

Область техніки

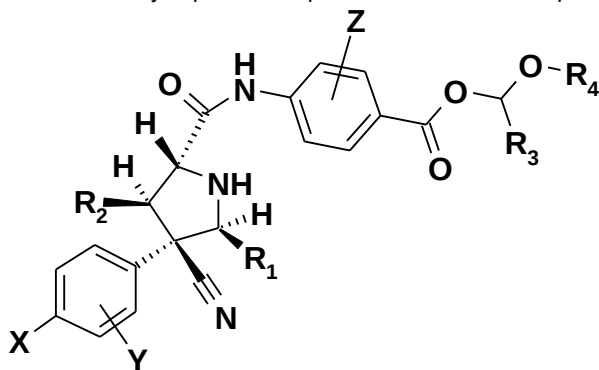
Білок p53 є супресором пухлин, що відіграє ключову роль в захисті проти розвитку раку. Він сприяє збереженню цілісності клітин і запобігає розмноженню перманентно пошкоджених клітинних клонів шляхом індукції затримки проліферації або апоптозу. На молекулярному рівні p53 є чинником транскрипції, який може активувати групу генів, що беруть участь в регуляції клітинного циклу і апоптозу. Білок p53 є могутнім інгібітором клітинного циклу, який жорстко регулюється за допомогою MDM2 на клітинному рівні. Білки MDM2 і p53 складають контур контролю із зворотним зв'язком. Білок MDM2 може зв'язувати p53 та інгібувати його здатність трансактивувати p53-регульовані гени. Крім того, MDM2 опосередковує убівітин-залежну деградацію p53. Білок p53 може активувати експресію гена MDM2, підвищуючи таким чином клітинний рівень білка MDM2. Завдяки такому контуру контролю із зворотним зв'язком гарантується утримання концентрації обох білків MDM2 і p53 на низькому рівні в нормально проліферуючих клітинах. Білок MDM2 є також кофактором для E2F, який відіграє ключову роль регуляції клітинного циклу.

При багатьох типах раку співвідношення між рівнем MDM2 і p53 (E2F) розрегульоване. Наприклад, було показано, що молекулярні дефекти, які часто зустрічаються, в локусі p16INK4/p19ARF впливають на деградацію білка MDM2. Інгібування взаємодії MDM2-p53 в пухлинних клітинах з p53 дикого типу приводить до накопичення p53, затримки клітинного циклу та/або апоптозу. Таким чином, антагоністи MDM2 можуть забезпечувати новий підхід в лікуванні раку як окремі агенти або в комбінації з широким спектром інших протипухлинних терапевтичних засобів. Здійснення такої стратегії була показана при застосуванні різних макромолекулярних інструментів для інгібування взаємодії MDM2-p53 (наприклад антитіла, антисмислові олігонуклеотиди, пептиди). MDM2 також зв'язує E2F через консервативну ділянку зв'язування, як і p53, і активує E2F-залежну транскрипцію цикліну A, що свідчить про можливість дії антагоністів MDM2 на клітини з мутантним p53.

У WO2010/031713 і WO2011/098398 розкриті сполуки в якості інгібіторів взаємодії MDM2p53, на які в деяких випадках можна посилається в даному описі як на "вихідні сполуки."

Суть винаходу

Даний винахід відноситься до похідних піролідин-2-карбоксаміду формули (I), які діють як антагоністи взаємодії білка MDM2 і тому корисні як ефективні і селективні протиракові агенти. Запропоновані сполуки загальної формули

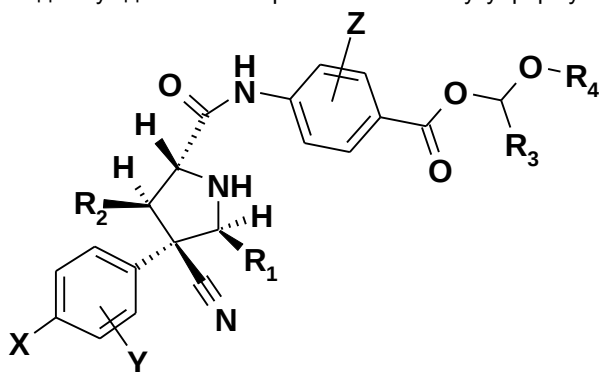


(I)

де X, Y, Z, R₁, R₂, R₃ і R₄ такі, як розкрито в даному описі, а також відповідні енантіомери і фармацевтично прийнятні солі та ефіри.

Докладний опис винаходу

В одному здійсненні запропоновано сполуку формули



(I)

де

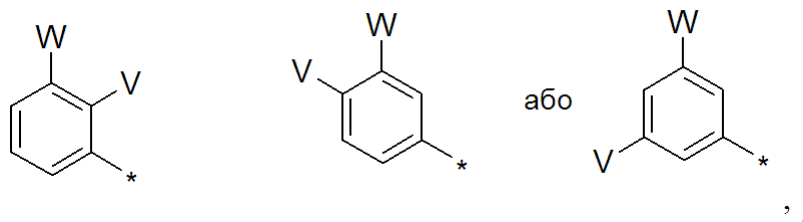
X вибирають з групи, що складається з H, F, Cl, Br, I, ціаногрупи, нітрогрупи, етинілу, циклопропілу, метилу, етилу, ізопропілу, вінілу та метоксигрупи,

Y позначає від однієї до чотирьох груп(и), незалежно вибраних з групи, що складається з H, F, Cl, Br, I, CN, OH, нітрогрупи, нижчого алкілу, циклоалкілу, нижчої алкоксигрупи, нижчого алкенілу, циклоалкенілу, нижчого алкінілу,

Z позначає нижчу алкоксигрупу,

R₁ вибирають з групи, що складається з нижчого алкілу, заміщеного нижчого алкілу, нижчого алкенілу, заміщеного нижчого алкенілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, циклоалкенілу і заміщеного циклоалкенілу,

R₂ позначає заміщений феніл, який вибраний з:

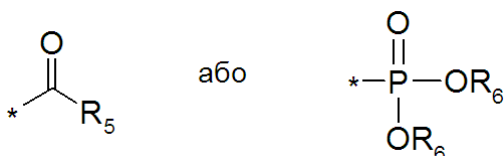


W позначає F, Cl або Br,

V позначає H або F,

R₃ вибирають з групи, що складається з водню, нижчого алкілу або заміщеного нижчого алкілу,

R₄ вибирають з групи, що складається з:



R₅ вибирають з групи, що складається з нижчого алкілу, заміщеного нижчого алкілу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, природних і синтетичних амінокислот, $-(OCH_2CH_2)_n-OH$, $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$, $-(NCH_2CH_2)_n-OH$, $-(NCH_2CH_2)_n-OCH_3$ та $-(OCH_2CH_2)_n-OP(O)(OR_6)_2$, де n дорівнює від 3 до 60, переважно від 3 до 45,

R₆ позначає водень або бензил; або

її фармацевтично прийнятна сіль або ефір.

В іншому втіленні запропоновано сполуку формули I, де

X вибирають з H, F або Cl,

Y вибирають з H, F або Cl,

R₁ позначає нижчий алкіл або заміщений нижчий алкіл,

R₃ позначає водень або нижчий алкіл,

R₅ вибирають з групи, що складається з нижчого алкілу, заміщеного нижчого алкілу, природних і синтетичних амінокислот, $-(OCH_2CH_2)_n-OH$,

$-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$, $-(NCH_2CH_2)_n-OH$, $-(NCH_2CH_2)_n-OCH_3$, $-(OCH_2CH_2)_n-OP(O)(OR_6)_2$, де n дорівнює від 3 до 60, переважно від 3 до 45, та

R₆ позначає водень; або

її фармацевтично прийнятна сіль.

В іншому втіленні запропоновано сполуку формули (I), де

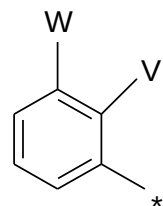
X вибирають з H, F або Cl;

Y вибирають з H, F або Cl;

Z позначає C1-6-алкоксигрупу;

R₁ позначає C1-6-алкіл;

R₂ позначає



, де

W позначає F, Cl або Br;

V позначає H або F;

R₃ позначає водень або C1-6-алкіл;

R₄ позначає $-C(O)-R_5$; при цьому

R₅ вибирають з групи, що складається з, $-(OCH_2CH_2)_n-OH$; $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$; і

$-(OCH_2CH_2)_n-OP(O)(OR_6)_2$, де n дорівнює від 3 до 60, а R₆ позначає водень; або

її фармацевтично прийнятна сіль.

В іншому окремому втіленні n дорівнює від 3 до 55, переважніше n дорівнює від 3 до 45. У даному втіленні особливо переважні сполуки, в яких R₅ позначає $-(OCH_2CH_2)_n-OCH_3$, а n дорівнює від 40 до 60.

Ще в одному втіленні втіленні запропоновані сполуки, вибрані з наступних:

1-етил-(ізопропіл)карбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат,

ди-трет-бутоксифосфорилоксиметилловий ефір 4-{{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензойної кислоти,

1-[біс-(2-метоксиетил)-карбамоїлокси)-етилловий ефір 4-{{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензойної кислоти,

1-(4-{{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензоїлокси)-етилловий ефір 4-метилпіперазин-1-карбонової кислоти,

1-ацетоксиетил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат,

[illegible]

У даному описі, де це зазначено, різні групи можуть містити 1-5 або, переважно, 1-3 замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з нижчого алкілу, нижчого алкенілу, нижчого алкінілу, діоксо- нижчого алкілену (утворюючого,

наприклад, бензодіоксильну групу), галогену, гідроксигрупи, CN, CF₃, NH₂, N(H, нижчий алкіл), N(нижчий алкіл)₂, амінокарбонілу, карбоксигрупи, NO₂, нижчої алкоксигрупи, нижчої тіоалкоксигрупи, нижчого алкілсульфонілу, аміносульфонілу, нижчого алкілкарбонілу, нижчої алкілкарбонілоксигрупи, нижчого алкоксикарбонілу, нижчої алкілкарбоніл-NH-групи, нижчого фторалкілу, нижчої фторалкоксигрупи, нижчої алкокси-карбоніл-нижчої алкоксигрупи, карбокси-нижчої алкоксигрупи, карбамоїл-нижчої алкоксигрупи, гідрокси-нижчої алкоксигрупи, нижчої NH₂-алкоксигрупи, N(H, нижчий алкіл)-нижчої алкоксигрупи, N(нижчий алкіл)₂-нижчої алкоксигрупи, нижчого алкіл-1-оксираніл-нижчого алкокси-нижчого алкілу, 2-оксопіролідін-1-ілу (1,1-діоксо)-2-ізотіазолідину, 3-нижчого алкілсульфінілу, заміщеного або незаміщеного гетероциклічного кільця, заміщеного або незаміщеного арильного кільця, заміщеного або незаміщеного гетероарильного кільця, трифтор-нижчого алкілсульфоніламіноарилу, нижчого алкілсульфоніламінокарбонілу, нижчого алкілсульфоніламінокарбоніларилу, гідроксикарбамоїлфенілу, бензилокси-нижчої алкоксигрупи, моно- або ди-нижчого алкілзаміщеного аміносульфонілу і нижчого алкілу, можливо заміщеного галогеном, гідроксигрупою, NH₂, N(H, нижчий алкіл) або N(нижчий алкіл)₂. Переважними замісниками для циклоалкільного, циклоалкенільного, арильного, гетероарильного і гетероциклічного кілець є галоген, нижча алкоксигрупа, нижчий алкіл, гідроксикарбоніл, карбоксигрупа, карбокси-нижча алкоксигрупа, оксогрупа і CN. Переважними замісниками для алкілу є алкоксигрупа і N(нижчий алкіл)₂.

Термін "мПЕГ" в даному описі позначає метоксиполіетиленгліколь, що є в продажі (наприклад в Sigma-Aldrich або ID Biochem (Корея)). Розподіл молекулярної маси мПЕГ може варіюватися залежно від виробника та/або партії. В одному здійсненні даного винаходу мПЕГ має середню молекулярну масу (M.W.) приблизно від 1500 Да до 3000 Да. В іншому втіленні даного винаходу мПЕГ має середню M.W. приблизно від 2000 Да до 2200 Да. Середню M.W. визначають за допомогою MALDY-TOF мас-спектрометрії.

Термін "алкіл" позначає насичені вуглеводневі групи з лінійним або розгалуженим ланцюгом, що містять від 1 до приблизно 20 атомів вуглецю, включаючи групи, що містять від 1 до приблизно 7 атомів вуглецю. У конкретних втіленнях алкільні замісники можуть бути нижчими алкільними замісниками. Термін "нижчий алкіл" позначає алкільні групи, що містять від 1 до 6 атомів вуглецю, і в конкретних втіленнях від 1 до 4 атомів вуглецю. Приклади алкільних груп включають, без обмеження, метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил і втор-пентил.

У даному описі термін "циклоалкіл" позначає будь-яку стабільну моноциклічну або поліциклічну систему, що складається тільки з атомів вуглецю, кожне з кілець якої є насиченим, а термін "циклоалкеніл" позначає будь-яку стабільну моноциклічну або поліциклічну систему, що складається тільки з атомів вуглецю, в якій щонайменше одне кільце є частково ненасиченим. Приклади циклоалкілів включають, без обмеження, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, адамантил, циклооктил, біциклоалкіли, включаючи біциклооктани, такі як [2.2.2]біциклооктан або [3.3.0]біциклооктан, біциклононани, такі як [4.3.0]біциклононан, і біциклодекани, такі як [4.4.0]біциклодекан (декалін), або спіросполуки. Приклади циклоалкенілів включають, без обмеження, циклопентеніл або циклогексеніл.

Термін "алкеніл" в даному описі позначає ненасичену аліфатичну вуглеводневу групу з лінійним або розгалуженим ланцюгом, що містить один подвійний зв'язок і що включає від 2 до 6, переважно від 2 до 4 атомів вуглецю. Прикладами таких "алкенільних груп" є вініл, етеніл, аліл, ізопропеніл, 1-пропеніл, 2-метил-1-пропеніл, 1-бутеніл, 2-бутеніл, 3-бутеніл, 2-етил-1-бутеніл, 3-метил-2-бутеніл, 1-пентеніл, 2-пентеніл, 3-пентеніл, 4-пентеніл, 4-метил-3-пентеніл, 1-гексеніл, 2-гексеніл, 3-гексеніл, 4-гексеніл і 5-гексеніл.

Термін "алкініл" в даному описі позначає ненасичену аліфатичну вуглеводневу групу з лінійним або розгалуженим ланцюгом, що містить один потрійний зв'язок і що включає від 2 до 6, переважно від 2 до 4 атомів вуглецю. Прикладами таких "алкінільних груп" є етиніл, 1-пропініл, 2-пропініл, 1-бутиніл, 2-бутиніл, 3-бутиніл, 1-пентиніл, 2-пентиніл, 3-пентиніл, 4-пентиніл, 1-гексиніл, 2-гексиніл, 3-гексиніл, 4-гексиніл і 5-гексиніл.

Термін "галоген", використовуваний у визначеннях, позначає фтор, хлор, бром або йод, переважно фтор і хлор.

Термін "арил" позначає моновалентний, моноциклічний або біциклічний, ароматичний карбоциклічний вуглеводневий радикал, переважно 6-10-членну ароматичну кільцеву систему. Переважні арильні групи включають, без обмеження, феніл, нафтил, толіл і ксиліл. Якщо арильна група є біциклічною, переважна група є 1,3-діоксо-2,3-дигідро-1H-ізоіндол-5-ільною групою.

Термін "гетероарил" позначає ароматичну гетероциклічну кільцеву систему, що містить аж до двох кілець. Переважні гетероарильні групи включають, без обмеження, тієніл, фурил, індоліл, піроліл, піридиніл, піразиніл, оксазоліл, тіаколіл, хінолініл, піримідиніл, імідазол, заміщений або незаміщений тριαзоліл і заміщений або незаміщений тетразоліл.

У випадку якщо арил або гетероарил є біциклічними, слід розуміти, що одне кільце може бути арильним, а інше гетероарильним, при цьому обидва кільця можуть містити або не містити замісники.

"Гетероцикл" або "гетероциклічне кільце" позначає заміщену або незаміщену, моно- або біциклічну, неароматичну вуглеводневу групу, що включає від 5 до 8 членів, в якій від 1 до 3 атомів вуглецю заміщено гетероатомом, вибраним з атома азоту, кисню або сірки. Приклади включають піролідін-2-іл; піролідін-3-іл; піперидиніл; морфолін-4-іл і т. п., які у свою чергу можуть бути заміщені. Термін "гетероатом" позначає атом, вибраний з N, O і S.

Термін "алкоксигрупа, алкоксил або нижча алкоксигрупа" позначає будь-яку з розкритих вище нижчих алкільних груп, приєднану до атому кисню. Типові приклади нижчих алкоксигруп включають метокси-, етокси-, ізопропокси- або пропокси-, бутилоксигрупу і т. п. Крім того, термін "алкокси" охоплює також декілька бічних алкокси-ланцюгів, наприклад етоксietoкси-, метоксietoкси-, метоксietoксietoксигрупи і т. п., а також заміщені бічні алкокси-ланцюги, наприклад, диметиламіноетокси-, діетиламіноетокси-, диметокси-фосфорилметоксигрупа і т. п.

Термін "фармацевтично прийнятний", наприклад фармацевтично прийнятний носій, ексципієнт і т. п. позначає фармакологічно прийнятний і по суті не токсичний для суб'єкта, якому вводять конкретну сполуку.

Термін "фармацевтично прийнятна сіль" позначає звичайні кислотні-адитивні солі або основно-адитивні солі, які зберігають біологічну ефективність і властивості сполук за даним винаходом, і одержані з нетоксичних органічних або неорганічних кислот або ж органічних або неорганічних основ. Приклади кислотно-адитивних солей включають ті, що одержані з неорганічних кислот, таких як хлороводнева кислота, бромоводнева кислота, йодоводнева кислота, сірчана кислота, сульфамінова кислота, фосфорна кислота і азотна кислота, а також ті, що одержані з органічних кислот, таких як п-толуолсульфонова кислота, саліцилова кислота, метансульфонова кислота, щавлева кислота, янтарна кислота, лимонна кислота, яблучна кислота, молочна кислота, фумарова кислота, трифтороцтова кислота і т. п. Приклади

основно-адитивних солей включають ті, що одержані з аміаку, калію, натрію і четвертинних амонієвих гідроксидів, таких як, наприклад, гідроксид тетраметиламонію. Спосіб хімічного перетворення фармацевтичної сполуки (тобто, лікарської речовини) у сіль добре відомий хімікам-фармацевтам для досягнення покращеної фізичної і хімічної стабільності, гігроскопічності, текучості і розчинності сполуки. Див., наприклад: Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems* (6th Ed. 1995), стор. 196 і 1456-1457.

