

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390791 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.31

(22) Дата подачи заявки
2019.08.30

(51) Int. Cl. *A61K 31/45* (2006.01)
C07D 211/76 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 498/04 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ИНГИБИТОРА MDM2

(31) 62/725,574

(32) 2018.08.31

(33) US

(62) 202190632; 2019.08.30

(71) Заявитель:
ЭМДЖЕН, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Кейлл Себастьян, Корбетт Майкл,
Смит Остин (US)

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

(57) Изобретение относится к промышленным способам получения 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусной кислоты, а также ее промежуточных соединений.

202390791

A1

A1

202390791

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ИНГИБИТОРА MDM2

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

В настоящем изобретении предлагаются способы получения 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусной кислоты (“соединение А”) и ее промежуточных соединений.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

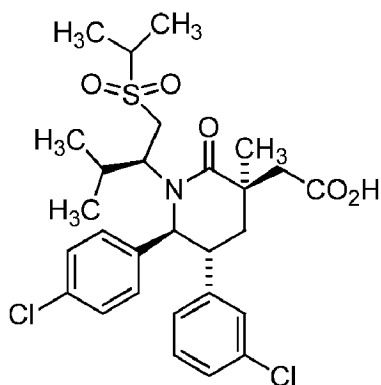
p53 представляет собой опухолевый супрессор и фактор транскрипции, который реагирует на клеточный стресс, активируя транскрипцию множества генов, участвующих в терминации клеточного цикла, апоптозе, старении и репарации ДНК. В отличие от нормальных клеток, которые редко вызывают активацию p53, опухолевые клетки подвергаются постоянному клеточному стрессу в результате различных повреждающих факторов, включая гипоксию и активацию проапоптотического онкогена. Таким образом, существует значительное селективное преимущество для инактивации пути p53 в опухолях, и было высказано предположение, что устранение функции p53 может быть предпосылкой для выживания опухоли. В подтверждение этого подхода, три группы исследователей использовали мышиные модели для демонстрации того, что отсутствие функции p53 является постоянным требованием для поддержания развившихся опухолей. Когда исследователи восстановили функцию p53 в опухолях с инактивированным p53, то опухоли регрессировали.

В 50% солидных опухолей и 10% жидких опухолей p53 инактивируется мутацией и/или утрачивается. При злокачественной опухоли, другие основные участники пути p53 также изменяются генетически или эпигенетически. MDM2, онкобелок, ингибирует функцию p53 и активируется амплификацией гена с частотой случаев, которая, как сообщается, достигает 10%. MDM2, в свою очередь, ингибируется другим опухолевым супрессором, p14ARF. Было сделано предположение, что нисходящие изменения p53 могут быть ответственны, по крайней мере частично, за инактивацию пути p53 в опухолях p53^{WT}. В поддержку этой концепции, некоторые опухоли p53^{WT}, по-видимому, обладают пониженной апоптотической способностью, хотя их способность подвергаться терминации клеточного цикла остается неизменной. Одна из стратегий лечения злокачественной опухоли включает использование небольших молекул, которые связывают MDM2 и нейтрализуют его взаимодействие с p53. MDM2 ингибирует активность p53 посредством трех механизмов: 1) действуя как убиквитинлигаза E3, способствуя деградации p53; 2) связывание и блокирование домена активации транскрипции p53; и 3) экспорт p53 из ядра в цитоплазму. Все три механизма могут быть заблокированы путем нейтрализации взаимодействия MDM2-p53. В частности, эту терапевтическую стратегию можно применить к опухолям, которые являются p53^{WT}, и исследования с низкомолекулярными ингибиторами MDM2 дали многообещающее снижение роста опухоли как *in vitro*, так и *in vivo*. Кроме того, у пациентов с p53-

инактивированными опухолями стабилизация p53 дикого типа в нормальных тканях путем MDM2 ингибирования может обеспечить селективную защиту нормальных тканей от митотических ядов.

Настоящее изобретение относится к соединению, способному ингибировать взаимодействие между p53 и MDM2 и активировать нижележащие эффекторные гены p53. Соединение по настоящему изобретению, как таковое, может применяться в лечении злокачественных опухолей, бактериальных инфекций, вирусных инфекций, язв и воспалений. В частности, соединение по настоящему изобретению применяется для лечения солидных опухолей, таких как опухоли молочной железы, толстой кишки, легких и простаты; и опухоли жидких тканей, такие как лимфомы и лейкемии. В контексте настоящего документа, MDM2 относится к белку MDM2 человека, а p53 относится к белку p53 человека. MDM2 человека также может называться HDM2 или hMDM2.

Соединение, 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусная кислота (также называемая здесь соединением А), является ингибитором MDM2 и имеет следующую химическую структуру.

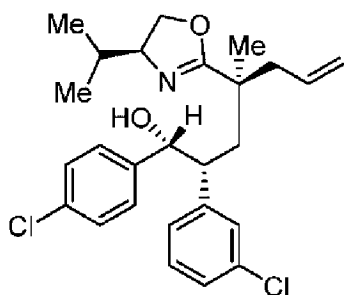


Соединение А

Соединение А описано в опубликованной заявке РСТ №WO 2011/153509 (пример № 362) и изучается в клинических исследованиях на человеке для лечения различных видов злокачественных опухолей. Настоящее изобретение обеспечивает усовершенствованные способы получения соединения А, а также его промежуточных соединений.

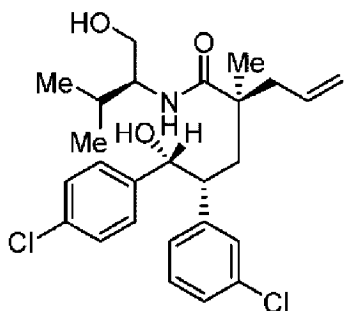
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном из вариантов осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ получения следующего соединения (**DHO**)



DHO,

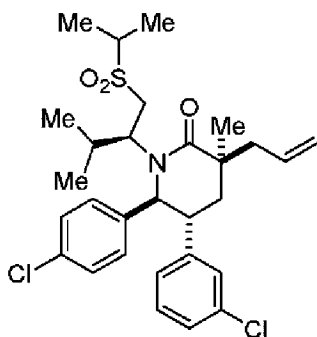
процесс, включающий: взаимодействие соединения (ABA)



ABA

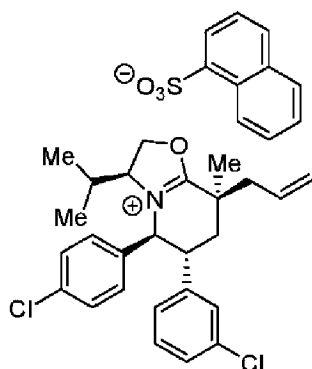
с метилсульфатом метоксиметилен-*N*, *N*-диметилиминия. В одном из вариантов осуществления, это взаимодействие осуществляется в присутствии основания. В конкретном варианте осуществления, основание представляет собой соль щелочного металла или соль щелочноземельного металла, такую как, например, KOAc, NaOAc, LiOAc, CaCO₃ и K₂CO₃. В одном из вариантов осуществления, взаимодействие осуществляется в растворителе. В конкретном варианте осуществления, растворитель представляет собой бензол, толуол, о-ксилол, м-ксилол, п-ксилол, гексан, тетрагидрофуран, этилацетат, НМРА, НМРТ, ДМСО, этиленгликоль, ДМЭ, ДМФ, диэтиловый эфир, ацетонитрил, метанол, этанол, ацетон или их смеси.

В одном из вариантов осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ получения соединения (SUL).



SUL,

включающий: взаимодействие соединения



с изопропилирующим агентом, таким как, но им не ограничиваясь, изопропилсульфинат хлорида цинка. В одном из вариантов осуществления, взаимодействие осуществляют в присутствии соли щелочноземельного металла. В конкретном варианте осуществления, соль щелочноземельного металла представляет собой соль магния, например, но ими не ограничиваясь, MgBr_2 или MgCl_2 . В конкретном варианте осуществления, изопропилирующий агент получают *in situ* из изопропилмагнийхлорида. В одном из вариантов осуществления, взаимодействие осуществляется при температуре от 100°C до 200°C , например, от 100°C до 150°C , например, при 120°C , или от 150°C до 200°C , например, при 180°C .

В одном из вариантов осуществления, настоящее изобретение обеспечивает кристаллическую форму (1*R*,2*R*,4*S*)-2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)-4-((*S*)-4-изопропил-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-4-метилгепт-6-ен-1-ола (**DHO**), характеризующегося порошковой рентгеновской дифрактограммой с рефлексами, содержащей пики интенсивности при углах $7,3^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $14,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $15,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $15,9^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ и $23,1^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ . В одном из вариантов осуществления, порошковая рентгеновская дифрактограмма с рефлексами кристалла **DHO** дополнительно содержит пики при углах $8,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $10,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $11,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $13,4^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $18,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ и $22,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ . В одном из вариантов осуществления, порошковая рентгеновская дифрактограмма с рефлексами кристалла **DHO** дополнительно содержит один или несколько пиков при углах $6,3^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $10,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $11,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $12,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $14,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $15,2^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $17,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $17,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $17,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $18,4^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $19,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $19,7^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $19,9^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $20,7^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $21,2^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $21,3^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $22,4^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $23,6^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $24,2^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $24,9^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $25,7^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $26,3^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $27,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $28,3^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $28,7^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $29,3^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $29,7^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $30,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $31,4^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $31,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $33,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $34,2^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $35,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $37,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ и $37,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ . В одном из вариантов осуществления, кристаллическая форма **DHO** представляет собой кристаллический ангидрат. В одном из вариантов осуществления, порошковую дифракцию рентгеновских лучей с рефлексами кристаллического **DHO** осуществляют с использованием $\text{Cu-K}\alpha$ -излучения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Следующие фигуры представляют конкретные описанные варианты осуществления изобретения и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения каким-либо иным образом.

На фиг.1 показана скорость превращения (3*S*,5*R*,6*R*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2*H*-пиран-2-она (**DLAC**) в (S)-2-((2*R*,3*R*)-2-(3-хлорфенил)-3-(4-хлорфенил)-3-гидроксипропил)-N-((S)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-2-метилпент-4-енамид (**ABA**) с течением времени при 60°C.

На фиг.2 показана скорость преобразования **DLAC** в **ABA** с течением времени при 115°C.

На фиг.3 показана растворимость (1*R*,2*R*,4*S*)-2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)-4-((S)-4-изопропил-4,5-дигидрооксазол-2-ила)-4-метилгепт-6-ен-1-ола (**DHO**) в процессе кристаллизации при 25°C.

На фиг.4 показан выход (3*S*,5*R*,6*S*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (**SUL**) с течением времени с использованием изопропилсульфината хлорида магния при 120°C (14 мол.% воды (относительно (3*S*,5*S*,6*R*,8*S*)-8-аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазоло[3,2-а]пиридин-4-иум-нафталин-1-сульфоната, толуоловый полусольват (**OXOS**)) в реакционной смеси).

На фиг.5 показан выход **SUL** с течением времени с использованием изопропилсульфината хлорида магния при 180°C (11 мол.% воды (относительно **OXOS**) в реакционной смеси).

На фиг.6 показан ¹H ЯМР анализ различных форм изопропилсульфината в ТГФ-d₈.

На фиг.7 показан выход **SUL** с течением времени с использованием сульфината магния-ZnCl₂ при 120°C (17 мол.% воды (относительно **OXOS**) в реакционной смеси).

На фиг.8 показан выход **SUL** с течением времени с использованием сульфината магния-ZnCl₂ при 180°C (17 мол.% воды (относительно **OXOS**) в реакционной смеси).

На фиг.9 показано содержание (3*R*,5*R*,6*S*)-3-((1,2,4-триоксолан-3-ил)метил)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метилпиперидин-2-она (**OZO**), выраженное в % LC площади, относительно содержания воды, выраженного в массовых %, в реакционной смеси при 20°C.

На фиг.10 показана схема аппарата для непрерывного режима озонлиза и окисления Пинника.

На фиг.11 показано изображение аппарата для непрерывного озонлиза.

На фиг.12 показана схема аппарата для озонлиза в полунепрерывном режиме и окисления Пинника.

На фиг.13 показана скорость расхода **SUL** для озонлиза в полунепрерывном режиме.

На фиг.14 показано изменение барботажного устройства для развития технологии озонлиза.

На фиг.15 показана растворимость **232-DAB** в процессе кристаллизации.

На фиг.16 показана растворимость соединения А в процессе кристаллизации.

На фиг.17 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллического **ДНО**, определенная в режиме “на отражение”.

На фиг.18 показана порошковая рентгеновская дифрактограмма кристаллического **ДНО**, определенная в режиме “на отражение” с линейкой для обозначения позиции пиков.

На фиг.19 показана термограмма, полученная методом дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) кристаллического **ДНО**.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способам получения 2-((3R,5R,6S)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-1-((S)-1-(изопропилсульфонил)-3-метилбутан-2-ил)-3-метил-2-оксопиперидин-3-ил)уксусной кислоты (“соединение А”), а также к ее промежуточным соединениям и к способам получения этих промежуточных соединений.

В одном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает способ производства соединения А высокой чистоты.

В другом аспекте, в настоящем изобретении используется устойчивый в лабораторных условиях реагент Вильсмейера, метоксиметилен-*N*, *N*-диметилиминия метилсульфат (Corbett, MT; Caille, S., Synlett **2007**, 28, 2845), для достижения селективной активации *in situ* промежуточного соединения первичного спирта при получении соединения А.

В другом аспекте, в настоящем описании используется устойчивый в лабораторных условиях кристаллический изопропилирующий агент, изопропилсульфинат кальция, для высокопродуктивного получения сульфонового промежуточного продукта при получении соединения А.

В другом аспекте, в настоящем описании используется безопасная реакция озонолиза, проводимая в смеси водных растворителей в периодическом или непрерывном режиме производства в процессе получения соединения А.

В другом аспекте, настоящее изобретение обеспечивает кристаллическую форму (1*R*,2*R*,4*S*)-2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)-4-((*S*)-4-изопропил-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-4-метилгепт-6-ен-1-ола (**ДНО**), характеризующуюся порошковой рентгеновской дифрактограммой с рефлексами, включающей пики при углах $7,3^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $14,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $15,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $15,9^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$ и $23,1^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$. В одном из вариантов осуществления, порошковая рентгеновская дифрактограмма с рефлексами кристалла **ДНО** дополнительно содержит пики при углах $8,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $10,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $11,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $13,4^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $18,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, and $22,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$. В одном из вариантов осуществления, порошковая рентгеновская дифрактограмма с рефлексами кристалла **ДНО** дополнительно содержит один или несколько пиков при углах $6,3^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $10,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $11,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $12,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $14,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $15,2^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $17,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $18,4^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $19,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $19,7^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $19,9^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $20,7^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $21,2^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $21,3^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $22,4^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $23,6^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $24,2^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $24,9^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $25,7^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $26,3^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $27,0^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $28,3^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $28,7^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $29,3^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $29,7^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$, $30,8^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 2\theta$.

2θ , $31,4^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $31,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $33,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $34,2^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $35,8^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ , $37,0^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ и $37,5^\circ \pm 0,2^\circ$ 2θ . В одном из вариантов осуществления, кристаллическая форма **DHO** представляет собой кристаллический ангидрат. В одном из вариантов осуществления, порошковая рентгеновская дифрактометрия с рефлексами кристаллического **DHO** осуществляют с использованием Cu-K α -излучения.

В другом аспекте, настоящее описание обеспечивает контроль чистоты соединения А путем кристаллизации его соли 1,4-диазабицикло[2,2,2]октана (DABCO), которая может быть эффективно очищена.

В одном из вариантов осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ, подходящий для увеличения масштаба получения соединения А (99,9% LC площади) с общим выходом 49,8% от исходного вещества **DLAC**.

Термин “содержащий” подразумевает “открытый конец” (возможность расширения), включая указанный компонент, но не исключая при этом другие элементы.

Термин “терапевтически эффективное количество” относится к количеству соединения или сочетания терапевтически активных соединений, которое облегчает, ослабляет или устраняет один или несколько симптомов конкретного заболевания или состояния, или предотвращает или сдерживает наступление одного или нескольких симптомов конкретного заболевания или состояния.

Термины “пациент” и “субъект” могут использоваться взаимозаменяемо и относиться к животным, таким как собаки, кошки, коровы, лошади, овцы и человек. Конкретными пациентами являются млекопитающие. Термин “пациент” включает мужчин и женщин.

Термин “фармацевтически приемлемый” означает, что указанное вещество, такое как соединение по настоящему изобретению, или соль соединения, или препарат, содержащий соединение, или конкретный наполнитель, подходит для введения пациенту.

Термины “лечение”, “лечить” или “обработка” и т.п. включают превентивное (например, профилактическое) и паллиативное лечение.

Термин “вспомогательное вещество” относится к любой фармацевтически приемлемой добавке, носителю, разбавителю, адъюванту или другому ингредиенту, кроме активного фармацевтического ингредиента (API), который обычно включен в препарат и/или для введения пациенту.

Соединение(я) по настоящему изобретению можно вводить пациенту в терапевтически эффективном количестве. Соединение(я) можно вводить отдельно или как часть фармацевтически приемлемой композиции или препарата. Кроме того, соединение(я) или композиции можно вводить одновременно, например, посредством болюсной инъекции, многократно, например, с помощью серии таблеток, или вводить по существу непрерывно в течение периода времени, например, используя трансдермальную доставку. Также следует отметить, что доза соединения(й) может изменяться с течением времени.

Соединение(я) по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемые соли также можно вводить в сочетании с одним или несколькими дополнительными фармацевтически активными соединениями/агентами. Следует отметить, что дополнительные фармацевтически активные соединения/агенты могут быть обычной небольшой органической химической молекулой или могут быть макромолекулой, такой как белки, антитела, пептитела, ДНК, РНК или фрагменты таких макромолекул.

В случае, когда пациент должен получить или получает несколько фармацевтически активных соединений, эти соединения можно вводить одновременно или последовательно. Например, в случае таблеток, активные соединения могут находиться в одной таблетке или в отдельных таблетках, которые можно вводить единовременно или последовательно в любом порядке. Кроме того, следует признать, что композиции могут иметь разные формы. Например, одно или несколько соединений можно доставлять в виде таблетки, а другое можно вводить путем инъекции или перорально в виде сиропа. Предполагаются все сочетания, способы доставки и последовательности введения.

Термин “злокачественная опухоль” относится к физиологическому состоянию млекопитающих, которое характеризуется неконтролируемым ростом клеток. Общие классы злокачественных опухолей включают карциномы, лимфомы, саркомы и бластомы.

Соединение(я) по настоящему изобретению можно использовать для лечения злокачественной опухоли. Способы лечения злокачественной опухоли включают введение пациенту, который нуждается в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

Соединение(я) по настоящему изобретению можно использовать для лечения опухолей. Способы лечения опухоли включают введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

Изобретение также относится к применению соединения(й) по настоящему изобретению в производстве лекарственного средства для лечения такого состояния, как злокачественная опухоль.

Злокачественные опухоли, которые можно лечить с помощью соединения(й) по настоящему изобретению, включают, без ограничения, карциномы, такие как рак мочевого пузыря, груди, толстой кишки, прямой кишки, почек, печени, легкого (мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого), пищевода, желчного пузыря, яичников, поджелудочной железы, желудка, шейки матки, щитовидной железы, простаты и кожи (включая плоскоклеточный рак); гемопозитические опухоли лимфоидной линии клеток (включая лейкоз, острый лимфолейкоз, хронический миелогенный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, ворсинчатоклеточную лимфому и лимфому Беркетта); опухоли кроветворной ткани миелоидного происхождения (включая острые и хронические миелогенные лейкозы, миелодиспластический синдром и промиелоцитарный

лейкоз); опухоли мезенхимального происхождения (включая фибросаркому и рабдомиосаркому, а также другие саркомы, например, мягких тканей и костей); опухоли центральной и периферической нервной системы (включая астроцитому, нейробластому, глиому и шванномы); и другие опухоли (включая меланому, семиному, тератоканциному, остеосаркому, пигментная ксанодерма, кератокантома, фолликулярный рак щитовидной железы и саркома Капоши). Другие виды злокачественной опухоли, которые можно лечить с помощью соединения(й) по настоящему изобретению, включают рак эндометрия, рак головы и шеи, глиобластому, злокачественный асцит и злокачественные опухоли кроветворной ткани.

Конкретные виды злокачественных опухолей, которые можно лечить с помощью соединения(й) по настоящему изобретению, включают саркомы мягких тканей, злокачественные опухоли костей, такие как остеосаркома, опухоли молочной железы, злокачественная опухоль мочевого пузыря, синдром Ли-Фраумени, опухоли головного мозга, рабдомиосаркома, карцинома коры надпочечников, злокачественная опухоль толстой кишки, немелкоклеточный рак легких и острая гранулоцитарная лейкемия (AML).

В конкретном варианте осуществления изобретения, который относится к лечению злокачественных опухолей, злокачественная опухоль идентифицируется как p53 дикого типа (p53^{WT}). В другом конкретном варианте осуществления, злокачественная опухоль идентифицируется как p53^{WT} и мутант CDKN2A. В другом аспекте, настоящее изобретение обеспечивает диагностику определения того, каким пациентам следует вводить соединение по настоящему изобретению. Например, для определения статуса злокачественных клеток относительно p53 и/или CDKN2A, может быть взят и проанализирован образец злокачественных клеток пациента. В одном из аспектов, пациент со злокачественной опухолью, которая представляет собой p53^{WT}, будет выбран для лечения вместо пациентов со злокачественной опухолью, которая мутировала по сравнению с p53. В другом аспекте, выбирают пациента со злокачественной опухолью, одновременно являющейся p53^{WT} и имеющей мутантный белок CDKN2A, вместо пациента, не обладающего этими характеристиками. Процесс взятия злокачественных клеток для анализа хорошо известен специалистам в данной области. Термин “p53^{WT}” относится к белку, кодируемому последовательностью геномной ДНК № NC_000017, версия 9 (7512445..7531642) (база генетических данных); белку, кодируемому последовательностью кДНК № NM_000546 (база генетических данных); или белку, имеющему последовательность № NP_000537.3 (база генетических данных). Термин “CDKN2A мутант ” означает белок CDKN2A, который не относится к дикому типу. Термин “CDKN2A дикого типа” относится к белку, кодируемому последовательностью геномной ДНК № 9:21957751-21984490 (Ensembl ID); белку, кодируемому последовательностью кДНК № NM_000077 (база генетических данных) или NM_058195 9 (база генетических данных); или белку, имеющему последовательность № NP_000068 или NP_478102 (база генетических данных).

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к применению соединения(й) по настоящему изобретению в сочетании с одним или несколькими фармацевтическими средствами, которые являются ингибитором белка в пути фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K). Сочетание соединения(й) по настоящему изобретению с ингибиторами белков пути PI3K показали синергизм в анализах роста злокачественных клеток, включая усиленный апоптоз и уничтожение клеток. Примеры белков пути PI3K включают PI3K, mTOR и PKB (также известные как Akt). Белок PI3K существует в нескольких изоформах, включая α , β , δ или γ . Предполагается, что ингибитор PI3K, который можно использовать в сочетании с соединением по настоящему изобретению, может быть селективным в отношении одной или нескольких изоформ. Под селективным подразумевается, что соединение(я) ингибирует одну или несколько изоформ в большей степени, чем другие изоформы. Селективность представляет собой концепцию, хорошо известную специалистам в данной области, и ее можно измерить посредством хорошо известной активности в исследованиях *in vitro* или клеточных исследованиях. Предпочтительная селективность включает более чем 2-кратную, предпочтительно 10-кратную или более предпочтительно 100-кратную более высокую селективность в отношении одной или нескольких изоформ по сравнению с другими изоформами. В одном из аспектов, ингибиторы PI3K, которые можно использовать в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению, представляют собой селективный ингибитор PI3K α . В другом аспекте соединение представляет собой селективный ингибитор PI3K.

Примеры ингибиторов PI3K, которые можно использовать в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению, включают соединения, описанные, например, в WO2010/151791; WO2010/151737; WO2010/151735; WO2010/151740; WO2008/118455; WO2008/118454; WO2008/118468; US20100331293; US20100331306; US20090023761; US20090030002; US20090137581; US20090054405; US20090163489; US 20100273764; US20110092504; или WO2010/108074.

Известны соединения, которые ингибируют как PI3K, так и mTOR (двойные ингибиторы). В еще одном аспекте, настоящее изобретение предусматривает использование двойных ингибиторов PI3K и mTOR для использования в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению.

mTOR представляет собой белок в пути PI3K. Другим аспектом настоящего изобретения является применения ингибитора mTOR в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению. Подходящие ингибиторы mTOR, которые можно использовать в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению, включают ингибиторы, раскрытые, например, в WO2010/132598 и WO2010/096314.

PKB (Akt) также является белком в пути PI3K. Другим аспектом настоящего изобретения является использование ингибитора mTOR в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению. Ингибиторы PKB, которые

можно использовать в сочетании с соединением(соединениями) по настоящему изобретению, включают ингибиторы, раскрытые, например, в US 7354944; US 7700636; US 7919514; US 7514566; US 20090270445 A1; US 7919504; US 7897619; и WO 2010/083246.

Сочетания по настоящему изобретению также можно использовать совместно с лучевой терапией, гормональной терапией, оперативным вмешательством и иммунотерапией, которые хорошо известны специалистам в данной области.

Поскольку один аспект настоящего изобретения предполагает лечение заболевания/состояний посредством сочетания фармацевтически активных соединений, которые можно вводить отдельно, изобретение дополнительно относится к объединению отдельных фармацевтических композиций в форме набора. Набор включает две отдельные фармацевтические композиции: соединение по настоящему изобретению и второе фармацевтическое соединение. Набор включает контейнер для отдельных композиций, такой как разделенный сосуд или разделенный пакет из фольги. Дополнительные примеры контейнеров включают шприцы, коробки и пакеты. Обычно набор включает инструкции по использованию отдельных компонентов. Форма набора является в частности подходящей в случае, когда отдельные компоненты предпочтительно вводят в различных лекарственных формах (например, перорально и парентерально), вводят с разными интервалами дозирования или когда лечащему врачу или ветеринару необходимо титровать отдельные компоненты сочетания.

Примером такого набора является так называемая блистерная упаковка. Блистерные упаковки хорошо известны в упаковочной промышленности и широко используются для упаковки фармацевтических стандартных лекарственных форм (таблеток, капсул и т.п.). Блистерные упаковки обычно состоят из подложки из относительно жесткого материала, покрытой пленкой предпочтительно из прозрачного полимерного материала. В процессе упаковки в пластиковой пленке формируют углубления/карманы. “Карманы” имеют размер и форму упаковываемых таблеток или капсул. Затем таблетки или капсулы помещают в “карманы”, и подложка из относительно жесткого материала припаивается к полимерной пленке со стороны пленки, противоположной направлению, в котором были сформированы “карманы”. В результате таблетки или капсулы герметически упаковываются в “карманы” между полимерной пленкой и подложкой. Предпочтительно прочность подложки такова, что таблетки или капсулы можно извлекать из блистерной упаковки, вручную прикладывая давление к “карманам”, в результате чего в подложке, на месте выемки, образуется отверстие. Затем таблетку или капсулу можно удалить через указанное отверстие.

