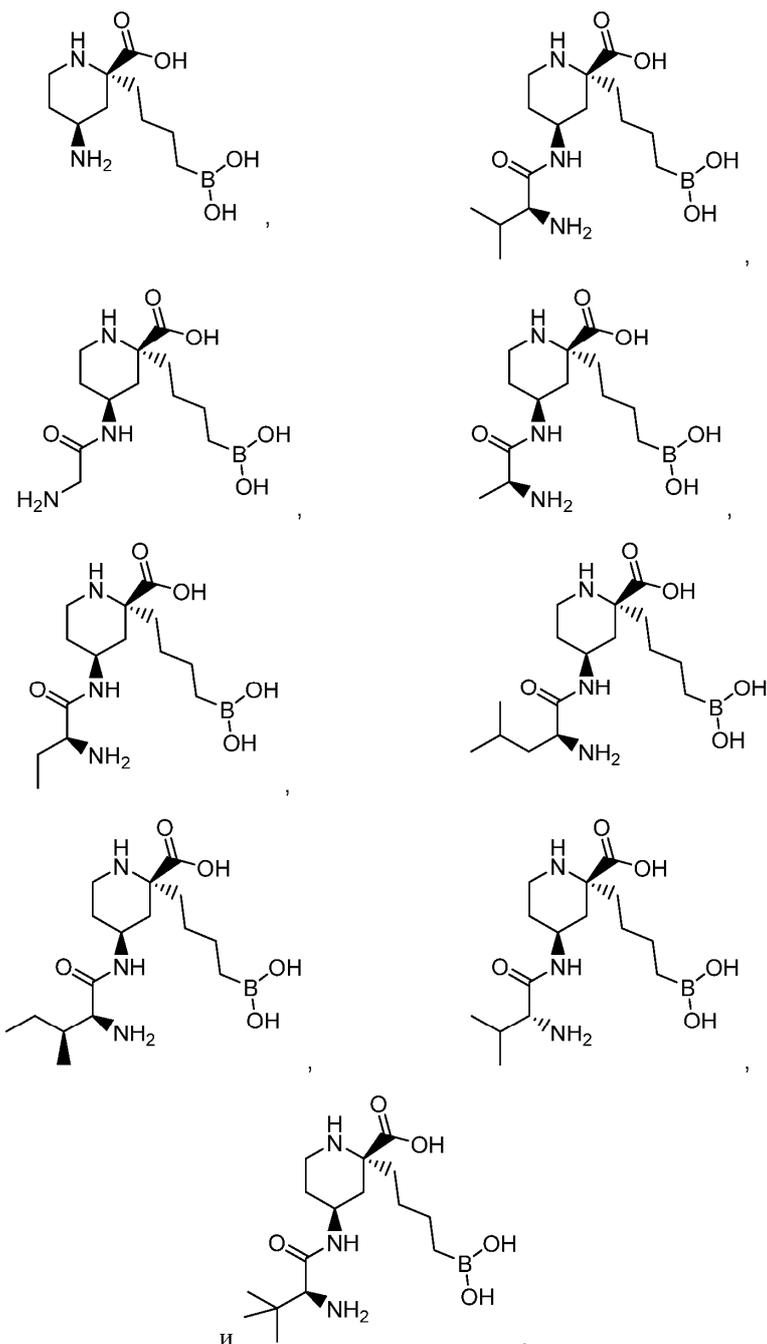


где R^3 выбран из -H или $-(C_1-C_4)$ алкила.

6. Соединение формулы (VIIIb) или его фармацевтически приемлемая соль



7. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из



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

9. Способ лечения рака у пациента, предусматривающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли.

10. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения рака.

11. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака.

12. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения рака.

13. Способ лечения респираторного воспалительного заболевания у пациента, предусматривающий введение пациенту соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли.

14. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения респираторного воспалительного заболевания.

15. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли в изготовлении лекарственного препарата для лечения респираторного воспалительного заболевания.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемую соль, для лечения респираторного воспалительного заболевания.