Сполуки формули (I), а також їх солі, що містять щонайменше один асиметричний атом вуглецю, можуть існувати у вигляді рацемічних сумішей або різних стереоізомерів. Різні ізомери можна виділяти відомими способами виділення, наприклад, за допомогою хроматографії.

Сполуки, розкриті в даному описі і охоплювані наведеною вище формулою (I), можуть проявляти таутомерию або структурну ізомерию. Мається на увазі, що даний винахід охоплює всі таутомерні або структурно ізомерні форми цих сполук, а також суміші подібних форм, і не обмежено будь-якою однією таутомерною або структурно ізомерною формою, зображеною в наведених вище формулах.

Сполуки за даним винаходом корисні в лікуванні або контролі розладів клітинної проліферації, зокрема, онкологічних розладів. Зазначені сполуки і композиції, що містять зазначені сполуки, можуть бути, зокрема, корисні в лікуванні або контролі твердих пухлин, таких як, наприклад, пухлини або саркома молочної залози, прямої кишки, легенів і простати. Запропоновані сполуки можуть бути також корисні в лікуванні деяких нетвердих пухлин, таких як лейкоз і лімфоми.

Таким чином, в іншому втіленні даного винаходу запропонована фармацевтична композиція, що включає сполуки формули (I), спільно з фармацевтично прийнятними ексципієнтами.

Ще в одному втіленні даного винаходу запропоновані сполуки формули (I) для застосування як лікарського засобу.

Ще в одному втіленні даного винаходу запропоновані сполуки формули (I) для застосування як лікарських засобів для лікування раку, зокрема твердих пухлин, в окремому випадку пухлин або саркоми молочної залози, прямої кишки, легенів і простати.

Ще в одному втіленні даного винаходу запропоновані сполуки формули (I) для застосування як лікарських засобів для лікування деяких нетвердих пухлин, таких як лейкоз і лімфоми, зокрема гострий мієлоїдний лейкоз (AML).

Ще в одному втіленні даного винаходу запропоновано застосування сполук формули (I) у виготовленні лікарських засобів для лікування раку, в окремому випадку твердих пухлин, таких як пухлини або саркоми молочної залози, прямої кишки, легенів і простати; або, в іншому випадку, також для лікування деяких нетвердих пухлин, таких як лейкоз і лімфоми, зокрема для лікування гострого мієлоїдного лейкозу (AML).

Термін "терапевтично ефективна кількість" сполуки за даним винаходом позначає таку кількість сполуки, що ефективна для запобігання, часткового зняття або поліпшення симптомів захворювання або подовження терміну життя суб'єкта, якому проводять лікування. Фахівець в даній області техніки здатний визначити терапевтично ефективну кількість.

Терапевтично ефективна кількість або дозування сполуки заданим винаходом може варіюватися в широких межах, та її можна визначати способом, відомим в даній області техніки. Таке дозування слід підбирати відповідно до індивідуальних вимог у кожному конкретному випадку, включаючи конкретну сполуку(и), що вводиться, спосіб введення, стан, що піддається лікуванню, а також пацієнта, якому проводять лікування. У загальному випадку, для перорального або парентерального введення дорослій людині масою приблизно 70 кг підходить добова доза приблизно від 10 мг до приблизно 10 000 мг, переважно приблизно від 200 мг до приблизно 1 000 мг, але верхню межу можна перевищувати, якщо до цього є показання. Добову дозу можна вводити однією дозою або розділеними дозами, або для парентерального введення; її можна вводити у вигляді безперервної інфузії.

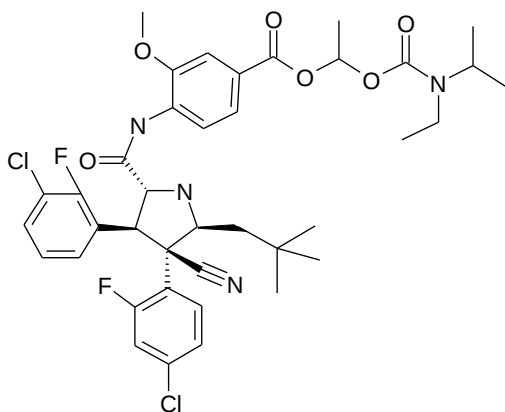
Композиції за даним винаходом включають композиції, відповідні для перорального, інтраназального, місцевого (включаючи трансбукальне і сублінгвальне), ректального, вагінального та/або парентерального введення. Такі композиції в цілях зручності можна представляти у вигляді лікарських форм із стандартним дозуванням та їх можна виготовляти будь-яким способом, добре відомим у фармацевтичній області. Кількість активного інгредієнта, яку можна комбінувати з матеріалом носія для одержання лікарської форми з одноразовим дозуванням, варіюватиметься залежно від реципієнта, якому проводитимуть лікування, а також від конкретного способу введення. Кількість активного інгредієнта, яку можна комбінувати з матеріалом носія для одержання лікарської форми з одноразовим дозуванням, в загальному випадку є кількістю сполуки формули I, яка надає терапевтичний ефект. В цілому, виходячи із ста відсотків, така кількість варіюватиметься приблизно від 1% до приблизно 99% активного інгредієнта, переважно приблизно від 5% до приблизно 70%, найпереважніше приблизно від 10% до приблизно 30%.

Способи виготовлення таких препаратів або композицій включають стадію приведення в контакт сполуки за даним винаходом з носієм і, можливо, одним або більше допоміжними інгредієнтами. У загальному випадку композиції виготовляють шляхом однорідного і ретельного змішування сполуки за даним винаходом з рідкими носіями, або тонкоподрібненими твердими носіями, або з ними обома, а потім, при необхідності, формування одержаного продукту.

В іншому втіленні даного винаходу запропоновані фармацевтичні композиції або лікарські засоби, що містять сполуки за даним винаходом і терапевтично інертний носій, розчинник або ексципієнт, а також способи застосування сполуки за даним винаходом для виготовлення таких композицій і лікарських засобів. У одному прикладі сполуки формули I можна включати в лікарську форму шляхом змішування при кімнатній температурі, при відповідному значенні рН і при бажаному ступені чистоти з фізіологічно прийнятними носіями, тобто носіями, які не токсичні для реципієнтів при дозуваннях і концентраціях, вживаних в галеновій лікарській формі. Значення рН композиції залежить в основному від конкретного застосування і концентрації сполуки, але у будь-якому випадку знаходиться переважно в інтервалі приблизно від 3 до 8. В одному прикладі сполуки формули I включають в лікарську форму в ацетатному буфері при рН 5. В іншому втіленні сполуки формули I є стерильними. Сполуку можна зберігати, наприклад, у вигляді твердої або аморфної композиції, у вигляді ліофілізованої композиції або у вигляді водного розчину. У розчині сполуки за даним винаходом можуть утворювати міцелярні структури з розміром частинок в інтервалі від 10 до 100 нм (нанометрів).

Виготовлення лікарських форм з композиціями, їх дозування і введення здійснюють відповідно до належної медичної практики. Фактори, які слід враховувати в даному контексті, включають конкретний розлад, що підлягає лікуванню, конкретного пацієнта, якому проводять лікування, клінічний стан конкретного пацієнта, причину розладу, сайт доставки діючої речовини, спосіб введення, схему введення та інші фактори, відомі практикуючим лікарям. "Ефективна кількість" сполуки, яку необхідно ввести, визначають з урахуванням приведених вище міркувань, і вона є мінімальною

1-(Етил(ізопропіл)карбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксibenзоат



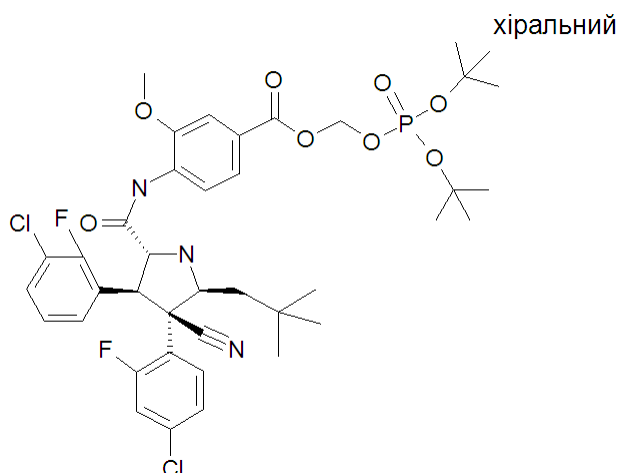
M.W. 773,71 C₃₉H₄₄Cl₂F₂N₄O₆

До охолодженого розчину 2-пропанолу (1,57 г; 2 мл; 26,1 ммоль) і N,N-діізопропілетиламіну (6,75 г; 9,13 мл; 52,3 ммоль) в метиленхлориді (15 мл) повільно додавали 1-хлоретилкарбонохлоридат (Aldrich; 4,11 г; 28,7 ммоль) при 0°C. Після закінчення внесення реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Цю суміш концентрували насухо і неочищену речовину, що містила приблизно 50% 1-хлоретилового ефіру етилізопропілкарбамінової кислоти, використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

До розчину хіральної 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (одержаній, як описано в US20100152190A1, 150 мг; 0,243 ммоль) в диметилформаміді (6 мл) додавали карбонат цезію (243 мг; 0,746 ммоль). Перемішували протягом декількох хвилин, після чого додавали розчин вищезгаданого свіжоприготованого 1-хлоретилового ефіру етилізопропілкарбамінової кислоти (190 мг; 0,491 ммоль) в сухому диметилформаміді (1 мл) і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Цю реакційну суміш розбавляли етилацетатом, промивали водою і сольовим розчином і концентрували насухо. Неочищену речовину очищали хроматографією (гексан/етилацетат, від 90/10 до 10/90) з одержанням 1-(етил(ізопропіл)-карбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини (102 мг; вихід 54%). LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₉H₄₅Cl₂F₂N₄O₆ [(M+H)⁺]: 773, фактично: 773.

Приклад 2

Ди-трет-бутоксифосфорилоксиметилловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно-3-метоксибензойної кислоти



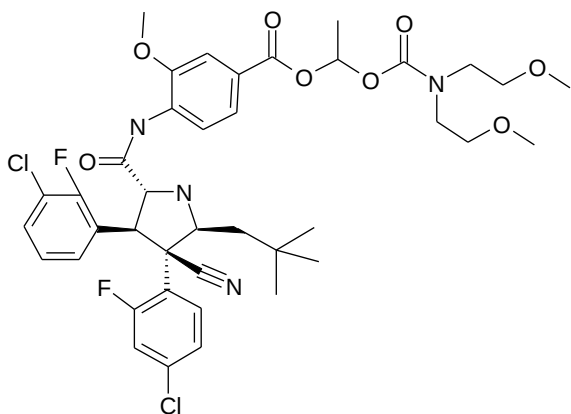
M.W. 838,72 C₄₀H₄₈Cl₂F₂N₃O₈P

До розчину ди-трет-бутилфосфату калію (2,45 г; 9,51 ммоль), бікарбонату натрію (3,19 г; 38,0 ммоль) і гідросульфату тетрабутиламонію (340,2 мг; 0,972 ммоль) у воді (80 мл), додавали метиленхлорид (50 мл). Цю суміш охолоджували до 0°C та інтенсивно перемішували в атмосфері аргону протягом 10 хв. Додавали повільно хлорметилхлорсульфат (1,92 г; 1,2 мл; 11,6 ммоль) в метиленхлориді (30 мл) і реакційній суміші перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Органічний шар відокремлювали, промивали сольовим розчином і висушували над безводним сульфатом натрію і концентрували з одержанням ди-трет-бутилхлорметилфосфату у вигляді безбарвного масла (1,46 г; вихід 59%).

До розчину хіральної 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (одержаної, як описано в US20100152190A1; 200,0 мг; 0,324 ммоль) в диметилформаміді (8 мл) додавали карбонат цезію (529 мг; 1,62 ммоль). Цю суміш перемішували протягом ~20 хв, після чого додавали ди-трет-бутилхлорметилфосфат (TCl, 236 мг; 0,9912 ммоль) в диметилформаміді (1 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 г, після чого її ділили між етилацетатом і водою, промивали водою, висушували над безводним сульфатом натрію і концентрували. Неочищений продукт очищали флеш-хроматографією (гексан/етилацетат, від 85/15 до 5/95) з одержанням хірального ди-трет-бутоксифосфорилоксиметиллового ефіру 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини (192 мг; вихід 70%). LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₀H₄₉Cl₂F₂N₃O₈P [(M+H)⁺]: 838, фактично: 838.

Приклад 3

1-[Біс-(2-метоксиетил)-карбамоїлокси]-етилловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно-3-метоксибензойної кислоти



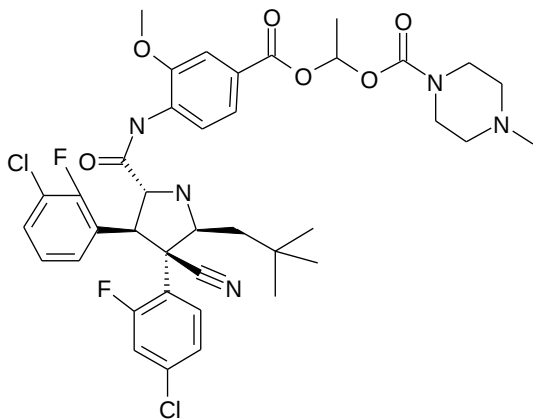
M.W. 819,74 C₄₀H₄₆Cl₂F₂N₄O₈

До охолодженого розчину біс(2-метоксиетил)аміну (1,94 г; 14,5 ммоль; Aldrich) і піридину (1,26 г; 1,29 мл; 15,9 ммоль) в метиленхлориді (18 мл) при -78°C, повільно додавали 1-хлоретилкарбонохлоридат (1,98 г; 1,5 мл; 13,8 ммоль; Aldrich) протягом ~15 хв. Реакційну суміш перемішували при -78°C протягом 3 г, з одержанням білого осаду. Одержану холодну реакційну суміш фільтрували для видалення твердої речовини і фільтрат концентрували насухо, з одержанням неочищеного 1-хлоретил-біс(2-метоксиетил)карбамату, який використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

До розчину хіральної 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (US20100152190A1, 200 мг; 0,324 ммоль) в диметилформаміді (8 мл) додавали карбонат цезію (846 мг; 2,6 ммоль). Перемішували протягом 10 хв, після чого додавали розчин вищезгаданого свіжоприготованого 1-хлоретил-біс(2-метоксиетил)карбамату (510 мг; 2,13 ммоль) в диметилформаміді (3 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Цю реакційну суміш розводили в етилацетаті, промивали водою, сольовим розчином і концентрували насухо. Неочищену речовину очищали флеш-хроматографією (гексан/етилацетат, від 90/10 до 10/90) з одержанням 1-[біс-(2-метоксиетил)-карбамоїлокси]-етилового ефіру 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини (168 мг; вихід 63%). LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₀H₄₇Cl₂F₂N₄O₈ [(M+H)⁺]: 819, фактично: 819.

Приклад 4

1-(4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-Хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензоїлокси)-етиловий ефір 4-метилпіперазин-1-карбонової кислоти

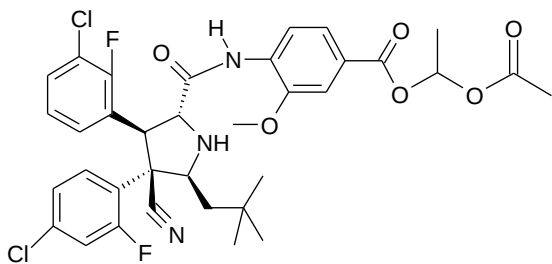


M.W. 786,71 C₃₉H₄₃Cl₂F₂N₅O₆

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретил карбонохлоридат вводили в реакцію з 1-метилпіперазином і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням гідрохлоридної солі 1-хлоретил-4-метилпіперазин-1-карбоксилату, яку вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 1-(4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензоїлокси)-етилового ефіру 4-метилпіперазин-1-карбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини. LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₉H₄₄Cl₂F₂N₅O₆ [(M+H)⁺]: 786., фактично: 786.

Приклад 5

Ацетоксиетил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат



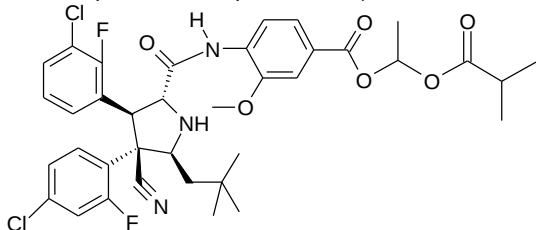
M.W. 702,59 $C_{35}H_{35}Cl_2F_2N_3O_6$

Суміш паральдегіду (JT-Baker, 1,39 г; 1,4 мл; 10,5 ммоль) та йодиду натрію (5,01 г; 33,4 ммоль) в метиленхлориді (75 мл) обробляли ацетилхлоридом (2,21 г; 2 мл; 27,8 ммоль) в метиленхлориді (25 мл) протягом 20 хв і перемішували при кімнатній температурі в темноті протягом 18 г. Реакційну суміш фільтрували і концентрували з одержанням 1-йодетилацетату у вигляді коричневого масла.

До суміші вищезгаданого 1-йодетилацетату (311 мг; 1,457 ммоль) і хіральної 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (US20100152190A1; 201,7 мг; 0,327 ммоль) в диметилформаміді (6 мл) додавали карбонат цезію (659 мг; 2,00 ммоль) і цю суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 г. Реакційну суміш розводили в етилацетаті, промивали водою і потім сольовим розчином. Органічний шар висушували над сульфатом натрію і концентрували насухо. Неочищену речовину очищали флеш-хроматографією (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80) з одержанням 1-ацетоксietiл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату (149,4 мг; вихід 65%). MS (ES⁺) m/z розрахований для $C_{35}H_{35}Cl_2F_2N_3O_6$: [(M+H)⁺]: 702, фактично: 702,4

Приклад 6

Рац-1-(ізобутирилокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

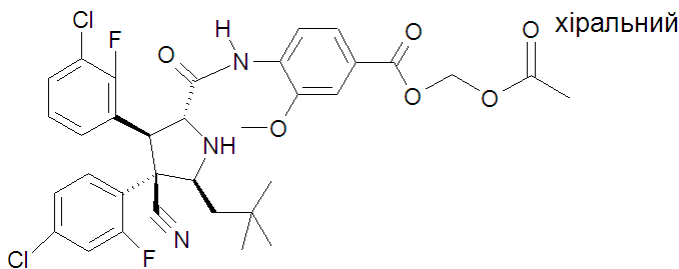


M.W. 730,64 $C_{37}H_{39}Cl_2F_2N_3O_6$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 5, паральдегід (JT-Baker, 1,37 г; 10,4 ммоль) вводили в реакцію з ізобутирилхлоридом (Aldrich, 2,93 г; 27,5 ммоль) та йодидом натрію (4,9472 г; 33,0 ммоль) в метиленхлориді (100 мл) при кімнатній температурі протягом 16 г з одержанням 1-йодетилізобутирату. Частину цієї речовини (400,2 мг; 1,65 ммоль) потім вводили в реакцію з хіальною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (200,8 мг; 0,332 ммоль) і карбонатом цезію (653,2 мг; 2,00 ммоль) в диметилформаміді (6 мл) при кімнатній температурі протягом 3 г з одержанням 1-(ізобутирилокси)етилу-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді брудно-білої твердої речовини (198,8 мг; вихід 83%). MS (ES⁺) m/z розрахований для $C_{37}H_{40}Cl_2F_2N_3O_6$: [(M+H)⁺]: 730, фактично: 730.