Набор может быть желательно снабжен памяткой, например, в виде цифр рядом с таблетками или капсулами, при этом цифры соответствуют дням приема лекарственного средства, в которые указанные таблетки или капсулы следует принимать внутрь. Другим примером такой памятки является календарь, напечатанный на карточке, например: “Первая неделя, понедельник, вторник,... и т.д., Вторая неделя, понедельник, вторник,... и

т.д.” и т.д. Будут очевидны другие варианты памяток. “Суточная доза” может представлять собой одну таблетку или капсулу или несколько пилюль или капсул, которые необходимо принимать в определенные сутки. Кроме того, суточная доза соединения по настоящему изобретению может состоять из одной таблетки или капсулы, тогда как суточная доза второго соединения может состоять из нескольких таблеток или капсул и наоборот. Памятка должна содержать эту информацию и способствовать правильному введению активных веществ.

Другой конкретный вариант осуществления изобретения относится к дозатору, предназначенному для выдачи суточных доз по отдельности в порядке их предполагаемого применения. Предпочтительно, чтобы дозатор был снабжен памяткой для дополнительного облегчения соблюдения пациентом схемы приема лекарственного средства. Примером такой памятки является механический счетчик, который показывает количество выданных суточных доз. Другим примером такой памятки является микрочип памяти с питанием от батарейки, связанный с жидкокристаллическим индикатором, или звуковой напоминающий сигнал, который, например, зачитывает вслух дату, когда принята последняя суточная доза, и/или напоминает, когда надо принять следующую дозу.

Соединение(я) по настоящему изобретению и другие фармацевтически активные соединения, если желательно, можно вводить пациенту перорально, ректально, парентерально (например, внутривенно, внутримышечно или подкожно), внутрицистернально, интравагинально, внутрибрюшинно, внутрезикально, местно (например, порошки, мази или капли) или в виде буккального или назального спрея. Предполагаются все способы, которые используются специалистами в данной области для введения фармацевтически активного вещества.

Композиции, подходящие для парентеральной инъекции, могут включать физиологически приемлемые стерильные водные или неводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии и стерильные порошки для приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Примеры подходящих водных и неводных носителей, разбавителей, растворителей или носителей включают воду, этанол, полиолы (пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, глицерин и т.п.), их подходящие смеси, растительные масла (такие как оливковое масло) и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Соответствующую текучесть можно поддерживать, например, за счет использования материалов покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и за счет использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции могут также содержать адъюванты, такие как консерванты, смачивающие, эмульгирующие и диспергирующие вещества. Предотвращение загрязнения композиций микроорганизмами может быть осуществлено путем использования различных антибактериальных и противогрибковых средств, например парабенов, хлорбутанола, фенола, сорбиновой кислоты и т.п. Также может быть

желательно включить изотонические вещества, например сахара, хлорид натрия и тому подобное. Продолжительное всасывание фармацевтических композиций для инъекций может быть достигнуто за счет использования веществ, замедляющих всасывание, например моностеарата алюминия и желатина.

Твердые лекарственные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах активное соединение смешано, по меньшей мере, с одним инертным обычным вспомогательным веществом (или носителем), таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат, или (a) наполнителями или разбавителями, такими как, крахмалы, лактоза, сахароза, маннит, и кремниевая кислота; (b) связующими веществами, такими как, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и аравийская камедь; (c) увлажнителями, например глицерин; (d) разрыхлителями, такими как, например, агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые комплексные силикаты и карбонат натрия; (e) замедлители растворения, например парафин; (f) ускорителями абсорбции, например, соединениями четвертичного аммония; (g) смачивающими веществами, такими как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина; (h) адсорбентами, такими как каолин и бентонит; и (i) смазывающими веществами, такими как, например, тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия или их смеси. В случае капсул и таблеток лекарственные формы могут также содержать буферные агенты. Также могут использоваться твердые композиции аналогичного типа в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием таких вспомогательных веществ, как лактоза или молочный сахар, а также полиэтиленгликоли с высокой молекулярной массой и тому подобное.

Твердые лекарственные формы, такие как таблетки, драже, капсулы, пилюли и гранулы, могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие, хорошо известные в данной области техники. Они также могут содержать вещества, придающее непрозрачность, а также могут иметь такой состав, который высвобождает активное соединение или соединения в определенной части кишечного тракта замедленным образом. Примерами составов для заливки, которые можно использовать, являются полимерные вещества и воски. Активное соединение также может быть в микрокапсулированной форме, если необходимо, с одним или несколькими из вышеуказанных вспомогательных веществ.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активных соединений, жидкая лекарственная форма может содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как вода или другие растворители, солюбилизующие вещества и эмульгаторы, как, например, этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, в

частности, хлопковое масло, арахисовое масло, масло из зародышей кукурузы, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофурфуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбитана, или смеси этих веществ, и тому подобное.

Помимо таких инертных разбавителей, композиция может также включать адъюванты, такие как смачивающие вещества, эмульгаторы и суспендирующие вещества, подсластители, ароматизаторы и отдушки. Суспензии, в дополнение к активному(ым) соединению(ям), могут содержать суспендирующие вещества, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбита и сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, или смеси этих веществ, и тому подобное.

Композиции для ректального введения являются предпочтительными суппозиториями, которые могут быть получены путем смешивания соединений по настоящему изобретению с подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозитория, которые являются твердыми при обычной комнатной температуре, но становятся жидкими при температуре тела и, следовательно, расплавляются в прямой кишке или полости влагалища и высвобождают активный компонент.

Лекарственные формы для местного введения соединения(й) по настоящему изобретению включают мази, порошки, спреи и лекарственные формы для ингаляции. Активные ингредиенты смешивают с физиологически приемлемыми носителями и любыми консервантами, буферами или, при необходимости, пропеллентами в стерильных условиях. Офтальмологические композиции, глазные мази, порошки и растворы также рассматриваются как включенные в объем настоящего изобретения.

Соединение(я) по настоящему изобретению можно вводить пациенту в дозах от около 0,1 до около 3000 мг в сутки. Для нормального взрослого человека с массой тела около 70 кг обычно достаточно дозировки в диапазоне от около 0,01 до около 100 мг на килограмм массы тела. Конкретная дозировка и диапазон доз, которые можно использовать, зависят от ряда факторов, включая потребности пациента, тяжесть состояния или заболевания, подлежащего лечению, и фармакологической активности вводимого соединения. Определение диапазонов доз и оптимальных доз для конкретного пациента находится в компетенции обычного специалиста в данной области.

Соединение(я) по настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтически приемлемых солей, сложных эфиров, амидов или пролекарств. Термин “соли” относится к неорганическим и органическим солям соединений по настоящему изобретению. Соли могут быть получены *in situ* во время конечного выделения и очистки соединения или путем отдельного взаимодействия очищенного соединения в форме свободного основания или кислоты с подходящим органическим или неорганическим основанием или кислотой и выделения образованной таким образом соли.

Примеры фармацевтически приемлемых сложных эфиров соединения(й) по настоящему изобретению включают сложные C₁-C₈ алкиловые эфиры. Приемлемые сложные эфиры также включают сложные C₅-C₇ циклоалкиловые эфиры, а также сложные арилалкиловые эфиры, такие как бензил. Обычно используются сложные C₁-C₄ алкиловые эфиры. Сложные эфиры соединения(й) по настоящему изобретению могут быть получены способами, хорошо известными в данной области.

Примеры фармацевтически приемлемых амидов соединения(й) по настоящему изобретению включают амиды, полученные из аммиака, первичных C₁-C₈ алкиламинов и вторичных C₁-C₈ диалкиламинов. В случае вторичных аминов, амин также может быть в форме 5- или 6-членной гетероциклоалкильной группы, содержащей, по меньшей мере, один атом азота. Обычно используются амиды, полученные из аммиака, C₁-C₃ первичных алкиламинов и C₁-C₂ вторичных диалкильных аминов. Амиды соединения(й) по настоящему изобретению могут быть получены способами, хорошо известными специалистам в данной области.

Термин “пролекарство” относится к соединениям, которые трансформируются *in vivo* с образованием соединения по настоящему изобретению. Трансформация может происходить посредством различных механизмов, например, посредством гидролиза в крови. Обзор применения пролекарств представлен T. Higuchi and W. Stella, “Prodrugs as New Delivery Systems”, Vol. 14, A.C.S. Symposium Series, и в Bioreversible Carriers in Drug Design, под редакцией Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Для иллюстрации, поскольку соединение(я) по изобретению содержит функциональную группу карбоновой кислоты, пролекарство может включать сложный эфир, образованный заменой атома водорода группы карбоновой кислоты, группой, такой как C₁-C₈ алкил, (C₂-C₁₂)алканоилоксиметил, 1-(алканоилокси)этил, содержащий от 4 до 9 атомов углерода, 1-метил-1-(алканоилокси)этил, содержащий от 5 до 10 атомов углерода, алкоксикарбонилоксиметил, содержащий от 3 до 6 атомов углерода, 1-(алкоксикарбонилокси)этил, содержащий от 4 до 7 атомов углерода, 1-метил-1-(алкоксикарбонилокси)этил, содержащий от 5 до 8 атомов углерода, N-(алкоксикарбонил)аминометил, содержащий от 3 до 9 атомов углерода, 1-(N-(алкоксикарбонил)аминометил, содержащий от 4 до 10 атомов углерода, 3-фталидил, 4-критонолактонил, гамма-бутиролактон-4-ил, ди-N, N-(C₁-C₂)алкиламино(C₂-C₃)алкил (например β-диметиламиноэтил), карбамоил-(C₁-C₂)алкил, N, N-ди(C₁-C₂)алкилкарбамоил-(C₁-C₂)алкил и пиперидино-, пирролидино- или морфолино(C₂-C₃)алкил.

Соединение(я) по настоящему изобретению может содержать асимметричные или хиральные центры и, следовательно, существовать в различных стереоизомерных формах. Подразумевается, что все стереоизомерные формы соединения(й), а также их смеси, включая рацемические смеси, образуют часть настоящего изобретения. Кроме того, настоящее изобретение предусматривает все геометрические и позиционные изомеры.

Например, если соединение содержит двойную связь, предусматриваются как цис-, так и транс-формы (обозначенные как Z и E соответственно), а также их смеси.

Смеси стереоизомеров, например, смеси диастереомеров, в зависимости от своих физико-химических различий могут быть разделены на свои индивидуальные стереохимические компоненты известными методами, такими как хроматография и/или фракционная кристаллизация. Энантиомеры также можно разделить путем превращения энантиомерной смеси в диастереомерную смесь путем взаимодействия с подходящим оптически активным соединением (например, спиртом), разделения полученных диастереомеров и последующего превращения (например, путем гидролиза) индивидуальных диастереомеров в соответствующие чистые энантиомеры.

Соединение(я) по настоящему изобретению могут существовать в несольватированной, а также в сольватированной формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода (гидрат), этанол и т.п. Настоящее изобретение предусматривает и охватывает как сольватированные, так и несольватированные формы, как указано в настоящем документе.

Также возможно, что соединение(я) по настоящему изобретению может существовать в различных таутомерных формах. Предполагаются все таутомеры соединения(й) по настоящему изобретению. Например, все таутомерные формы тетразольного фрагмента включены в настоящее изобретение. Также, например, в настоящее изобретение включены все кето-енольные или имин-енаминовые формы соединения(й).

Специалисты в данной области поймут, что названия соединений и структуры, содержащиеся в данном документе, могут быть основаны на конкретном таутомере соединения. Хотя можно использовать название или структуру только для конкретного таутомера, предполагается, что все таутомеры охватываются настоящим изобретением, если не указано иное.

Также предполагается, что настоящее изобретение охватывает соединения, которые синтезируются *in vitro* лабораторными методами, например, методами, хорошо известными химикам-синтетикам; или синтезированы методами *in vivo*, такими как метаболизм, ферментация, биологическая переработка и т.п. Также предполагается, что соединение(я) по настоящему изобретению может быть синтезировано с использованием сочетания методов *in vitro* и *in vivo*.

Настоящее изобретение также включает меченые изотопами соединения, которые идентичны соединениям, которые описаны в настоящем документе, за исключением того факта, что один или несколько атомов заменены атомом, атомная масса или массовое число которого отличается от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединение(я) по изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{16}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F и ^{36}Cl .

В одном из аспектов, настоящее изобретение относится к соединениям, в которых один или несколько атомов водорода заменены атомами дейтерия (^2H).

Соединение(я) по настоящему изобретению, которые содержит вышеуказанные изотопы и/или другие изотопы других атомов, включены в объем настоящего изобретения. Некоторые меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, например соединения, в которые включены радиоактивные изотопы, такие как ^3H и ^{14}C , используются в анализах распределения лекарственных средств и/или субстратов в тканях. Меченные тритием изотопы, т.е. ^3H , и углерод-14, т.е. ^{14}C , предпочтительны в частности вследствие простоты их получения и обнаружения. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, то есть ^2H , может обеспечить определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличенным периодом полужизни *in vivo*, или уменьшенными требованиями к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительным в некоторых случаях. Меченные изотопами соединения по настоящему изобретению, обычно, могут быть получены путем замены легко доступного меченого изотопами реагента на реагент, не меченный изотопами.

Соединение(я) по настоящему изобретению могут существовать в различных твердых состояниях, включая кристаллические состояния, а также в аморфном состоянии. Различные кристаллические состояния (также называемые полиморфами) и аморфное состояние соединения(й) по настоящему изобретению включены в объем настоящего изобретения, что предусмотрено в настоящем документе.

При синтезе соединения(й) по настоящему изобретению может быть желательно использовать определенные уходящие группы. Термин “уходящие группы” (“LG”) обычно относится к группам, которые могут быть замещены нуклеофилом. Такие уходящие группы известны в данной области. Примеры уходящих групп включают, но ими не ограничиваются, галогениды (например, I, Br, F, Cl), сульфонаты (например, мезилат, тозилат), сульфиды (например, SCH_3), N-гидроксукцинимид, N-гидроксibenзотриазол и тому подобное. Примеры нуклеофилов включают, но ими не ограничиваются, амины, тиолы, спирты, реактивы Гриньяра, анионные вещества (например, алкоксиды, амиды, карбанионы) и тому подобное.

Все патенты, опубликованные заявки на патенты и другие публикации, приведенные в настоящем документе, включены здесь посредством ссылки.

Конкретные экспериментальные примеры, представленные в настоящей заявке, иллюстрируют конкретные варианты осуществления настоящего изобретения. Эти примеры предназначены для иллюстрации и не предназначены для ограничения объема формулы изобретения каким-либо образом.

Спектры ^1H -ЯМР стандартно получали на спектрометрической системе Bruker Avance III 500 (Bruker, Billerica, MA), работающей на ^1H частоте 500,13 МГц, оборудованной зондом Bruker PABBI 5 мм с градиентом по оси z; или на спектрометре Bruker Avance II или Avance III 400, работающем на ^1H частоте 400,23 МГц,

оборудованном зондом Bruker PABBO 5 мм с градиентом по оси z. Для анализа ЯМР, образцы стандартно растворяли в 500 мкл ДМСО-d₆ или CD₃OD. Химические сдвиги ¹H относятся к сигналам остаточного растворителя от ДМСО-d₆ при δ2,50 и CD₃OD при δ3,30.

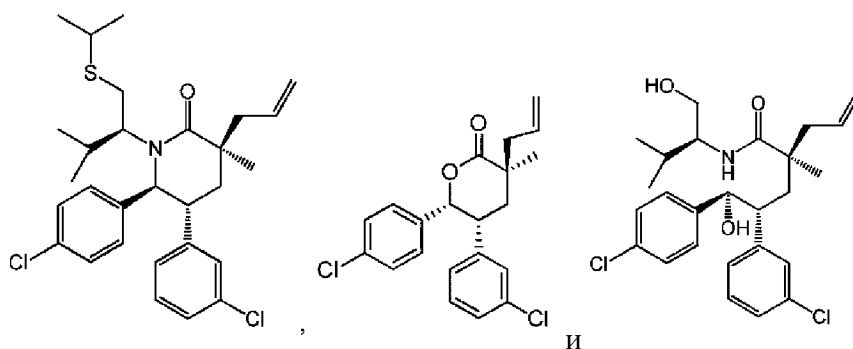
Значимые пики сводили в таблицу и стандартно включали количество протонов, мультиплетность (с - синглет; д - дублет; дд - дублет дублетов; т - триплет; кв - квартет; м - мультиплет; уш.с - уширенный синглет) и константу(ы) взаимодействия в Герцах (Гц). Масс-спектры электронной ионизации (EI) стандартно регистрировали на масс-спектрометре Agilent Technologies 6140 Quadrupole LC/MS (Agilent Technologies, Englewood, CO). Результаты масс-спектрометрии представлены в виде отношения массы к заряду, иногда с указанием относительной интенсивности каждого иона (в скобках). Исходные вещества в приведенных ниже примерах стандартно получали либо из коммерческих источников, например от компании Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, либо посредством опубликованных в литературе методов.

Данные порошковой рентгеновской дифракции (XRPD) получали с использованием системы рентгеновской дифракции Bruker D8 Discover (Bruker, Billerica, MA), оснащенной детектором Брауна и Cu-Kα-источником излучения, работающим в геометрии отражения по Брэггу-Брентано. Значения 2θ, в общем случае, определяли с точностью до ±0,2°. Образцы в общем случае подготавливали без какой-либо специальной обработки, за исключением применения незначительного давления для получения плоской поверхности. Образцы оценивали без покрытия, если не указано иное. Рабочие условия включали напряжение трубки 40 кВ и ток 40 мА. Переменную щель расходимости использовали с окном 3°. Размер шага составлял 0,019°2θ при времени шага 35,2 с, при этом диапазон сканирования составлял 3-40,4°.

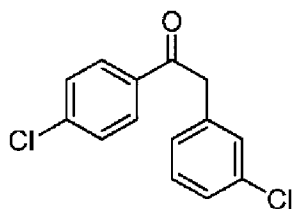
Дифференциальную сканирующую калориметрию (DSC) проводили на приборе Perkin Elmer DSC-7 или на приборе TA Instruments Q2000. Образцы получали в закрытой кювете для образцов из золота при скорости изменения температуры 5°C/мин от 20°C до около 350°C. DSC-термограмма кристаллического **ДНО** показана на фиг.19 с температурой плавления 73,86°C.

Примеры

Пример 1: Метод получения выбранных промежуточных продуктов



Стадия А. 2-(3-Хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанон.

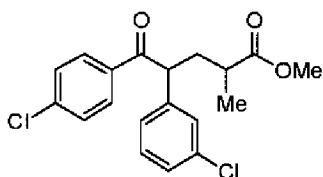


Бис(триметилсилил)амид натрия (1М в тетрагидрофуране, 117 мл) медленно добавляли к раствору 2-(3-хлорфенил)уксусной кислоты (10 г, 58,6 ммоль) при -78°C в тетрагидрофуране (58 мл) в течение 1 ч. После перемешивания при -78°C в течение 40 минут, добавляли раствор метил-4-хлорбензоата (10 г, 58,6 ммоль) в тетрагидрофуране (35 мл) в течение 10 минут. Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 3 часов, а затем оставляли нагреться до 25°C . Через два часа при 25°C , реакцию гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония и большую часть тетрагидрофурана удаляли при пониженном давлении. Остаток экстрагировали этилацетатом (2×100 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и фильтрат концентрировали. Продукт перекристаллизовывали из смеси эфир/пентан с получением 2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанона в виде твердого вещества белого цвета.

Альтернативный способ получения 2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанона

К смеси хлорбензола (170 л, 1684 моль), 3-хлорфенилуксусной кислоты (50 кг, 293 моль) и диметилформамида (0,7 л, 9 моль) при 0°C добавляли тионилхлорид (39,1 кг, 329 моль) в течение 30 мин. Смесь нагревали до 15°C и перемешивали в течение 6 часов. Смесь охлаждали до 0°C и добавляли хлорид алюминия (43 кг, 322 моль) в течение 1,5 часов. Смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 15 часов. К смеси добавляли воду (200 л) и этанол (200 л) и двухфазную смесь перемешивали в течение 2 часов. Фазы разделяли, и органическую фазу дважды промывали водным раствором тетранатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (3 масс%, 200 л) и один раз водой (200 л). К органической фазе в течение 15 минут добавляли гептан (1600 л). Суспензию перемешивали в течение 30 минут, охлаждали до -5°C и фильтровали. Отфильтрованное вещество сушили при 40°C в течение 20 часов. Выделяли 2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанон с выходом 83,6% (67,4 кг). ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ м.д.): 8,05 (м, 2H), 7,62 (м, 2H), 7,33 (м, 3H), 7,21 (ушир. д, $J=7,3$ Гц, 1H), 4,45 (с, 2H), MS (ESI) = 265,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

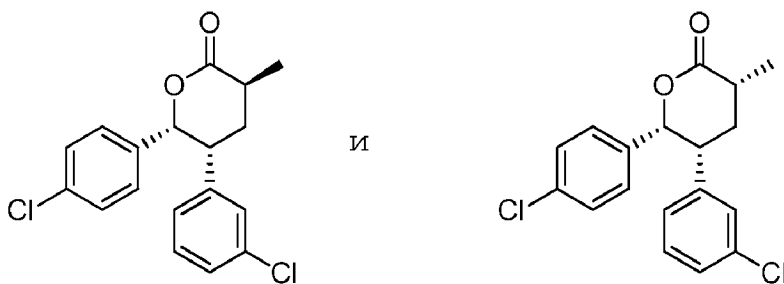
Стадия В. Метил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат



Метилметакрилат (12,65 мл, 119 ммоль) добавляли к раствору 2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанона (30 г, 113 ммоль) (полученный на стадии А) в тетрагидрофуране

(283 мл). Затем добавляли трет-бутоксид калия (1,27 г, 11,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Потом растворитель удаляли в вакууме и заменяли на этилацетат в количестве 300 мл. Органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором (50 мл), водой (3×50 мл) и насыщенным соевым раствором (50 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением метил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноата в виде смеси диастереомеров с соотношением около 1:1, ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 , δ м.д.): 7,87 (м, 2H), 7,38 (м, 2H), 7,27-7,14 (серии м, 4H), 4,61 (м, 1H), 3,69 (с, 1,5H), 3,60 (с, 1,5H), 2,45 (м, 1H), 2,34 (м, 1H), 2,10 (ддд, $J=13,9, 9,4, 5,5$ Гц, 0,5H), 1,96 (ддд, $J=13,7, 9,0, 4,3$ Гц, 0,5H), 1,22 (д, $J=7,0$ Гц, 1,5H), 1,16 (д, $J=7,0, 1,5$ Гц, 1,5H). MS (ESI) = 387,0 $[\text{M}+23]^+$.

Стадия С: (3*S*,5*R*,6*R*)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2H-пиран-2-он и (3*R*,5*R*,6*R*)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2H-пиран-2-он

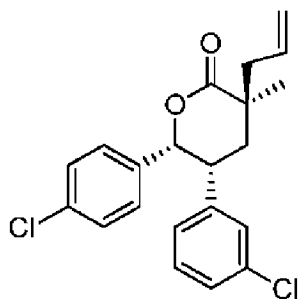


Метил 4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат (40 г, 104,0 ммоль) (полученный на стадии В) растворяли в 200 мл безводного толуола и концентрировали в вакууме. Остаток помещали в высокий вакуум на 2 часа перед использованием. Соединение разделяли на 2 партии по 20 г и обрабатывали следующим образом: метил 4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат (20 г, 52,0 ммоль) в безводном 2-пропаноле (104 мл) обрабатывали трет-бутоксидом калия (2,33 г, 20,8 ммоль) в стеклянном 250 мл аппарате для гидрогенизации. Добавляли $\text{RuCl}_2(\text{S-ксилбинап})$ (S-DAIPEN) (0,191 г, 0,156 ммоль, Strem Chemicals, Inc., Newburyport, MA) в 3,8 мл толуола. Через 1,5 часа в сосуде повышали давление до 50 фунтов на квадратный дюйм (344,7 кПа), продували водородом пять раз и оставляли перемешиваться при комнатной температуре. При необходимости в реакционную смесь добавляли дополнительное количество водорода. Через 3 дня реакционные смеси объединяли и распределяли между 50% насыщенным раствором хлорида аммония и этилацетатом. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические фазы промывали насыщенным соевым раствором, сушили над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали.

Неочищенный продукт (преимущественно (4*R*,5*R*)-изопропил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-5-гидрокси-2-метилпентаноат) растворяли в тетрагидрофуране (450 мл) и метаноле. (150 мл). Добавляли гидроксид лития (1,4 М, 149 мл, 208 ммоль), и раствор

перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Смесь концентрировали в вакууме, и остаток повторно растворяли в этилацетате. Водный раствор 1н соляной кислоты добавляли при перемешивании до тех пор, пока значение pH водного слоя не стало равно около 1. Слои разделяли и органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором, сушили над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали. Затем материал растворяли в 200 мл безводного толуола и обрабатывали п-толуолсульфонатом пиридиния (PPTS, 0,784 г, 3,12 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником с насадкой Дина-Старка до тех пор, пока секокислота не израсходовалась (около 2 ч). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали насыщенным соевым раствором (50 мл). Раствор сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали флэш-хроматографией на силикагеле (колонка 120 г; элюирование 100% дихлорметаном). Получали (3*S*,5*R*,6*R*)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он и (3*R*,5*R*,6*R*)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он в виде твердого вещества белого цвета с энантиомерным соотношением приблизительно 94:6 и смесью метилдиастереомеров с соотношением 7:3. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, δ м.д.): 7,22-6,98 (серии м, 5H), 6,91 (дт, *J*=7,4, 1,2 Гц, 0,3H), 6,81 (м, 2H), 6,73 (дт, *J*=7,6, 1,4 Гц, 0,7H), 5,76 (д, *J*=4,1 Гц, 0,3 H), 5,69 (д, *J*=4,7 Гц, 0,7H), 3,67 (дт, *J*=6,6, 4,3 Гц, 0,3H), 3,55 (тд, *J*=7,8, 4,7 Гц, 0,7 H), 2,96 (д квинтетов, *J*=13,5, 6,7 Гц, 0,7 H), 2,81 (м, 0,3 H), 2,56 (дт, *J*=14,3, 8,0 Гц, 0,7 H), 2,32 (дт, *J*=13,69, 7,0 Гц, 0,3 H), 2,06 (ддд, *J*=13,7, 8,4, 4,1, 0,3 H), 1,85 (ддд, *J*=14,1, 12,5, 7,4, 0,7 H), 1,42 (д, *J*=7,0 Гц, 0,9 H), 1,41 (д, *J*=6,7 Гц, 2,1H). MS (ESI) = 357,0 [M+23]⁺. [α]_D (22°C, c=1,0, CH₂Cl₂) = -31,9°; т.п. 98-99°C.