Приклад 7

Ацетоксиметиловий ефір 4-[(2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно-3-метоксибензойної кислоти



M.W. 688,56 $C_{34}H_{33}Cl_2F_2N_3O_6$

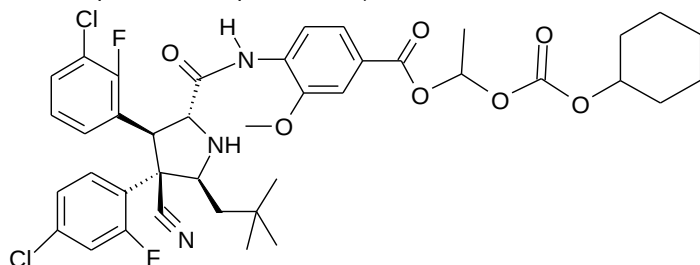
Суміш 1,3,5-триоксану (Aldrich; 970,8 мг; 10,8 ммоль) та йодиду натрію (5,12 г; 34,2 ммоль) в метиленхлориді (100 мл) обробляли ацетилхлоридом (2,26 г; 2,1 мл; 28,5 ммоль) і перемішували при кімнатній температурі в темноті протягом 16 г. Реакційну суміш фільтрували і концентрували з одержанням неочищеного йодметилацетату у вигляді коричневого масла.

Частину одержаного йодметилацетату (661 мг; 3,31 ммоль) додавали до суспензії хіральної 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (200,1 мг; 0,325 ммоль) і карбонату цезію (964,4 мг; 2,93 ммоль) в диметилформаміді (8 мл) і реакційну суміш перемішували в темноті протягом ночі. Потім її розводили в етилацетаті, промивали водою і сольовим розчином, висушували над безводним сульфатом натрію і концентрували. Неочищений продукт очищали флеш-хроматографією (гексан/етилацетат, від 80/20 до 10/90) з одержанням хіального ацетоксиметилового ефіру 4-[(2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно-3-метоксибензойної

кислоти у вигляді білої твердої речовини (42,8 мг; вихід 19%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₄H₃₄Cl₂F₂N₃O₆: [(M+H)⁺]: 688, фактично: 688.

Приклад 8

1-(Циклогексилоксикарбонілокси)етилу-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

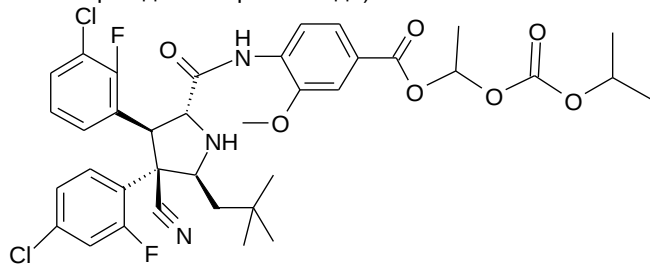


M.W. 786,71 C₄₀H₄₃Cl₂F₂N₃O₇

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретил хлорформіат (Oakwood Products; 1,99 г; 1,5 мл; 13,9 ммоль) вводили в реакцію з циклогексаноном (Alfa Aesar; 1,33 г; 1,4 мл; 13,3 ммоль) і піридином (1,27 г; 1,3 мл; 16,1 ммоль) в метиленхлориді (11 мл) при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретилциклогексилкарбонату. Частину 1-хлоретилциклогексилкарбонату (253 мг; 1,22 ммоль) потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (150,3 мг; 0,244 ммоль) у присутності карбонату цезію (487,4 мг; 1,5 ммоль) в диметилформаміді (5 мл) протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 1-(циклогексилоксикарбонілокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату (135,4 мг; вихід 70%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₀H₄₄Cl₂F₂N₃O₇: [(M+H)⁺]: 786, фактично: 786.

Приклад 9

Рац-1-(ізопропоксикарбонілокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

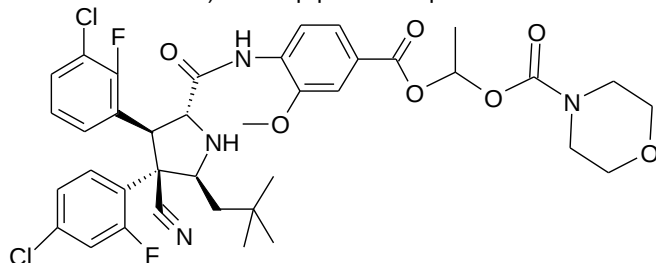


M.W. 746,64 C₃₇H₃₉Cl₂F₂N₃O₇

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Oakwood Products; 1,99 г; 1,5 мл; 13,9 ммоль) вводили в реакцію з 2-пропанолом (785 мг; 1 мл; 13,0 ммоль) і піридином (1,27 г; 1,3 мл; 16,1 ммоль) в метиленхлориді (11 мл) при кімнатній температурі протягом 4 г з одержанням 1-хлоретилізопропілкарбонату. Частину 1-хлоретилізопропілкарбонату (221,6 мг; 1,33 ммоль) потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (150,3 мг; 244 мкмоль) у присутності карбонату цезію (478 мг; 1,47 ммоль) в диметилформаміді (5 мл) протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 1-(ізопропоксикарбонілокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату (134,4 мг; вихід 73%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₇H₄₀Cl₂F₂N₃O₇: [(M+H)⁺]: 746, фактично: 746.

Приклад 10

1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-Хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етилморфолін-4-карбоксилат



M.W. 773,67 C₃₈H₄₀Cl₂F₂N₄O₇

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (2,64 г; 2 мл; 18,5 ммоль) вводили в реакцію з морфоліном (1,69 г; 1,7 мл; 19,4 ммоль) і піридином (1,68 г; 1,72 мл; 21,2 ммоль) в метиленхлориді (25 мл) при кімнатній температурі протягом ночі з одержанням неочищеного продукту, 1-хлоретилморфолін-4-карбоксилату. Частину 1-хлоретилморфолін-4-карбоксилату (670,1 мг; 3,46 ммоль) потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (200,5 мг; 0,325 ммоль) у присутності карбонату цезію (1,094 г; 3,36 ммоль) в диметилформаміді (7 мл) протягом ночі з одержанням 1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етилморфолін-4-карбоксилату у вигляді брудно-білої твердої

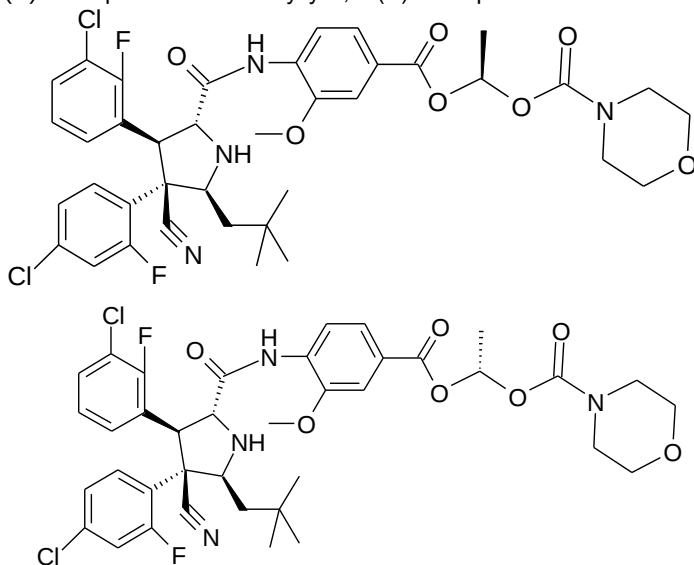
речовини (186,5 мг; вихід 74%). MS (ES⁺) m/z розрахований C₃₈H₄₁Cl₂F₂N₄O₇: [(M+H)⁺]: 773, фактично: 773

Приклад 11

(R)-1-(4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-Хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензоїлокси)-етил)морфолін-4-карбонової кислоти і

(S)-1-(4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензоїлокси)-етил)морфолін-4-карбонової кислоти.

(R)-ізомер позначає сполуку А, а (S)-ізомер позначає В.

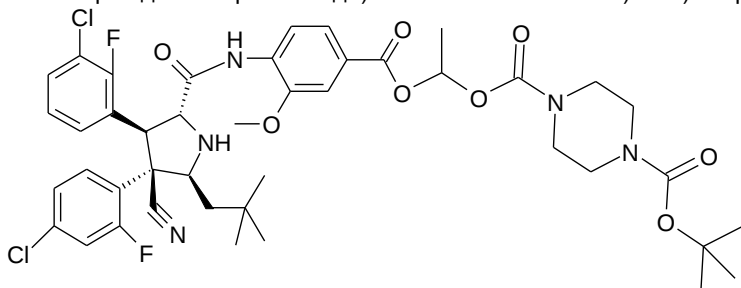


M.W. 773,67 C₃₈H₄₀Cl₂F₂N₄O₇

Зазначені в заголовку сполуки одержували шляхом розділення за допомогою суперкритичної флюїдної хроматографії суміші діастереомерів 1-(4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етил)морфолін-4-карбоксилату (Приклад 10). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₈H₄₁Cl₂F₂N₄O₇: [(M+H)⁺]: 773, фактично: 773

Приклад 12

Рац-1-трет-бутил 4-(1-(4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етил)піперазин-1,4-дикарбоксилат

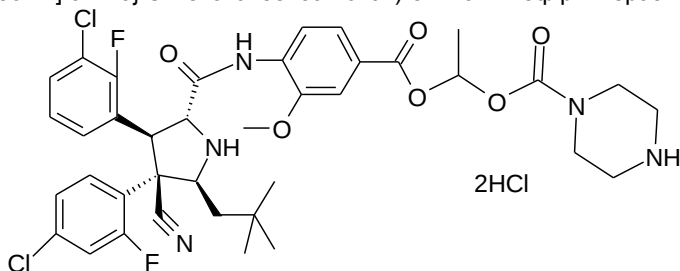


M.W. 872,8 C₃₄H₃₆Cl₂F₂N₄O₄

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Oakwood, 1,46 г; 1,1 мл; 10,2 ммоль) вводили в реакцію з 1-Вос-піперазином (Alfa Aesar, 1,5756 г; 8,37 ммоль) і піридином (870 мг; 0,89 мл; 11,0 ммоль) в метиленхлориді (10 мл) при -78°C протягом 1 г і потім при кімнатній температурі протягом ночі з одержанням трет-бутилового ефіру 1-хлор-етилового ефіру піперазин-1,4-дикарбонової кислоти. Частина трет-бутилового ефіру 1-хлор-етилового ефіру піперазин-1,4-дикарбонової кислоти (682 мг; 1,67 ммоль) потім вводили в реакцію з хіральною 4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (201,4 мг; 0,327 ммоль) у присутності карбонату цезію (743,4 мг; 2,28 ммоль) в диметилформаміді (7 мл) протягом ночі з одержанням 1-трет-бутил-4-(1-(4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етил)піперазин-1,4-дикарбоксилату у вигляді брудно-білої ліофілізованої твердої речовини (259,9 мг; вихід 91%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₄H₃₆Cl₂F₂N₄O₄: [(M+H)⁺]: 872, фактично: 872.

Приклад 13

1-(4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-Хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензоїлокси)-етил)морфолін-4-карбонової кислоти дигідрохлорид



Розчин

Приклад 14

CC(C)(C)[C@H]1NC(=O)[C@@H](c2cc(F)c(Cl)cc2)[C@H](C#N)[C@H]1C(=O)Nc3ccc(cc3OC)C(=O)OC(C)OC(=O)N4CCSC(=O)CC4

Приклад 15

CC(C)(C)C[C@H]1NC(=O)[C@@H](c2cc(F)c(Cl)cc2)[C@H](C#N)[C@@H]1Cc1ccc(F)c(Cl)c1C(=O)Nc2ccc(cc2)C(=O)OC(C)OC(=O)NCC3OC(C)(C)OC3

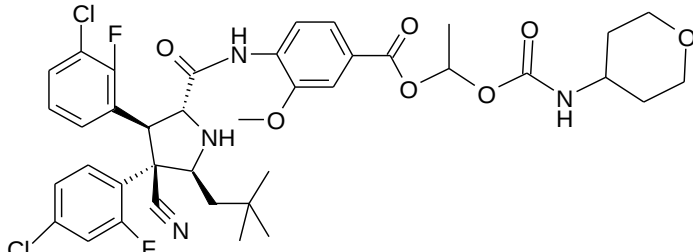
Приклад 16

CC(C)(C)C[C@H]1NC(=O)N(C1C(F)c2cc(Cl)ccc2)C(F)c3cc(Cl)ccc3C(=O)Nc4ccc(cc4)C(=O)OC(C)OC(=O)NCC(O)COM.W. 777.66 C₃₇H₄₀Cl₂F₂N₄O₈

Розчин 1-((2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)метилкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату (Приклад 15: 75,7 мг; 0,092 ммоль) у ацетонітрилі (4 мл) обробляли 2 М розчином хлороводневої кислоти в ефірі (Sigma Aldrich; 0,5 мл; 1,00 ммоль) і перемішували протягом 70 хв. Реакційну суміш концентрували, розбавляли етилацетатом і промивали насиченим водним бікарбонатом натрію і сольовим розчином, висушували і концентрували. Неочищену речовину потім очищали флеш-хроматографією (метиленхлорид/метанол) з одержанням 1-(2,3-дигідроксипропілкарбамоїлокси)-етилового ефіру 4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини (36,6 мг; вихід 50%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₇H₄₀Cl₂F₂N₄O₈: [(M+H)⁺]: 777 фактично: 777.

Приклад 17

1-(Тетрагідро-2Н-піран-4-ілкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату

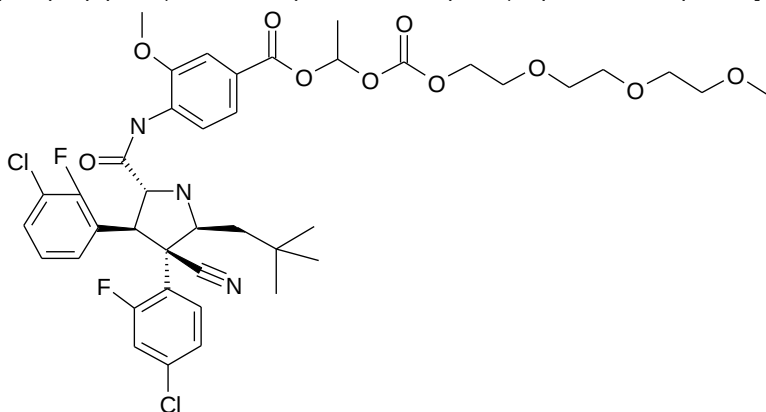


M.W. 787,69 C₃₉H₄₂Cl₂F₂N₄O₇

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Oakwood, 1,32 г; 1,0 мл; 9,27 ммоль) вводили в реакцію з 4-амінотетрагідропіраном (Oakwood, 899 мг; 0,92 мл; 8,62 ммоль) і піридином (782 мг; 0,8 мл; 9,89 ммоль) в метиленхлориді (20 мл) при -78°C протягом 3 г з одержанням сполуки 1-хлоретилтетрагідро-2Н-піран-4-ілкарбамату з піридином гідрохлоридом (1:1). Частину цієї речовини (520 мг; 1,61 ммоль) в диметилформаміді (5 мл) потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (151,4 мг; 0,246 ммоль) і карбонатом цезію (599,5 мг; 1,84 ммоль) в диметилформаміді (4,00 мл) при кімнатній температурі протягом 17 г з одержанням 1-(тетрагідро-2Н-піран-4-ілкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини (145,7 мг; вихід 75%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₉H₄₂Cl₂F₂N₄O₇: [(M+H)⁺]: 787, фактично: 787.

Приклад 18

1-{2-[2-(2-Метоксиетокси)-етокси]-етоксикарбонілокси}-етиловий ефір 4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти

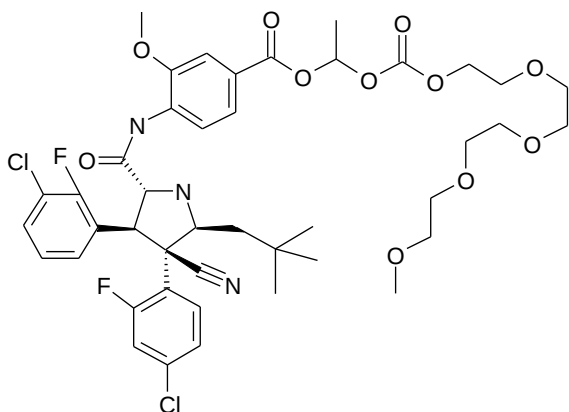


M.W. 850,75 C₄₁H₄₇Cl₂F₂N₃O₁₀

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат вводили в реакцію з 2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етанолом (TCI) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етил карбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 1-{2-[2-(2-метоксиетокси)-етокси]-етоксикарбонілокси}-етилового ефіру 4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини. LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₁H₄₈Cl₂F₂N₃O₁₀: [(M+H)⁺]: 850, фактично: 850.

Приклад 19

1-(2-{2-[2-(2-Метоксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілокси)-етиловий ефір 4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти

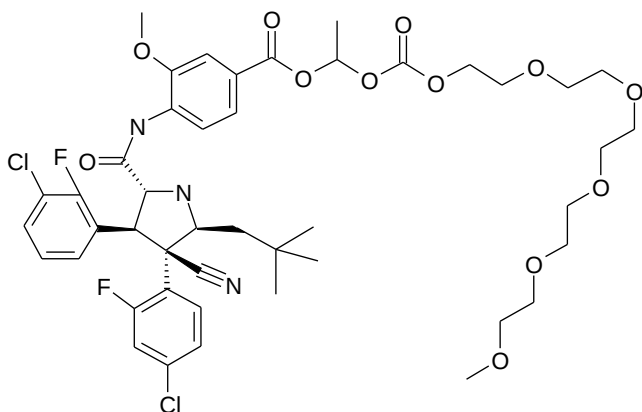


M.W. 894,80 C₄₃H₅₁Cl₂F₂N₃O₁₁

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат вводили в реакцію з 2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-олом (TCI) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 1-(2-[2-[2-(2-метоксиетокси)-етокси]-етокси]-етокси)карбонілокси)-етилового ефіру 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини. LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₃H₅₂Cl₂F₂N₃O₁₁ [(M+H)⁺]: 894, фактично: 894.

Приклад 20

1-[2-(2-[2-(2-Метоксиетокси)-етокси]-етокси)-етокси]-етокси)карбонілокси]-етилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти

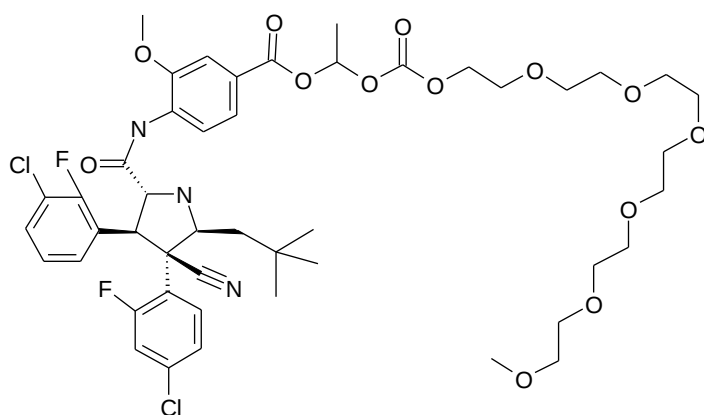


M.W. 938,86 C₄₅H₅₅Cl₂F₂N₃O₁₂

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат вводили в реакцію з монометилловим ефіром пентаетилгліколю (TCI) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-2,5,8,11,14-пентаоксагексадекан-16-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 1-[2-(2-[2-[2-(2-метоксиетокси)-етокси]-етокси]-етокси)-етокси)карбонілокси]-етилового ефіру 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини. LCMS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₅H₅₆Cl₂F₂N₃O₁₂ [(M+H)⁺]: 938, фактично: 938.

Приклад 21

21-Оксо-2,5,8,11,14,17,20,22-октаоксатетракозан-23-іл 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

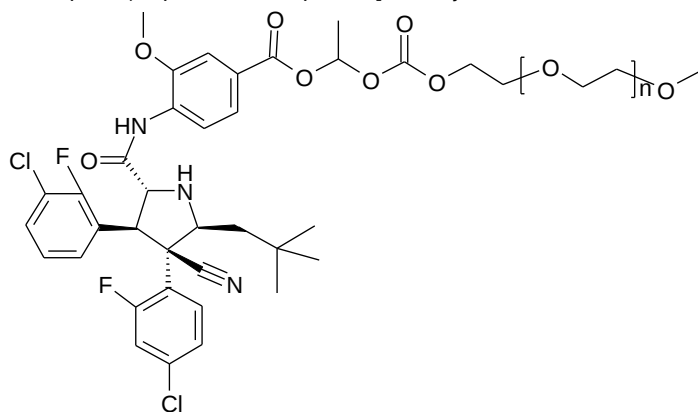


M.W. 982,91, $C_{47}H_{59}Cl_2F_2N_3O_{13}$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат вводили в реакцію з 2,5,8,11,14,17-гексаоксанадекан-19-олом (TCI) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-2,5,8,11,14,17-гексаоксанадекан-19-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 21-оксо-2,5,8,11,14,17,20,22-октаоксатетракозан-23-іл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. LCMS (ES^+) m/z розрахований для $C_{47}H_{60}Cl_2F_2N_3O_{13}$ $[(M+H)^+]$: 982, фактично: 982.

Приклад 22

1-мПЕГ-карбонілоксиетильовий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~ 750).

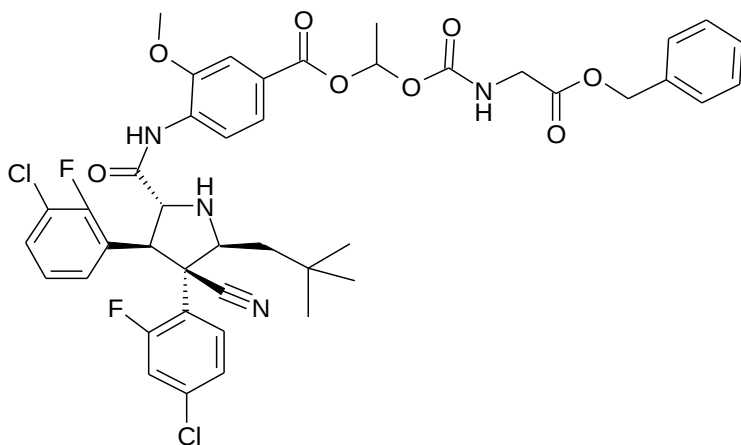


Середня M.W.: 1438

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)монометильовим ефіром (мПЕГ) (Aldrich; середня M.w. ~ 750) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-мПЕГ-карбонату. Одержаний 1-хлоретил-мПЕГ-карбонат потім вводили в реакцію з 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (від 10% до 100% ацетонітрил у воді), 1-мПЕГ-карбонілоксиетильового ефіру 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~ 750) у вигляді воскоподібної твердої речовини.

Приклад 23

1-(2-(Бензилокси)-2-оксоетилкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат



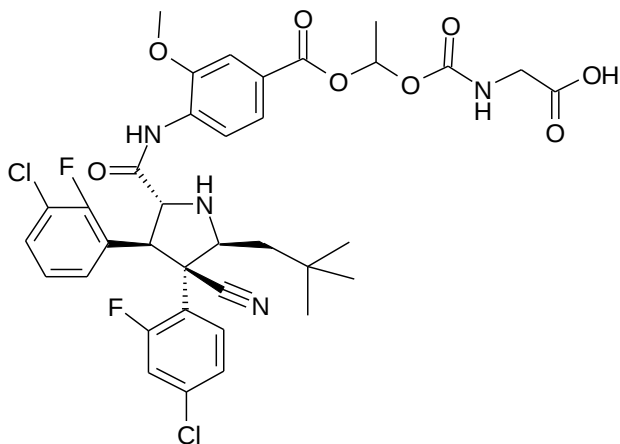
M.W. 851,74 $C_{43}H_{42}Cl_2F_2N_4O_8$

Бензил-2-аміноацетат, одержаний в результаті обробки бензил-2-аміноацетату гідрохлориду (Aldrich) в метиленхлориді водним розчином бікарбонату натрію, з подальшою промивкою водою. До охолодженого розчину бензил-2-аміноацетату (1,837 г; 11,1 ммоль) і піридину (1,1 г; 1,1 мл; 13,9 ммоль) в метиленхлориді (17 мл) при -78°C повільно додавали 1-хлоретилхлорформіат (Aldrich; 1,67 г; 11,7 ммоль) протягом ~ 10 хв. Реакційну суміш перемішували при -78°C протягом 3 г з одержанням білого осаду. Цю холодну реакційну суміш фільтрували для видалення твердої речовини і одержаний фільтрат концентрували насуху з одержанням неочищеного бензил-2-((1-хлоретокси)карбоніламіно)ацетату, який використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

До розчину 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (215 мг; 0,349 ммоль) в диметилформаміді (22 мл) додавали карбонат цезію (2,15 г; 6,6 ммоль). Перемішували протягом 10 хв, після чого додавали розчин свіжоприготованого бензил-2-((1-хлоретокси)карбоніламіно) ацетату (2,77 г неочищеного $\sim 5,55$ ммоль) в диметилформаміді (5 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Цю реакційну суміш розводили в етилацетаті, промивали водою і сольовим розчином і концентрували насуху. Неочищену речовину очищали флеш-хроматографією (гексан/етилацетат, від 90/10 до 10/90) з одержанням 1-(2-(бензилокси)-2-оксоетилкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини (191 мг; вихід 64%). LCMS (ES^+) m/z розрахований для $C_{43}H_{43}Cl_2F_2N_4O_8$ $[(M+H)^+]$: 851, фактично: 851.

Приклад 24

2-((1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-Хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етокси)карбоніламіно)оцтова кислота

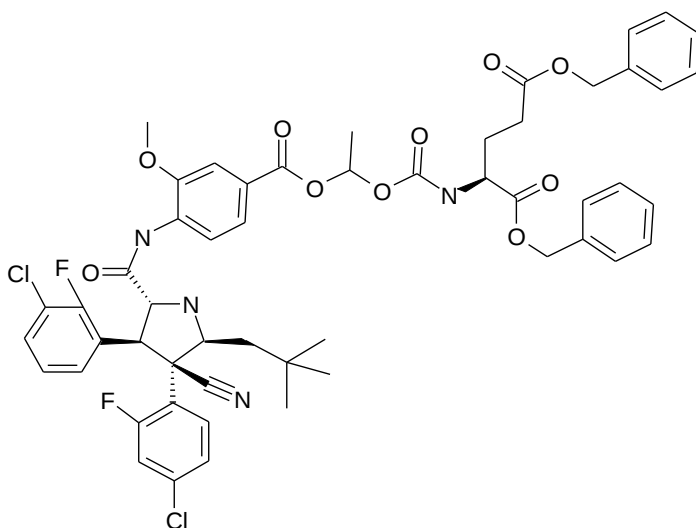


M.W.: 761,61 $C_{36}H_{36}Cl_2F_2N_4O_8$

До розчину 1-(2-(бензилокси)-2-оксоетилкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату (Приклад 23; 35,8 мг; 0,042 ммоль) у етилацетаті (8 мл) додавали 10% паладій на вугіллі (12 мг). Вміст перемішували при кімнатній температурі при тиску водню 1 атм протягом 2 г. Тверді залишки паладію на вугіллі фільтрували і промивали етилацетатом. Одержаний розчин концентрували з одержанням 2-((1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси) етокси)карбоніламіно)оцтової кислоти у вигляді білої твердої речовини (20,6 мг; 61%). MS (ES^+) m/z розрахований для $C_{36}H_{37}Cl_2F_2N_4O_8$ $[(M+H)^+]$: 761, фактично: 761.

Приклад 25

(2S)-Дибензил-2-((1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етокси)-карбоніламіно)пентандіоат



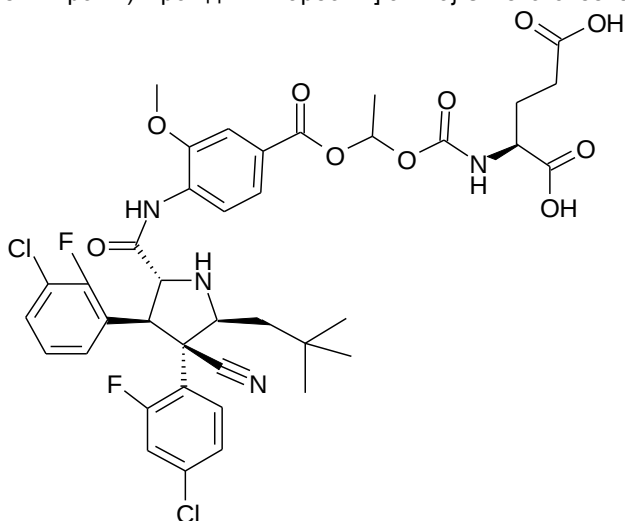
M.W. 1013,93; $C_{53}H_{52}Cl_2F_2N_4O_{10}$

(S)-Дибензил-2-амінопентандіоат одержували шляхом обробки ди-бензилового ефіру (S)-глутамінової кислоти гідрохлориду (Aldrich) в метиленхлориді водним розчином бікарбонату натрію з подальшою промивкою водою. До охолодженого розчину (S)-дибензил-2-амінопентандіоату (6,70 г; 20,5 ммоль) і піридину (2,05 г; 2,1 мл; 26,0 ммоль) в метиленхлориді (40 мл) при $-78^{\circ}C$, повільно додавали 1-хлоретилхлорформіат (Aldrich; 3,07 г; 2,32 мл; 21,5 ммоль) протягом ~ 10 хв. Реакційну суміш перемішували при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням білого осаду. Холодну реакційну суміш фільтрували для видалення осаду і фільтрат концентрували насухо, з одержанням неочищеного (2S)-дибензил-2-((1-хлоретокси)карбоніламіно)-пентандіоату (11,1 г, який використовували на наступній стадії без додаткового очищення).

До розчину хіральної 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (931 мг; 1,51 ммоль) в диметилформаміді (40 мл) додавали карбонат цезію (7,80 г; 23,9 ммоль). Перемішували протягом 10 хв, після чого додавали розчин вищезгаданого свіжоприготованого (2S)-дибензил-2-((1-хлоретокси)карбоніламіно)-пентандіоату (11,10 г неочищеного ~ 20 ммоль) в диметилформаміді (10 мл), і цю суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Цю суміш потім розводили в етилацетаті, промивали водою, сольовим розчином і концентрували насухо. Неочищену речовину очищали флеш-хроматографією (гексан/етилацетат, від 90/10 до 10/90) з одержанням (2S)-дибензил-2-((1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етокси)-карбоніламіно)пентандіоату у вигляді білої твердої речовини (107 мг; вихід 7%). MS (ES^+) m/z розрахований для $C_{53}H_{53}Cl_2F_2N_4O_{10}$ $[(M+H)^+]$: 1013, фактично: 1013.

Приклад 26

Одержання (S)-2-[1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензоїлокси)-етоксикарбоніламіно]-пентандіової кислоти



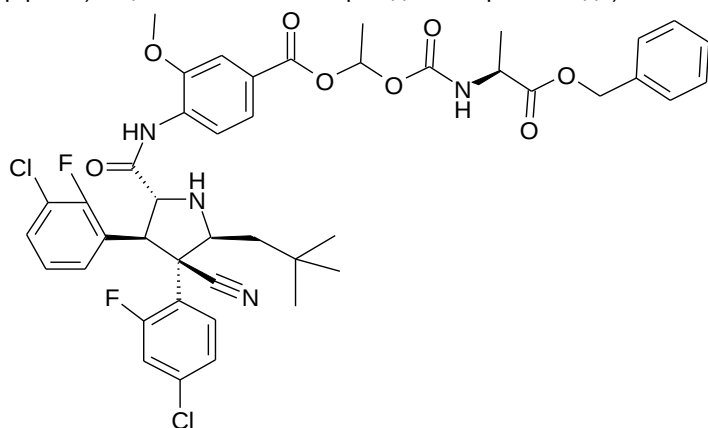
M.W. 833,68 $C_{39}H_{40}Cl_2F_2N_4O_{10}$

До розчину (2S)-дибензил-2-((1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)етокси)-карбоніламіно)-пентандіоату (Приклад 25, 44 мг; 0,043 ммоль) в етилацетаті (7 мл) додавали 10% паладій на вугіллі (33 мг). Вміст перемішували при кімнатній температурі при тиску водню 1 атм протягом 3 г. Тверді залишки паладію на вугіллі фільтрували і промивали етилацетатом. Одержаний розчин концентрували з одержанням (S)-2-[1-(4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензоїлокси)-етоксикарбоніламіно]-пентандіової кислоти у вигляді білої твердої речовини (18,6 мг; 48%). MS (ES^+) m/z розрахований для $C_{39}H_{41}Cl_2F_2N_4O_{10}$ $[(M+H)^+]$: 833, фактично: 833.

Приклад 27

1-((S)-1-(Бензилокси)-1-оксопропан-2-ілкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-

фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

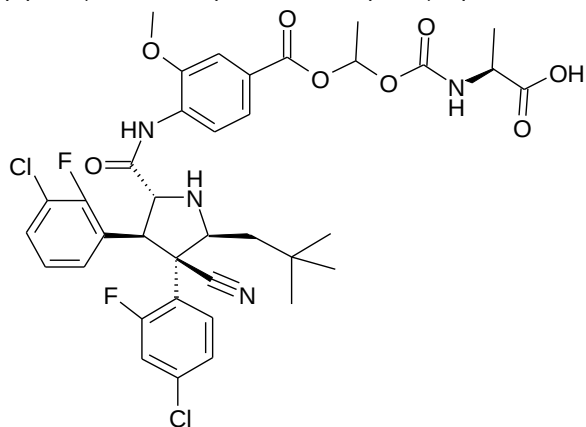


M.W.: 865,74 $C_{44}H_{44}Cl_2F_2N_4O_8$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 23 (S)-бензил-2-((1-хлоретокси)-карбоніламіно)пропаноат одержували з (S)-бензил-2-амінопропаноату і 1-хлоретилхлорформіату (Aldrich) у присутності піридину в метиленхлориді. Потім його вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою і карбонатом цезію в диметилформаміді з одержанням 1-((S)-1-(бензилокси)-1-оксoproпан-2-ілкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для $C_{44}H_{45}Cl_2F_2N_4O_8$ [(M+H)⁺]: 865, фактично: 865.

Приклад 28

1-((S)-1-Карбоксиетилкарбамоїлокси)-етиловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти

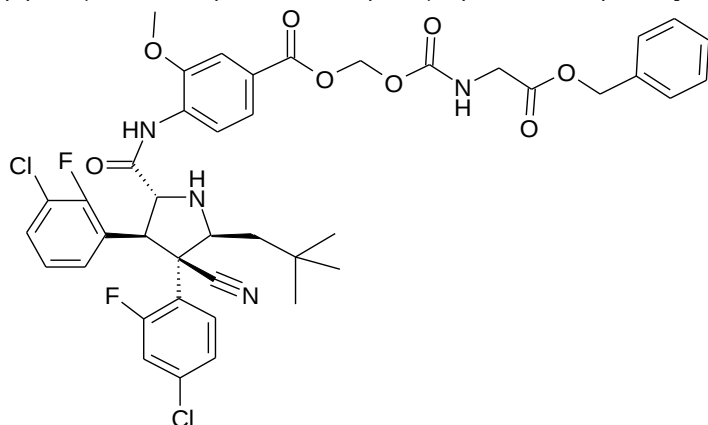


M.W. 775,62 $C_{37}H_{38}Cl_2F_2N_4O_8$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 24, розчин 1-((S)-1-(бензилокси)-1-оксoproпан-2-ілкарбамоїлокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату (Приклад 27) у етилацетаті обробляли за допомогою 10% паладію на вугіллі при тиску водню 1 атм з одержанням 1-((S)-1-карбокси-етилкарбамоїлокси)-етилового ефіру 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для $C_{37}H_{39}Cl_2F_2N_4O_8$ [(M+H)⁺]: 775, фактично: 775.