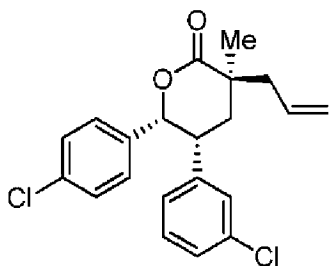
Стадия D. (3*S*,5*R*,6*R*)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-он



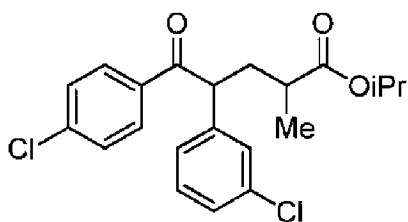
Раствор (3*S*,5*R*,6*R*)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-она и (3*R*,5*S*,6*S*)-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2Н-пиран-2-она (4,5 г, 13,4 ммоль) (полученный на стадии С) и аллилбромид (3,48 мл, 40,3 ммоль) в тетрагидрофуране (22 мл) при -35°C (баня с ацетонитрилом/сухим льдом) обрабатывали раствором бис(триметилсилил)амида лития в тетрагидрофуране (1,0 М, 17,45 мл, 17,45 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреться до -5°C в течение 1 часа и затем гасили 50% насыщенным хлоридом аммония. Реакционную смесь разбавляли 100 мл этилацетата и слои разделяли. Органическую фазу промывали насыщенным соевым раствором,

сушили над сульфатом магния, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета при отстаивании в вакууме. Хиральную сверхкритическую флюидную хроматографию (SFC) (92% CO₂, 8% метанол (20 mM аммиак), 5 мл/мин, колонка Phenomenex Lux-2 (Phenomenex, Torrance, CA), 100 бар (10000 кПа), 40°C, 5-минутный метод) использовали для определения того, что соединение имело энантиомерное соотношение 96:4. (Основной энантиомер: указанное в заголовке соединение, время удерживания=2,45 минут, 96%; второстепенный энантиомер (структура не показана, время удерживания=2,12 минуты, 4%)). Перекристаллизовывали (3*S*,5*R*,6*R*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2H-пиран-2-он путем добавления в гептан (4,7 г суспензии в 40 мл) при кипячении с обратным холодильником с последующим добавлением по каплям 1,5 мл толуола для растворения. Раствор охлаждали до 0°C. Полученное твердое вещество белого цвета фильтровали и промывали 20 мл холодного гептана с получением порошка белого цвета. Хиральная SFC (92% CO₂, 8% метанол, колонка Phenomenex Lux-2, метод, аналогичный описанному выше) указывала на энантиомерное соотношение 99,2:0,8. (основной энантиомер, 2,45 мин, 99,2%; второстепенный энантиомер: 2,12 мин, 0,8%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, δ м.д.): 7,24 (ддд, *J*=8,0, 2,0, 1,2 Гц, 1H), 7,20-7,15 (серии м, 3H), 6,91 (т, *J*=2,0 Гц, 1H), 6,78 (ушир. д, *J*=7,6 Гц, 1H), 6,60 (м, 2H), 5,84 (ддт, *J*=17,6, 10,2, 7,4 Гц, 1H), 5,70 (д, *J*=5,3 Гц, 1H), 5,21-5,13 (серии м, 2H), 3,82 (дт, *J*=11,7, 4,5 Гц, 1H), 2,62 (ABX *J*_{AB}=13,7 Гц, *J*_{AX}=7,6 Гц, 1H), 2,53 (ABX, *J*_{AB}=13,9 Гц, *J*_{BX}=7,2 Гц, 1H), 1,99 (дд, *J*=14,1, 11,9 Гц, 1H), 1,92 (ддд, *J*=13,9, 3,9, 1,2 Гц, 1H), ¹³C ЯМР (CDCl₃, 100 МГц, δ м.д.): 175,9, 140,2, 134,5, 134,3, 134,0, 132,2, 129,8, 128,6, 128,0, 127,9, 127,8, 126,4, 119,9, 83,9, 44,5, 42,4, 40,7, 31,8, 26,1. MS (ESI) = 375,2 [M+H]⁺. IR=1730 см⁻¹. [α]_D (24°C, c=1,0, CH₂Cl₂) = -191°. т.п. 111-114°C.

Альтернативный вариант процедуры получения (3*S*,5*R*,6*R*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2H-пиран-2-она

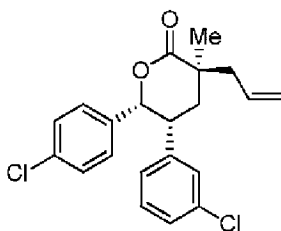


Стадия 1. Изопропил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат



Раствор 2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)этанона (стадия А) (67,4 кг, 255 моль) в ТГФ (325 л) сушили азеотропно для достижения содержания воды, определяемого методом по Карлу Фишеру, 0,05% по массе. К раствору добавляли метилметакрилат (25,8 кг, 257 моль) и смесь нагревали до 45°C. Добавляли раствор трет-бутоксид калия (20 масс% в ТГФ, 14,3 кг, 25 моль) в течение 30 минут и смесь перемешивали в течение 6 часов. Затем смесь охлаждали до 10°C и в течении 5 минут добавляли водный раствор моногидрата лимонной кислоты (20 масс%, 35 л). Добавляли изопропилацетат (400 л) и водный раствор хлорида натрия (20 масс%, 300 л). Смесь перемешивали в течение 15 минут и фазы разделяли. Органическую фазу подвергали перегонке при пониженном давлении с получением дистиллята объемом 560 л, одновременно добавляя изопропанол (350 л) с получением раствора метил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноата в изопропанол (54 масс%, общая масса раствора 140 кг). Содержание воды в растворе составляло 0,01 масс%, определяемое методом по Карлу Фишеру. К раствору добавляли дополнительно изопропанол (420 л) и серную кислоту (53 кг, 535 моль). Смесь кипятили с обратным холодильником и перемешивали в течение 12 часов, в течение которых подвергали перегонке 200 л растворителя и к смеси добавляли 200 л свежего изопропанола. Затем смесь охлаждали до 20°C и добавляли воду (180 л) в течение 30 минут. Добавляли изопропилацетат (270 л) и смесь перемешивали в течение 30 мин. Фазы разделяли, и водную фазу экстрагировали изопропилацетатом (100 л). Объединенные органические фазы промывали водой (200 л) четыре раза. Органическую фазу подвергали перегонке при пониженном давлении с получением дистиллята объемом 500 л с одновременным добавлением изопропанола (50 л) с получением раствора изопропил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноата в изопропанол (60 масс%, 134 кг общей массы раствора). Содержание воды в растворе составляло 0,02 масс%, определяемое методом по Карлу Фишеру. Изопропил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноат получали с общим выходом 81% в виде смеси диастереоизомеров с соотношением около 1:1, ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃, δ м.д.): 7,70-7,80 (м, 2H), 7,22-7,28 (м, 2H), 7,00-7,18 (серии м, 4H), 4,78-4,96 (м, 1H), 4,42-4,50 (м, 1H), 2,02-2,30 (м, 2H), 1,80-1,95 (м, 1H), 0,99-1,19 (м, 15H).

Стадия 2. (3*S*,5*R*,6*R*)-3-Аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2H-пиран-2-он



К дегазированному раствору изопропил-4-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-2-метил-5-оксопентаноата (из стадии 1) в изопропанол (60 масс%, 252 кг общей массы раствора, 151 кг исходного материала на основе изопропилового эфира, 385 моль) добавляли дегазированный изопропанол (900 л) и трет-бутоксид калия (13 кг, 116 моль). Отдельно

получали дегазированный раствор (S)-RUCY®-XylBINAP (также известный как RuCl[(S)-диапена][(S)-ксилбинап]) (230 г, 0,2 моль, катализатор, Takasago International Corporation, Rockleigh, NJ) в изопропанол (25 л). Смесь четыре раза продували водородом при давлении 5 бар (500 кПа) и перемешивали при 20°C в течение 5,5 ч. Нагнетание водорода прекращали и смесь дегазировали азотом. К смеси добавляли тетрагидрофуран (460 л). К реакционной смеси добавляли раствор гидроксида лития (24 кг, 576 моль) в воде (305 л) в течение 40 минут и полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 24 часов. К смеси добавляли раствор концентрированной соляной кислоты (79,3 кг, 11,4 М, 740 моль) в воде (690 л) в течение 2 часов. Добавляли толуол (580 л), затем смесь перемешивали в течение 30 минут и фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали толуолом (700 л). Объединенные органические слои промывали водным раствором хлорида натрия (25 масс%, 700 кг). Органическую фазу подвергали перегонке при атмосферном давлении и температуре 100°C с получением дистиллята объемом 2700 л при одновременном добавлении толуола (800 л). После этой замены растворителя, в смеси оставалось меньше 0,05 масс% изопропанола или воды (содержание, определяемое методом Карла Фишера). К раствору толуола добавляли карбонилдиимидазол (59 кг, 365 моль) в течение 2 часов и смесь перемешивали при 20°C в течение еще двух часов. Потом смесь охлаждали до 10°C и добавляли раствор ортофосфорной кислоты (72 кг, 545 моль) в воде (400 л) в течение 1 часа, поддерживая температуру смеси ниже 20°C. Смесь перемешивали в течение 30 минут, фазы разделяли и органический слой промывали водным раствором хлорида натрия (25 масс%, 484 кг). Толуол (400 л) подвергали перегонке при атмосферном давлении и температуре 110°C. После охлаждения раствора до 20°C добавляли тетрагидрофуран (500 л), и измеренное содержание воды определяемое методом Карла Фишера составляло 0,03 масс%. Раствор продукта охлаждали до -10°C и добавляли раствор аллилбромид (66,8 кг, 552 моль) в тетрагидрофуране (50 л). Добавляли раствор гексаметилдисилазида лития в толуоле (255 кг, 26 масс%, 492 моль) в течение 6 часов и смесь перемешивали при -10°C в течение 1 часа. Смесь нагревали до 0°C и добавляли водный раствор ортофосфорной кислоты (40 масс%, 400 моль) в течение 3 часов. Смесь нагревали до 20°C. Добавляли воду (200 л) и дихлорметан (400 л). Смесь перемешивали в течение 15 минут и фазы разделяли. Раствор подвергали перегонке при атмосферном давлении и 100°C с получением дистиллята объемом 1350 л, при этом измеренный остаточный толуол в смеси составлял 9,8 масс%. Смесь охлаждали до 70°C. Добавляли диизопропиловый эфир (85 л), воду (26 л) и изопропанол (65 л). Смесь охлаждали до 35°C, перемешивали в течение 9 часов, охлаждали до 30°C и фильтровали. Отфильтрованный материал трижды промывали гептаном (80 л). Твердые вещества сушили при 55°C в течение 48 часов с получением 90,1 кг (3*S*,5*R*,6*R*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2*H*-пиран-2-она с общим выходом 63%. Хиральная ВЭЖХ показала энантиомерное соотношение 99,95:0,05.

Пример 2: Различия между *first-in-human* процессом и промышленным процессом получения соединения А

Ранее сообщалось о синтезе **DLAC** в граммовых масштабах. См. Sun et al., J. Med. Chem. 2014, 57, 1454. На основании этой работы, соединение **A** получали методом *first-in-human* (FIH) синтеза, проиллюстрированного на схеме 1. Для этого синтеза в качестве регуляторного исходного материала использовали промежуточное соединение **OXOS**. Раскрытие цикла **DLAC** с использованием избыточного кличества L-валинола (3 эквивалента) при повышенной температуре обеспечивает амид **ABA**, который экстрагировали в дихлорметане. Избыточное количество L-валинола удаляли, используя водную промывку на основе водного раствора соляной кислоты, и раствор продукта использовали на следующей стадии без очистки. Снижение количества L-валинола, используемого в этом превращении, было определено в качестве дальнейшей цели разработки вследствие высокой стоимости этого исходного материала. Примечательно, что получение аналогов **ABA**, **ABA1** или **ABA2**, из соответствующих аналогов **DLAC**, **DLAC1** или **DLAC2**, которые несут боковые цепи, содержащие группу с той же степенью окисления, что и карбоновая кислота соединения **A**, не было успешным вследствие образования нежелательных сукцинимидов, **SUC1** или **SUC2**. Принимая во внимание аналогичные скорости, наблюдаемые для образования целевых продуктов **ABA1-ABA2** и их превращения в побочные продукты **SUC1-SUC2**, было невозможно выделить амиды **ABA1-ABA2** с приемлемыми выходами.

Схема 1. *First-in-human* процесс производства соединения **A**

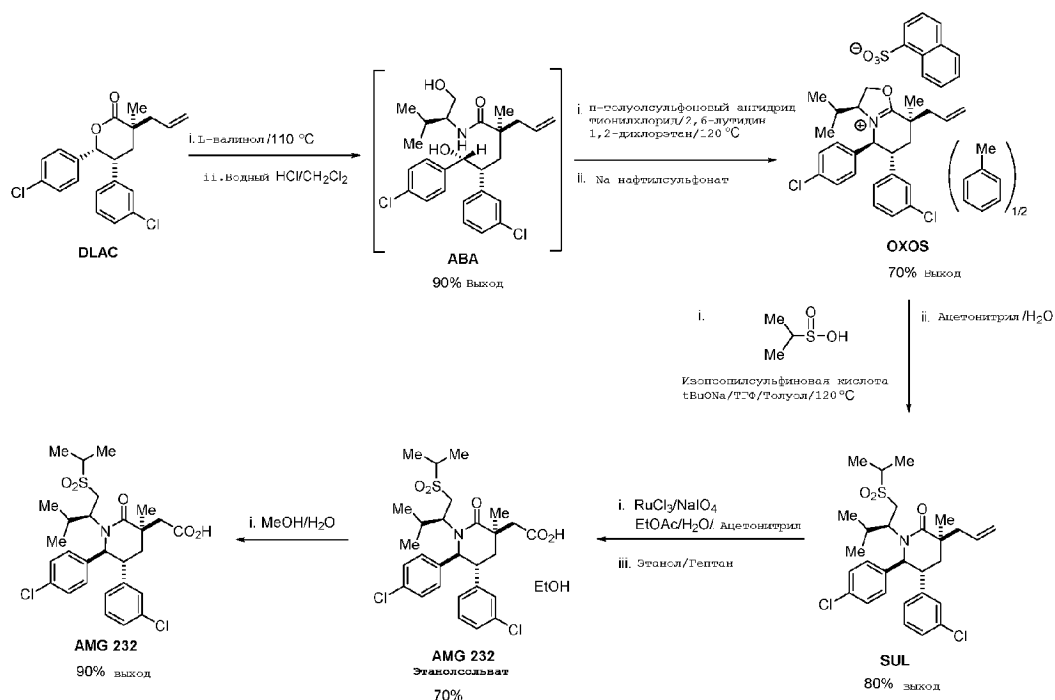
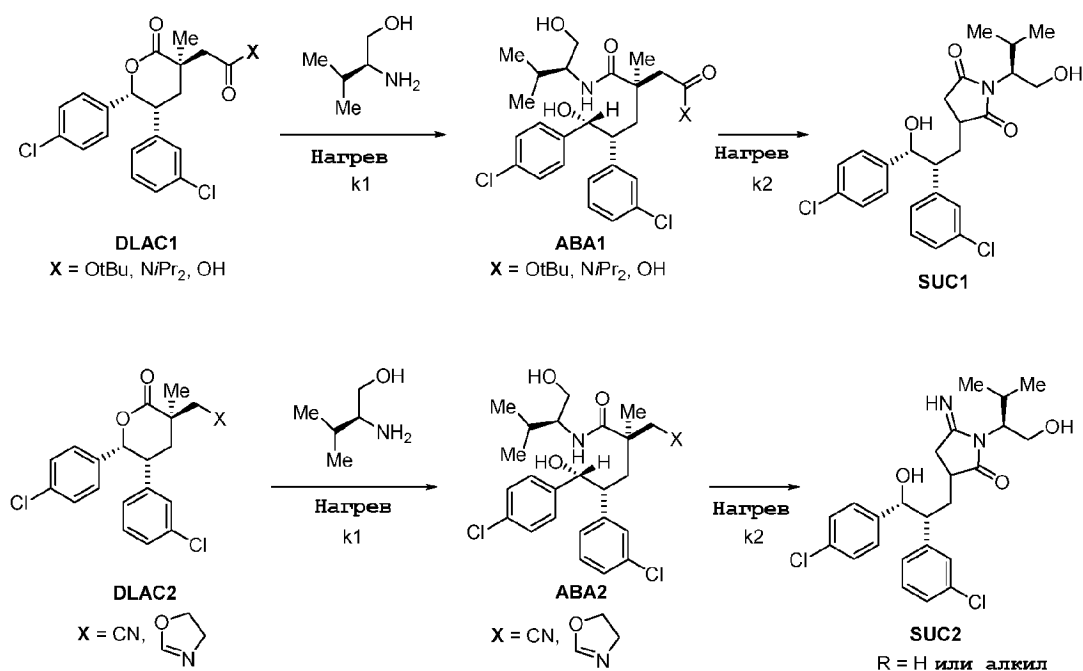
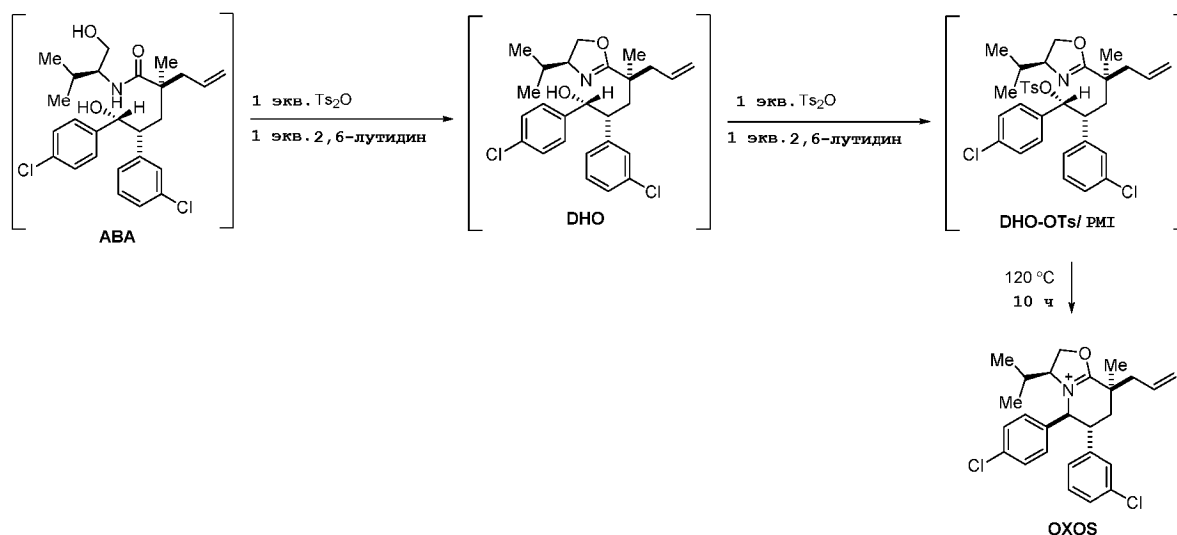


Схема 2. Попытка получения аналогов **ABA** ($k_1 \approx k_2$)



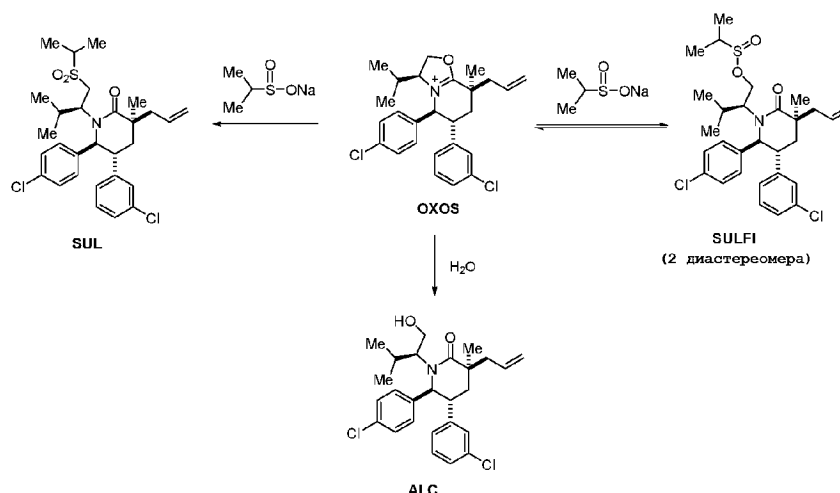
Оксоиминиевую соль **OXOS** получали из **ABA** путем двойной активации двумя эквивалентами толуолсульфонового ангидрида и 2,6-лутидина при повышенной температуре. Полученный таким образом катион выделяли в виде соли 2-нафтилсульфоновой кислоты, которая обладала удовлетворительными свойствами удаления примесей. Идентификация альтернативного реагента для толуолсульфонового ангидрида (TsO_2) рассматривалась по нескольким причинам, включая необходимость устранения стойкого тозилатного промежуточного продукта **DHO-OT**, который подвергался медленному превращению в **OXOS** при повышенной температуре (120°C). Этот промежуточный продукт (**DHO-OT**) является алкилирующим агентом и, соответственно, потенциально мутагенной примесью. Одним из возможных альтернативных вариантов было выделение кристаллического промежуточного продукта **DHO** (схема 3) с повышением контроля над эффективным удалением примесей для последовательности производственных операций. Однако это потребовало использования реагента, который обеспечивает селективную хемоселективную активацию первичного спирта **ABA** в присутствии вторичного бензилового спирта. Реагенты на основе сульфоновых ангидридов не обладают этим эффектом.

Схема 3. Промежуточные продукты в получении **OXOS** из **ABA** с использованием Ts_2O



Получение **SUL** из **OXOS** осуществляли обработкой **OXOS** изопропилсульфиновой кислотой в присутствии трет-бутоксид натрия. Это превращение протекает через обратимое образование диастереомерной пары сульфинатных промежуточных продуктов (**SULFI**) и последующую перегруппировку в продукт с термодинамическими свойствами **SUL**, который кристаллизуется из ацетонитрила и воды (схема 4). Побочный продукт **ALC** необратимо образуется в этих условиях в присутствии воды. Изопропилсульфиновую кислоту, масло при температуре 20°C, получали из хлорида изопропилмагния и выделяли после водной обработки. Перед использованием в образовании **SUL**, азеотропная сушка этого реагента была необходима, чтобы избежать образования нежелательного побочного продукта **ALC** в больших количествах. Однако наблюдался распад изопропилсульфината вследствие диспропорционирования при сушке и, таким образом, эта операция была исключена. Следовательно, были предприняты усилия для обнаружения стабильной кристаллической соли изопропилсульфиновой кислоты, которая была бы стабильной в условиях сушки и которую можно было бы назвать коммерчески регулятивным исходным материалом. В качестве альтернативы был рассмотрен способ получения *in situ* соли сульфиновой кислоты из хлорида изопропилмагния без водной обработки и дальнейшего взаимодействия с **OXOS**.

Схема 4. Промежуточные и побочные продукты, образующиеся при получении **SUL** из **OXOS**



Окисление алкеновой группы **SUL** проводили обработкой каталитическим хлоридом рутения (2 мол.%) и избыточным количеством периодата натрия (5 эквивалентов). Неочищенный продукт выделяли в виде кристаллического сольвата этанола. Было замечено, что некоторые особенности этой стадии являются нежелательными. Во-первых, тяжелый металл, используемый на этой стадии, должен был быть удален, что достигалось с использованием смолы **DARCO-G** для *first-in-human* доставки. Кроме того, для проведения этого процесса необходимо было несколько эквивалентов периодата натрия, и реагент необходимо было загружать в реакционный сосуд порциями для минимизации образования примесей. Для удаления большого количества солей, используемых для превращения, требовался сложный протокол последующей обработки (экстракция и фильтрация). Также на этой стадии превращения образовывалось множество димерных примесей, что затрудняло контроль чистоты лекарственного вещества. Использование этанольного сольвата соединения **A** в качестве кристаллической контрольной точки было проблематичным и было лишь умеренно эффективным при удалении примесей, присутствующих в смеси. Кроме того, процесс кристаллизации должен был проводиться как процесс испарения вследствие низкой концентрации этанола (5% об./об.), которая была необходима для уменьшения высоких потерь маточного раствора в процессе фильтрации. Было также отмечено, что использование этанола в процессе кристаллизации снижает надежность процесса вследствие нежелательного образования соответствующего этилового эфира при температурах выше 30°C и трудностей, возникающих при удалении этилового эфира из желаемого этанолсольвата. Аналогичным образом, когда метанол использовался в кристаллизации соединения **A**, образование соответствующего метилового эфира при повышенных температурах, который также было трудно отделить от лекарственного вещества, значительно снижало эффективность этого способа кристаллизации, в частности при работе в мультиграммовом масштабе. Таким образом, необходима разработка более последовательного и экологически безопасного способа окисления для получения соединения **A** из **SUL**, а также создание надежной стратегии выделения

лекарственного вещества, которое демонстрирует эффективный контроль критических показателей, как часть коммерчески целесообразного процесса.

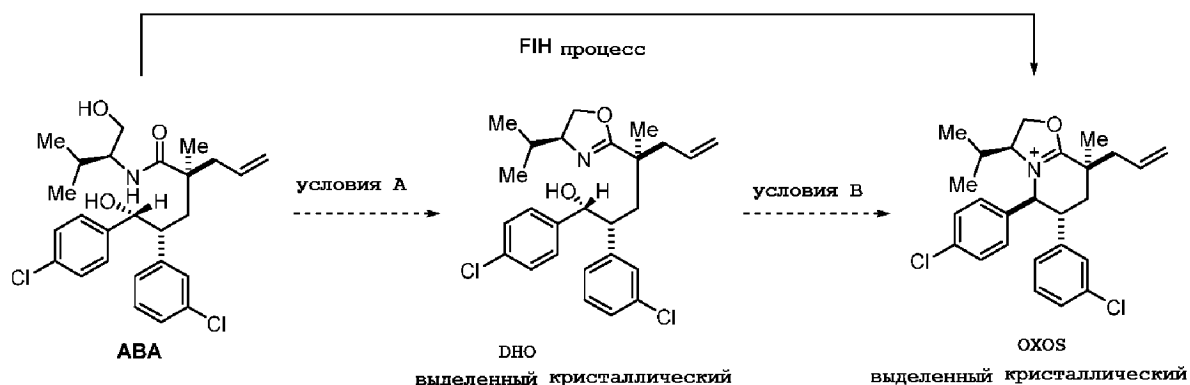
Таблица 1. Модификации для FII-процесса в промышленном способе получения соединения А

СР1 стадия процесса	FII процесс	Реализация промышленного способа
ABA из DLAC	Использовано три эквивалента L-валинола	Снижение количества эквивалентов L-валинола до двух
OXOS из ABA	DHO не выделен	Замена Ts_2O хемоселективным реагентом с обеспечением выделения DHO
OXOS из ABA	Образуются PMI и стойкие промежуточные продукты DHO-OT	Замена Ts_2O реагентом, обеспечивающим образование промежуточного продукта, быстро превращающегося в OXOS
SUL из OXOS	Изопропилсульфиновая кислота является жидкостью при 20°C и нестабильна в условиях азеотропной сушки	Обнаружение кристаллической соли изопропилсульфиновой кислоты, стабильной в условиях сушки
Соединение А из SUL	На последней стадии используется рутениевый катализатор	Замена реагентов на последней стадии
Соединение А из SUL	На последней стадии используется избыточное количество (5 экв.) периодата натрия	Замена реагентов на последней стадии
Выделение соединения А в виде этанолсольвата	Выделение лишь умеренно эффективно при удалении примесей и плохо соответствует схеме кристаллизации	Обнаружение соли соединения А, хорошо соответствующей схеме кристаллизации и

более длительное время обработки может считаться оправданным, исходя из значительного сокращения затрат/себестоимости. Удаление избыточного L-валинола достигалось добавлением толуола (4 объема) и последующей промывкой органической смеси водным раствором соляной кислоты. Полученный органический раствор подвергали азеотропной сушке и фильтрованию через фильтр окончательной очистки с получением **ABA** с аналитическим выходом 91% в виде 28 масс% раствора в толуоле, содержащего 2,7% LC площади **DHO**, 1,0% LC площади исходного материала **DLAC** и 1,0% LC площади **EST**. Термолиз **ABA** для получения непосредственно **DHO** при более высоких температурах привел к сложным смесям продуктов.