Приклад 29

Бензилоксикарбонілметилкарбамоїлоксиметильовий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти



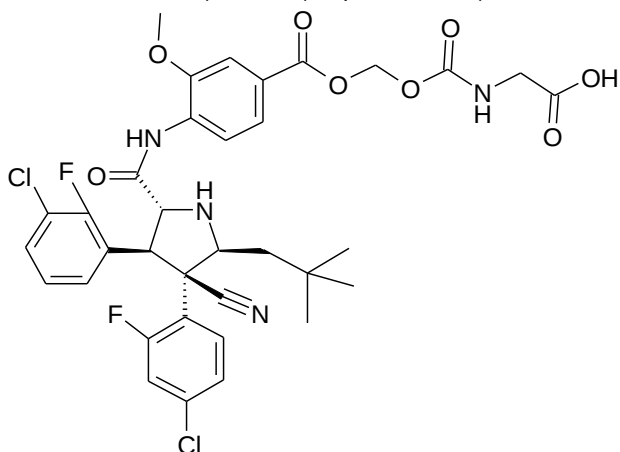
M.W. 837,71, $C_{42}H_{40}Cl_2F_2N_4O_8$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 23, бензиловий ефір хлорметоксикарбоніламінооцтової кислоти

одержували з бензилового ефіру амінооцтової кислоти і 1-хлоретилхлорформіату (Aldrich) у присутності піридину в метиленхлориді. Потім його вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою і карбонатом цезію в диметилформаміді з одержанням хіального бензилоксикарбонілметилкарбамоїлоксиметилового ефіру 4-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл)-аміно)-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₂H₄₁Cl₂F₂N₄O₈ [(M+H)⁺]: 837, фактично: 837.

Приклад 30

2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-Хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)-карбоніламіно)оцтова кислота

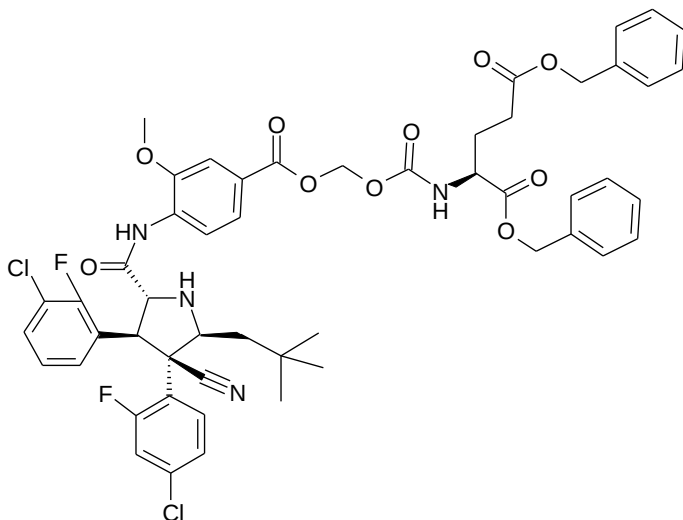


M.W. 747,57 C₃₅H₃₅Cl₂F₂N₄O₈

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 24, розчин бензилоксикарбонілметил-карбамоїлоксиметилового ефіру 4-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл)-аміно)-3-метоксибензойної кислоти (Приклад 29) в етилацетаті обробляли за допомогою 10% паладію на вугіллі при тиску водню 1 атм з одержанням 2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)-карбоніламіно) оцтової кислоти у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для C₃₅H₃₆Cl₂F₂N₄O₈ [(M+H)⁺]: 747, фактично: 747.

Приклад 31

(S)-Дибензил-2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)карбоніламіно)-пентандіоат

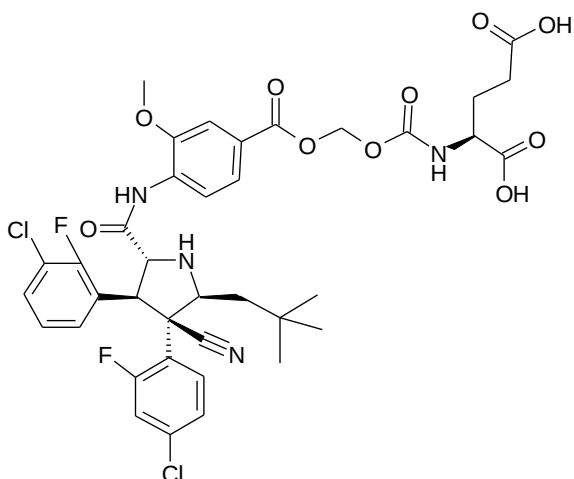


M.W. 999,88 C₅₂H₅₀Cl₂F₂N₄O₁₀

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 23 (S)-дибензил-2-((хлорметокси)карбоніламіно)пентандіоат одержували з (S)-дибензил-2-амінопентандіоату і хлорметилхлорформіату у присутності піридину в метиленхлориді. Потім його вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою і карбонатом цезію в диметилформаміді з одержанням хіального (S)-дибензил-2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)карбоніламіно)пентандіоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для C₅₂H₅₁Cl₂F₂N₄O₁₀ [(M+H)⁺]: 999, фактично: 999.

Приклад 32

(S)-2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)карбоніламіно)пентандіоїва кислота

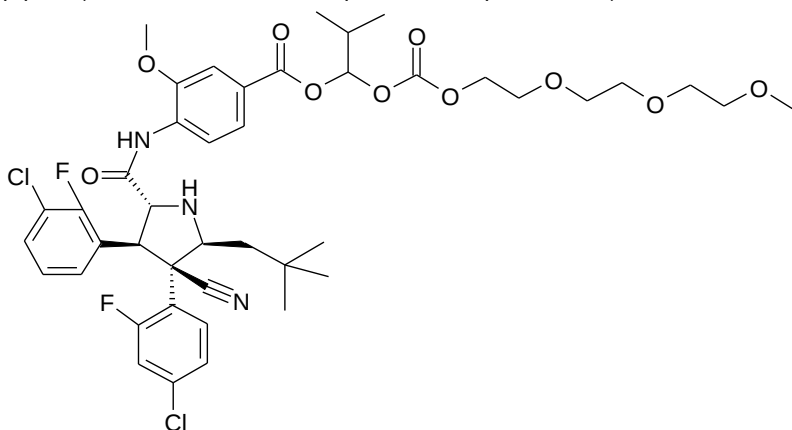


M.W.: 819,63 $C_{38}H_{38}Cl_2F_2N_4O_{10}$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 24, розчин хірального (S)-дибензил-2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)карбоніламіно)-пентандіоату (Приклад 31) в етилацетаті обробляли за допомогою 10% паладію на вугіллі при тиску водню 1 атм з одержанням хіральної (S)-2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)карбоніламіно)-пентандіоївої кислоти у вигляді білої твердої речовини. MS (ES^+) m/z розрахований для $C_{38}H_{39}Cl_2F_2N_4O_{10}$ [(M+H) $^+$]: 819, фактично: 819.

Приклад 33

15-Метил-12-оксо-2,5,8,11,13-пентаоксагексадекан-14-іл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

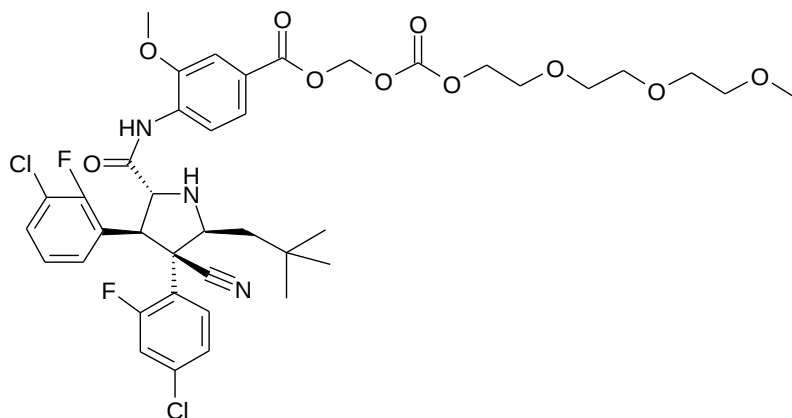


M.W. 878,8 $C_{43}H_{51}Cl_2F_2N_3O_{10}$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлор-2-метилпропілхлорформіат (Aldrich) вводили в реакцію з 2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етанолом (TCI) і піридином в метиленхлориді при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням 1-хлор-2-метилпропіл-2-(2-(2-метоксиетокси)-етокси)етилкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 15-метил-12-оксо-2,5,8,11,13-пентаоксагексадекан-14-іл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES^+) m/z розрахований для $C_{43}H_{52}Cl_2F_2N_3O_{10}$: [(M+H) $^+$]: 878, фактично: 878.

Приклад 34

3-Оксо-2,4,7,10,13-пентаоксатетрадецил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

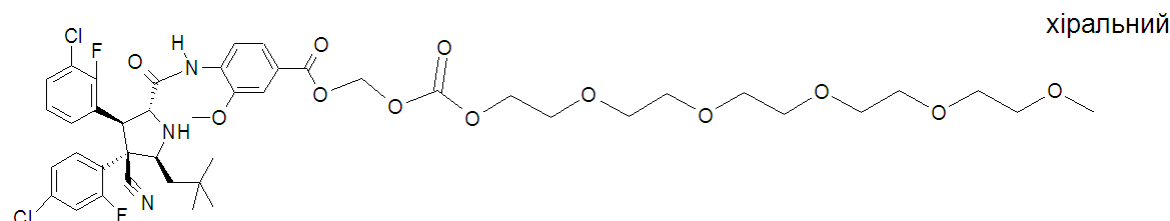


M.W. 836,72 $C_{40}H_{46}Cl_2F_2N_3O_{10}$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Aldrich) вводили в реакцію з 2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етанолом (TEC) і піридином в метиленхлориді при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням хлорметил-2-(2-(2-метоксиетокси)етокси)етилкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), хірального 3-оксо-2,4,7,10,13-пентаоксатетрадецил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES^{+}) m/z розрахований для $C_{40}H_{47}Cl_2F_2N_3O_{10}$: $[(M+H)^{+}]$: 836, фактично: 836.

Приклад 35

3-Оксо-2,4,7,10,13,16,19-гептаоксаікозил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

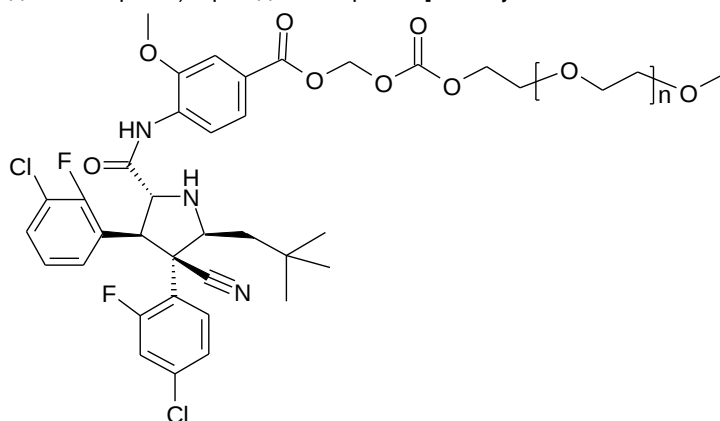


M.W. 924,83 $C_{44}H_{53}Cl_2F_2N_3O_{12}$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Aldrich) вводили в реакцію з монометилним ефіром пентаетиленгліколю (TEC) і піридином в метиленхлориді при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням хлорметил-2,5,8,11,14-пентаоксаксадекан-16-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), хірального 3-оксо-2,4,7,10,13,16,19-гептаоксаікозил 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES^{+}) m/z розрахований для $C_{44}H_{54}Cl_2F_2N_3O_{12}$: $[(M+H)^{+}]$: 924, фактично: 924.

Приклад 36

1-мПЕГ-Карбонілоксиметилловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл)-аміно-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~750)



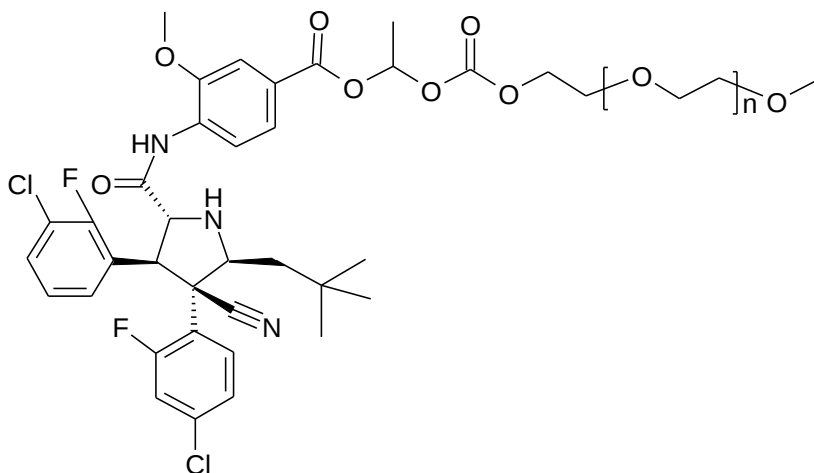
Середня M.W.: ~1431

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (594 мг; 410 мкл; 4,43 ммоль) вводили в реакцію з полі(етиленгліколь) монометилним ефіром (мПЕГ) (Aldrich; середня M.W. ~750, 10,03 г; 13,4 ммоль) і піридином (1,32 г; 1,35 мл; 16,7 ммоль) в метиленхлориді (6 мл) при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням 1-хлорметил-мПЕГ-карбонату з піридином гідрохлоридом (1:1). Потім одержаний 1-хлорметил-мПЕГ-карбонат (4,67 г; 4,87 ммоль) в

диметилформаміді (18 мл) вводили в реакцію з 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (300 мг; 0,487 ммоль) і карбонатом цезію (1,92 г; 5,89 ммоль) в диметилформаміді (7 мл) протягом ночі, з одержанням, після очищення за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (ацетонітрил у воді від 10% до 100%), хірального 1-мПЕГ-карбонілоксиметилового ефіру 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~750), у вигляді воскоподібної твердої речовини (586,3 мг; вихід 84,5%).

Приклад 37

1-мПЕГ-карбонілоксиетиловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2000)

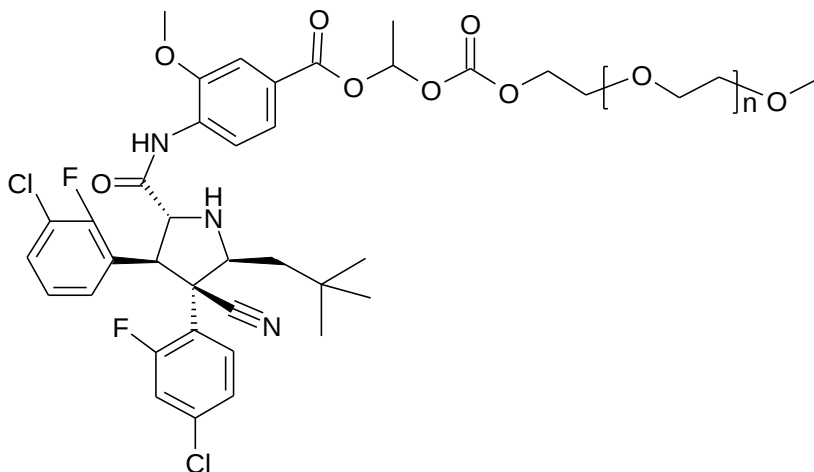


Середня M.W.: ~2695

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлоретилхлорформіат (Oakwood, 1,46 г; 1,1 мл; 10,2 ммоль) вводили в реакцію з полі(етиленгліколь) монометиловим ефіром (мПЕГ) (Aldrich; середня M.W. ~2000, 18,84 г; 9,42 ммоль) і піридином (939 мг; 0,96 мл; 11,9 ммоль) в метиленхлориді (6 мл) при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-мПЕГ-карбонату з піридином гідрохлоридом (1:1). Потім одержаний 1-хлоретил-мПЕГ-карбонат (4,67 г; 4,87 ммоль) в диметилформаміді (25 мл) вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою (300 мг; 0,487 ммоль), яку можна одержати, наприклад, способом, розкритим в WO2011/098398, і карбонатом цезію (1,97 г; 6,04 ммоль) в диметилформаміді (6 мл) протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою вискоєфективної рідинної хроматографії (ацетонітрил у воді від 10% до 100%), 1-мПЕГ-карбонілоксиетилового ефіру 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2000) у вигляді білої твердої речовини (171,6 мг; вихід 13%).

Приклад 37а

1-мПЕГ-Карбонілоксиетиловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2200)



Середня M.W.: ~2900

а) 1-Хлоретил-2-метоксиетилкарбонат-мПЕГ (середня M.W. ~2300)

Метокси-полі(етиленгліколь) (ID Biochem, середня M.w. ~2200, визначений за допомогою MALDI-TOF MS, 2,5 кг ~1,14 моль) і карбонат літію (185 г; 2,5 моль) завантажували в скляний реактор на 50 л і додавали дихлорметан (39,8 кг; 30,0 л). Цю суміш перемішували протягом 1 г, і потім додавали 1-хлоретилхлорформіат (1,07 кг; 819 мл; 7,5 моль) через краплинну воронку. При інтенсивному перемішуванні додавали каталітичну кількість піридину (4,94 г; 5,05 мл; 62,5 ммоль), при цьому спостерігали виділення газу. Цю суміш перемішували при 25°C в атмосфері азоту протягом 21 г. Аналіз за допомогою HPLC-CAD показав, що залишилося приблизно 3% мПЕГ-ОН. Реакційну суміш фільтрували для видалення нерозчинної солі, і потім рідку фазу начисто фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,4. Рідину концентрували для видалення дихлорметану шляхом вакуумної перегонки і міняли розчинник на н-гептан. Одержану кашку в н-гептані охолоджували до 0°C і вистоявали 1 г, після чого фільтрували продукт у вигляді білого порошку.

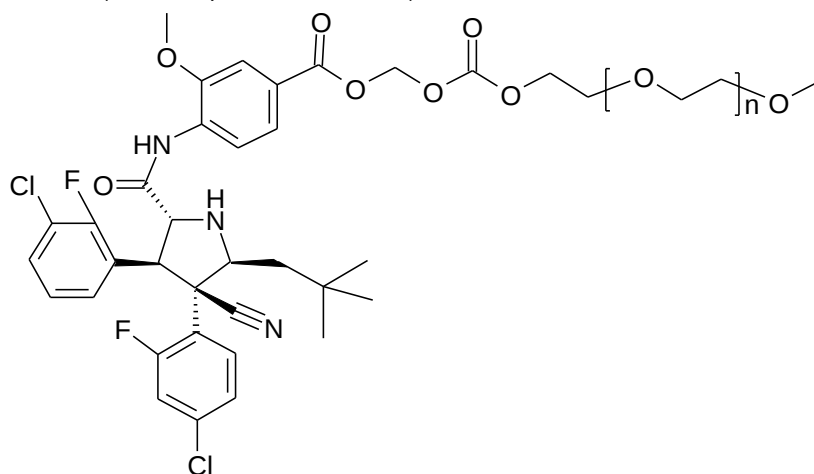
Тверду речовину промивали н-гептаном, потім висушували при 35°C у вакуумній сушильній шафі з продуванням азотом, з одержанням 2340 г (90%) 1-хлоретил-2-метоксиетилкарбонат-мПЕГ (середня M.W. ~2300).

б) 1-мПЕГ-карбонілоксиметилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2200)

У колбу на 12 л завантажували хіральну 4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо]-3-метоксибензойну кислоту у вигляді цезієвої солі (400 г; 533 ммоль), 1-хлоретил-2-метоксиетилкарбонат-мПЕГ (середня M.W. ~2300) (1,51 кг; ~657 ммоль) і карбонат цезію (43,4 г; 133 ммоль, екв.: 0,25), а потім DMSO (4,00 л). Цю суміш перемішували і нагрівали до 50°C протягом 4 г. Температуру доводили до 30°C і реакційну суміш перемішували протягом 6 діб. Вносили додаткову кількість 1-хлоретил-2-метоксиетилкарбонату-мПЕГ (середня M.W. ~2300) (112 г; ~49 ммоль) і цю суміш знову нагрівали до 50°C протягом 2 діб. Аналіз за допомогою ВЕРХ показав конверсію приблизно 98%. Реакційну суміш охолоджували до 20°C, потім вливали в підготовлений розчин, що містить воду (8,00 л) і хлороводневу кислоту (26,7 мл, 320 ммоль). Одержаний розчин перемішували протягом декількох хвилин, а потім pH доводили до ~6,5 додаванням Cs₂CO₃. Цей розчин перемішували до тих пір, поки аналіз (HPLC-CAD) не показав повний гідроліз надлишку 1-хлоретил-2-метоксиетилкарбонат-мПЕГ до метокси-полі(етиленгліколю). Цей розчин екстрагували дихлорметаном (10,6 кг; 8,00 л). Дихлорметанову фракцію промивали водою (8,00 кг; 8,00 л) чотири (4) рази, а потім сольовим розчином. Органічну фазу концентрували у вакуумі з одержанням 1,885 кг неочищеної пастоподібної твердої речовини, яка містила суміш продукту і мПЕГ-ОН. Цей залишок розчиняли в ізопропілацетаті (26,1 кг; 30,0 л) і потім промивали 50% сольовим розчином (1,13 л, одержували з 200 г NaCl в 1,13 л води). Цю суміш вистоювали 1 г, і потім нижню водну фазу відкидали. Залишену ізопропілацетатну органічну фазу начисто фільтрували через діатоміт. Цей розчин концентрували вакуумною перегонкою з одержанням твердого залишку, який повторно розчиняли в ізопропілацетаті (4,0 л). Коли одержували прозорий розчин, його охолоджували до 10°C і потім повільно додавали н-гептан (8,0 л) при інтенсивному перемішуванні. Після додавання приблизно перших 1,0 л продукт починав осідати у вигляді дрібнодисперсної білої кашки. Додавали залишену кількість н-гептану і одержану суспензію перемішували при 6-10°C протягом 0,5 г. В результаті фільтрації одержували білий порошок, який висушували у вакуумній сушильній шафі при 35°C з продуванням азотом. Зазначену в заголовку сполуку, 1-мПЕГ-карбонілоксиметилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2200), середня M.W.: ~2900, одержували з виходом 1128 г (73%), чистотою 99,5% (LC-CAD).

Приклад 38

1-мПЕГ-Карбонілоксиметилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2000)



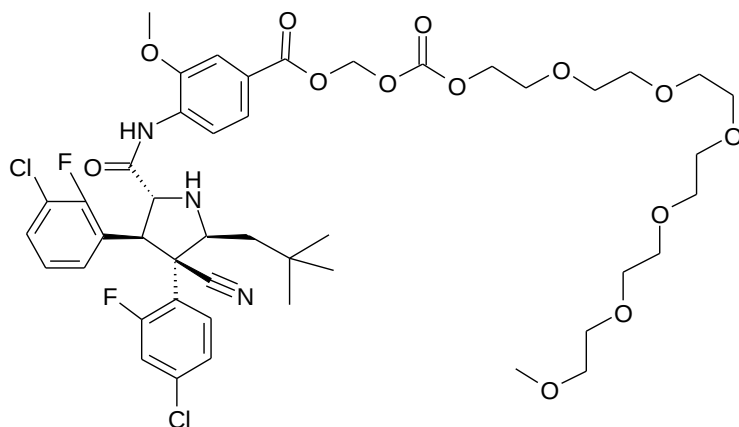
Середня M.W.: ~2674

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Oakwood) вводили в реакцію з полі(етиленгліколь)монометилловим ефіром (мПЕГ) (Aldrich; середня M.W. ~2000) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлорметил-мПЕГ. Одержаний 1-хлорметил-мПЕГ-карбонат потім вводили в реакцію з хіральною

4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо]-3-метоксибензойною кислотою і карбонатом цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ацетонітрил у воді від 10% до 100%), хірального 1-мПЕГ-карбонілоксиметиллового ефіру 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~2000) у вигляді білої твердої речовини.

Приклад 39

3-Оксо-2,4,7,10,13-пентаоксатетрадецил-4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо]-3-метоксибензоат

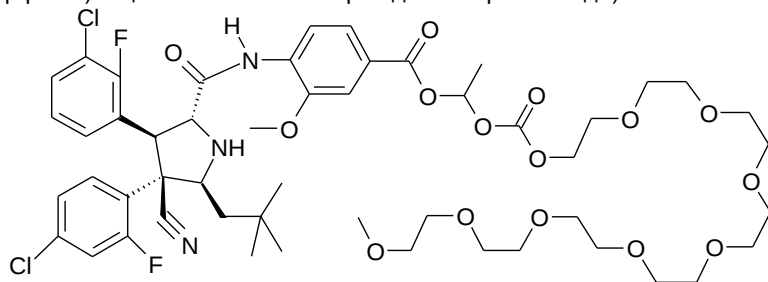


M.W. 968,88 C₄₆H₅₇Cl₂F₂N₃O₁₃

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Aldrich) вводили в реакцію з 2,5,8,11,14,17-гексаоксанадеккан-19-олом (TCl) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням хлорметил-2,5,8,11,14,17-гексаоксанадеккан-19-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), хірального 3-оксо-2,4,7,10,13-пентаоксатетрадецил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₆H₅₈Cl₂F₂N₃O₁₃: [(M+H)⁺]: 968, фактично: 968.

Приклад 40

27-Оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,28-декаоксатриаконтан-29-іл 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат

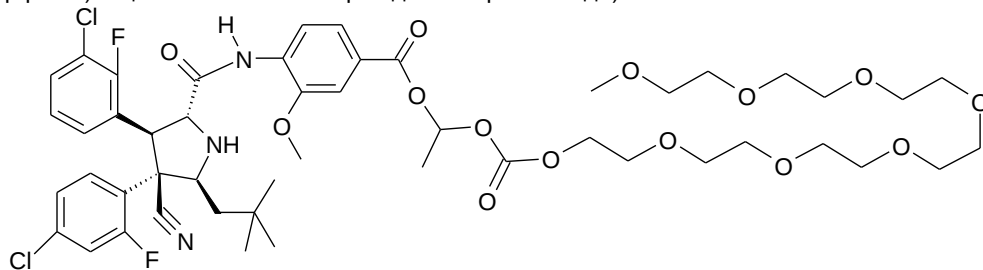


M.W. 1071,02 C₅₁H₆₇Cl₂F₂N₃O₁₅

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Aldrich) вводили в реакцію з октаетиленгліколь-мометилловим ефіром (TCl) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 27-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,28-декаоксатриаконтан-29-іл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для C₅₁H₆₈Cl₂F₂N₃O₁₅: [(M+H)⁺]: 1071, фактично: 1070.

Приклад 41

24-Оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,25-нонаоксагептакозан-26-іл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат



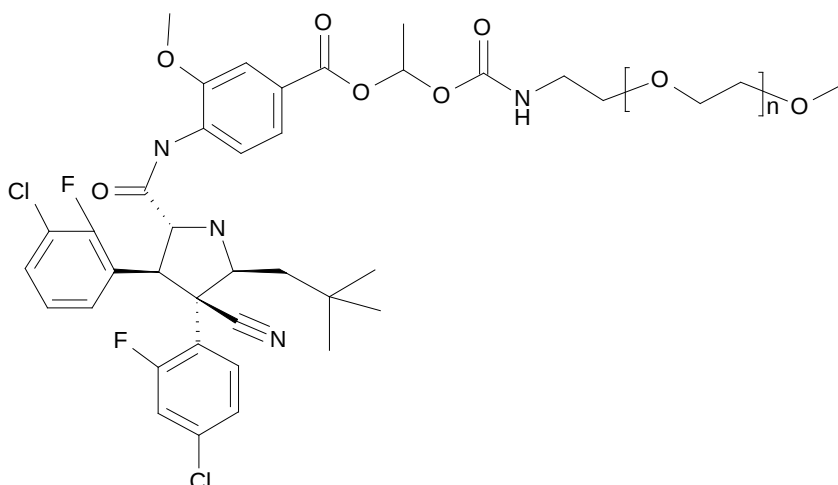
M.W. 1071,02 C₅₁H₆₇Cl₂F₂N₃O₁₅

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Aldrich) вводили в реакцію з гептаетиленгліколь-мометилловим ефіром (TCl) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ілкарбонату. Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії (гексан/етилацетат, від 80/20 до 20/80), 24-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,25-нонаоксагептакозан-26-іл-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований

для $C_{51}H_{68}Cl_2F_2N_3O_{15}$: $[(M+H)^+]$: 1026, фактично: 1026.

Приклад 42

1-мПЕГ-карбонілоксиетиламід 4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ- NH_2 , середня M.W. ~550)

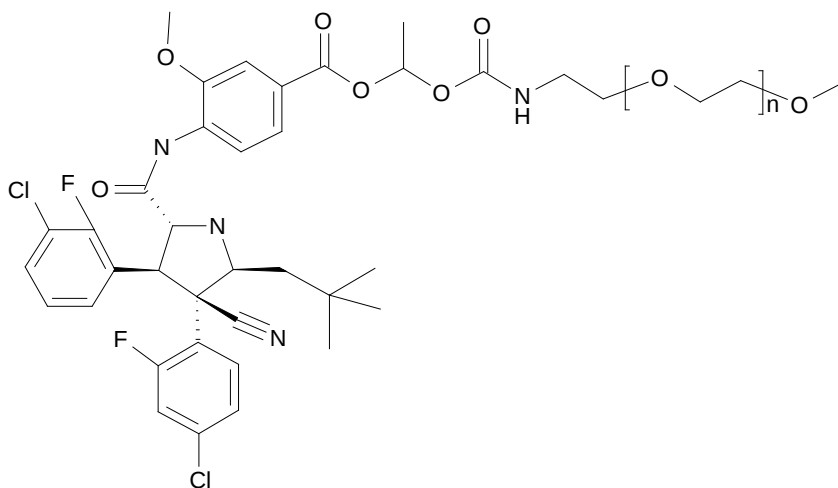


Середня M.W.: ~1240

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Oakwood) вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)моноаміно-монометилєвим ефіром (мПЕГ- NH_2 , середня M.W. ~550, Laysan Bio Inc) і піридином в метилєнхлориді при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-мПЕГ- NH_2 -карбамату з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ацетонїтрил/вода), 1-мПЕГ-карбонілоксиетиламїду 4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ, середня M.W. ~550) у вигляді світло-коричневої твердої речовини.

Приклад 43

1-мПЕГ-карбонілоксиетил амід 4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ- NH_2 , середня M.W. ~1000)

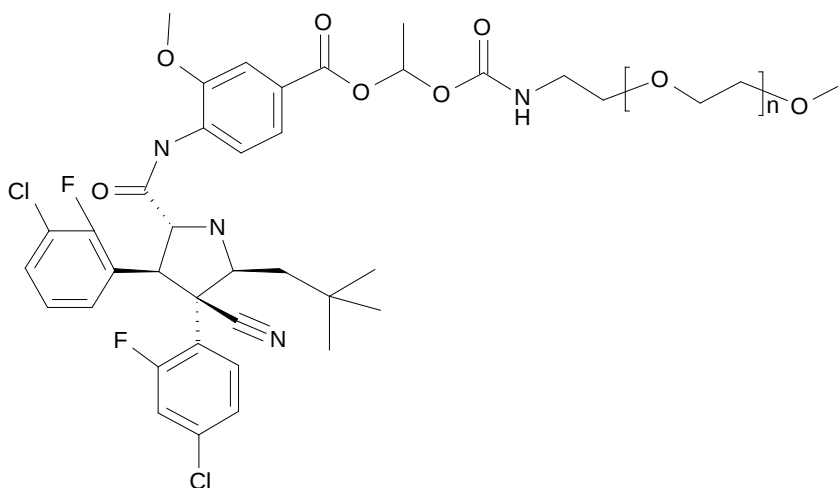


Середня M.W.: ~1687

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Oakwood) вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)моноаміно-монометилєвим ефіром (мПЕГ- NH_2 , середня M.W. ~1000, Laysan Bio Inc.) і піридином в метилєнхлориді при $-78^{\circ}C$ протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-мПЕГ- NH_2 -карбаматом з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ацетонїтрил/вода), 1-мПЕГ-карбонілоксиетиламїду 4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ- NH_2 , середня M.W. ~1000) у вигляді світло-коричневої твердої речовини.

Приклад 44

1-мПЕГ-Карбонілоксиетиламід 4-[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ- NH_2 , середня M.W. ~2000)

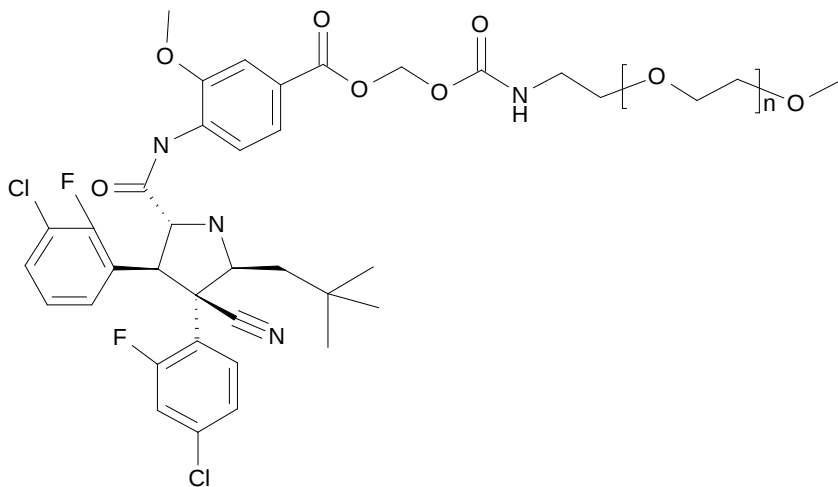


Середня M.W.: ~2687

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, 1-хлоретилхлорформіат (Oakwood) вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)моноамїно-монометїловим ефіром (мПЕГ- NH₂, середня M.W. ~2000, Laysan Bio Inc.) і піридином в метїленхлорїді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлоретил-мПЕГ-NH₂-карбамату з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хїральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфенїл)-4-(4-хлор-2-фторфенїл)-4-ціано-5-неопентилпіролїдїн-2-карбоксамїдо)-3-метоксїбензойною кїслоотою у присутності карбонату цезїю в диметїлформамїді протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рїдинної хроматографії (ацетонїтрил/вода), 1-мПЕГ-карбонїлоксїетїламїду 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфенїл)-4-(4-хлор-2-фторфенїл)-4-ціано-5-(2,2-диметїлпропїл)-піролїдїн-2-карбонїл]-амїно]-3-метоксїбензойної кїслоти (мПЕГ-NH₂, середня M.W. ~2000) у вигляді білої твердої речовини.

Приклад 45

1-мПЕГ-Карбонїлоксїметїламїд 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфенїл)-4-(4-хлор-2-фторфенїл)-4-ціано-5-(2,2-диметїлпропїл)-піролїдїн-2-карбонїл]-амїно]-3-метоксїбензойної кїслоти (мПЕГ- NH₂, середня M.W. ~2000)

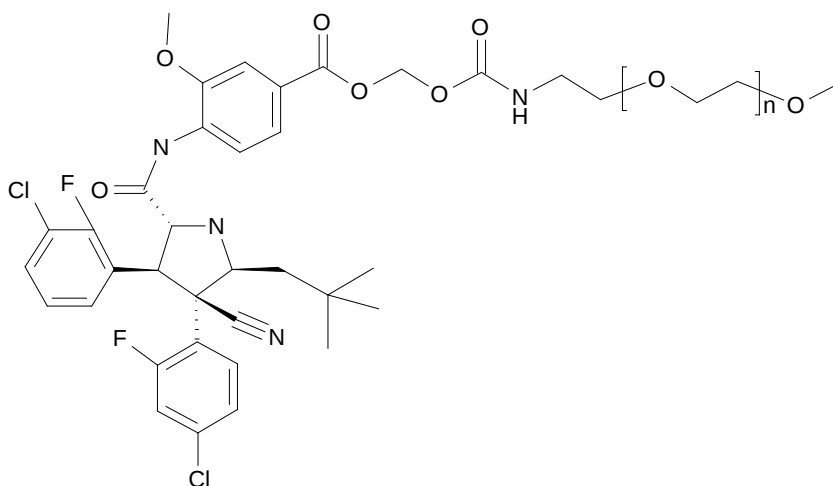


Середня M.W.: ~2673

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Oakwood) вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)моноамїно-монометїловим ефіром (мПЕГ-NH₂, середня M.W. ~2000, Laysan Bio Inc.) і піридином в метїленхлорїді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлорметил-мПЕГ-NH₂-карбамату з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хїральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфенїл)-4-(4-хлор-2-фторфенїл)-4-ціано-5-неопентилпіролїдїн-2-карбоксамїдо)-3-метоксїбензойною кїслоотою у присутності карбонату цезїю в диметїлформамїді протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рїдинної хроматографії (ацетонїтрил/вода), хїрального 1-мПЕГ-карбонїлоксїметїламїду 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфенїл)-4-(4-хлор-2-фторфенїл)-4-ціано-5-(2,2-диметїлпропїл)-піролїдїн-2-карбонїл]-амїно]-3-метоксїбензойної кїслоти (мПЕГ-NH₂, середня M.W. ~2000) у вигляді білої твердої речовини.