Выделение промежуточного **DHO** обеспечивало дополнительную возможность для удаления примеси из технологического потока и усилить общую стратегию контроля для доставки лекарственного вещества для его реализации на рынке. Первостепенным для этой стратегии было определение условий, которые свяжут дегидративную двойную циклизацию **ABA** с **OXOS** в две отдельные реакции моноциклизации за счет разработки хемоселективной активации первичного спирта **ABA** (условия А), что обеспечило бы выделение **DHO** в кристаллической форме (схема 6).

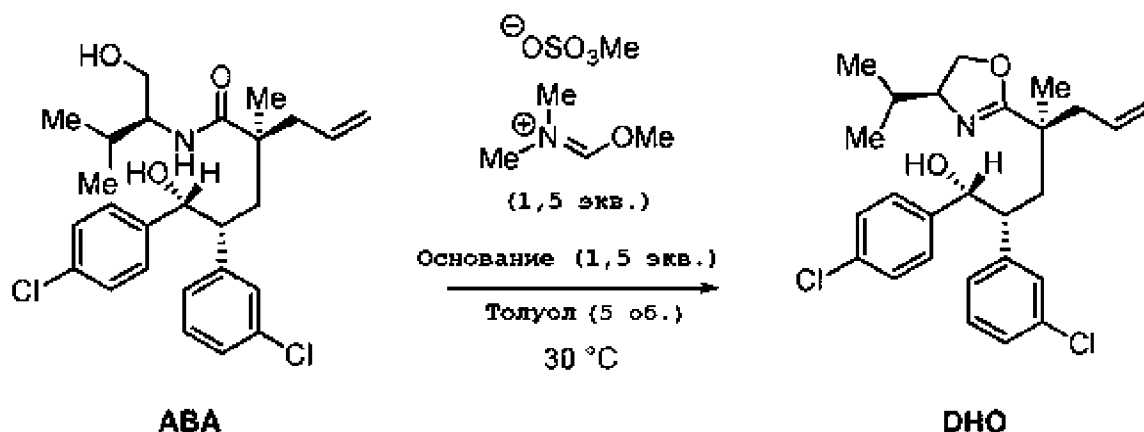
Схема 6. Последовательная дегидратация **ABA** до **OXOS**



Реагенты сульфонилхлорид и сульфоновый ангидрид оказались неселективными при определении различий между первичными и вторичными спиртами **ABA**, и было трудно их приобрести в виде безводных реагентов. Кроме того, использование кислотных катализаторов также обеспечивает сложные смеси продуктов. Однако реагент на основе соли Вильсмейера, метоксиметилен-*N, N*-диметилиминия метилсульфат, успешно достиг желаемой селективности. Этот реагент легко получали без конкретных предупредительных мер для исключения влаги, и его можно хранить при 20°C в течение нескольких месяцев без снижения титра. Кроме того, он демонстрировал более умеренную реакционную способность и улучшенную хемоселективность по сравнению с обычной солью Вильсмейера, производной галогенида, хлорметилен-*N, N*-диметилиминия хлоридом, а также позволял устранить образование побочных продуктов алкилгалогенида. Образование **DHO** из **ABA** с использованием метоксиметилен-*N, N*-диметилиминия метилсульфата в толуоле оценивали в присутствии различных слабых неорганических оснований при 25°C и регистрировали преобразование в **DHO** (схема 7). Было замечено,

что взаимодействие лучше всего осуществляется с KOAc, но предпочтение было отдано NaOAc, учитывая его низкую гигроскопичность и стоимость.

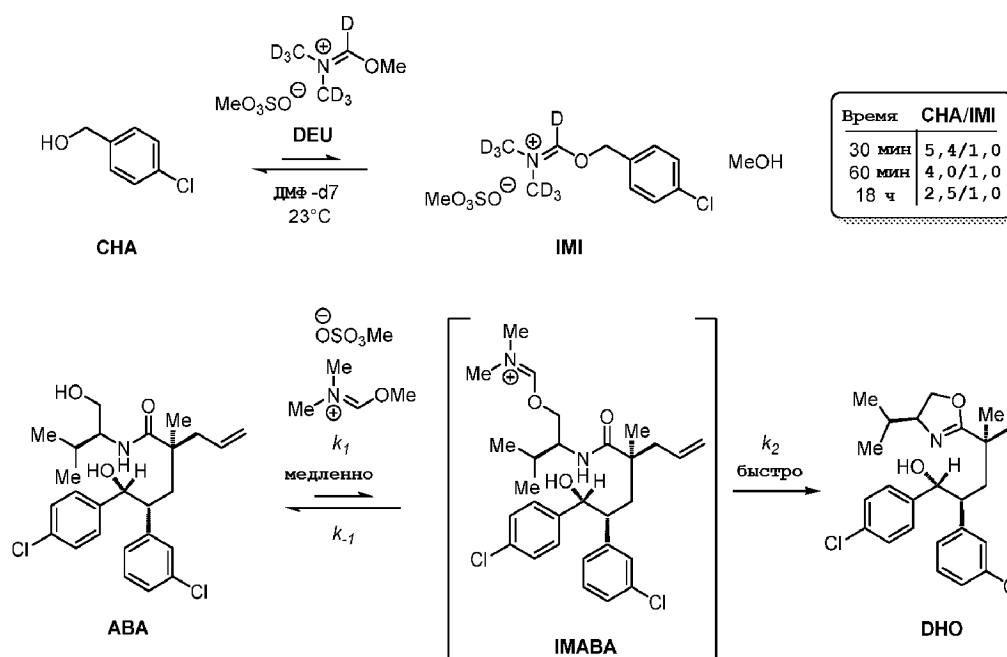
Схема 7. Оценка различных оснований в моноциклизации **ABA** в **DHO**.



Основание	Аналитический выход DHO %	Время преобразования (ч)
KOAc	94,6	2
NaOAc	91,9	2
LiOAc	86,5	20
K ₂ CO ₃	70,4	16

Желаемая хемоселективность этого превращения достигалась за счет уникальной способности метоксиметилен-*N*, *N*-диметилиминия метилсульфата подвергаться динамической перезэтерификации спиртами посредством образования лабильных промежуточных имидатов. Эту обратимость исследовали при активации 4-хлорбензилового спирта (**СНА**) с дейтерированным реагентом **DEU** с образованием имидата **IMI**, который, как было обнаружено, уравнивается при соотношении СНА/IMI, составляющем 2,5/1 (схема 8). На основании этого наблюдения предполагается, что **IMABA** существует в низких концентрациях во время взаимодействия и подвергается быстрому внутримолекулярному замещению боковым амидом с образованием оксазолина **DHO** (схема 8). Любой имидат, образованный дериватизацией вторичной спиртовой группы в группе **ABA**, не подвергается дальнейшей циклизации до **OXOS** при рабочей температуре реакции (30°C).

Схема 8. Обратимая активация спиртов реагентами Вильсмейера



Измерения равновесной растворимости получали для **DHO** в различных растворителях. Было замечено, что все полученные значения были выше 20 мг/мл при 20°C (включая гептан), за исключением воды (<0,1 мг/мл), которая была выбрана в качестве антирастворителя. Ацетонитрил был выбран в качестве растворителя для кристаллизации, поскольку он обеспечивал легкое удаление примесей в сочетании с водой. Кривая, показывающая значения растворимости в различные моменты времени в процессе кристаллизации, представлена на фиг.3. Используя этот протокол, кристаллический **DHO** был выделен с выходом 88% из **DLAC** с >98% LC площади (схема 9).

Порошковый рентгеновский дифрактометр Bruker D8 использовали для получения порошковой дифракционной рентгенограммы отражения кристаллического **DHO** (фиг.17) и был оснащен детектором Брауна и Cu-K α -источником излучения, работающим в геометрии отражения по Брэггу-Брентано. Полученные значения 2-тета (2 θ), в общем случае, имели точность с погрешностью $\pm 0,2^\circ$. Образцы обычно получали без какой-либо специальной обработки, кроме приложения незначительного давления для получения плоской поверхности. Если не указано иное, образцы измеряли без покрытия. Условия эксплуатации включали напряжение трубки 40 кВ и ток 40 мА. Переменную щель расходимости использовали с окном 3° . Размер шага составлял $0,019^\circ 2\theta$ при времени шага 35,2 с. Во время измерения образец был статическим.

Пики, представленные в таблице 2, были идентифицированы на рентгенограмме кристаллического **DHO**.

Таблица 2. Пики XRD для кристаллического **DHO**

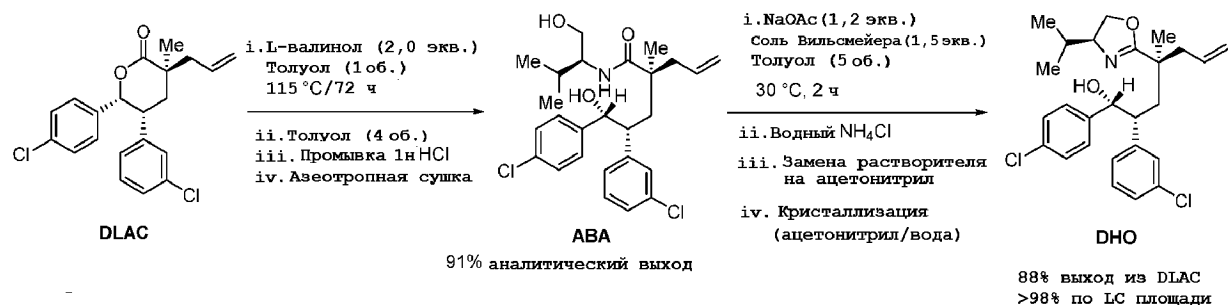
Пик	Угол	Значение d	Интенсивность	Относительная интенсивность

1	6,3	14,12344	753	14,90%
2	7,3	12,15811	3080	61,10%
3	8,5	10,43913	2521	50,00%
4	10,0	8,86434	871	17,30%
5	10,5	8,42517	569	11,30%
6	11,0	8,03156	934	18,50%
7	11,5	7,6782	448	8,90%
8	12,8	6,9125	618	12,30%
9	13,4	6,61879	2598	51,50%
10	14,5	6,11557	4427	87,80%
11	14,8	5,98483	474	9,40%
12	15,2	5,84027	331	6,60%
13	15,9	5,57383	5042	100,00%
14	15,8	5,59708	4060	80,50%
15	17,0	5,22058	757	15,00%
16	17,5	5,0574	749	14,80%
17	17,8	4,97509	613	12,20%
18	18,4	4,82391	662	13,10%
19	18,8	4,72167	937	18,60%
20	19,0	4,67741	969	19,20%
21	19,7	4,49805	165	3,30%
22	19,9	4,46033	169	3,30%

23	20,7	4,28732	168	3,30%
24	21,2	4,18605	394	7,80%
25	21,3	4,16028	399	7,90%
26	22,0	4,03425	963	19,10%
27	22,4	3,96797	741	14,70%
28	23,1	3,84953	3121	61,90%
29	23,6	3,77436	665	13,20%
30	24,2	3,67661	840	16,70%
31	24,9	3,56615	357	7,10%
32	25,7	3,46767	455	9,00%
33	26,3	3,38729	262	5,20%
34	27,0	3,30081	434	8,60%
35	28,3	3,1469	248	4,90%
36	28,7	3,11305	62,8	1,20%
37	29,3	3,04435	167	3,30%
38	29,7	3,00202	118	2,30%
39	30,8	2,9015	135	2,70%
40	31,4	2,84914	381	7,50%
41	31,8	2,80958	113	2,20%
42	33,0	2,71451	159	3,20%
43	34,2	2,62156	161	3,20%
44	35,8	2,50313	201	4,00%

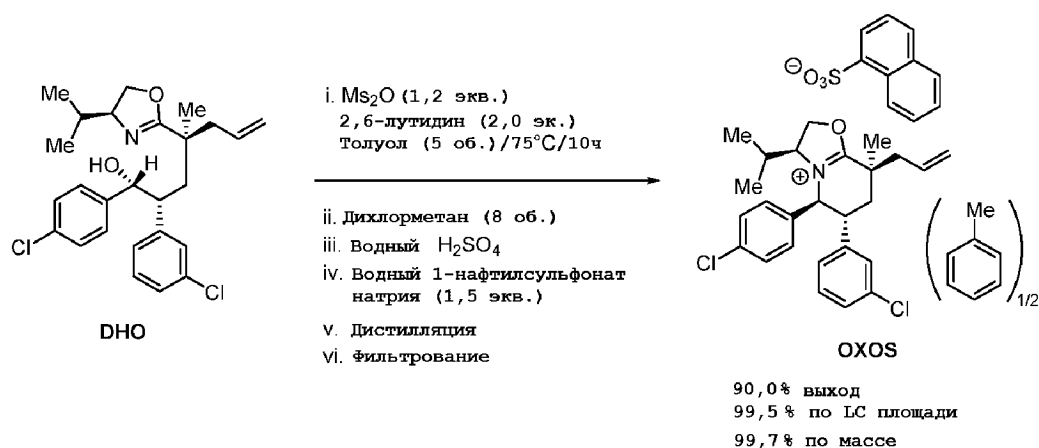
45	37,0	2,42816	39,5	0,80%
46	37,5	2,39507	112	2,20%

Схема 9. Промышленный способ получения **DHO** из **DLAC**

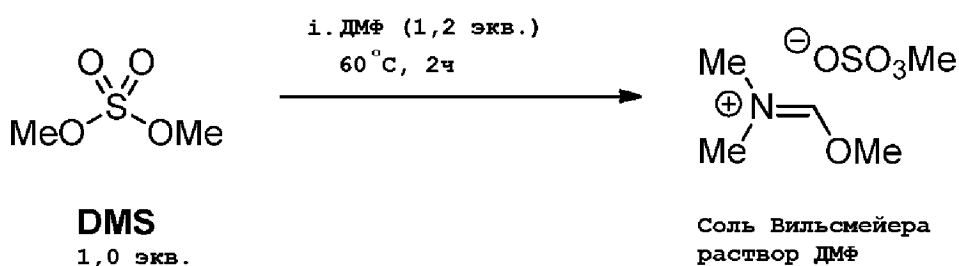


Отказ от двойной дегидративной циклизации **ABA** в **OXOS**, потребовал разработку метода превращения **DHO** в **OXOS**. Было обнаружено, что ангидрид метансульфоновой кислоты (Ms_2O) обеспечивает более быстрое превращение в **OXOS** по сравнению с Ts_2O , поскольку потенциально мутагенные мезилатные промежуточные **DHO-OM** полностью расходятся при 75 °C в течение 10 часов. Это улучшение, вероятно, связано с уменьшением стерической изоляции, возникающей в переходном состоянии, ведущем от **DHO-OM** к **OXOS**, по сравнению с тем, которое связано с циклизацией **DHO-OT** в **OXOS**. Было обнаружено, что превращение хорошо протекает с 2,6-лутидином в качестве основания в толуоле. Нуклеофильные органические основания и неорганические основания нежелательно обеспечивали сложные смеси продуктов. Образовавшаяся при превращении мезилатная соль **OXOS** плохо растворяется в толуоле и образует отдельный жидкий слой в процессе осуществления реакции. Для обеспечения дальнейшей обработки необходимо разбавить реакционную смесь дихлорметаном (8 об.) перед удалением мезилатных солей с использованием водных промывок на основе серной кислоты. За метатезисом соли с водным 1-нафталинсульфонатом натрия следовала дистилляция дихлорметана, что обеспечивало кристаллизацию **OXOS** соли толуолового полусольвата 1-нафталинсульфоната с выходом 90%, 99,5% LC площади и 99,7 масс% из **DHO**. (Схема 10).

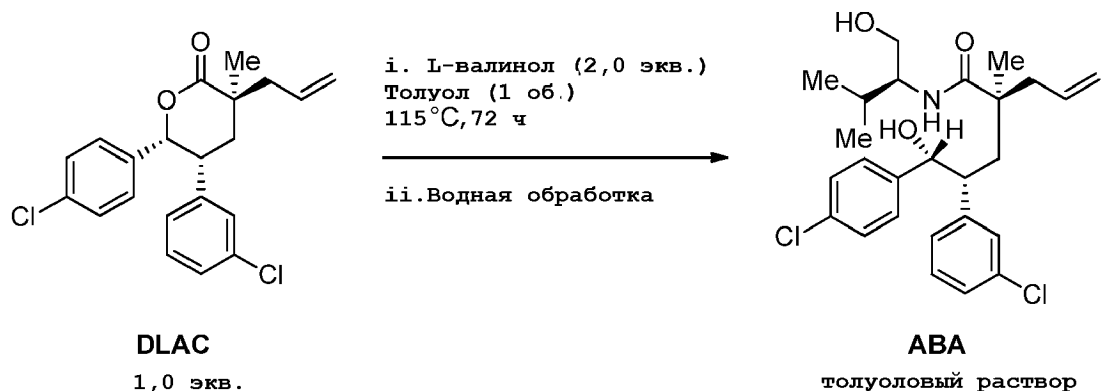
Схема 10. Промышленный способ получения **OXOS** из **DHO**



Следующие экспериментальные процедуры иллюстрируют получение **OXOS**.

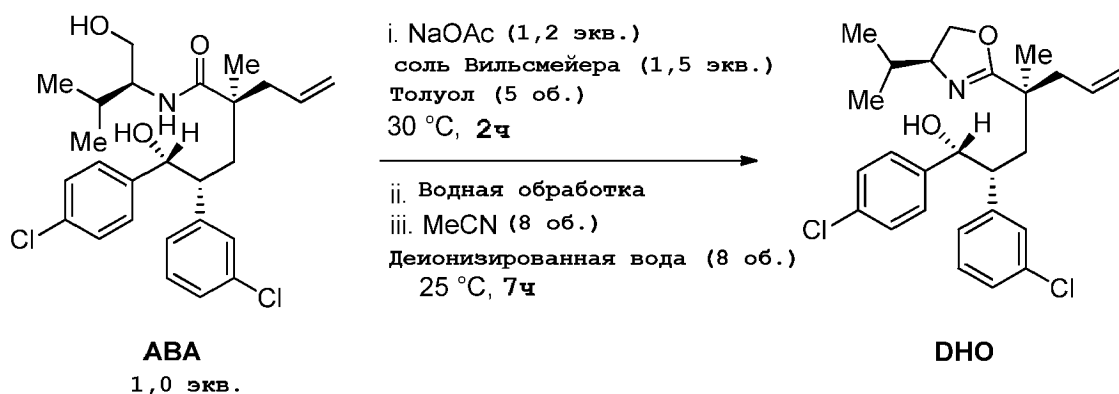


Аддукт *N, N*-диметилформамида и диметилсульфата: В реактор Atlas объемом 500 мл, соединенный с конденсатором с обратным холодильником, и снабженный верхней мешалкой, загружали диметилсульфат (200,0 мл, 2,11 моль, 1,0 экв.) в атмосфере азота. Содержимое реактора нагревали до 60°C. Добавляли по каплям ДМФ (200,0 мл, 2,56 моль, 1,2 экв.) в течение 60 минут (3,3 мл/мин). После завершения добавления, реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при 60°C. После завершении реакции, реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры с получением аддукта *N, N*-диметилформамида и диметилсульфата в виде раствора в остаточном ДМФ (402,6 г, 2,02 моль, 95,8% аналитический выход, 82,8 масс% в ДМФ).



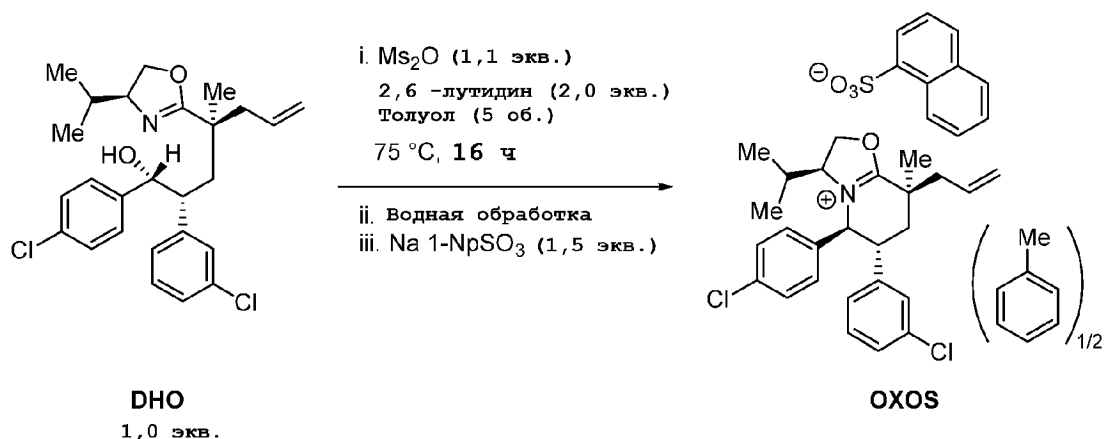
(*S*)-2-((2*R*,3*R*)-2-(3-хлорфенил)-3-(4-хлорфенил)-3-гидроксипропил)-*N*-((*S*)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-2-метилпент-4-енамид (**ABA**): В реактор ChemGlass объемом 5 л, снабженный конденсатором с обратным холодильником и верхней

мешалкой, загружали (3*S*,5*R*,6*R*)-3-аллил-5-(3-хлорфенил)-6-(4-хлорфенил)-3-метилтетрагидро-2*H*-пиран-2-он (DLAC) (201,8 г, 0,53 моль, 98,6 масс%, 1,0 экв.), L-валинол (110,8 г, 1,06 моль, 2,0 экв.) и толуол (205 мл, 1 мл/г) в атмосфере азота. Содержимое реактора нагревали с обратным холодильником (115°C) при постоянном перемешивании в течение 72 часов. После завершения реакции, реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли толуолом (800 мл, 5 мл/г). Реакционную смесь гасили добавлением порциями 1*N* HCl (1000 мл, 5 мл/г). Фазы разделяли, а затем органический слой дважды промывали насыщенным соевым раствором (2×400 мл, 2 мл/г). Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали через фильтр окончательной очистки (крупная пористость) при промывании толуолом и концентрировали до объема около 800 мл с получением **ABA** в виде раствора в толуоле (229,4 г, 0,48 моль, 90,5% аналитический выход, 27,9 масс% в толуоле), ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 7,05-7,19 (м, 5H), 6,95 (д, *J*=8,50 Гц, 2H), 6,84 (д, *J*=7,67 Гц, 1H), 5,85 (д, *J*=8,09 Гц, 1H), 5,57 (ддт, *J*=17,13, 9,98, 7,28, 7,28 Гц, 1H), 4,91-5,03 (м, 2H), 4,71 (д, *J*=4,77 Гц, 1H), 3,66 (ушир. с, 1H), 3,57-3,63 (м, 1H), 3,51-3,53 (м, 1H), 3,42-3,46 (м, 1H), 3,19 (ушир. с, 1H), 2,97 (дт, *J*=7,93, 4,95 Гц, 1H), 2,36 (дд, *J*=13,89, 7,05 Гц, 1H), 2,13 (дд, *J*=14,62, 4,87 Гц, 1H), 1,96-2,01 (м, 1H), 1,87-1,92 (м, 1H), 1,71-1,82 (м, 1H), 1,10 (с, 3H), 0,88 (д, *J*=7,05 Гц, 3H), 0,86 (д, *J*=7,05 Гц, 3H). ¹³C ЯМР (101 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 177,47, 142,83, 140,46, 133,79, 133,67, 133,00, 129,49, 129,12, 127,96, 127,93, 127,68, 126,88, 118,64, 75,91, 63,44, 56,94, 49,51, 45,17, 42,13, 39,59, 29,06, 24,07, 19,40, 18,72.



(1*R*,2*R*,4*S*)-2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)-4-((*S*)-4-изопропил-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-4-метилгепт-6-ен-1-ол (DHO): В реактор ChemGlass объемом 5 л, снабженный конденсатором с обратным холодильником и верхней мешалкой, загружали (*S*)-2-((2*R*,3*R*)-2-(3-хлорфенил)-3-(4-хлорфенил)-3-гидроксипропил)-*N*-((*S*)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил)-2-метилпент-4-енамид (**ABA**) (229,4 г, 0,48 моль, 27,9 масс% в толуоле, 1,0 экв.) и толуол (1145 мл, 5 мл/г) в атмосфере азота. (Примечание: поскольку **ABA** получали в виде исходного раствора в толуоле, содержащего 685 мл остаточного толуола, необходимое количество дополнительного толуола составляет 460 мл). Содержимое реактора нагревали до 30°C. NaOAc (48,3 г, 0,59 моль, 1,2 экв.) и аддукт *N*, *N*-

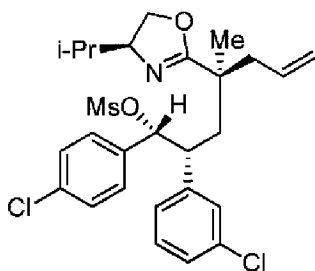
диметилформамида и диметилсульфата (174,1 г, 0,72 моль, 82,8 масс%, 1,5 экв.) последовательно добавляли в реакционную смесь. После перемешивания при 30°C в течение 2 часов реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. Реакцию гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl (750 мл, 3 мл/г) и H_2O (500 мл, 2 мл/г). Фазы разделяли, а затем органический слой дважды промывали насыщенным соевым раствором (2×750 мл, 3 мл/г). Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали через фильтр окончательной очистки (крупная пористость) при промывании толуолом и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток перекристаллизовывали из смеси $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (50:50) с получением **DHO** в виде кристаллического твердого вещества белого цвета (206,5 г, 0,45 моль, выход 87,7% за 2 стадии, скорректированный по масс%), ^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 7,07-7,21 (м, 5H), 6,99 (д, $J=8,29$ Гц, 2H), 6,88 (д, $J=7,10$ Гц, 1H), 5,44-5,55 (м, 1H), 4,83-4,97 (м, 2H), 4,73 (д, $J=5,60$ Гц, 1H), 4,42 (ушир. с, 1H), 4,03 (дд, $J=8,91$, 7,67 Гц, 1H), 3,63-3,76 (м, 2H), 3,15-3,21 (м, 1H), 2,35 (дд, $J=13,89$, 7,26 Гц, 1H), 2,13-2,18 (м, 1H), 2,07-2,12 (м, 1H), 1,84 (дд, $J=14,72$, 8,09 Гц, 1H), 1,48-1,60 (м, 1H), 1,09 (с, 3H), 0,94 (д, $J=6,63$ Гц, 3H), 0,82 (д, $J=6,63$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 171,99, 143,48, 140,41, 133,74, 133,35, 132,92, 129,55, 129,09, 128,24, 127,84, 127,75, 126,75, 118,33, 76,63, 71,80, 69,84, 49,36, 42,13, 39,72, 38,61, 32,48, 24,20, 19,10, 18,26.



Толуоловый полусольват нафталин-1-сульфоната (3*S*,5*S*,6*R*,8*S*)-8-аллил-6-(3-хлорфенил)-5-(4-хлорфенил)-3-изопропил-8-метил-2,3,5,6,7,8-гексагидрооксазоло[3,2-*a*]пиридин-4-ия (**OXOS**): В реактор ChemGlass объемом 5 л, снабженный конденсатором с обратным холодильником и верхней мешалкой, загружали ((1*R*,2*R*,4*S*)-2-(3-хлорфенил)-1-(4-хлорфенил)-4-((*S*)-4-изопропил-4,5-дигидрооксазол-2-ил)-4-метилгепт-6-ен-1-ол (**DHO**) (199,3 г, 0,40 моль, 93,5 масс%, 1,0 экв.) и толуол (1000 мл, 5 мл/г) в атмосфере азота. В реакционную смесь последовательно добавляли ангидрид метансульфоновой кислоты (88,2 г, 0,49 моль, 1,2 эквив.) и 2,6-лутидин (95,0 мл, 0,82 моль, 2,0 экв.). Содержимое реактора нагревали до 75°C при постоянном перемешивании в течение 16 часов. После завершения взаимодействия, реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли дихлорметаном (1600 мл, 8 мл/г). Реакцию гасили раствором концентрированной H_2SO_4 (45,0 мл, 0,82 моль, 2,0 экв.) в H_2O (955 мл, 5 мл/г). Фазы

разделяли, и затем органический слой дважды промывали водным раствором 1-нафталинсульфоната натрия ($2 \times 72,5$ г, 0,31 моль, 0,75 экв.) в H_2O (2×800 мл, 4 мл/г). Органическую фазу сушили над 1-нафталинсульфонатом натрия (10,0 г, 0,04 моль, 0,1 экв.), фильтровали через фильтр окончательной очистки (крупная пористость) при промывании дихлорметаном и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток перекристаллизовывали из толуола с получением **OXOS** в виде кристаллического твердого вещества кремового цвета (260,1 г, 0,37 моль, 90,0% выход, скорректированный по масс%), ^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 9,14 (д, $J=8,50$ Гц, 1H), 8,35 (дд, $J=7,26, 1,24$ Гц, 1H), 7,86 (т, $J=8,71$ Гц, 2H), 7,57 (т, $J=7,70$ Гц, 1H), 7,43-7,50 (м, 2H), 7,13-7,39 (м, 7,5H), 7,03-7,10 (м, 3H), 6,07 (д, $J=11,20$ Гц, 1H), 5,80 (ддт, $J=17,00, 9,90, 7,39, 7,39$ Гц, 1H), 5,51 (т, $J=9,74$ Гц, 1H), 5,26-5,34 (м, 2H), 4,76 (ддд, $J=10,37, 4,66, 2,18$ Гц, 1H), 4,62 (дд, $J=9,12, 4,77$ Гц, 1H), 3,51-3,60 (м, 1H), 2,86 (т, $J=13,68$ Гц, 1H), 2,65-2,71 (м, 1H), 2,55-2,60 (м, 1H), 2,35 (с, 1,5H), 1,95 (дд, $J=13,89, 3,52$ Гц, 1H), 1,52 (с, 3H), 0,54-0,67 (м, 7H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 183,28, 142,16, 140,01, 137,71, 135,89, 134,15, 134,12, 133,28, 132,15, 130,38, 130,30, 129,95, 129,62, 129,43, 129,06, 128,90, 128,34, 128,09, 127,92, 127,66, 127,41, 127,18, 126,44, 125,88, 125,63, 125,48, 125,16, 124,28, 121,20, 73,14, 67,27, 67,06, 43,64, 43,01, 38,67, 38,56, 26,64, 22,13, 21,32, 18,08, 13,74.

Альтернативно, промежуточные **DHO-OM** могут быть разделены и очищены перед преобразованием в **OXOS**.



DHO-OM

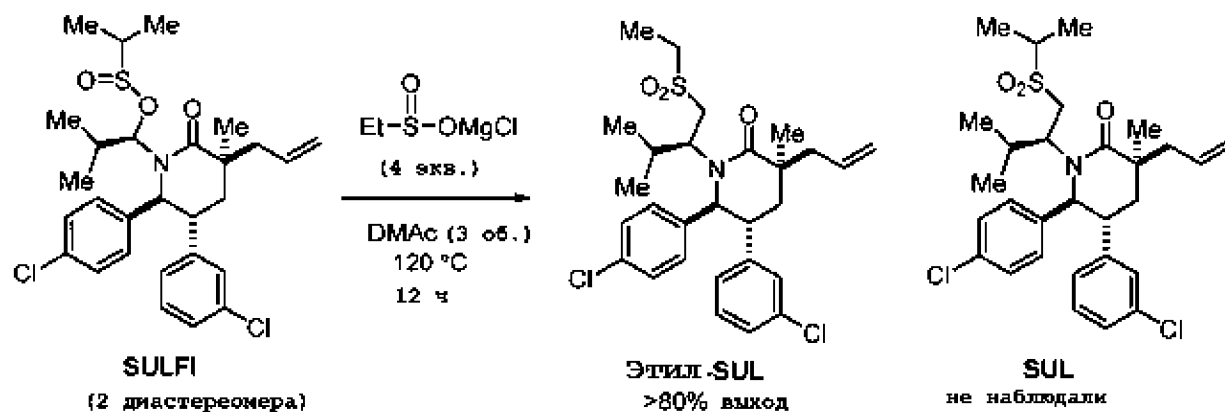
^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 7,31 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,24-7,18 (м, 2H), 7,16 (с, 1H), 7,08 (д, $J=8,2$ Гц, 2H), 7,07-7,01 (м, 1H), 5,59-5,43 (м, 2H), 5,01-4,83 (м, 2H), 3,84 (дд, $J=8,1, 9,5$ Гц, 1H), 3,55-3,45 (м, 1H), 3,42-3,34 (м, 1H), 3,24-3,13 (м, 1H), 2,46 (с, 3H), 2,39-2,28 (м, 1H), 2,28-2,14 (м, 1H), 1,98 (ушир. дд, $J=7,8, 13,6$ Гц, 1H), 1,72 (дд, $J=2,4, 14,3$ Гц, 1H), 1,26 (ушир. с, 1H), 1,06 (с, 3H), 0,88 (д, $J=6,7$ Гц, 3H), 0,71 (д, $J=6,7$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (101 МГц, хлороформ-*d*) δ м.д.: 169,69, 141,54, 135,61, 134,98, 133,92, 133,43, 129,82, 129,30, 128,81, 128,47, 127,82, 127,34, 118,21, 87,02, 77,22, 69,78, 47,99, 44,57, 39,96, 39,31, 38,46, 32,80, 21,85, 19,40, 18,26.

Пример 4: Разработка промышленного способа получения предконечного последнего промежуточного **SUL**

Обработка **OXOS** изопропилсульфинатной солью при повышенных температурах приводит к образованию диастереомерной пары сульфинатных эфиров **SULFI** (схема 4), которая преобразуется в более термодинамически стабильный продукт **SUL**. Этот тип

сульфинат-сульфиновой перегруппировки был описан в обычных процессах как происходящий через образование ионной пары и механизм рекомбинации для бензгидрилсульфинатных эфиров. Однако в настоящем процессе результаты перекрестного эксперимента, представленные на схеме 11, показывают, что перегруппировка включает диссоциированные ионы. Учитывая, что **OXOS** количественно взаимодействует с водой при температурах выше 70°C, существует достаточная возможность для образования спиртового **ALC**. Если **OXOS** не может быть восстановлен из **ALC**, вода должна быть строго исключена из реакционной смеси. Одним из способов достижения этой цели является получение соли изопропилсульфиновой кислоты, которая устойчива к условиям азеотропной сушки, может быть выделена с высокой чистотой и эффективно взаимодействует с **OXOS** с образованием **SUL**.

Схема 11. Промежуточные продукты и побочные продукты, образующиеся при получении **SUL** из **OXOS**



После оценки нескольких вариантов соли изопропилсульфиновой кислоты для достижения этой цели, включая соли лития, натрия, калия, магния и аммония, сульфидат кальция дигидратную соль выделяли как стабильный и кристаллический вид. Эту соль получали в результате взаимодействия хлорида изопропилмагния с диоксидом серы (схема 12), приводящего к образованию изопропилсульфиновой кислоты после гашения раствором соляной кислоты. Это вещество обрабатывали ацетатом кальция, что позволило выделить дигидрат изопропилсульфината кальция (**CALID**) путем реактивной кристаллизации. Хотя гидрат не является оптимальным веществом для использования в получении **SUL**, учитывая чувствительность процесса, описанного выше, к воде, соль кальция была химически стабильной (т.е. продукт диспропорционирования не наблюдался в течение 48 часов) после азеотропной сушки в толуоле при повышенной температуре (до 110°C). Таким образом, сушка суспензии реагентов может быть включена как часть процесса перед добавлением **OXOS** и получением **SUL**. При использовании анализа методом порошковой рентгеновской дифракции дегидратированных в печи образцов было обнаружено, что **CALID** подвергся полиморфным изменениям после полного высыхания (<100 м.д. воды) при относительной влажности <15%. Однако **CALID** является стабильным как дегидратированный материал и преобразуется обратно в исходную форму

дигидрата при повторной адсорбции воды при относительной влажности >20%. Процесс производства **SUL** включает сушку толуоловых суспензий **CALID** и **OXOS** азеотропной дистилляцией при пониженном давлении для получения смесей, содержащих меньше 100 м.д. воды. Затем сухие суспензии объединяли и осуществляли замену растворителя на диметилацетамид (схема 13). Полученный раствор нагревали до 120°C и перемешивали в течение максимум 20 часов. В течение этого времени, сложные эфиры сульфоновой кислоты, образовавшиеся в течение первого часа при 120°C, перегруппировывались с образованием **SUL**. Типичные уровни примеси **ALC**, образующейся в этих условиях, составляют 3% LC площади. **SUL** выделяли с выходом 82% и >99,5% LC площади после водной обработки и кристаллизации из ацетонитрила и воды (масштаб до 23,3 кг).

Схема 12. Получение дигидрата изопропилсульфината кальция (**CALID**)

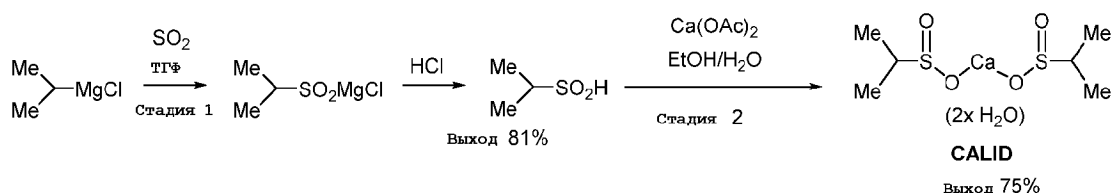
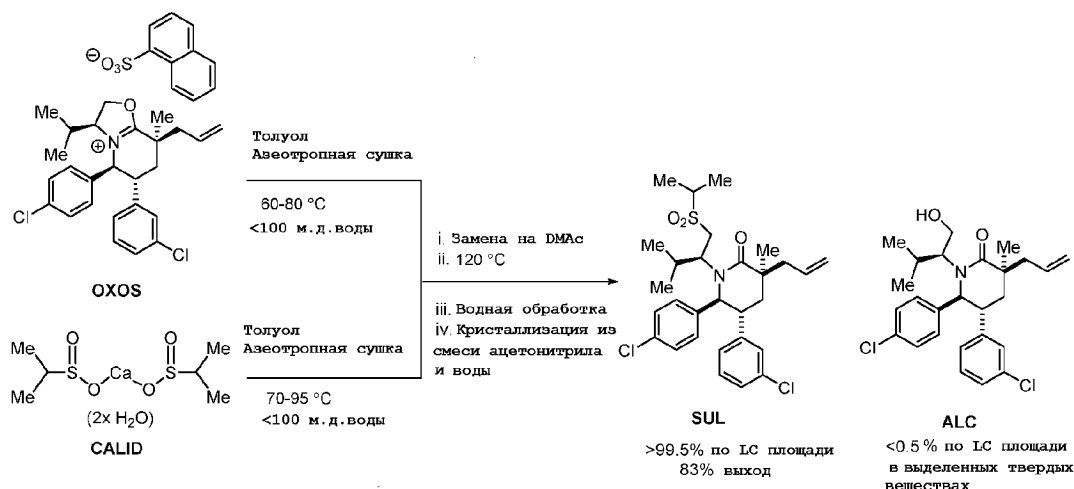


Схема 13. Получение **SUL** с использованием **CALID**



Изопропилмагнийхлорид получали *in situ* в качестве сухого реагента и использовали непосредственно при производстве **SUL**, предлагая альтернативную стратегию производства **SUL** из **OXOS**. Как показано на схеме 14, раствор изопропилмагния хлорида в тетрагидрофуране обрабатывали диоксидом серы для получения изопропилсульфината хлорида магния. *In-situ* FTIR (с пиком 1325 см⁻¹) использовали для проверки полного расхода диоксида серы. Для подтверждения отсутствия алкильного реагента Гриньяра перед последующей обработкой использовали реакцию мономер-фибриновых комплексов. После замены растворителя на N-метилпирролидинон (NMP) добавляли **OXOS** с получением **SUL** при 120°C или 180°C (схема 14). Удаление нежелательной влаги и/или гидроксида хлорида магния из полученной таким образом реакционной смеси является сложной задачей. Например, при использовании трех эквивалентов изопропилсульфината хлорида магния относительно

OXOS, в исходном растворе Гриньяра присутствует около 5 мол.% гидроксида хлорида магния (относительно **OXOS**). NMP (5 объемов) и **OXOS** содержат 5-10 мол.% воды (относительно **OXOS**). Таким образом, при использовании этого реагента трудно избежать образования минимум 15 мол.% **ALC**. Примечательно, что уровни **ALC**, наблюдаемые во время образования **SUL** в этих условиях, превышают измеренное количество воды или гидроксида, содержащегося в реакционной смеси с запасом, который зависит от рабочей температуры. Второй механизм, помимо прямого раскрытия **OXOS** водой или гидроксидной солью (схема 4), должен применяться для учета образования **ALC**. Этот постулируемый механизм включает взаимодействие **SULFI** с изопропилсульфинатом хлорида магния с образованием **ALC** (схема 15).

Существует эффективный механизм, объясняющий превращение **ALC** в **SUL** при повышенных температурах (например, 180°C), но это не происходит с промышленной приемлемой скоростью при 120°C (фиг.4). Обработка **OXOS** изопропилсульфинатом хлорида магния (3 эквивалента) в NMP (5 объемов) при 180°C обеспечивает образование **SUL** и **ALC** с аналитическими выходами 77% и 18%, соответственно, через 6 минут. Через 80 минут аналитические выходы **SUL** и **ALC** составляют 90% и 5% соответственно (фиг.5). Предполагается, что соли магния действуют как кислоты Льюиса, способствуя образованию **OXOS** из **ALC** (схема 15). Изопропилсульфинат хлорида магния имеет плохую стабильность при повышенных температурах, и, по наблюдениям ^1H ЯМР, распадается на 85% в течение 1 часа при 200°C в виде 1М раствора в NMP. Следовательно, для осуществления превращения использовали три эквивалента изопропилсульфината хлорида магния.

Схема 14. Получение **SUL** из **OXOS** с использованием изопропилсульфината хлорида магния

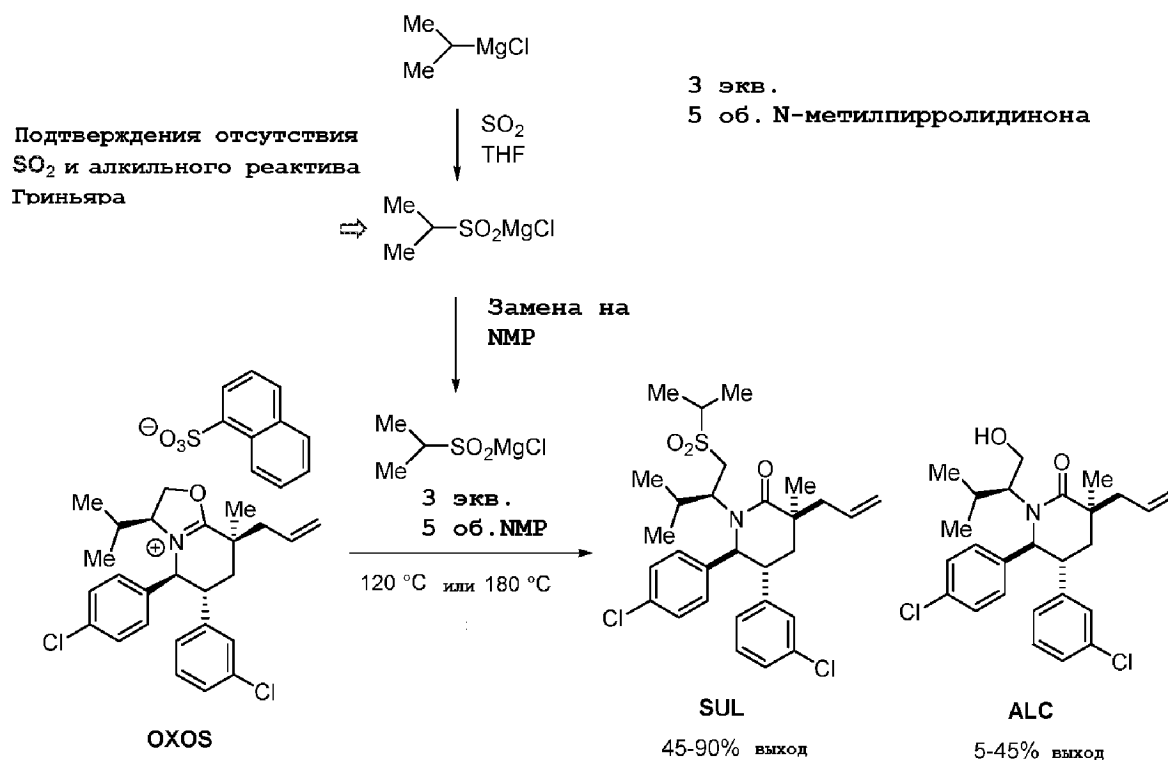
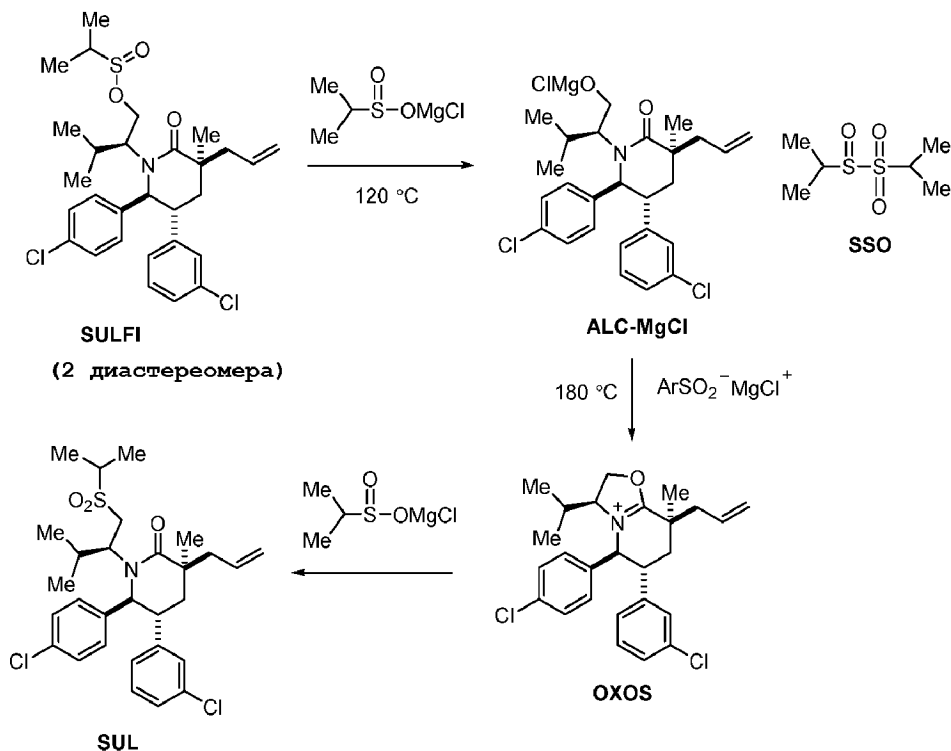


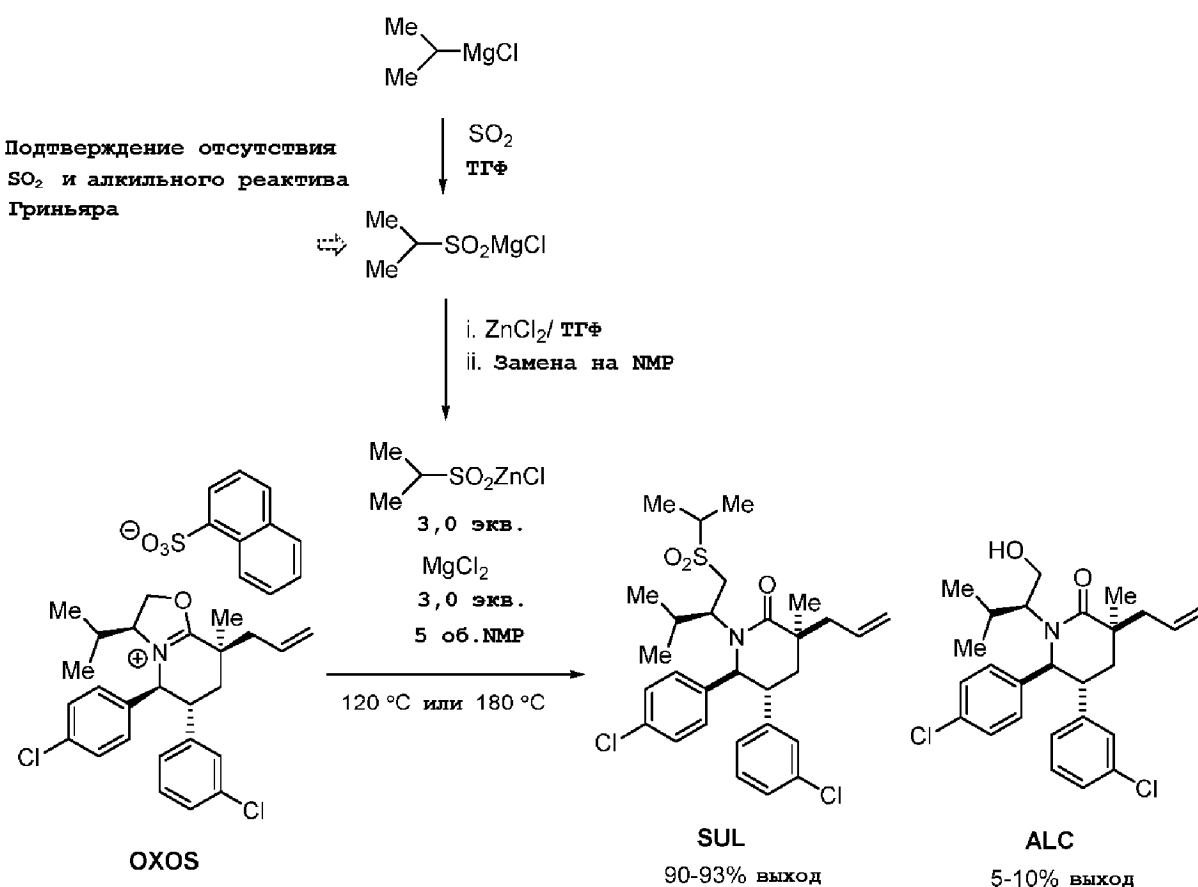
Схема 15. Возможные механизмы образования **ALC** и превращения **ALC** в **SUL**



Оценивали использование альтернативных солей изопропилсульфината для изменения реакционной способности и повышения стабильности изопропилсульфината хлорида магния. Обработка одного эквивалента реагента, приготовленного *in-situ*, одним эквивалентом хлорида цинка дала многообещающие результаты. Коммерчески доступный раствор тетрагидрофурана хлорида цинка (0,5 М) добавляли к раствору изопропилсульфината хлорида магния, полученному в соответствии с описанным выше способом (схема 12). Было установлено, что образовавшиеся новые частицы отличаются от изопропилсульфината хлорида магния и изопропилсульфината цинка по данным ^1H ЯМР (фиг.6), и его структура была постулирована как структура изопропилсульфината хлорида цинка с хлоридом магния, образующимся в качестве побочного продукта. Произвели замену растворителя на NMP (5 объемов) и к реакционной смеси добавили **OXOS** (схема 16). Используя этот смешанный реагент, превращение **ALC** в **SUL** происходило с высокой производительностью при 120°C . Таким образом, превращение можно проводить при 120°C , избегая распада реагентов и промежуточных продуктов реакции (фиг.7) и в очень жестких безводных условиях. Кроме того, отсутствуют какие-либо доказательства альтернативного механизма, обеспечивающего **ALC** без участия воды с этим смешанным магниевым-цинковым реагентом, и весь **ALC**, образующийся во время процесса, может быть учтен за счет поступающих реагентов или растворителя. Это не означает, что эту смешанную соль нельзя использовать при 180°C (фиг.8), но для осуществления процесса была выбрана температура 140°C , что обеспечивает хорошую скорость взаимодействия при использовании ограниченных эквивалентов (1,5 эквиваленты) магниевых-цинковых соединений и с обеспечением 90% выхода **SUL** с 7% **ALC**

в течение 7 часов. По данным ^1H ЯМР экспериментов, смешанные магний-цинковые соединения показали стабильность при 150°C в течение 16 часов.

Схема 16. Получение **SUL** из **OXOS** с использованием изопропилсульфината хлорида магния-хлорида цинка



Устойчивость этого процесса оценивали с использованием 20% избыточного количества диоксида серы во время образования изопропилсульфината хлорида магния и проведения замены растворителя на NMP после 24 часов перемешивания смешанной соли при 20°C . Было замечено, что осталось только 40% (по данным ^1H ЯМР) сульфидного реагента и что 60% материала диспропорционировали с образованием сульфона **SSO** (схема 15). Использование этой смеси для преобразования **OXOS** в **SUL** с 1,5 эквивалентами реагента обеспечило образование **SUL** только на 62% LC площади и оставило 33% LC площади **OXOS** непрореагировавшим, что демонстрирует недостаток устойчивости для этого процесса, поскольку может оказаться проблематичным контроль дозирования диоксида серы при производственной эксплуатации. Таким образом, использование **CALID** для получения **SUL** представляет собой выгодный аспект промышленного способа получения соединения А.

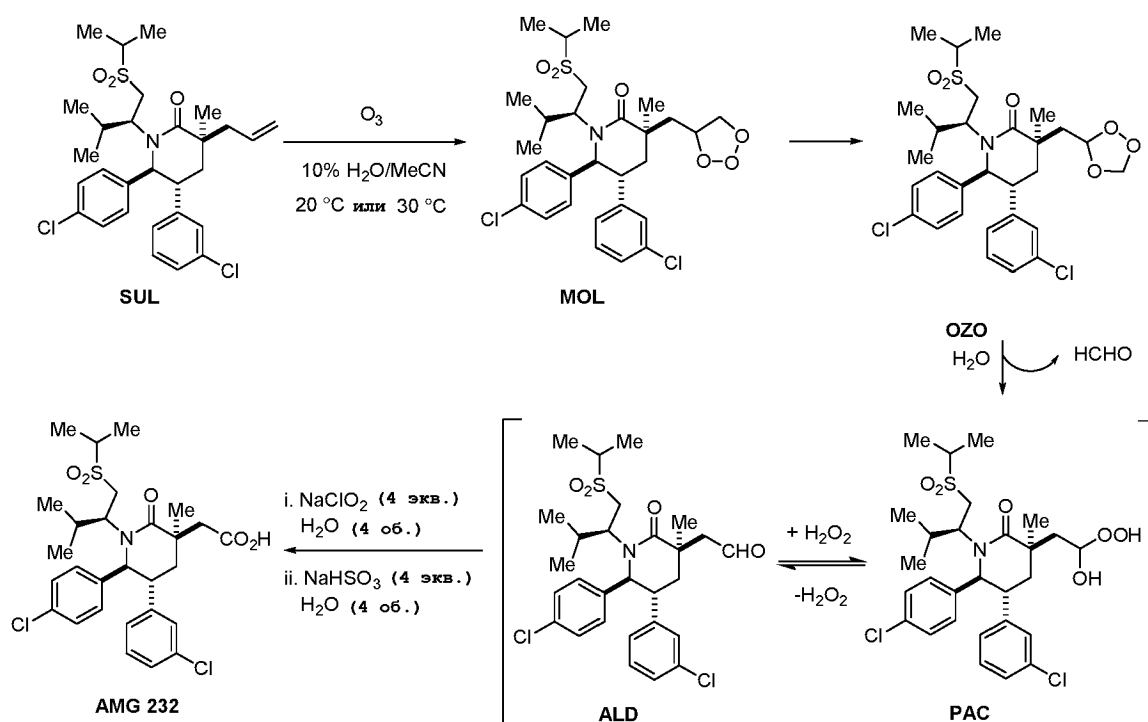
Пример 5: Разработка промышленного способа получения соединения А

Озонолиз алкеновой группы **SUL** с последующим окислением образовавшегося альдегида до соответствующей группы карбоновой кислоты соединения А хлоритом натрия представляет собой более экологичную альтернативу методу с оксидом рутения/периодатом натрия, используемому для первоначального производства

соединения А. Кроме того, способ озонлиза, вероятно, устранил образование нескольких нежелательных димерных примесей, которые трудно удалить путем кристаллизации, и, таким образом, упростит выделение продукта.