Приклад 46

1-мПЕГ-Карбонїлоксїметїламїд 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфенїл)-4-(4-хлор-2-фторфенїл)-4-ціано-5-(2,2-диметїлпропїл)-піролїдїн-2-карбонїл]-амїно]-3-метоксїбензойної кїслоти (мПЕГ- NH₂, середня M.W. ~1000)

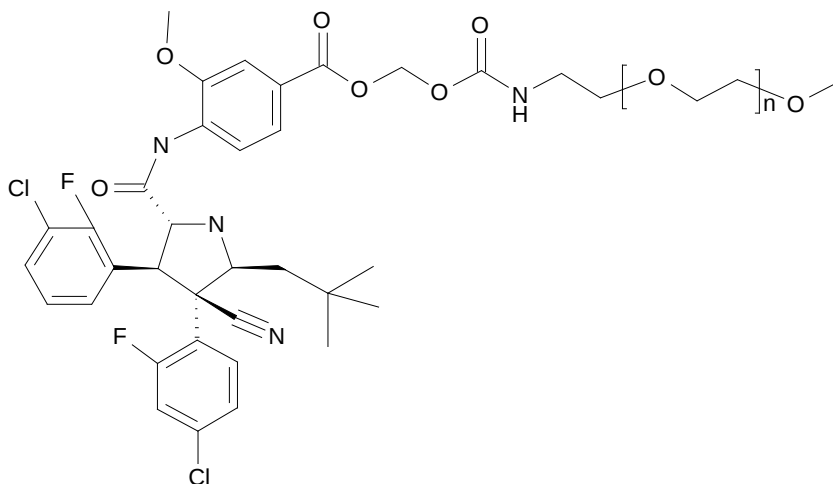


Середня M.W.: ~1673

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Oakwood (160 мг; 110 мкл; 1,24 ммоль)) вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)моноамїно-монометилєвим ефіром (мПЕГ-NH₂, середня M.W. ~1000, Laysan Bio Inc.) (999,8 мг; 1,00 ммоль) і піридином (53,8 мг; 0,055 мл; 0,68 ммоль) у присутності молекулярного сита (~1,74 г; висушеного при мікрохвильовому опромїнюванні, 8-12 меш) в метилєнхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлорметил-мПЕГ-NH₂-карбамату з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хїральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфєніл)-4-(4-хлор-2-фторфєніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідїн-2-карбоксамїдо)-3-метоксибензойною кислотою (124 мг, 0,201 ммоль) і карбонатом цєзію (467,3 мг; 1,43 ммоль) в диметилформаміді (8 мл) протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рїдинної хроматографії (ацетонїтрил/вода), хїрального 1-мПЕГ-карбонїлоксиметиламїду 4-{{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфєніл)-4-(4-хлор-2-фторфєніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідїн-2-карбонїл}-амїно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ- NH₂, середня M.W. ~1000) у вигляді білої твердої речовини (258 мг; 76% вихід).

Приклад 47

1-мПЕГ-Карбонїлоксиметиламїд 4-{{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфєніл)-4-(4-хлор-2-фторфєніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідїн-2-карбонїл}-амїно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ- NH₂, середня M.W. ~550)

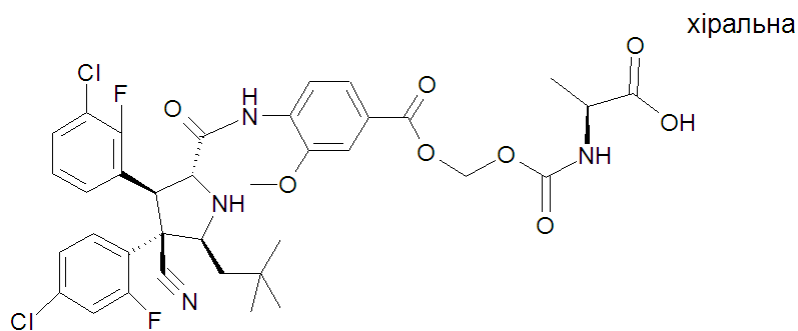


Середня M.W.: ~1223

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 46, хлорметилхлорформіат (Oakwood, 167 мг; 0,11 мл; 1,29 ммоль) вводили в реакцію з полі(етилєнглїколь)моноамїно-монометилєвим ефіром (мПЕГ-NH₂, середня M.W. ~550, Laysan Bio Inc.) (576,4 мг; 1,05 ммоль) і піридином (117 мг; 0,12 мл; 1,48 ммоль) у присутності молекулярного сита (~0,5 г; висушеного мікрохвильовим опромїнюванням, 8-12 меш) в метилєнхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням 1-хлорметил-мПЕГ-NH₂-карбамату з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хїральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфєніл)-4-(4-хлор-2-фторфєніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідїн-2-карбоксамїдо)-3-метоксибензойною кислотою (130,4 мг; 0,212 ммоль) і карбонатом цєзію (479 мг; 1,47 ммоль) в диметилформаміді (8 мл) протягом ночі з одержанням, після очищення за допомогою високоефективної рїдинної хроматографії (ацетонїтрил/вода), хїрального 1-мПЕГ-карбонїлоксиметиламїду 4-{{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфєніл)-4-(4-хлор-2-фторфєніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідїн-2-карбонїл}-амїно}-3-метоксибензойної кислоти (мПЕГ-NH₂, середня M.W. ~550) у вигляді білої твердої речовини (173,2 мг; вихід 67,0%).

Приклад 48

(S)-2-(((4-(((2R,3S,4R,5S)-3-(3-Хлор-2-фторфєніл)-4-(4-хлор-2-фторфєніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідїн-2-карбоксамїдо)-3-метоксибензоїлокси)метокси)карбонїламіно)пропанова кислота



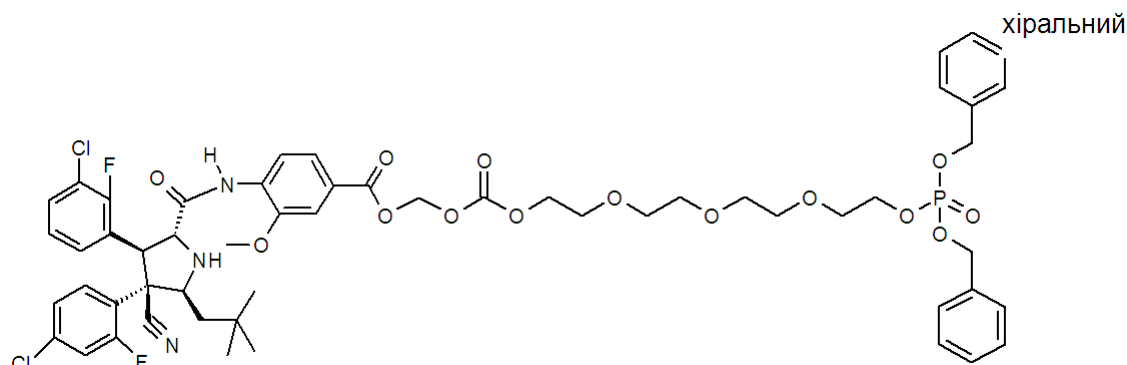
M.W. 761,61 $C_{36}H_{36}Cl_2F_2N_4O_8$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 23 (S)-бензил-2-((хлорметокси)-карбоніламіно)пропаноат одержували з (S)-бензил-2-амінопропаноату (Chem-Imprex) і 1-хлорметилхлорформіату (Aldrich) у присутності піридину в метиленхлориді. Потім його вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою і карбонатом цезію в диметилформаміді з одержанням хірального ((S)-1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-ілкарбамоїлокси) метил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у вигляді білої твердої речовини.

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 24, розчин хірального ((S)-1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-ілкарбамоїлокси)метил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоату у етилацетаті обробляли за допомогою 10% паладію на вугіллі при тиску водню 1 атм з одержанням хіральної (S)-2-(((4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоїлокси)-метокси)карбоніламіно)пропанової кислоти у вигляді білої твердої речовини. MS (ES⁺) m/z розрахований для $C_{36}H_{36}Cl_2F_2N_4O_8$: [(M+H)⁺]: 761, фактично: 761.

Приклад 49

2-{2-[2-(2-Фосфоноксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілоксиметилловий ефір дибензил-4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти

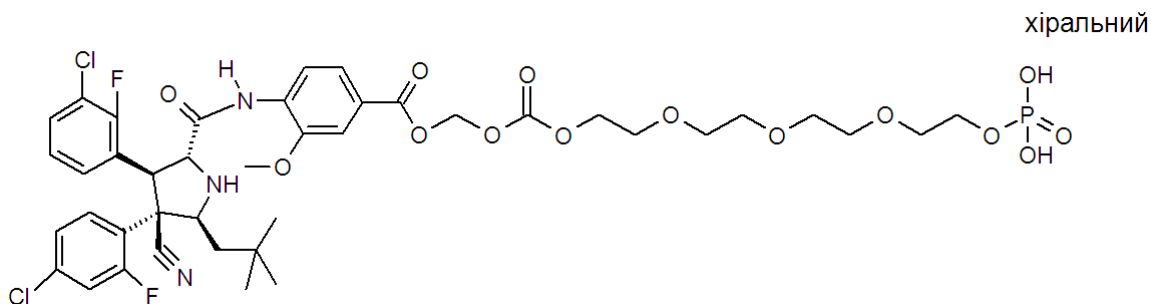


M.W. 1126,98 $C_{55}H_{60}Cl_2F_2N_3O_{14}P$

За аналогією із способом, описаним в Прикладі 3, хлорметилхлорформіат (Oakwood) вводили в реакцію з дибензил-2-(2-(2-(2-гідроксиетокси)етокси)етилфосфатом (Приклад 54) і піридином в метиленхлориді при -78°C протягом 3 г з одержанням відповідного хлорметилкарбонату з піридином гідрохлоридом (1:1). Цю речовину потім вводили в реакцію з хіральною 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойною кислотою у присутності карбонату цезію в диметилформаміді протягом ночі з одержанням, після очищення в ході флеш-хроматографії, хірального 2-{2-[2-(2-фосфоноксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілоксиметиллового ефіру дибензил-4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти. MS (ES⁺) m/z розрахований для $C_{55}H_{61}Cl_2F_2N_3O_{14}P$: [(M+H)⁺]: 1126, фактично: 1126.

Приклад 50

2-{2-[2-(2-Фосфоноксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілоксиметилловий ефір 4-(((2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл]-аміно)-3-метоксибензойної кислоти

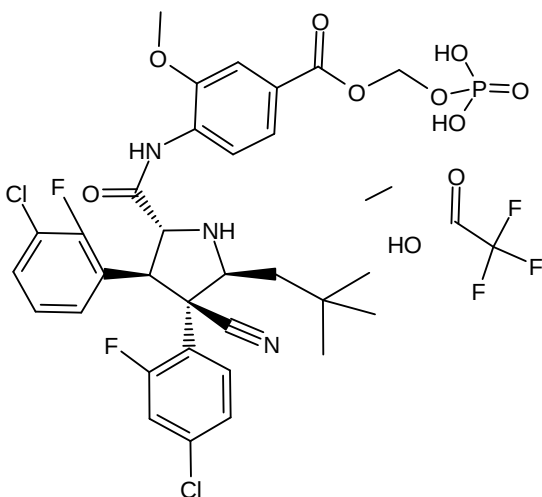


M.W. 946,73 $C_{41}H_{48}Cl_2F_2N_3O_{14}P$

Розчин хірального 2-{2-[2-(2-фосфоноксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілоксиметилового ефіру дибензил-4-{{(2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензойної кислоти (Приклад 49, 106,7 мг; 0,095 ммоль) в етилацетаті (10 мл) обробляли за допомогою 10% паладію на вугіллі (58 мг) при тиску водню 1 атм протягом 1 г. Реакційну суміш фільтрували і одержаний фільтрат концентрували з одержанням хірального 2-{2-[2-(2-фосфоноксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілоксиметилового ефіру 4-{{(2R,3S,4R,5S)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини (75 мг; вихід 82%). MS (ES⁺) m/z розрахований для C₄₁H₄₉Cl₂F₂N₃O₁₄P: [(M+H)⁺]: 946, фактично: 946.

Приклад 51

Фосфоноксиметильовий ефір 4-{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензойної кислоти; сполука з трифтороцтовою кислотою

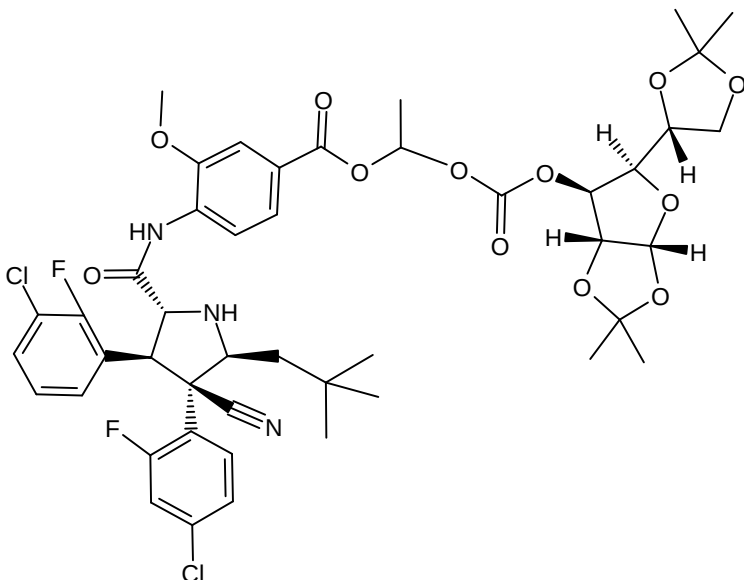


M.W. 840,51 C₃₂H₃₂Cl₂F₂N₃O₈P·C₂F₃O₂H

У грушоподібній колбі на 25 мл (ди-трет-бутоксифосфорилокси)метил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат (20 мг; 23,8 мкмоль, Приклад 2) об'єднували з дихлорметаном (1 мл) з одержанням безбарвного розчину, який охолоджували на водно-крижаній бані. Через 5 хв вносили трифтоцтову кислоту (744 мг; 0,5 мл; 6,53 ммоль) протягом 8 хв. Реакційну суміш концентрували і висушували у вакуумі протягом ночі з одержанням фосфоноксиметильового ефіру 4-{{(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл}-аміно}-3-метоксибензойної кислоти, трифторацетатної солі, у вигляді брудно-білої твердої речовини (19,5 мг; 97%).

Приклад 52

1-(((3aR,5R,6S,6aR)-5-((R)-2,2-Диметил-1,3-діоксолан-4-іл)-2,2-диметилтетрагідрофуру[3,2-d][1,3]діоксол-6-ілокси)карбонілокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат



M.W. 946,82 C₄₆H₅₁Cl₂F₂N₃O₁₂

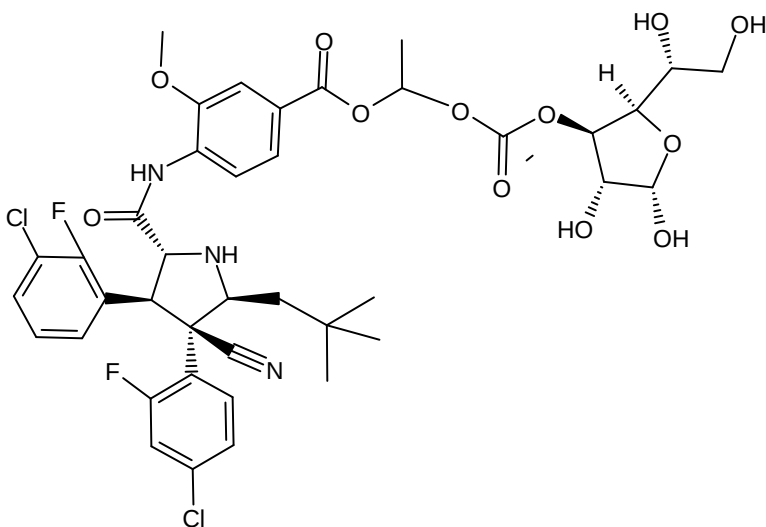
До розчину діацетон-D-глюкози (1,56 г; 6 ммоль) і піридину (1,09 г; 1,12 мл; 13,8 ммоль) в метиленхлориді (6 мл) при -78°C повільно додавали розчин 1-хлоретилхлорформіату (970 мг; 732 мкл; 6,78 ммоль) в метиленхлориді (4 мл). Після закінчення внесення реакційну суміш перемішували при -78°C протягом 1,5 г. Потім охолоджуючу баню прибирали і реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури. Реакційну суміш концентрували у вакуумі і розводили в діетиловому ефірі. Одержаний осад фільтрували і тверду речовину ретельно промивали діетиловим ефіром. Фільтрат і

змиваючі розчини об'єднували і концентрували з одержанням 2,135 г 1-хлоретил-(3aS,5S,6R,6aS)-5-((S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)-2,2-диметилтетрагідрофуру[3,2-d][1,3]діоксол-6-ілкарбонату у вигляді прозорого світло-жовтого густого масла, яке безпосередньо використовували без додаткового очищення.

До розчину 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (одержаної, як описано в US20100152190A1, 100 мг; 162 мкмоль) в сухому диметилформаміді (4 мл) додавали карбонат цезію (185 мг; 568 мкмоль). Цю суміш перемішували протягом 10 хв при кімнатній температурі. До вище описаної суміші додавали свіжоприготований розчин 1-хлоретил-(3aS,5S,6R,6aS)-5-((S)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)-2,2-диметилтетрагідрофуру[3,2-d][1,3]діоксол-6-ілкарбонату (178 мг; 487 мкмоль) в 4 мл сухого диметилформаміду і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш розбавляли етилацетатом і промивали водою (2х) і сольовим розчином. Органічний шар висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували з одержанням неочищеної речовини, яку очищали флеш-хроматографією (0-50% етилацетат в гексані протягом 25 хв) з одержанням брудно-білої твердої речовини (127 мг; 82% вихід). LCMS (ES+) m/z розрахований для C₄₆H₅₁Cl₂F₂N₃O₁₂ [(M+H)⁺]: 946, фактично: 946.