При выявлении безопасных условий реакции для озонлиза использовали водную смесь (схема 17). В этих условиях промежуточный высокоэнергетический озонид (**OZO**) гидролизуется, что позволяет избежать его накопления и сделать процесс безопасным. Измеряли % LC площади накопленного **OZO** относительно объемного процентного содержания воды, используемого в реакционной смеси ацетонитрил/вода, с результатами, представленными на фиг.9. Суммарное выделение энергии для озонлизной смеси (20 объемов растворителя) с 10% воды составляет 92 Дж/г при температуре распада 240°C, что не представляет угрозы для безопасности. Другой параметр, требующий контроля для обеспечения безопасности во время озонлиза, соответствует концентрации газовой фазы кислорода в сосуде во время реакции. Предельная концентрация кислорода (LOC) для горения смеси была определена на уровне 10,75 об.%, при этом процесс озонлиза проводился при половине LOC (~5 об.% кислорода) для обеспечения достаточного уровня безопасности во избежание возможного возгорания.

Схема 17. Получение соединения А из **SUL** с использованием tandemного процесса озонлиз-окисление Пинника.



В схеме GMP для этого превращения на практике применяют два различных режима обработки: (i) полунепрерывный озонлиз с использованием барботирования озоном в резервуаре периодического действия; и (ii) непрерывный процесс в реакторе с мешалкой. Изначально непрерывный процесс кажется эффективным для устранения общих проблем безопасности, ассоциированных с использованием реакции озонлиза в промышленном способе. Схема и изображение аппарата для непрерывного озонлиза,

используемого в одном из вариантов осуществления, представлены на фиг.10 и 11 соответственно. Модель генератора озона CFS-3, продаваемая Ozonia, использовали для обработки 4,8 кг **SUL** при производстве около 0,9 моль озона в час. Озон генерируется из подаваемого воздуха и вводится через клапан, расположенный на дне реактора непрерывного действия с мешалкой (CSTR), как показано на фиг.10. Раствор исходного материала вводили со скоростью 60 мл/мин, используя погружную трубку с выпускным отверстием над стеклянной фриттой, расположенной на дне сосуда (емкость 0,9 л). Интенсивное перемешивание смеси важно для соответствующего диспергирования газа, и пример можно увидеть на фиг.11. Поддерживали продувку свободного объема азотом, превышающую в 3 раза скорость потока воздуха, вводимого снизу, обеспечивая таким образом присутствие газовой фазы меньше 5 об.% кислорода/озона. Контролируемую рубашкой реактора температуру реакционной смеси поддерживали при 20°C. Зонд КР использовали на CSTR выходе для измерения уровней остаточного **SUL**.

Для минимизации риска при использовании непрерывного озонлиза, из накопленных порций реакционной смеси отбирали пробы, и завершение реакции проверяли с помощью ВЭЖХ. Порции загружали в 2М водный раствор хлорита натрия (4 эквивалента), и полученную смесь перемешивали в течение 16 часов при температуре 20°C. Вследствие низкой растворимости промежуточных продуктов (**ALD**, **PAC**) в водных растворах, добавление водного раствора хлорита натрия к реакционному потоку озонлиза предпочтительнее варианта, используемого для предотвращения начального осаждения этих промежуточных продуктов, и представляет собой способ добавления, используемый для полунепрерывного процесса озонлиза, описанного ниже.

Полунепрерывный способ осуществления озонлиза **SUL** имеет преимущества обработки с избыточным количеством исходного алкенового материала для большей части превращения и использования более простых производственных площадок. При использовании этого режима обработки наблюдали образование не более 0,4% **LC** площади примеси **DNCA**, однако для контроля завершения реакции и безопасных условий обработки требуется надежный способ. Как описано выше, безопасные условия обработки для этого реакционного коллектора обеспечиваются благодаря использованию водной среды и поддержания концентрации кислорода ниже 5 об.%. Газовый поток воздуха/озона разбавляли азотом после генератора озона, но до введения реагирующего газа через погружную трубку в реакционный сосуд, как показано на фиг.12. Поток газа азота использовали четыре раза по сравнению с потоком воздуха, чтобы газ, поступающий в сосуд, содержал не больше 5 об.% кислорода/озона. Детектор озона в свободном объеме может использоваться для контроля завершения реакции озонлиза путем измерения увеличения концентрации газа на выходе. Однако оказалось, что этот метод трудно осуществим, поскольку измеренные изменения концентрации озона на выходе могут быть незначительными. С другой стороны, было обнаружено, что расход исходного материала является линейным для этого превращения (фиг.13), что позволяет проводить анализ нескольких образцов методом ВЭЖХ во время превращения в сочетании с данными озона

на выходе генератора для точного прогноза времени завершения реакции. Для обработки партии **SUL** массой 23 кг использовали модель генератора озона CFS-14, продаваемую компанией Ozonia и обеспечивающую максимальную производительность около 540 г озона в час. Однако стабильный выход озона легче поддерживать при условии, если прибор работает на мощности ниже максимальной и, таким образом, для производства использовали производительность 285 г озона/час и достигали мощности 6080 Вт (80% мощности) и 3,1 стандартных кубических футов в минуту (около 87,8 л/мин) (30% от максимального потока воздуха). При этих настройках, концентрация озона в газе на выходе генератора составляла около 4,3 масс% и этот газовый поток смешивали с азотом (12,5 стандартных кубических футов в минуту (около 353,8 л/мин) перед подачей в технологический сосуд. Прогнозируемое время до завершения реакции с использованием выхода газообразного озона (7,4 часа) было превышено на 10% (фактически 8,2 часа). Известно, что озон взаимодействует с водой с образованием гидроксильного радикала, и таким образом часть озона расходуется, что объясняет избыток озона, который необходимо использовать.

Для этой полунепрерывной обработки, озон вводили на дно реакционного сосуда через погружную трубку. Первое устройство, характеризующееся для подачи газа в реакционную систему, представляло собой стандартную установку для барботирования озона с размером пор 100 мкм и общей площадью 0,32 квадратных фута (0,03 м²). При использовании этого барботера для подачи 15,6 стандартных кубических футов в минуту (около 441,5 л/мин) комбинированного газового потока (воздух, озон и азот) произошло падение давления, вызвавшее охлаждение поверхности барботера. Это снижение температуры сопровождалось кристаллизацией исходного материала **SUL** и продукта **ALD** с последующим закупоркой пор барботера кристаллизованным материалом. Растворимость **SUL** и **ALD** при 10°C в смеси ацетонитрил/вода (объемное соотношение 9/1) составляет 25 мг/мл и 21 мг/мл, соответственно, и, таким образом, только около 50% любого материала может быть растворено при этой температуре в 20 объемах используемой смеси растворителей. После того как барботер блокируется исходным материалом или кристаллами продукта, доступная поверхность для переноса газа уменьшается, и ситуация усложняется, требуя прерывания процесса и восстановления барботера. Для решения этой проблемы был разработан другой озоновый барботер. Альтернативный барботер имел отверстия диаметром 1/8 дюйма (0,32 см), перфорированные в трубке C22 Hastelloy (37 отверстий). Оба барботера показаны на фиг.14. Было измерено влияние использования любого из барботеров на температуру реакционной смеси и поверхности барботера при типичном потоке газа (15 стандартных кубических футов в минуту (около 424,5 л/мин)) и результаты показаны в таблице 3. Как указано в таблице, существует значительная разница (30°C в сравнении с 11°C, например) между температурой поверхности барботера и температурой реакционной смеси для барботера с отверстиями диаметром 100 мкм, что вызывает описанные выше проблемы.

Альтернативный барботер решает эти задачи. Чтобы избежать осаждения **SUL** и **ALD** в процессе озонолиза, превращение проводили при 30°C.

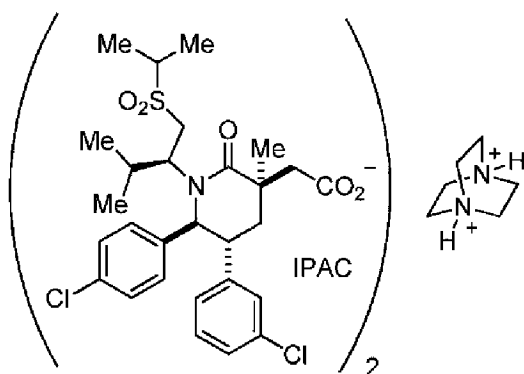
Таблица 3. Контроль температуры поверхности барботера с использованием различных барботеров

Газовый поток (стандартных кубических футов в минуту)	Размер пор барботера	Температура реакционной смеси (°C)	Температура поверхности барботера (°C)
15 (425 л/мин)	100	12	2
15 (425 л/мин)	100	30	11
15 (425 л/мин)	1/8 дюйма (0,32см)	13	11
15 (425 л/мин)	1/8 дюйма	25	22

После завершения процесса озонолиза, осуществляли добавление 2М водного раствора хлорита натрия, что позволило образовать соединение А. Смесь обрабатывали 2М водным раствором бисульфита натрия для удаления всех окислителей для дальнейшей обработки. За разделением фаз следовало добавление изопропилацетата и две промывки органического слоя 2М водным фосфатом натрия (рН 6). Наконец, органическую фазу промывали 1,1 М водным хлоридом натрия, для получения раствора соединения А с аналитическим выходом >95% и чистотой >98% LC площади.

Пример 6: Выделение соединения А в виде соли DABCO

Учитывая, что контрольная точка для лекарственного вещества, обеспечивающая надежное удаление примесей, не была доступна для свободной кислоты, получали и анализировали несколько солей соединения А, чтобы найти эффективный вариант для легкого удаления примесей. С этой целью исследовали более тридцати органических солей и пять неорганических солей соединения А, что облегчило идентификацию полу-DABCO соли и полукальциевой соли в качестве потенциальных претендентов. Однако полукальциевая соль демонстрировала лишь умеренное удаление исходного материала **SUL** или примеси **НАС**, тогда как использование полу-DABCO изопропилацетатной соли (232-DAB) позволило эффективно удалить оба вида (IPAC=изопропилацетат).



232-DAB

Пять (5)% LC площади **SUL** и 1% LC площади **НАС** могут быть полностью удалены во время выделения последней соли, уровни, которые значительно выше, чем наблюдаемые в типичной реакционной смеси озонлиза-окисления по Пиннику. **232-DAB** является стабильной кристаллической полу-DABCO моносолевой (изопропилацетатной) солью, полученной посредством TGA и ¹H ЯМР. Был идентифицирован единственный полиморф материала. Полиморфная форма и уровень изопропилацетата в материале не изменились в эксперименте по динамической сорбции паров, проводимом при относительной влажности от 0 до 90%. Кроме того, надежный протокол кристаллизации, основанный на температуре и использовании антирастворителя, может быть разработан для полу-DABCO изопропилацетатной соли с использованием изопропилацетата и гептана.

Кривая растворимости, отображающая значения в различные интервалы времени в процессе кристаллизации, показана на фиг.15. После добавления DABCO (0,5 эквивалента) к раствору соединения А в четырех объемах изопропилацетата при 55°C раствор затравливали 232-DAB, что обеспечивало снятие пересыщения и кристаллизацию примерно 20% материала. Охлаждение до 20°C в течение 2 ч вызывало кристаллизацию еще 60% материала. Затем добавляли четыре объема гептана для снижения концентрации надосадочной жидкости до около 5 мг/мл при подготовке к периодической фильтрации. Использование этой процедуры кристаллизации обеспечило выделение **232-DAB** с выходом 83% и чистотой >99,9% LC площади (масштаб до 23,2 кг).

Пример 7: Выделение соединения А

Протокол водной кристаллизации был желательным для выделения соединения А посредством ортогонального процесса очистки, учитывая, что кристаллизация **232-DAB** проводилась в органических растворителях. Смеси водно-спиртовых растворителей нельзя было использовать для кристаллизации, учитывая общую нестабильность соединения А в спиртовых растворителях при температуре выше 20-30°C вследствие этерификации по Фишеру и невозможности удаления примеси сложных эфиров путем кристаллизации. Другие водные смеси с водосмешиваемыми растворителями показали крутые кривые растворимости, которые не способствовали плану кристаллизации.

Напротив, уксусная кислота и вода соответствовала кристаллизации материала без подробно описанных выше недостатков и с хорошими характеристиками роста. С использованием этой смеси растворителей, была рассчитана устойчивая температура и кристаллизация на основе антирастворителей, которая проводилась после солевого расщепления в водной смеси соляной кислоты (2 эквивалента)/изопропилацетата, двух последующих промывок органического слоя 2М водным фосфатом натрия (pH 6), промывки 1,1 М водным раствором хлорида натрия и замены растворителя изопропилацетата на уксусную кислоту.

Кривая, показывающая значения растворимости в различные моменты времени в процессе кристаллизации, представлена на фиг.16. Раствор соединения А в уксусной кислоте (6,6 объемов уксусной кислоты) нагревали до 55-60°C и добавляли 4,4 объема воды. В раствор вносили затравку соединения А, что обеспечивало создание пересыщения и кристаллизацию около 30% соединения А. Смесь для кристаллизации охлаждали до 20°C в течение 10 часов, что обеспечивало кристаллизацию еще 55% материала. Затем добавляли один объем воды с понижением концентрации надосадочной жидкости до около 5 мг/мл при подготовке к быстрой периодической фильтрации. Осуществляли три промывки водой (3 × 10 объемов) с минимизацией присутствия остаточной уксусной кислоты в выделенном материале. Соединение А (до 18,0 кг) выделяли с использованием этого протокола с выходом >92% (100 масс%) и чистотой > 99,9% LC площади с <200 м.д. остаточной воды и <200 м.д. остаточной уксусной кислоты.

Материал измельчали с использованием Pallman Universal Mill (ударная мельница, масса материала до 16 кг), и результаты представлены в таблице 4. Целевое значение d₅₀ для соединения А устанавливали на уровне <35 мкм на основе моделирования пероральной абсорбции (GastroPlus v 9,0) для диапазона оцениваемых доз (от 60 до 480 мг) с обеспечением полной абсорбции при значении pH желудка натошак, составляющего 1,3.

Таблица 4. Распределение частиц соединения А по размерам до и после сухого измельчения

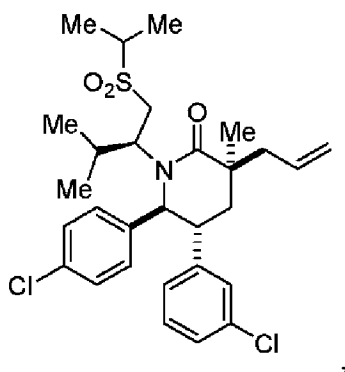
Материал	d10 (мкм)	d50 (мкм)	d90 (мкм)
Не измельченное соединение А	14,6	42,5	102
Измельченное соединение А	3,2	19,1	43,7

Был разработан надежный и эффективный способ, подходящий для промышленного производства лекарственного вещества (соединение А) высокой чистоты. Существенные аспекты процесса включают: (i) использование устойчивого в лабораторных условиях реагента Вильсмейера, метоксиметилен-*N*, *N*-диметилиминия метилсульфат, для селективной активации *in situ* промежуточного первичного спирта; (ii)

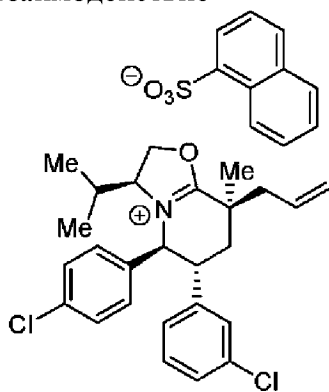
выделение промежуточного **DHO** в кристаллической форме, что повышает способность способа удалять примеси; (iii) использование нового и стабильного реагента на основе изопропилсульфината кальция в кристаллической форме для обеспечения надежного получения промежуточного сульфона; (iv) разработка протокола безопасного озонолиза, осуществляемого в водной смеси растворителей, который соответствует либо периодическому, либо непрерывному режиму производства; (v) более эффективный контроль чистоты соединения **A** вследствие образования соли соединения **A**, что обеспечивает эффективное удаление примесей. Было продемонстрировано, что новый процесс обеспечивает 18 кг чистого соединения **A** (99,9% LC площади) с общим выходом 49,8% от **DLAC**, что представляет собой значительное улучшение по сравнению с описанным способом **FIN**, который обеспечивает общий выход, составляющий только 32%.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения соединения



включающий:
взаимодействие



с агентом *in situ*, полученным взаимодействием изопропилсульфината хлорида магния с хлоридом цинка.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что взаимодействие осуществляется в присутствии соли магния.

3. Способ по п.2, где соль магния представляет собой $MgCl_2$.

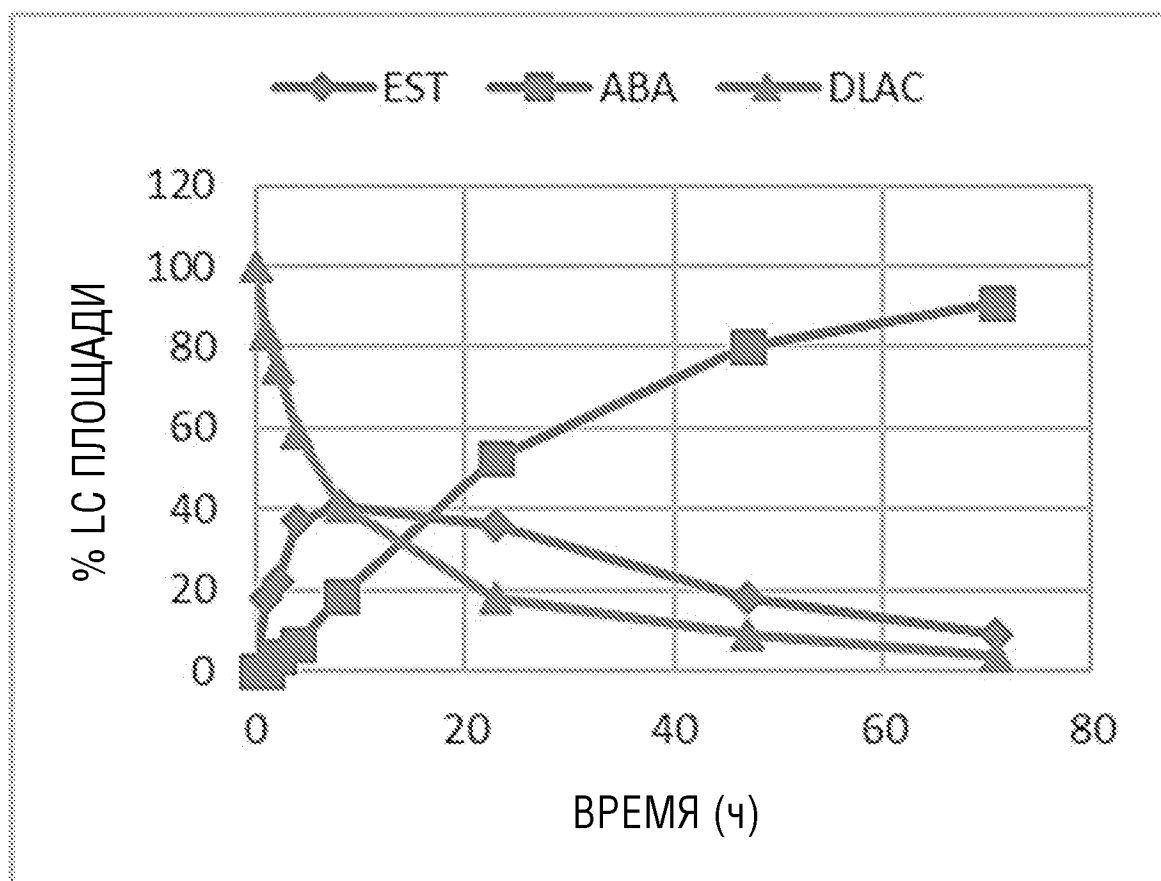
4. Способ по п.1, отличающийся тем, что изопропилсульфинат хлорида цинка образуется *in situ* из изопропилмагнийхлорида.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что взаимодействие осуществляется при температуре в диапазоне от 100°C до 150°C.

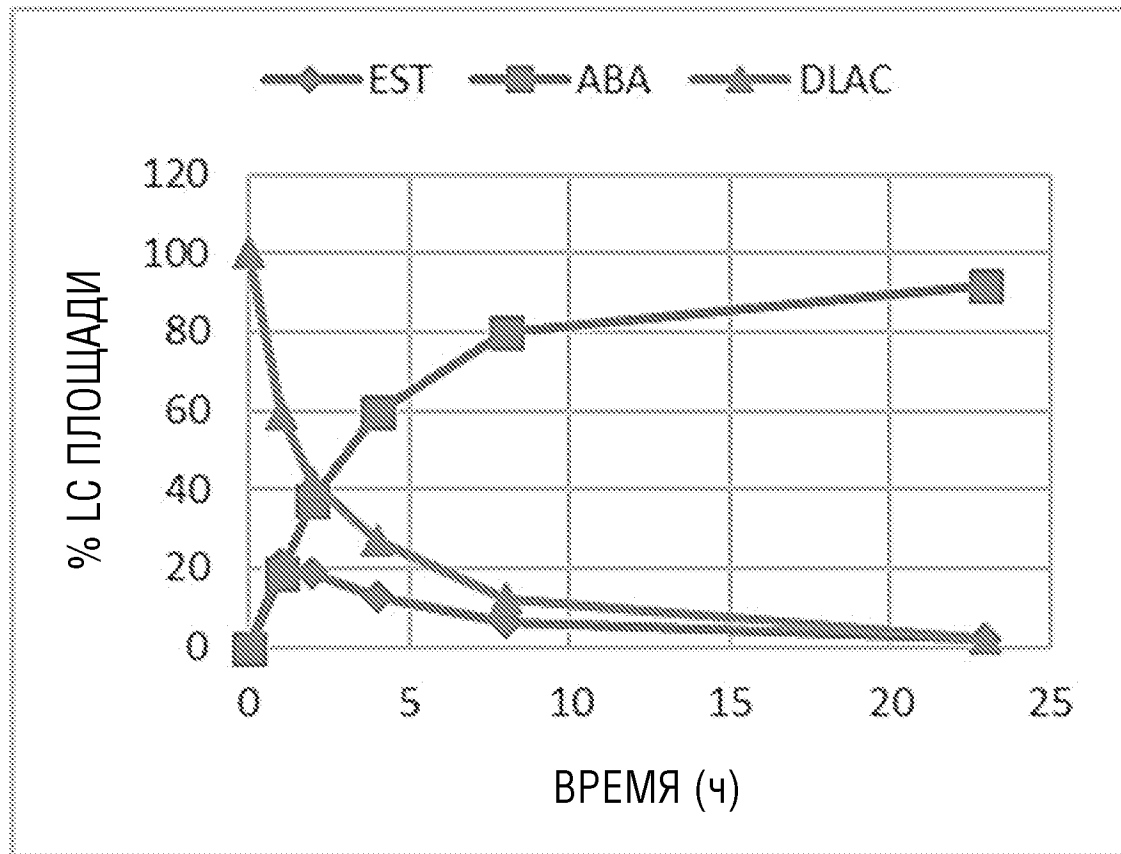
6. Способ по п.1, отличающийся тем, что взаимодействие осуществляется при температуре в диапазоне от 150°C до 200°C.

По доверенности

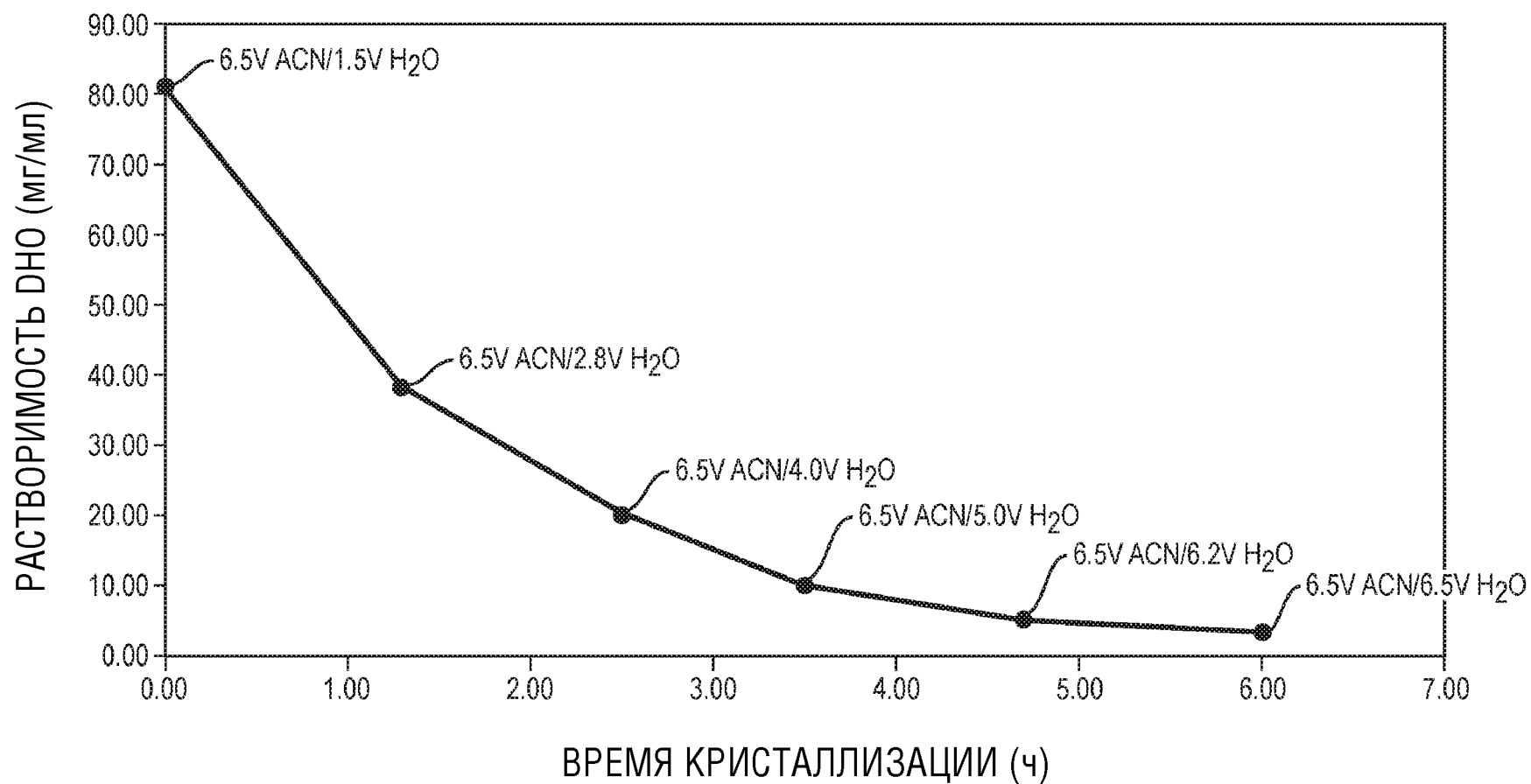
ФИГ.1



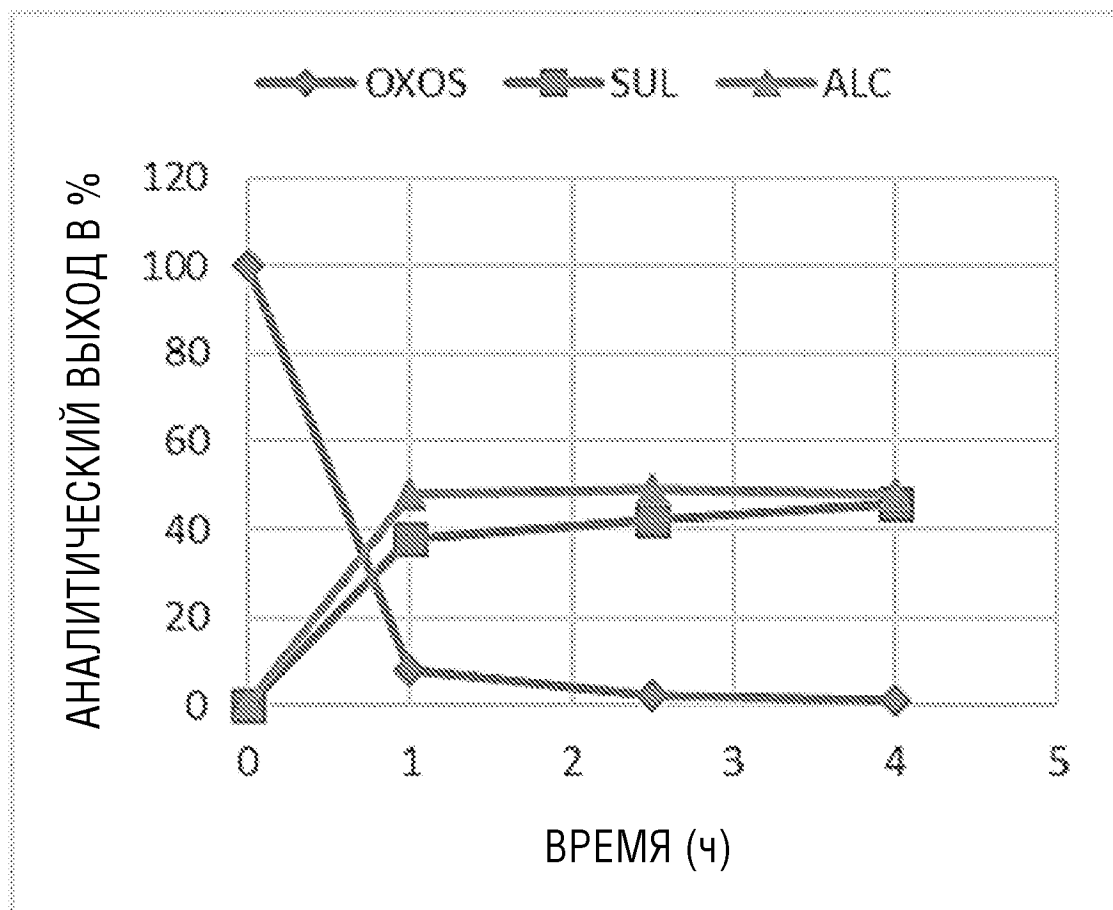
ФИГ.2



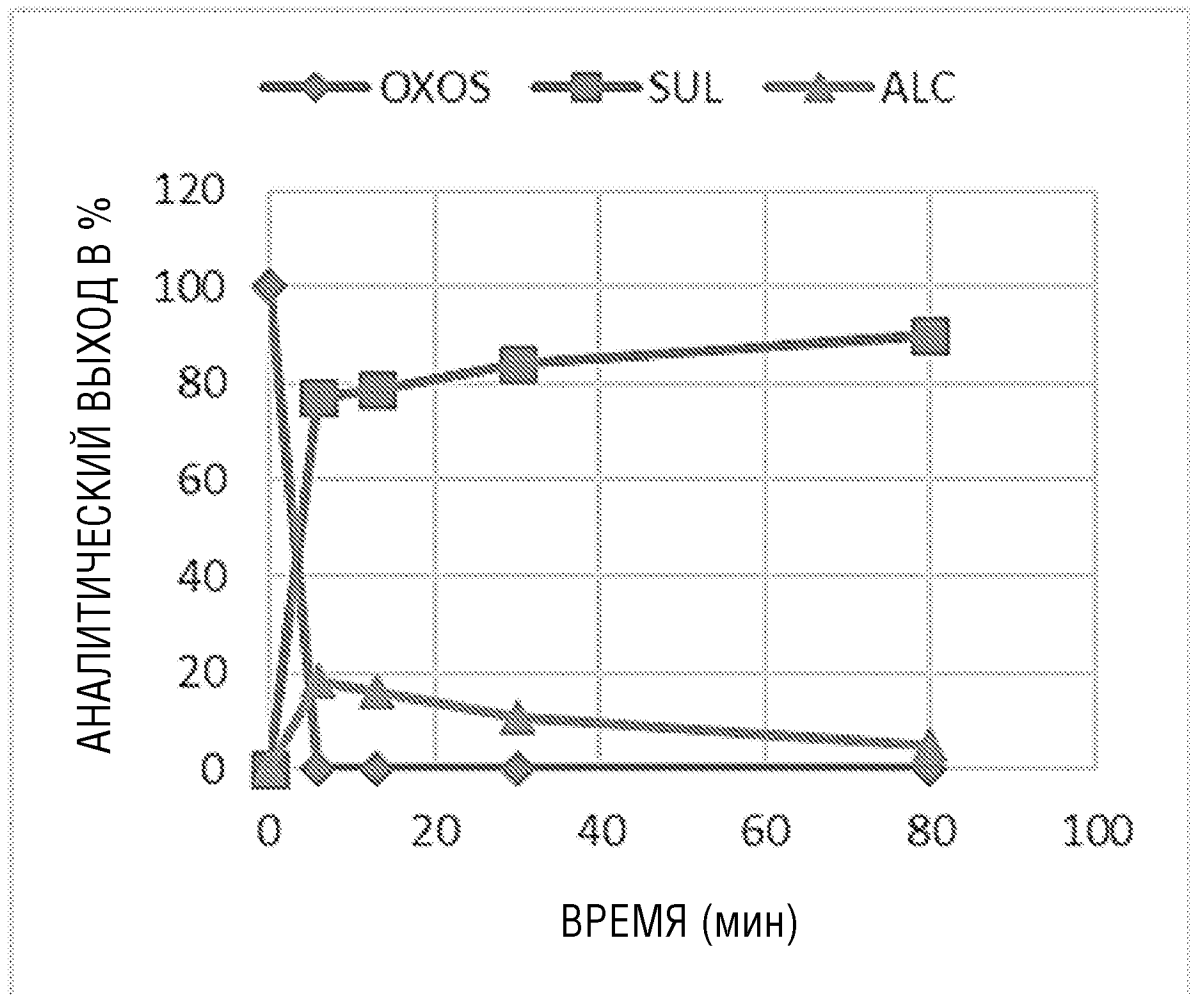
ФИГ.3



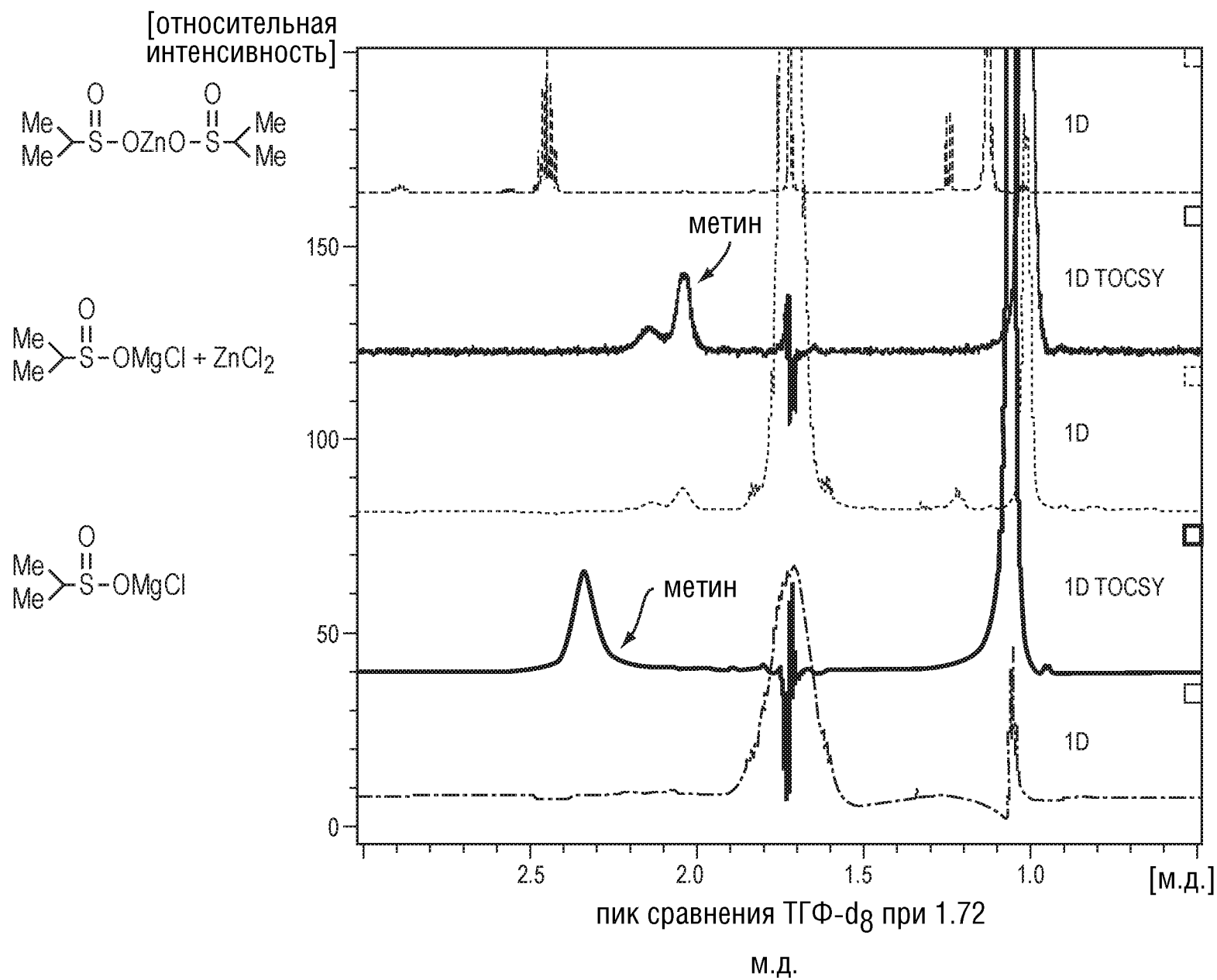
ФИГ.4



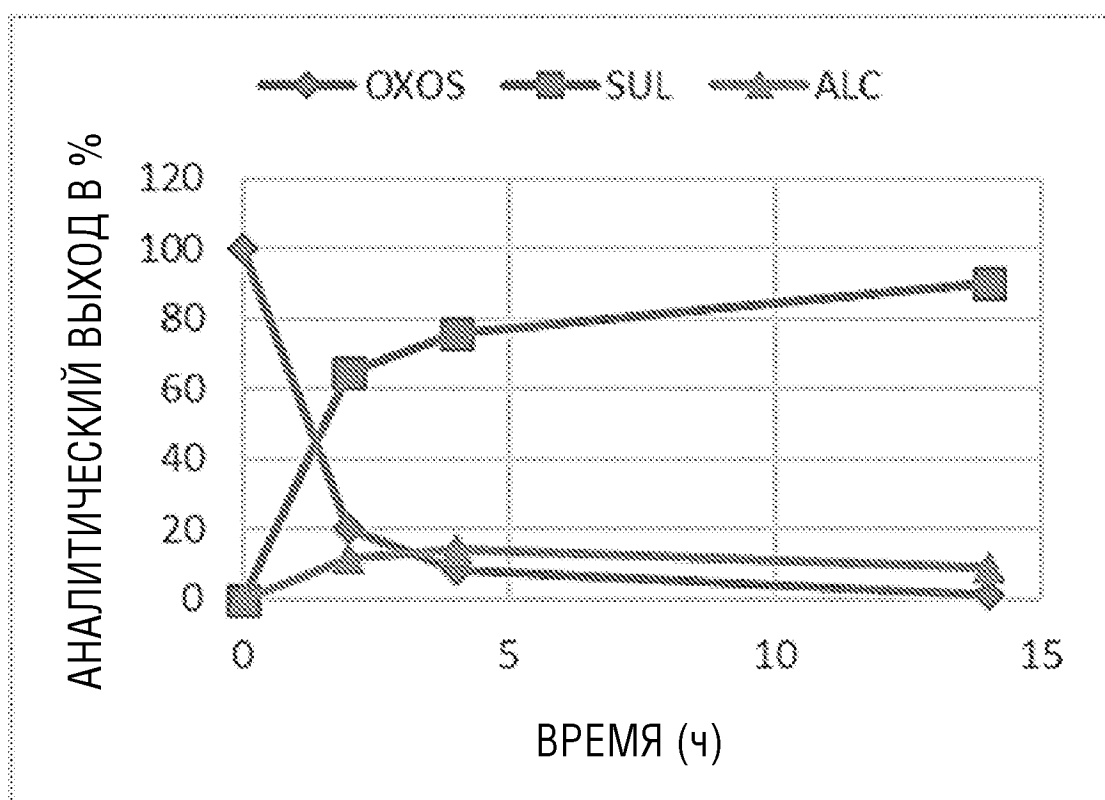
ФИГ.5



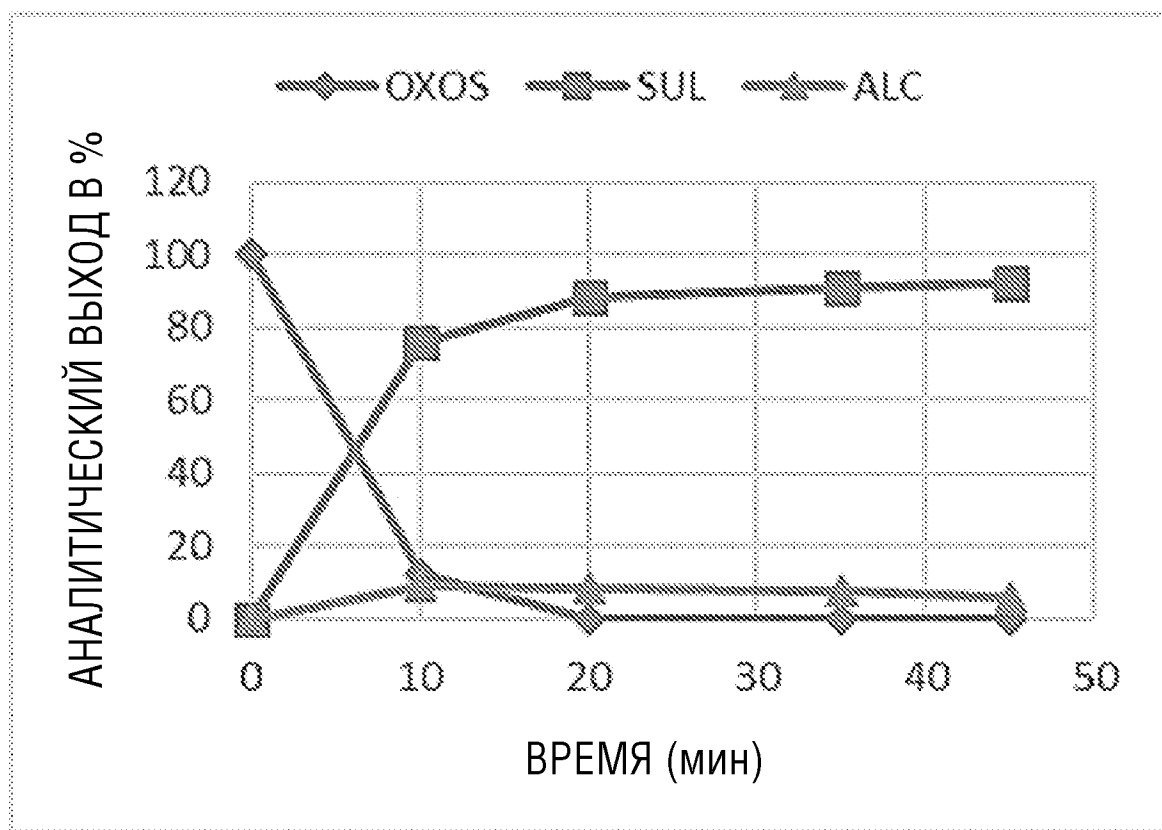
ФИГ.6



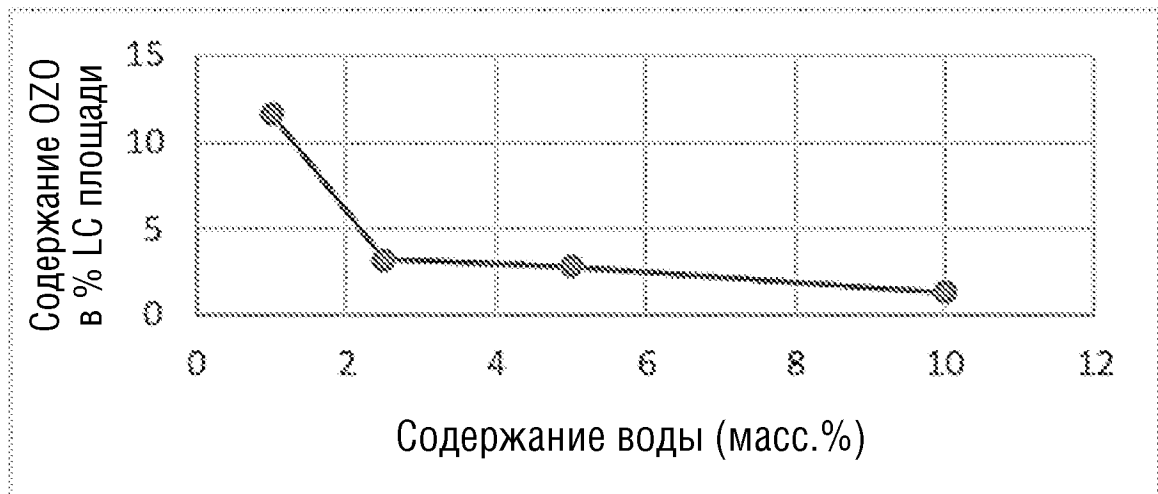
ФИГ.7



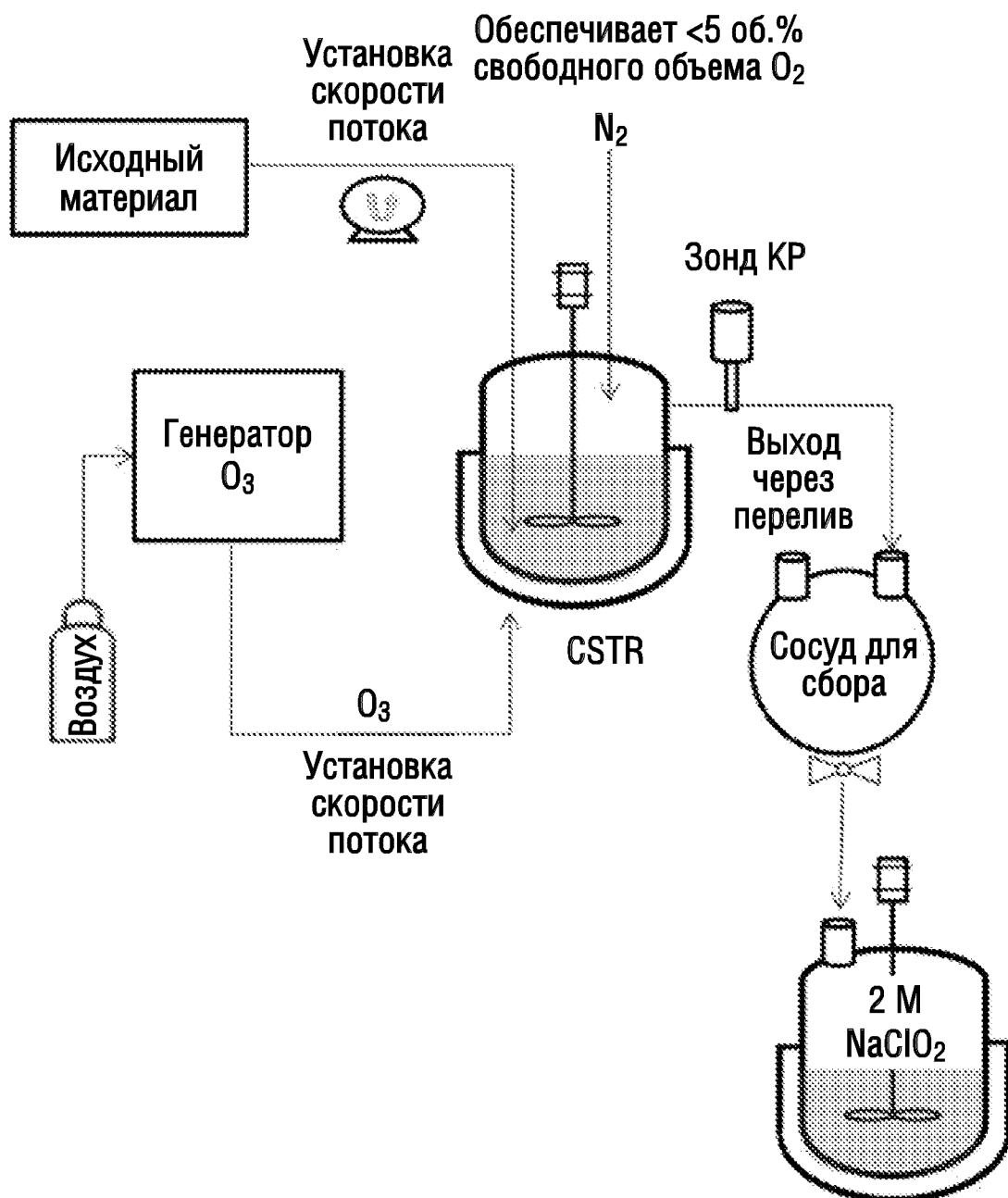
ФИГ.8



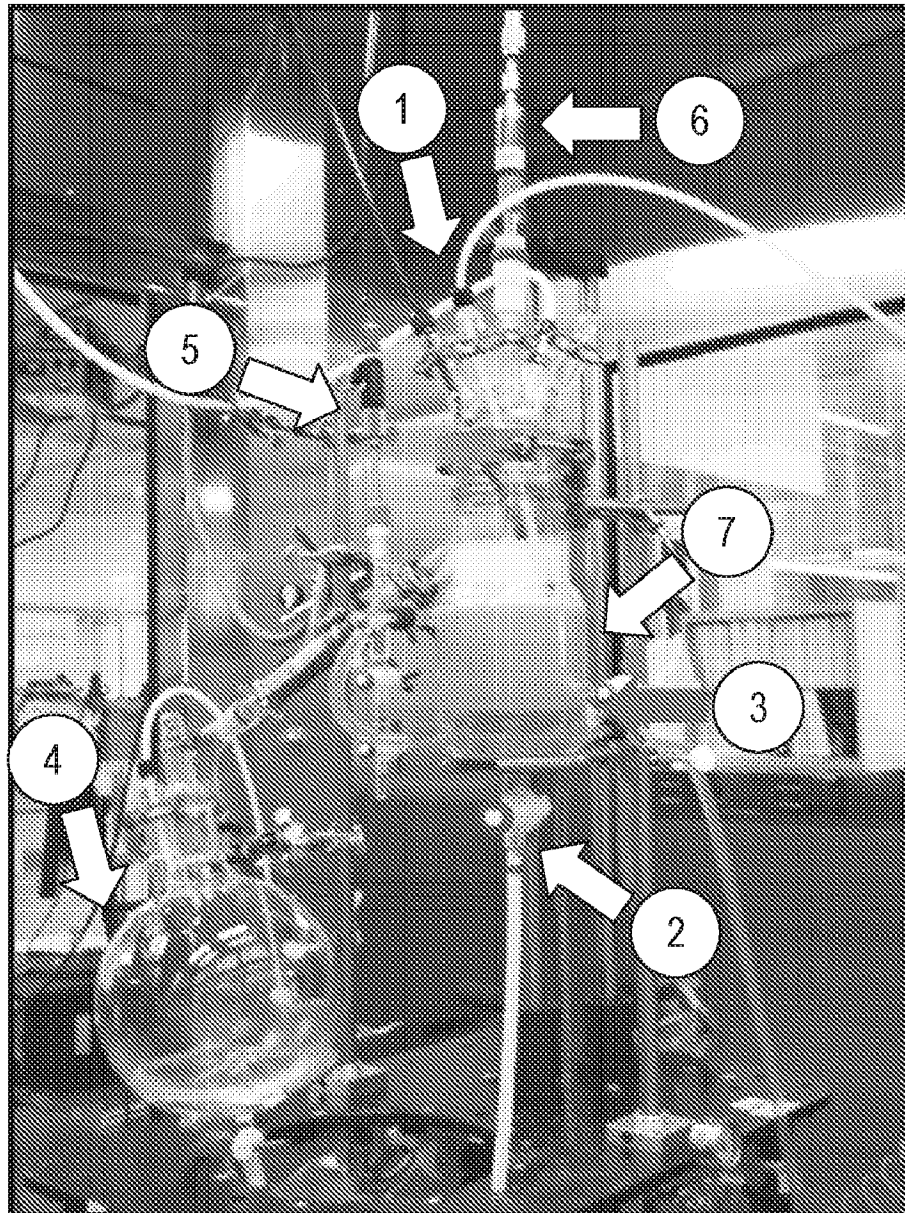
ФИГ.9



ФИГ.10

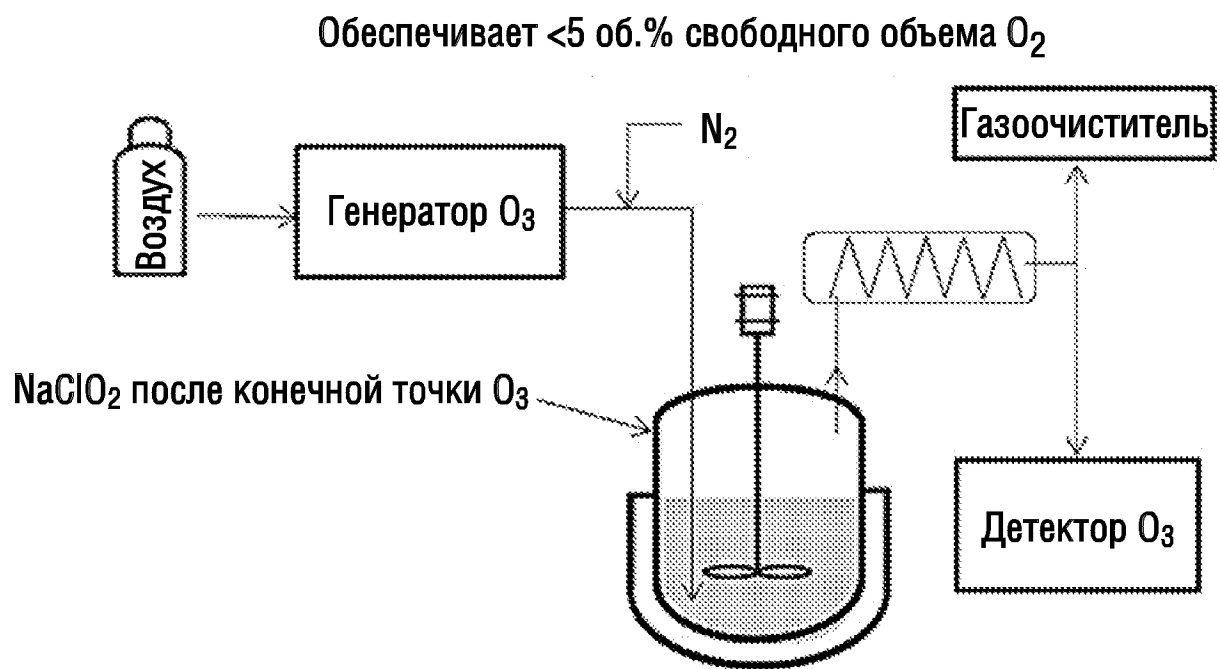


ФИГ.11

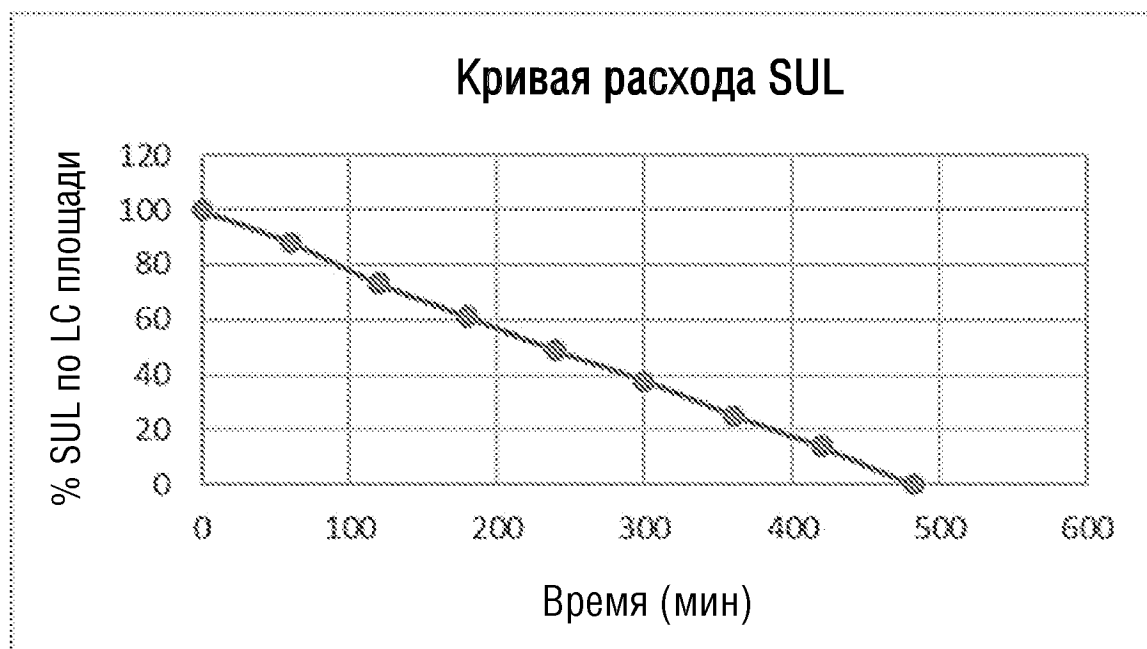


- 1 = Ввод SUL
- 2 = Ввод O₃
- 3 = Стекло́нная фритта
- 4 = Приемная колба
- 5 = Зонд КР
- 6 = Пропеллерная мешалка
- 7 = Рубашка охлаждения

ФИГ.12

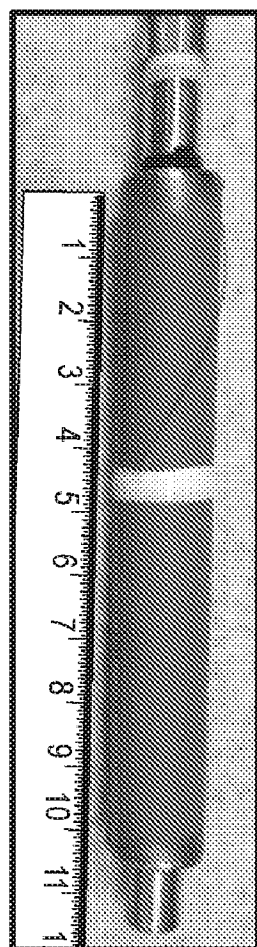


ФИГ.13

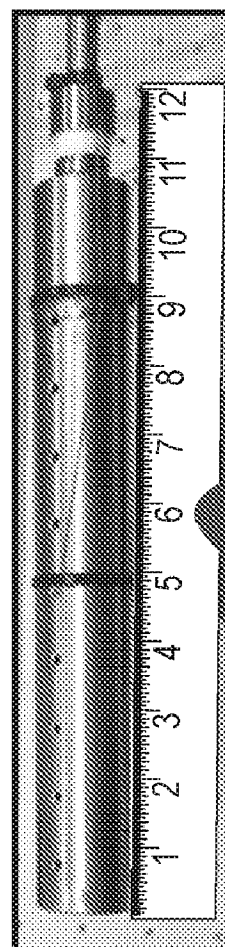


ФИГ.14

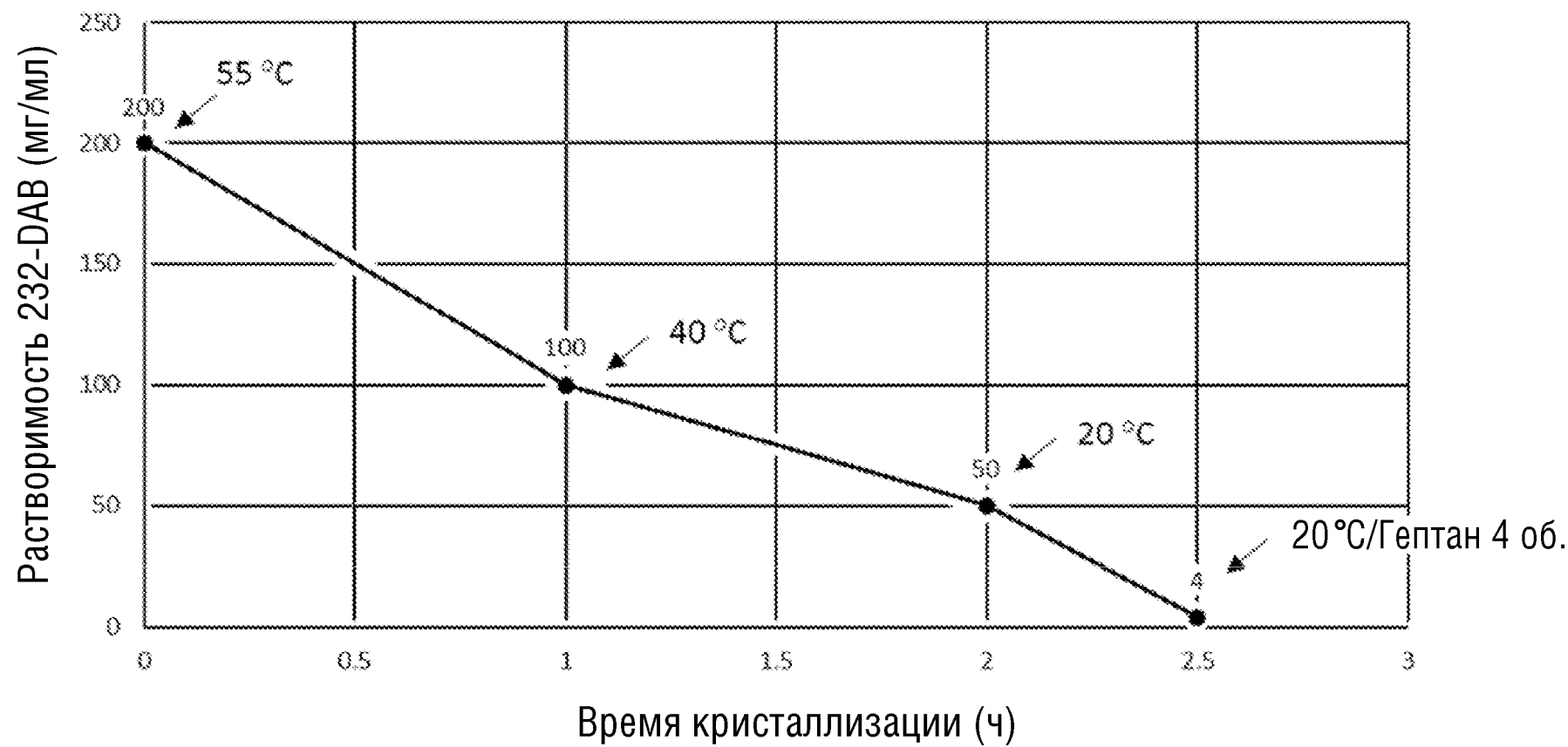
Барботер с отверстиями
диаметром 100 мкм



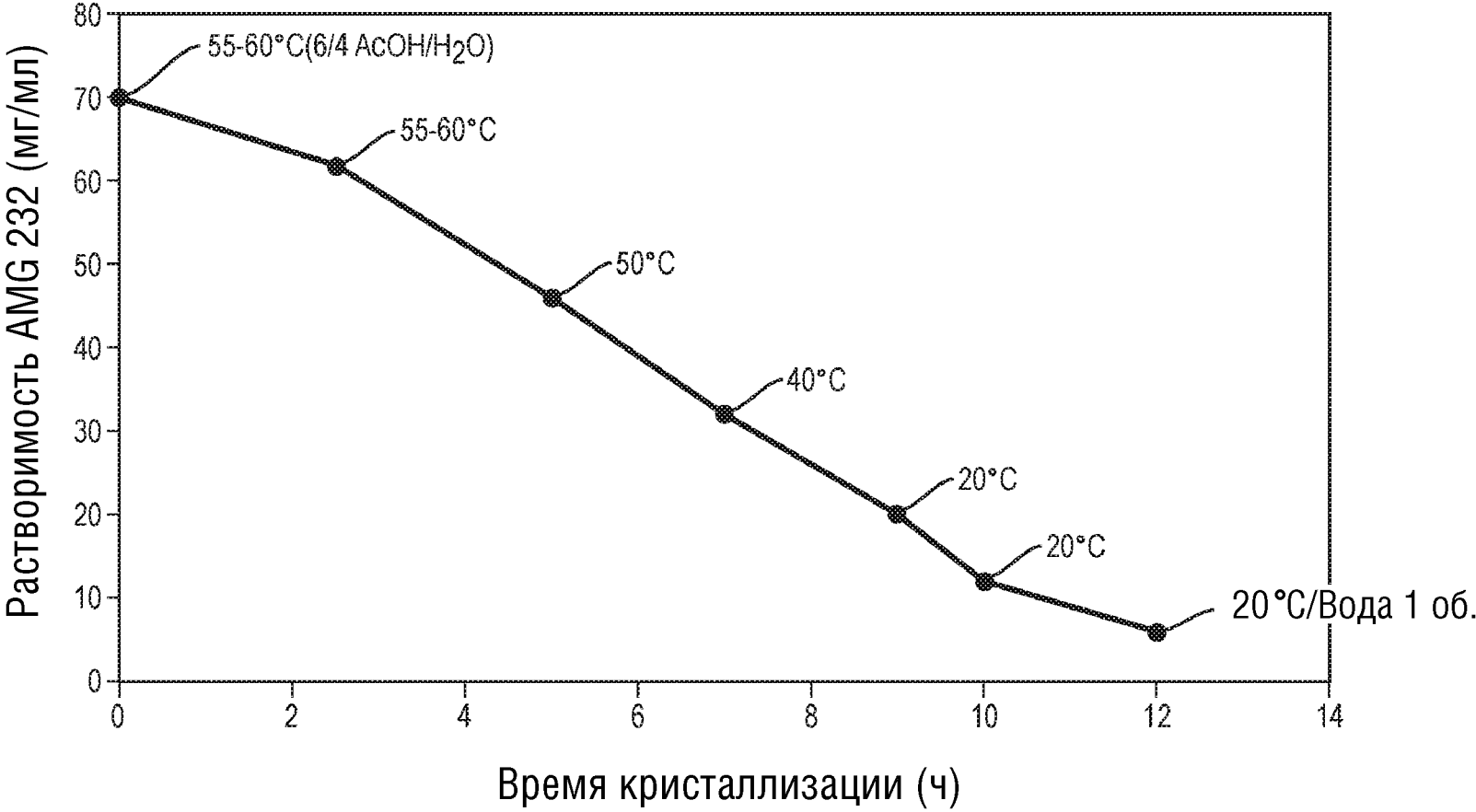
Барботер с отверстиями
диаметром 1/8 дюйма



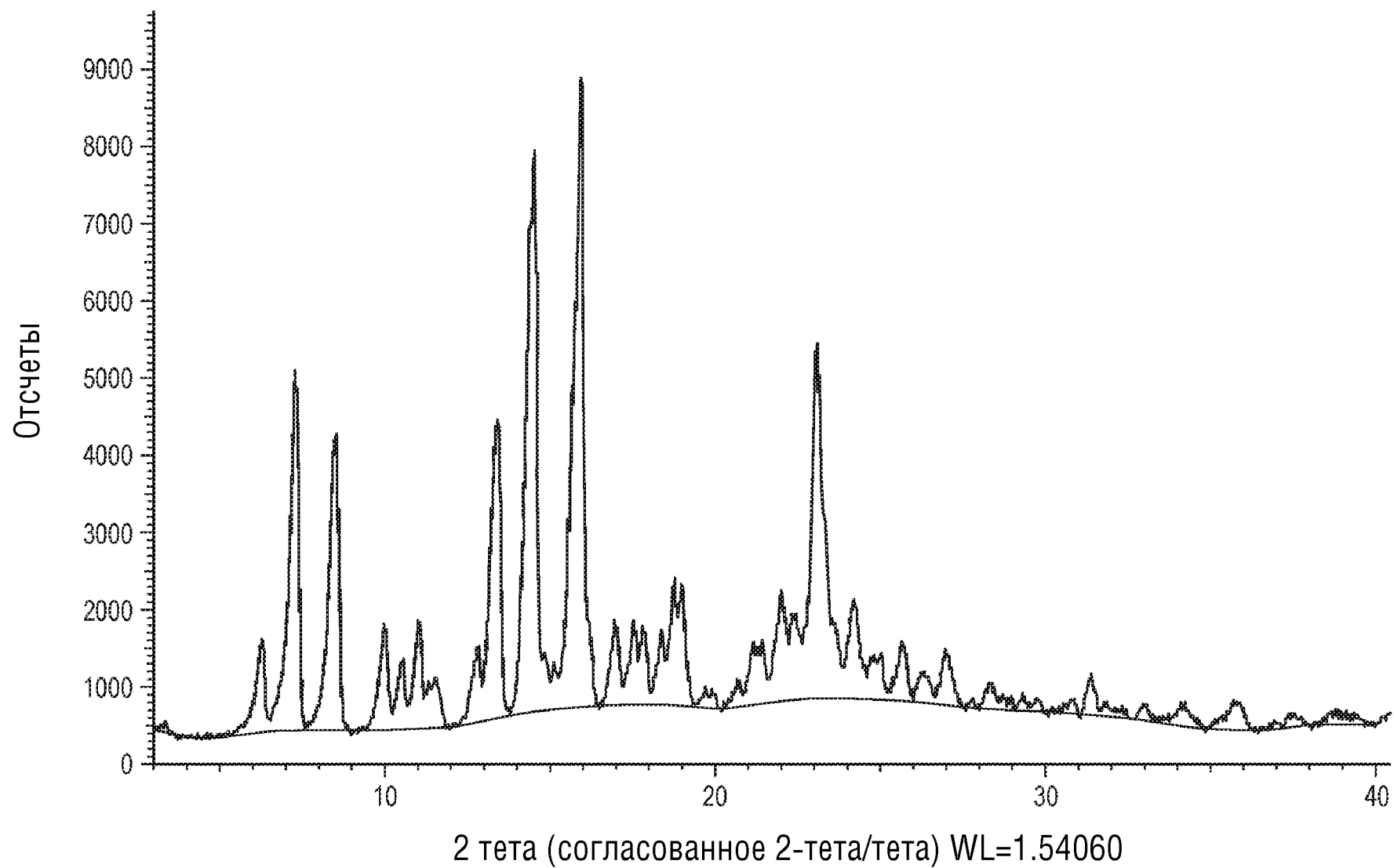
ФИГ.15



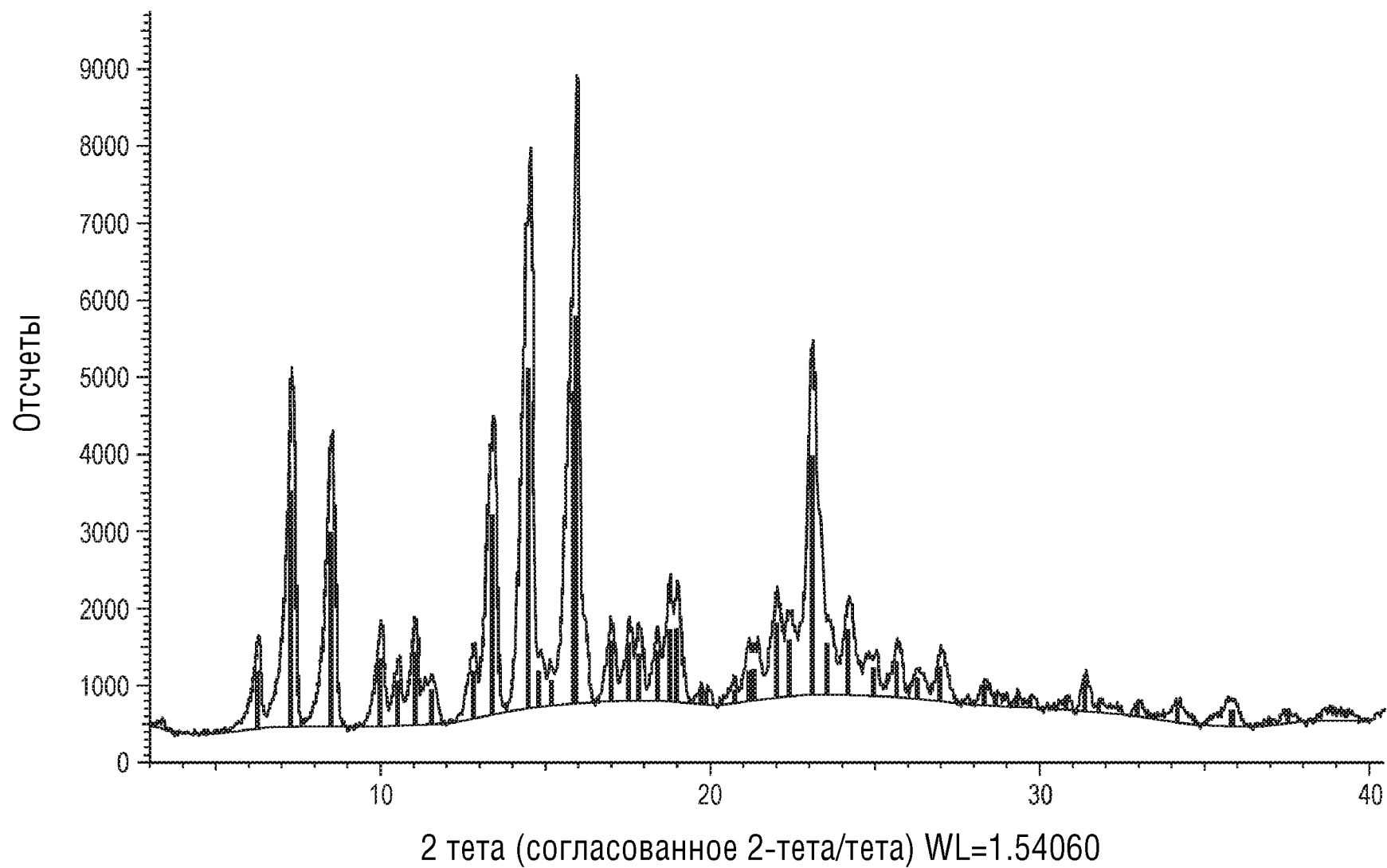
ФИГ.16



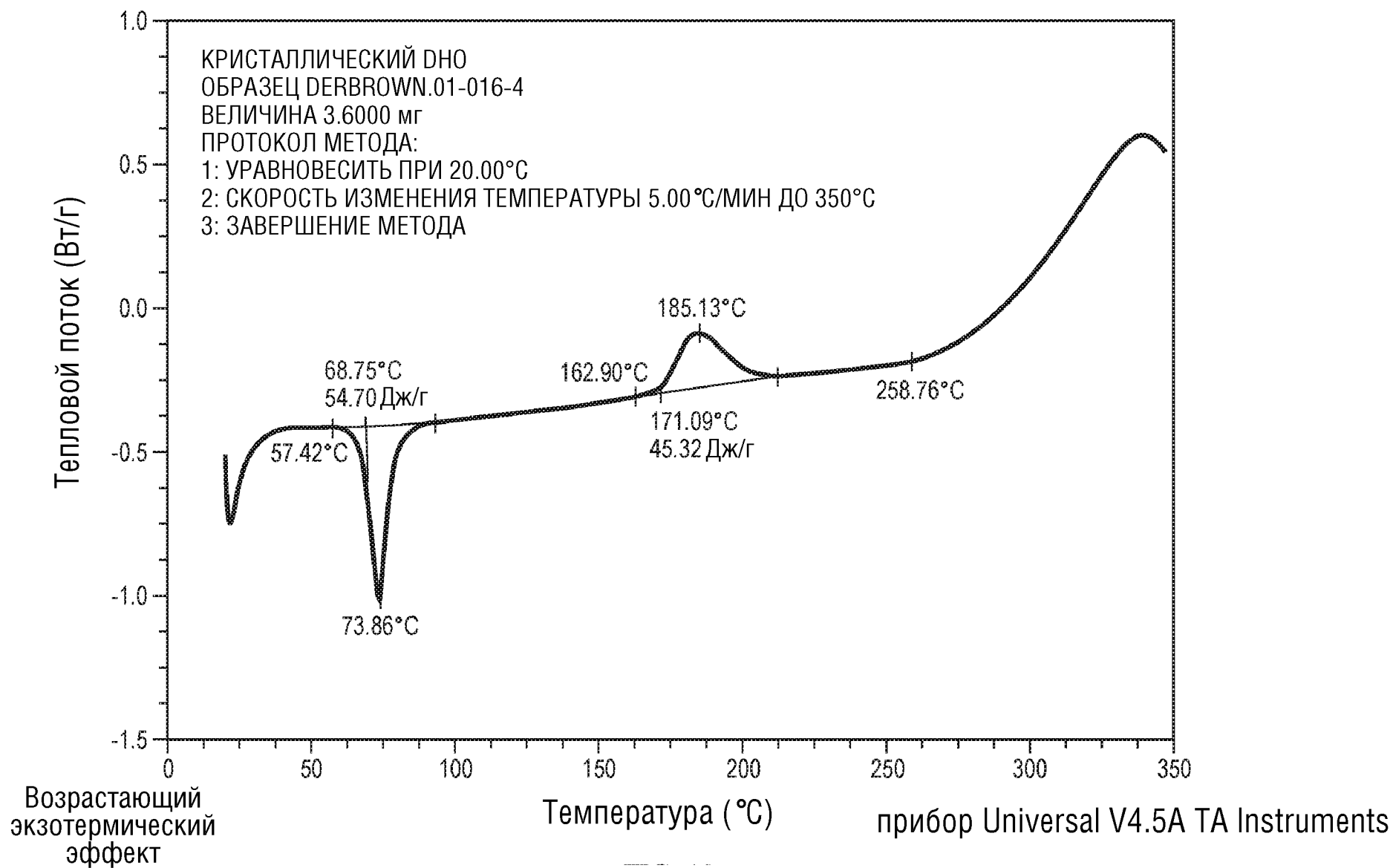
ФИГ.17



ФИГ.18



ФИГ.19



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 120430-5011-WO		FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US 19/49087	International filing date (<i>day/month/year</i>) 30 August 2019 (30.08.2019)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 31 August 2018 (31.08.2018)	
Applicant AMGEN, INC.			

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed.
☐ a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II).

3. ☒ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III).

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 1
☒ as suggested by the applicant.
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/49087

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please see attached sheet--

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-12

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/49087

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 31/45; C07D 211/76; 471/04; 498/04 (2019.01)

CPC - A61K 31/45; C07D 211/40; C07D 211/76; C07D 471/04; C07D 498/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	US 2018/0092898 A1 (AMGEN, INC.) 05 April 2018 (05.04.2018) para [0333];[0334];pg. 39-40, Scheme E; pg. 33, Scheme 2	7-12 ----- 1-6