Приклад 53

1-[(2R,3R,4R,5S)-2-((R)-1,2-Дигідроксиетил)-4,5-дигідрокситетрагідрофуран-3-ілоксикарбонілокси]-етилловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл)-аміно}-3-метоксибензойної кислоти



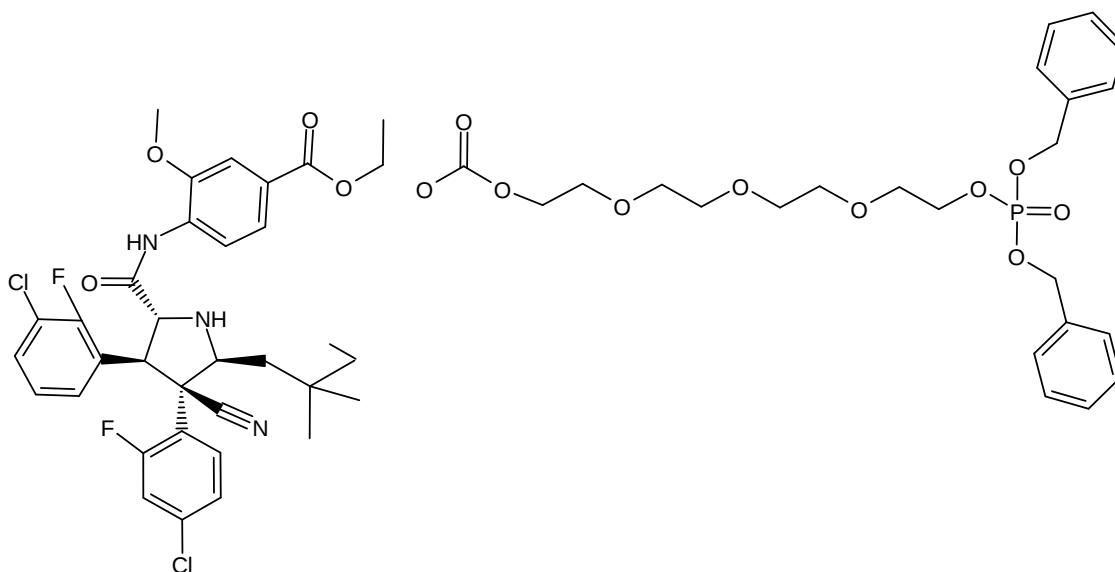
M.W. 866,69 C₄₀ H₄₃ Cl₂ F₂ N₃ O₁₂

У круглодонну колбу на 15 мл завантажували 1-(((3aR,5R,6S,6aR)-5-((R)-2,2-диметил-1,3-діоксолан-4-іл)-2,2-диметилтетрагідрофуру[3,2-d][1,3]діоксол-6-ілокси)карбонілокси)етил-4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідін-2-карбоксамідо)-3-метоксибензоат (111 мг; 117 мкмоль). Вносили суміш трифтороцтової кислоти (1,48 г; 1 мл; 13,0 ммоль) і води (375 мг; 375 мкл; 20,8 ммоль). Аналіз за допомогою LC-MS показав завершенні реакції після перемішування при кімнатній температурі протягом 1 г.

Реакційну суміш концентрували у вакуумі і залишок розводили в етилацетаті. Залишок промивали водою (2х) і сольовим розчином. Етилацетатний шар відокремлювали і висушували над безводним сульфатом натрію, потім фільтрували. Фільтрат концентрували з одержанням неочищеної речовини, яку очищали флеш-хроматографією (24 попередньо упакована колонка з силікагелем, елюювали етилацетатом протягом 20 хв) з одержанням білої твердої речовини (24 мг, вихід 23%). LC-MS (ES+) m/z розрахований для C₄₀H₄₃Cl₂F₂N₃O₁₂ [(M+H)⁺]: 866, фактично: 866.

Приклад 54

1-(2-{2-[2-(2-Дибензилоксифосфорилоксиетокси)-етокси]-етокси}-етокси)карбонілокси)-етилловий ефір 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідін-2-карбоніл)-аміно}-3-метоксибензойної кислоти



M.W. 1140,99 C₅₆ H₆₂ Cl₂ F₂ N₃ O₁₄ P

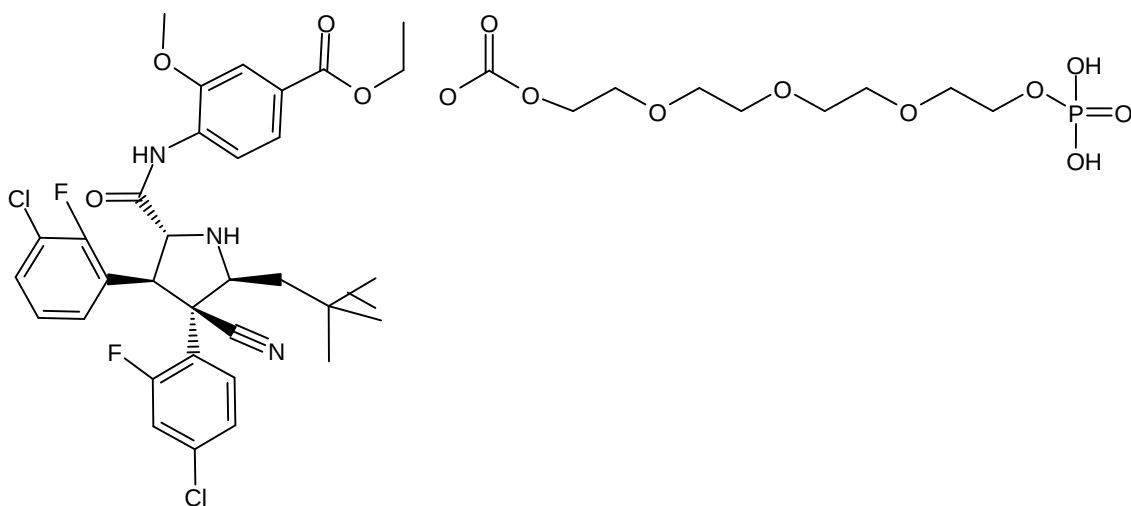
У трьохгорлову колбу на 100 мл з входом аргону до тетраетиленгліколю (5,41 г; 4,81 мл; 27,9 ммоль) в безводному тетрагідрофурані (30 мл) додавали розчин трет-бутоксиду калію (750 мг; 6,69 ммоль) в тетрагідрофурані (3 мл) при кімнатній температурі. Цю суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 20 хв. Охолоджували до -40°C. До одержаної вище холодної суміші додавали розчин тетрабензилпірофосфату (3000 мг; 5,57 ммоль) в тетрагідрофурані (20 мл) через шприц. Реакційну суміш витримували при перемішуванні при -40°C протягом 5 хв. Аналіз реакційної суміші за допомогою LC-MS показав присутність великої кількості тетрабензилпірофосфату, що не прореагував, і протягом 30 хв поліпшення не спостерігалось. До реакційної суміші при -40°C додавали іншу свіжу порцію суміші тетраетиленгліколю і трет-бутоксиду калію в тетрагідрофурані (така ж кількість, повторювали описану вище процедуру). Пік тетрабензилпірофосфату зникав через 5 хв. Реакційну суміш гасили додаванням оцтової кислоти (5 екв.) -40°C. Реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури і концентрували у вакуумі. Залишок розводили етилацетатом. Залишок промивали водою (2х) і сольовим розчином. Етилацетатний шар висушували над безводним сульфатом натрію. Тверді речовини фільтрували і одержаний фільтрат концентрували з одержанням неочищеної речовини, яку очищали на колонці для флеш-хроматографії (80 г попередньо упакована колонка з силікагелем, елюювали 0-10% метанолом в етилацетаті) з одержанням 1,14 г дибензил-2-(2-(2-(2-гідроксиетокси)етокси)етилфосфату у вигляді прозорого масла (вихід 50%). LC-MS (ES+) m/z розрахований для C₂₂H₃₁O₈P [(M+N)+]: 455, фактично: 455.

До розчину дибензил-2-(2-(2-(2-гідроксиетокси)етокси)етилфосфату (500 мг; 1,1 ммоль) і піридину (200 мг; 205 мкл; 2,53 ммоль) в метиленхлориді (6 мл) при -78°C повільно додавали 1-хлоретилхлорформіат (178 мг; 134 мкл; 1,24 ммоль) в метиленхлориді (2 мл). Після закінчення внесення реакційну суміш перемішували при -78°C протягом 1,5 г. Потім, охолоджуючу баню прибирали і реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури. Аналіз ¹H-ЯМР показав, що реакція була завершена. Реакційну суміш концентрували у вакуумі. Залишок розводили діетиловим ефіром. Тверді речовини в ефірному розчині фільтрували і ретельно промивали діетиловим ефіром. Фільтрат і змивачі розчини об'єднували і концентрували з одержанням 2-(2-{2-[2-(біс-бензилокси-фосфорилокси)-етокси]-етокси}-етокси)-етилового ефіру 1-хлор-етилового ефіру карбонової кислоти у вигляді прозорого світло-жовтого густого масла. Неочищений продукт використовували без додаткового очищення.

До розчину 4-((2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-неопентилпіролідин-2-карбоксамідо)-3-метоксибензойної кислоти (одержаної, як описано в US20100152190A1, 136 мг, 221 мкмоль) в сухому диметилформаміді (10 мл) додавали карбонат цезію (359 мг; 1,1 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хв. До описаної вище суміші додавали 2-(2-{2-[2-(біс-бензилокси-фосфорилокси)-етокси]-етокси}-етокси)-етилловий ефір 1-хлоретилловий ефір карбонової кислоти у вигляді густого жовтого масла, одержаний на попередній стадії (617 мг, 1,1 ммоль), розчинений в 3 мл сухого диметилформаміду, і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Реакція пройшла повністю, як показав аналіз LC-MS. Реакційну суміш вливали у воду. Потім її екстрагували етилацетатом (2х). Етилацетатні шари об'єднували, промивали водою і сольовим розчином. Висушували над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували з одержанням неочищеної речовини, яку очищали флеш-хроматографією (30-100% етилацетат в гексані протягом 30 хв) з одержанням 1-(2-{2-[2-(2-дибензилокси-фосфорилокси-етокси)-етокси]-етокси}-етокси)-етилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти у вигляді прозорого масла (102 мг; вихід 40,5%). LC-MS (ES+) m/z розрахований для C₅₆H₆₂Cl₂F₂N₃O₁₄P [(M+N)+]: 1140, фактично: 1140.

Приклад 55

1-(2-{2-[2-(2-Фосфонооксиетокси)-етокси]-етокси}-етокси)-етокси-карбонілокси)-етилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти



M.W. 960,73 $C_{42}H_{50}Cl_2F_2N_3O_{14}P$

У трьохгорловій колбі на 25 мл 1-(2-{2-[2-(2-добензилоксифосфорилоксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілокси)-етилловий ефір 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти (100 мг; 87,6 мкмоль) об'єднували з ізопропіловим спиртом (5 мл) при кімнатній температурі. Потім вносили 10% паладій на вугіллі (46,6 мг; 43,8 мкмоль). Колбу продували азотом, який потім витісняли воднем. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері водню з балона протягом 30 хв.

Реакційну суміш фільтрували через шар Celite для видалення каталізатора. Шар осаду на Celite ретельно промивали ізопропіловим спиртом. Фільтрат і змиваючі розчини об'єднували і концентрували з одержанням неочищеної речовини, яку очищали за допомогою обернено-фазної вискоєфективної рідинної хроматографії (Gilson, 50-80% градієнт ацетонітрилу у воді, протягом 10 хв) з одержанням 1-(2-{2-[2-(2-фосфонооксиетокси)-етокси]-етокси}-етоксикарбонілокси)-етилового ефіру 4-[[[(2R,3S,4R,5S)-3-(3-хлор-2-фторфеніл)-4-(4-хлор-2-фторфеніл)-4-ціано-5-(2,2-диметилпропіл)-піролідин-2-карбоніл]-аміно]-3-метоксибензойної кислоти у вигляді білої твердої речовини (6 мг; вихід 7%). LC-MS (ES+) m/z розрахований для $C_{42}H_{50}Cl_2F_2N_3O_{14}P$ [(M+H)+]: 960, фактично: 960.

Приклад 56

Аналіз активності in vitro

Здатність сполук інгібувати взаємодії між білками p53 і MDM2 оцінювали за допомогою аналізу HTRF (гомогенна флюоресценція з тимчасовим дозволом), в якому рекомбінантний GST-мічений MDM2 зв'язується з пептидом, схожим з MDM2-взаємодіючою ділянкою білка p53 (Lane et al.). Зв'язування білка GST-MDM2 і p53-пептиду (біотинильованого за своїм N-кінцем) реєструється за допомогою FRET (резонансне перенесення енергії флюоресценції) між міченими Європієм (Eu) антитілами до GST і кон'югованим із стрептавідином алофікоціаніном (APC).

Аналіз проводять на чорних 384-лункових планшетах з плоским дном (Costar) в сумарному об'ємі 40 мкл, що містить: 90 нМ біотинильований пептид, 160 нг/мл GST-MDM2, 20 нМ стрептавідин-APC (PerkinElmerWallac), 2 нМ Eu-мічені антитіла до GST (PerkinElmerWallac), 0,02% бичачий сироватковий альбумін (BSA), 1 мМ дитіотреїтол (DTT) і 20 мМ Трис-боратний сольовий буферний розчин (TBS), таким чином: До кожної лунки вносили 10 мкл GST-MDM2 (640 нг/мл робочий розчин) в реакційному буфері. У кожну лунку вносили по 10 мкл розбавленої сполуки (розведення 1:5 в реакційному буфері), перемішували струшуванням. У кожну лунку вносили по 20 мкл біотинильованого пептиду p53 (180 нм робочий розчин) в реакційному буфері і перемішували на шейкері. Інкубували при 37°C протягом 1 г. Вносили суміш 20 мкл стрептавідин-APC і Eu-анти-GST антитіл (6 нМ Eu-анти-GST і 60 нМ стрептавідин-APC робочий розчин) в буфері TBS з 0,02% BSA, струшували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин і проводили прочитування на рідері для планшетів з функцією TRF, при 665 і 615 нм (Victor 5, Perkin ElmerWallac). Якщо спеціально не вказано, реагенти було придбано в Sigma Chemical Co.

Нижче наведені дані по активності для деяких прикладів сполук, виражені у вигляді IC_{50} :BSA:0,02%.

Номер Приклада IC_{50} (мкМ, с 0,02% BSA)

1	0,0296
2	0,0108
3	0,0163
4	0,0187
5	0,0104
6	0,0145
7	0,045
8	0,0536
9	0,116
10	0,0536
11 A	0,0101
11 B	0,0194
12	0,0238
13	0,0142
14	0,012
15	0,0128

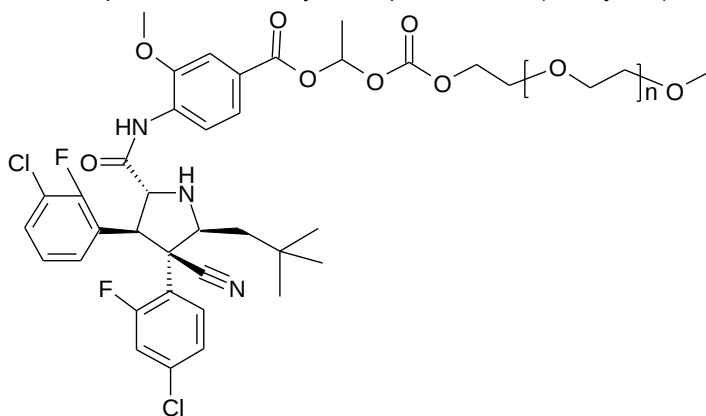
16	0,0134
17	0,0117
18	0,0131
19	0,0514
20	0,00584
21	0,0435
22	0,00713
23	0,011
24	0,00439
26	0,00582
28	0,00819
30	0,0043
31	0,162
33	0,00822
34	0,00909
35	0,00525
36	0,0202
37	0,00714
38	0,00421
39	0,00506
40	0,00444
41	0,00518
42	0,00509
43	0,00569
44	0,00486
45	0,00463
46	0,0408
47	0,0303
48	0,00696
49	0,0801
50	0,0265
51	0,00514
52	0,0267
53	0,0034
54	0,00421
55	0,00475

Приклад 57

Дані по розчинності і фармакокінетиці (РК)

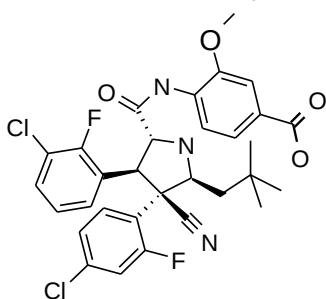
Сполуки за даним винаходом проявляють відмінну розчинність і постійність фармакокінетичного профілю, в порівнянні з не-етерифіційованими/не-амідними формами вихідних сполук.

Відносно розчинності, сполука за прикладом 37 (Сполука А)



(А)

проявляє розчинність у воді, що перевищує 30 мг/мл, тоді як відповідна вихідна сполука (Сполука В) формули



(В)

має розчинність у воді менше ніж 1 мкг/мл.
Фармакокінетичні дані

Сполуку А вводили внутрішньовенно (iv, внутрішньовенне струменеве введення) при дозуванні 1 мг/кг еквівалентів діючої лікарської речовини (4,37 мг/кг проліків). Оцінювали кількість Сполуки А і Сполуки В в плазмі селективними методами LC-MS/MS з нижчими межами кількісного визначення 1 нг/мл і 5 нг/мл, відповідно.

Нижче наведені основні результати (середнє, N= 2):

Фармакокінетичні дані для Сполуки А (проліки):

4,37 мг/кг iv (що відповідає 1 мг/кг активної вихідної сполуки) (N = 2): $C_{max} = 142000$ нг/мл, кінцевий період напіввиведення $t_{1/2}$, що здається = 2,59 г, $AUC(0-inf) = 108000$ (нг•г) /мл, $AUC(0-tlast) = 108000$, $CL = 0,709$ мл/хв•кг і $V_{ss} = 0,0235$ л/кг.

Фармакокінетичні дані для Сполуки В (діюча речовина):

4,37 мг/кг Сполуки А iv (що відповідає 1 мг/кг вихідної активної сполуки) (N = 2): $C_{max} = 4390$ нг/мл, уявний кінцевий період напіввиведення $t_{1/2} = 5,07$ г, $AUC(0-inf) = 21600$ (нг•г) /мл і $AUC(0-tlast) = 20900$ (нг•г) /мл.

На закінчення, для проліків спостерігалися дуже низькі плазмовий кліренс і об'єм розподілу, що пов'язано з помірним періодом напіввиведення. Досягнуто істотну конверсію діючої речовини. Більш того, лише невелика кількість проліків або діючої речовини виводилася з сечею.