Y	CORBETT et al. A Bench-Stable Vilsmeier Reagent for in situ Alcohol Activation: Synthetic Application in the Synthesis of 2-Amino-2-Thiazolines in Synlett 2017, Vol. 28, 2845-2850. abstract; pg. 2846, Col 1, para 2-3; pg. 2846, Scheme 2c; Table 1	1-6
A	US 2014/0011796 A1 (AMGEN Inc.) 09 January 2014 (09.01.2014) ENTIRE DOCUMENT	1-12
A	Pubchem 117752007 deposited 23 February 2016 (23.02.2016) ENTIRE DOCUMENT	1-12
A	US 2017/0144971 A1 (AMGEN, Inc.) 25 May 2017 (25.05.2017) ENTIRE DOCUMENT	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 DECEMBER 2019

Date of mailing of the international search report

06 JAN 2020

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Lee Young

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 19/49087

Attachment to Box.No.III:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-12, directed to processes for preparing an intermediate in the preparation of Compound A and for preparing Compound A.

Group II: Claims 13-17, directed to a crystalline form of (1R,2R,4S)-2-(3-chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-4-((S)-4-isopropyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)-4-methylhept-6-en-1-ol (DHO), characterized by a reflection powder diffraction pattern.

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I includes the technical feature of a process for preparing DHO and Compound A, not required by Group II.

Group II includes the technical feature of a crystalline form of DHO, characterized by a reflection powder diffraction pattern, not required by Group I.

Common technical features:

Groups I-II share the technical feature of the compound, (1R,2R,4S)-2-(3-chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-4-((S)-4-isopropyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)-4-methylhept-6-en-1-ol (DHO).

This shared technical feature, however, does not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by Pubchem-CID: 117752007, Create Date: 23 February 2016 (hereinafter Pubchem), which discloses the compound (1R,2R,4S)-2-(3-chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-4-((S)-4-isopropyl-4,5-dihydrooxazol-2-yl)-4-methylhept-6-en-1-ol (pg 2, structure).

As said compound was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature, that would otherwise unify the inventions of Groups I-II.

The inventions of Groups I-II, thus, lack unity under PCT Rule 13.